



TiBO

İNÖVATİF
BİYOTEKNOLOJİ
ORGANİZASYONU

MYCOPROSAFE

MİKROBAKTERİLERİN MİKROSKOP, KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TANISI İÇİN DEKONTAMİNASYON VE
KONSANTRASYON KİTİ

Katalog No:TM220-230-240

Kullanım Yönergesi

Canlı Dışında Kullanım İçindir

Ürünün İsmi:

MYCOPROSAFE (MPS)

Kullanım Amacı:

MPS bir dekontaminasyon ve konsantrasyon kitidir. Mikobakterilerin mikroskopik inceleme, kültür ve moleküler yöntemlerle saptanması ve üretilmesi amacı ile örneklerin işlenmesinde kullanılır.^{1,2} **İn vitro kullanım içindir.**

Genel Bilgi:

MPS, "Sodyum hidroksit – N-asetil-L-sistein" dekontaminasyon ve konsantrasyon yönteminin^{1, 2, 3} 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. **MPS**, işleme için gerekli tüm malzemeleri her örnek için ayrı bir set halinde sunmaktadır. Böylece çapraz ve genel kontaminasyon önlenerek önemli bir zaman ve emek artırım sağlanmaktadır. Ayrıca **MPS** biyozararlı maddelerin çöpe güvenli bir şekilde atılmasını sağlayacak şekilde tasarlanmıştır.

MPS 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 Bilimsel Temeli:

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 ≈ 40 mg N-Asetil-L-Sistein, ve 4 mm çapında polikarbonat boncuklar.
- 2 adet plastik şişe içerisinde 125 mL %2 (TM 220) veya %3 (TM 230) veya %4 (TM 240) 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:

- Canlı dışında (in vitro) kullanım içindir.
- 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.
- MPS** mikobakterilerle oluşabilecek laboratuvar enfeksiyon olasılığını en aza indirecek şekilde tasarlanmıştır. Buna karşın olasılığı 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.
- 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 tüpte sızıntı saptanır, herhangi bir

yüzey kirlenirse uygun bir yüzey dezenfektanı ile laboratuvarınızın yönergelerine uygun olarak temizleyiniz.

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 göz, deri veya mukozal yüzeylerle temas ederse acilen su ile yıkanmalı ve acil tıbbi yardım istenmelidir.
- Örnek toplama tüpü polikarbonat boncuklar yutulacak şekilde ağıza 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.

Saklama Koşulları:

Oda sıcaklığında, nemsiz bir ortamda saklanmalıdır.

Bozulma Belirtileri:

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

Uygulama:

Balgam ve diğer sıvı solunum yolu örnekleri:

- Balgam, bronko-alveoler yıkama sıvısı, mide sıvısı, plevral, perikardiyal veya peritoneal sıvılar gibi örneklerden en fazla 5 mL olacak şekilde polikarbonat boncuklu tüp içerisine aktarılır.
- 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.
- Vorteksle çalkalayarak örneğin homojenize olması sağlanır. 15 dakika oda sıcaklığında bekletilir (kontaminasyon oranı yüksek olan laboratuvarlarda bu süre 20 dakikaya kadar uzatılabilir ancak süre uzatmanın mikobakteri izolasyon şansını azaltacağı unutulmamalıdır).
- Örnek tüpünün 50 mL çizgisine gelecek şekilde fosfat tamponu doldurulur (artan fosfat tamponu diğer basamaklar için saklanır).
- Tüpler 15 dakika süresince 2000 x g oluşacak hızda ve tercihen yana açılabilir kaplı ve -aerosol oluşumunu engellemek için- soğutmalı bir santrifüjde çevrilir.
- Üst sıvı dikkatlice dezenfektan çözelti içeren bir toplama kabına aktarılır. Boncuklar üzerinde mümkün olduğunca az miktarda çözelti bırakılır (bakterileri içeren çökelti polikarbonat boncuklar altında, tüp dibine yapışmış olduğundan bir kaç polikarbonat boncuğun dökme işlemi sırasında düşmesi bir sorun oluşturmaz).
- Artan fosfat tamponu 5 mL çizgisine erişene dek eklenir. Polikarbonat boncuklar arasında kalan çökelti, vorteksle çalkalanarak yeniden süspansiyon haline getirilir. Bu süspansiyon kültür, mikroskopi ve moleküler tanı yöntemleri için kullanılabilir.
- İşlem tamamlandıktan sonra, örnek tüplerinin içine yaklaşık 10 mL dezenfektan çözelti konulur, kapaklar sıkıca kapatılır, tüpler aşağı



TİBO

İNÖVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

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 polikarbonat boncuklu 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. Polikarbonat boncukların 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.

Gerekli Ek Malzemeler:

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

Kalite Kontrol:

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 40-45 dakika kadar sürmektedir. Uygulama oda sıcaklığında, santrifüj işlemleri ise +4°C'da yapılmalıdır.

Zaman Kısıtlamaları:

Dekontaminasyon zamanı en az 15 dakika olmalıdır. Dekontaminasyonun kısa yapılması kontaminasyon olasılığını artırır. Dekontaminasyon zamanındaki uzamalar kontaminasyonu azaltmakla birlikte mikobakteri izolasyon şansını da azaltabilir.

Yöntemin Kısıtlı Yanları:

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.

Raf ömrü:

1,5 yıl.

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:

İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti.

Ahmet Yesevi Mah. Kerem Sok.

No:9/1-7

Pendik 34903

İSTANBUL, TÜRKİYE

Katalog Numarası:

TM220-230-240

