



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

TK SLC

HIZLI, SEÇİCİ VE AYIRT EDİCİ MİKOBAKTERİ KÜLTÜR BESİYERİ

Katalog No:TK221-222

Kullanım Yönergesi

Canlı Dışında Kullanım İçindir

Ürünün İsmi:

TK SLC

Kullanım Amacı:

TK SLC hızlı seçici ve ayırt edici bir mikobakteri kültür besiyeridir. Tüberkülozdan kuşku duyulan hastalarda tanı konmasına önemli katkı sağlar.

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

Genel Bilgi:

TK SLC, içerdği çoklu renk belirteçleri ile mikobakterilerin üremesinin erken saptanmasını sağlayan bir kültür besiyeridir. Ayrıca, **TK 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 çıplak gözle kolayca değerlendirilebildiği gibi tüpler çok gelişmiş bir otomatik inkübatör ve okuyucu olan **MYCOLOR TK** ile de izlenebilir. Balgam gibi klinik örnekler **TK SLC** dahil birçok besiyeri çeşidinde mikobakterilerden çok daha hızlı üreyerek besiyerini kaplayan normal floraya ait veya başka mikroorganizmalar içerirler. Bu nedenle bu tür örneklerin NaOH-NALC (Sodyum Hidroksit-N-Asetil-L-Sistein) yöntemi ile dekontamine edilmesi gerekir (**MYCOPROSAFE** bu dekontaminasyon ve konsantrasyon yönteminin kolayca ve güvenli bir şekilde uygulanabilmesi için hazırlanmış gerekli tüm malzemeleri içeren bir kittir. Aynı şekilde gelişmiş bir Kubica yöntemi sağlayan **DECOCENT** veya santrifüjleme ihtiyacını ortadan kaldıran ve böylece işlem süresini 45 dakikadan 23 dakikaya düşüren **DECOMICS** kullanmanızı öneririz). Mikobakteri dışında bazı mikroorganizmalar bu dekontaminasyon işlemine dirençli olabilirler. **TK SLC** içerisinde yer alan antimikrobialer bu mikroorganizmaların üremesini engelleyerek mikobakteri izolasyon olasılığını artırır.¹⁻³

Yöntemin kısıtlı yanları:

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

TK 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. **TK SLC** radyoaktif veya floresan boya içermez, değerlendirme için radyoaktivite sayıcı, ultraviyole ışını ve özel bir okuyucu gerektirmez.

İçerik:

TK SLC de polipeptitler, karbohidratlar, tuzlar, renk belirteçleri ve vitaminler ve aşağıda belirtilen antimikrobial maddeler bulunur.

- Polimiksin B
- Piperasilin
- Amfoterisin B
- Nalidiksik asit
- Trimetoprim

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.
- (**TK SLC** pH' ya duyarlı bir besiyeridir. Bu nedenle örneğin ekim öncesinde pH' sının 7.5 ± 0.2 ye ayarlanması gerekmektedir. pH' nin uygun bir şekilde ayarlanabilmesi için **Tibo** ' nun

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.
- 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:

Tibo ' nun dekontaminasyon ve konsantrasyon kitleri ile hazırlanmış örnekler **TK SLC** ' ye ekim için uygundur. Bu yöntemle hazırlanan örneğin son pH' sı 7.5 ± 0.2 sınırları içinde olmalıdır. **Tibo** ' nun 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 **TK SLC** ' ye ekilebilir.

Önerilen Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığında yapılmalıdır.

Verilen Malzemeler:

Ürün 150 adet tüpler halinde karton kutularda sunulmaktadır.

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 artırabilir.

Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığı içerisinde yapılmalıdır.

1. **TK 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.



TİBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

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. Vorteksleyiniz.
6. Tüpü 37°C' ye ayarlı bir inkübatör veya **MYCOLOR TK** ya yerleştiriniz.
7. **MYCOLOR TK** kullanıyorsanız hasta ve örneğe ait bilgileri sisteme giriniz.

TK SLC' de Üreme Sonuçlarının Değerlendirilmesi:

Gözle Değerlendirme:

Otomatik inkübatör-izleyici **MYCOLOR TK** olmasa da **TK SLC** 37°C' ye ayarlı bir inkübatörde bekletilebilir ve rahatlıkla gözle doğrudan incelenerek izlenebilir. Bu durumda tüplerin rengi her gün bir kez kontrol edilebilir.

Kırmızıdan sarıya renk değişmesi mikobakteri üremesini gösterecektir. Turuncuya dönme üremenin başladığını, sarıya dönme ise kesin üremeyi gösterir. 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.

MYCOLOR TK ile değerlendirme:

MYCOLOR TK 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:

TK 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.

Kalite Kontrol:

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

<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	Sarı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	Sarı
<i>Escherichia coli</i> :	Kırmızı
<i>Candida albicans</i> :	Kırmızı
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 SLC** nin rengi kırmızıdan mora dönebilir. Bu durum mikobakterinin üremesini yavaşlatabilir veya tamamen engelleyebilir. Örnek işleme için **TİBO**' nun dekontaminasyon ve konsantrasyon kitlelerinin kullanılması ve böylece uygun pH' nın sağlanması önerilir. **Mycoprosafe** kullanıldığında, pH' nın iyi ayarlanması için fosfat tamponu ile nötralizasyon ve santrifüj işlemi ile çöktürme sonrasında üst sıvı tamamen dökülmelidir.

Performans Özellikleri:

TK 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 **TK SLC** deki üreme süreleri bu besiyerindeki süresinin yaklaşık yarısı kadardır.

Raf ömrü:

Dokuz ay.

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:

İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti.

Ahmet Yesevi Mah. Kerem Sok.

No:9/1-7

Pendik 34903

İSTANBUL, TÜRKİYE

Katalog Numarası:

TK221-222

