



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

TK 2ND LINE ANTI TB KIT

İKİNCİL ANTİMİKOBakteriyel İlaçlara Duyarlılık Kiti

Katalog No:TK270

Kullanım Yönergesi

Canlı Dışında Kullanım İçindir

Ürünün İsmi:

TK 2ND LINE ANTI TB KIT

Kullanım Amacı:

TK 2ND LINE ANTI TB KIT, mikobakterilerin ikincil antimikobakteriyel ilaçlara duyarlılıklarının hızlı bir şekilde belirlenmesinde kullanılan bir kittir.

Genel Bilgi:

TK MEDIUM içerdiği çoklu renk belirteçleri ile mikobakterilerin üremesinin erken saptanmasını sağlayan bir sıvı kültür besiyeridir. Ayrıca, **TK MEDIUM** 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. **TK MEDIUM** radyoaktif madde veya floresan boya içermez; değerlendirme için radyoaktivite sayıcı, ultraviyole ışını ve özel bir okuyucu gerektirmez. Renk değişikliği çıplak gözle kolayca değerlendirilebildiği gibi tüpler çok gelişmiş bir otomatik inkübatör ve okuyucu olan **MYCOLOR TK** ile de izlenebilir.

Çok ilaca dirençli (ÇİD) tüberküloz olgularının önemli oranda artmış olması uygun tedavi için ikincil antibiyotiklere duyarlılık testi yapılması gereksinimini yaratmıştır. **TK 2ND LINE ANTI TB KIT** ikincil antitüberküloz ilaçları içeren besiyerleri sayesinde bu ilaçlara hızlı duyarlılık testi yapılmasını sağlamaktadır. Hastaların tedavilerinin yönlendirilmesinde duyarlılık testlerinin hızla gerçekleştirilerek erken sonuç verilmesi her yönden önemli kazançlar sağlamaktadır.

Yöntemin Bilimsel Temeli:

Mikobakterinin **TK MEDIUM** ve antitüberküloz ilaçlar Amikasin (**TK AMK**), Cycloserine (**TK CYC**), Ethionamide (**TK ETH**), Kanamisin (**TK KAN**), Ofloxacin (**TK OFL**), PAS (**TK PAS**), Rifabutin (**TK RFB**), Thiacezone (**TK TAZ**) ve Linezolid (**TK LNZ**) içeren besiyerlerinin üremesi incelenir. **TK MEDIUM**'da üreme oluyor, ikincil antitüberküloz içeren besiyerlerinde üreme olmuyorsa mikobakteri bu ilaçlara duyarlı, ilaçlı besiyerlerinde üreme oluyorsa, üreme olan besiyerindeki ilaca dirençlidir.

İçerik:

TK MEDIUM da polipeptitler, karbohidratlar, tuzlar, renk belirteçleri ve vitaminler bulunur (beyaz kapak).

SUSPENSION TUBE T80 Tween80 çözeltisi içerisinde 1mm çapında polikarbonat boncuklar içermektedir (mor kapak).

DILUTION TUBE T80 Tween80 çözeltisi içermektedir (mor kapak).

Antimikobakteriyel madde içeren tüplerdeki derişim şu şekildedir:

• TK AMK :	Amikacin 1µg/mL
• TK CYC :	Cycloserine 30µg/mL
• TK ETH :	Ethionamide 5µg/mL
• TK KAN :	Kanamycin 4µg/mL
• TK OFL :	Ofloxacin 2µg/mL
• TK PAS :	PAS 2µg/mL
• TK RFB :	Rifabutin 0,5µg/mL
• TK TAZ :	Thiacezone 2µg/mL
• TK LNZ :	Linezolid 1µg/mL

Dikkat Edilmesi Gerekenler ve Uyarılar:

- Canlı dışında (in vitro) kullanım içindir.
- Tüpler kullanımdan hemen önce açılmalıdır.
- Ekimden sonra tüplerin kapakları tüpteki gazların değişimini izleyebilmek için sıkıca kapatılmalıdır.
- 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 olası 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.
- 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.

Örnek Hazırlama:

Löwenstein-Jensen, Middlebrook Besiyeri, **TK MEDIA** veya **TK MEDIA** gibi herhangi bir besiyerinde üretilmiş mikobakteri **TK 2ND LINE ANTI TB KIT** ile incelemeye alınabilir. Mikroskopi ile aside dirençli boyanan basil (ARB) pozitif olduğu saptanmış örneklerde zaman kazanmak için doğrudan duyarlılık testi ve tiplendirme yapılabilir.

