

HIZLI, SEÇİCİ VE AYIRT EDİCİ MİKOBAKTERİ KÜLTÜR BESİYERİ

Katalog No: TB221

Kullanım Yönergesi

In Vitro Kullanım İçindir

Ürünün ismi:**TB SLC®****Kullanım amacı:**

TB SLC® hızlı seçici ve ayırt edici bir mikobakteri kültür besiyeridir. Tüberkülozdan kuşku duyulan hastalarda tanı konmasına önemli katkı sağlar. In Vitro kullanım içindir.

TB SLC® hastalardan alınan örneklerden mikobakteri soyutlanmasında kullanılır. Mikobakteriler için daha seçici kılmak amacı ile **TB SLC®** ye diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyen çeşitli antibakteriyeller ve bir antifungal katılmıştır.

Genel bilgi:

TB SLC® içerdiği çoklu renk belirteçleri ile mikobakterilerin üremesinin erken saptanmasını sağlayan bir kültür besiyeridir. Ayrıca, **TB SLC®** 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 **TB SLC®** dahil birçok besiyeri çeşidinde mikobakterilerden çok daha hızlı üreyerek besiyerini kaplayan normal floraya ait veya başka mikroorganizmalar içerirler. Bu tür örneklerin incelenebilmesi için **DIAGNOTİS A.Ş.**' nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitlerinin kullanılması uygun olur. Mikobakteri dışında bazı mikroorganizmalar bu dekontaminasyon işlemine dirençli olabilirler. **TB SLC®** içerisinde yer alan antimikrobiyaller bu mikroorganizmaların üremesini engelleyerek mikobakteri izolasyon olasılığını artırırlar.

Yöntemin kısıtlı yanları:

Mikobakteri dışında bazı mikroorganizmalar **TB SLC®** içerisinde yer alan antimikrobiyal maddelere dirençli olabilir ve bu besiyerinde üreyebilir. Kontaminant organizmaların çoğu (mantarlar, Gram negatif bakteriler) **TB SLC®**'nin rengini kırmızıdan yeşile çevirmekle birlikte (streptokok türleri gibi) bazı Gram pozitif organizmalar besiyerinin rengini sarıya çevirebilirler. Bu nedenle **TB SLC®** de 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:

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

İçerik:

TB SLC® de 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 kullanım içindir.

Tüpler kullanımdan hemen önce açılmalıdır.

Ekimden sonra tüplerin kapakları tüpteki gazların değişimini izleyebilmek için sıkıca kapatılmalıdır.

TB SLC® pH' ya duyarlı bir besiyeridir. Bu nedenle örneğin ekim öncesinde pH' sının 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 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.
- 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.

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 **TB SLC®** ' ye 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 **TB SLC®** ye ekilebilir.

Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığı içerisinde yapılmalıdır.

1. **TB SLC®** 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®** ya yerleştiriniz.
6. **TBReader®** kullanıyorsanız hasta ve örneğe ait bilgileri sisteme giriniz.

TB SLC® de üreme sonuçlarının değerlendirilmesi**Gözle değerlendirme:**

Otomatik inkübatör-izleyici **TBReader®** olmasa da **TB SLC®** 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:

TB SLC® deki 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 **TB SLC®**.

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 arttırabilir.

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 **TB SLC®** ' nin rengi kırmızıdan mora dönebilir. Bu durum mikobakterinin üremesini yavaşlatabilir veya tamamen engelleyebilir. Örnek işleme için **Diagnostis 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:

TB SLC® nin mikobakteri üremesini saptama süresi örnekteki mikobakteri yükü ile doğru orantılıdır. Mikroskopi ile aside dirençli boyanan basil saptanmış örneklerde üremenin saptanma süresi 5 ila 18 gün arasında değişmektedir.^{1,2} Löwenstein Jensen besiyeri (LJ) ile karşılaştırıldığında **TB SLC®** deki üreme süreleri bu besiyerindeki süresinin yaklaşık yarısı kadardır.

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. Bicmen C., M. Coskun, G. Senol, N. Florat, T. Kocagoz. Comparison of TK and Löwenstein-Jensen Media for primary culture of Mycobacteria: A preliminary study for a new medium. ECCMID. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Glasgow, U. K. May 10-13, 2003.

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:

TB221