Önerilen Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığında yapılmalıdır.

Verilen Malzemeler:

Ürün 10' luk setler halinde karton kutularda sunulmaktadır. Her set 1 **TK MEDIUM**, 1 **TK AMK**, 1 **TK CYC**, 1 **TK ETH**, 1 **TK KAN**, 1 **TK OFL**, 1 **TK PAS**, 1 **TK RFB**, 1 **TK TAZ**, 1 **TK LNZ**, 1 **SUSPENSION TUBE T80** ve 1 **DILUTION TUBE T80**' den oluşmaktadır.

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:

Kültürde üretilmiş mikobakterilerin buzdolabında bekleme süresinin duyarlılık testleri üzerine etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte, antimikrobiyal duyarlılık testlerinin mikobakteri üretilir üretilmez en kısa zamanda taze kültürden yapılmasının daha güvenilir sonuç vereceği düşünülmektedir.

Uygulama:

1. Katı, Löwenstein Jensen gibi besiyerlerinde üretilmiş mikobakteri kolonilerinden alarak **SUSPENSION TUBE T80** içerisinde 1,0 Mc Farland bulanıklığında mikobakteri süspansiyonu hazırlayınız. **TK SLC** gibi sıvı besiyerlerinde üretilmiş mikobakteri kültürlerini vorteks ile iyice çalkaladıktan sonra 200µl **SUSPENSION TUBE T80** içerisine aktarınız ve vorteks yardımı ile karıştırınız.
2. Polikarbonat boncuklu tüpteki süspansiyondan **DILUTION TUBE T80** seyreltim tüpüne 500µL aktararak karıştırarak seyreltiniz.
3. Bir **TK MEDIUM** ve birer tane ikincil antimikobakteriyel ilaç içeren tüp üzerine hasta ve örneğe ait gerekli bilgileri yazınız.
4. Tüplerin kapağını sıra ile açınız.
5. Her tüpe 200µL seyreltilmiş mikobakteri süspansiyonu ekiniz. Sıvı besiyerini pipet ile birkaç kere çekip vererek mikobakterilerin eşit dağılımını sağlayınız.
6. Kapağı sıkıca kapatınız (ÇOK ÖNEMLİ: Besiyerindeki renk değişikliği tüpteki oksijenin tüketilip, CO2 birikmesine bağlı olduğundan kapaklar mutlaka gaz geçirmeyecek şekilde sıkıca kapatılmalıdır.)

Mikroskopi ile ARB+ olduğu saptanan klinik örneklerden, kültürde mikobakteri üretilmeksizin duyarlılık testi ve tiplendirme yapılması olanaklıdır.



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

Dekontaminasyon ve yoğunlaştırma yöntemi ile hazırlanmış örnekler **TK MEDIUM** ve çeşitlerine ekmeye uygundur. Ekilecek işlenmiş örneğin son pH'ı 7,0 ve 7,8 arasında olmalıdır. Dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi için **MYCOPROSAFE**, **DECOMICS** veya **DECOCENT** kullanılması önerilir. Bu kitler ile hazırlanan örneklerde uygun pH kolayca ayarlanır. Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığında yapılmalıdır. Doğrudan duyarlılık testi yapıldığında kültür amacı ile **TK MEDIUM** besiyerine ekim yapılmış olur ancak **TK MEDIUM** da kontaminasyon oranı seçici besiyeri **TK SLC**' den yüksek olabileceğinden **TK SLC**' ye de ekim yapılması önerilir. **TK MEDIUM** ve antitüberküloz ilaç içeren tüplerde kontaminasyon olursa **TK SLC** de üretilen mikobakteriden işlemler tekrarlanabilir.

ARB+ klinik örneklerden doğrudan duyarlılık testi ve tiplendirme uygulaması:

1. Klinik örneği dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi ile hazırlayınız ve mikroskopi ile ARB+ olduğundan emin olunuz.
2. Kullanacağınız tüplerin üzerine hasta ve örneğe ait gerekli bilgileri yazınız.
3. İşlenmiş örnekten 200µL **TK MEDIUM** ve ikincil antimikobakteriyel ilaç içeren tüplerin her birine aktarınız.
4. Kapaklarını sıkıca kapatınız. (**ÇOK ÖNEMLİ:** Besi yerindeki renk değişikliği tüpteki oksijenin tüketilip, CO₂ birikmesine bağlı olduğundan kapaklar mutlaka gaz geçirmeyecek şekilde sıkıca kapatılmalıdır.)

İnkübasyon:

Tüpleri standart bir 37°C inkübatöre veya **MYCOLOR TK** ya yerleştiriniz. **MYCOLOR TK** kullanıyorsanız hasta ve örneğe ait bilgileri kaydediniz. Programda ikincil antimikobakteriyel duyarlılık seçeneğini seçiniz.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

Gözle Değerlendirme:

Laboratuvarınızda **MYCOLOR TK** bulunmuyor ve tüpler standart 37°C inkübatörde bekletiliyorsa tüplerdeki üreme gözle kolayca değerlendirilebilir. Tüplerdeki renk değişikliği günlük olarak kontrol edilmelidir.

Besiyerlerinin orjinal kırmızı renginin sarıya dönmesi mikobakteri üremesini gösterir. Test, **TK MEDIUM** tüpü sarıya döndüğü zaman değerlendirmeye alınmalıdır. Eğer **TK MEDIUM** sarıya döndüğünde ikincil antimikobakteriyel ilaç içeren bir tüp sarıya dönmüşse bu mikobakterinin o ilaca dirençli, kırmızı kalmış ise duyarlı olduğunu gösterir. Mikobakteri suşunda bazen kısmi direnç olabilir. Bu nedenle **TK MEDIUM** rengi sarıya döndüğünde ise kesin sonucu vermeden önce 48 saat daha ilaç içeren tüplerde üreme olup olmadığının gözlenmesi önerilir. Tüplerden herhangi birinde rengin yeşile dönmesi kontaminasyonu gösterir.

MYCOLOR TK ile değerlendirme:

Tüplerdeki renk değişikliği **MYCOLOR TK** tarafından otomatik olarak izlenmekte ve sonuç size sistem tarafından bildirilmektedir.

Çok Önemli:

Besiyerlerindeki renk değişikliği sadece üremenin erken saptanması hakkında bir öngörü elde edilmesini sağlar. Renk değişikliği görülen tüplerden 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.

Kalite Kontrol:

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

<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TK MEDIUM	Sarı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TK MEDIUM	Sarı
<i>Escherichia coli</i> :	TK MEDIUM	Yeşil

İlaç içeren tüpler duyarlı mikobakteriler ile kırmızı,dirençliler ile Sarı Ekim yapılmamış besiyeri: Kırmızı

Yöntemin Kısıtlı Yanları:

Dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi sonunda örneğin pH'sı 7.5 ± 0.2 olmalıdır. NaOH tarafından oluşturulan yüksek pH nötralize edilemezse, bu tür örneğin ekimi sonrasında **TK MEDIUM** ve ilaçlı besiyerlerinin rengi kırmızıdan mora dönebilir. Bu durum mikobakterinin üremesini yavaşlatabilir veya tamamen engelleyebilir. pH' nın iyi ayarlanması için fosfat tamponu ile nötralizasyon ve santrifüj işlemi ile çöktürme sonrasında üst sıvı tamamen dökülmelidir.

Örnek işleme için **DECOMICS**, **DECOCENT** veya **MYCOPROSAFE** kullanılması ve böylece uygun pH'nın sağlanması önerilir.

Performans Özellikleri:

TK 2ND LINE ANTI TB KIT kullanarak, mikobakterilerin ikincil antimikobakteriyel ilaçlara duyarlılıkları klasik besiyerleri ile yapılabildiği göre daha kısa zamanda yapılabilmektedir. Bu süre mikobakteri türünün üreme hızına bağlı olmak üzere 2 ila 14 gün arasında değişmektedir.^{1,2}

Raf ömrü:

Altı ay.

Kaynaklar:

1. Bicmen C., G. Senol, M. Coskun, N. Florat, T. Kocagoz. Comparison of TK and Löwenstein-Jensen media in antimycobacterial susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis by using the proportion method: A preliminary study for a new medium. ECCMID. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Glasgow, U. K. May 10-13, 2003.
2. Kocagöz T., Altın S., Türkyılmaz Ö., Taş I., Yuca P., Bolaban D., Yeşilyurt E., Öktem S., Aytekin N., Şınık G., Mozioğlu 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:

İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti.

Ahmet Yesevi Mah. Kerem Sok.

No:9/1-7

Pendik 34903

İSTANBUL, TÜRKİYE

Katalog Numarası:

TK270

