



TiBO

İNÖVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

LÖWENSTEIN-JENSEN COOL

STANDART VEYA "CELEVER" TÜPTE
MİKOBAKTERİ KÜLTÜR BESİYERİ

Katalog No: TL060-065

Kullanım Yönergesi

Canlı Dışında Kullanım İçindir

Ürünün İsmi:

LÖWENSTEIN-JENSEN COOL

Kullanım Amacı:

Löwenstein-Jensen (LJ) mikobakterileri üretmek için hazırlanmış, yüzyılı aşkın süredir kullanılan klasik yumurta temelli besiyeridir. LJ hazırlanırken katılaşması için besiyerine yumurta eklendikten sonra 50 dakika 85°C'de tutulması gerekir. Bu ısıtma işlemi yumurtadaki bakteri üremesi için gerekli bazı maddelerin bozulmasına neden olur.

LÖWENSTEIN JENSEN COOL temel içerik olarak LJ ile aynı olmasına karşın, özel formülü sayesinde yumurta eklendikten sonra ısıtmaya gerek kalmadan katılaşır. Böylece pişirme sırasında bozulan üreme için gerekli bazı maddelerin oranı LJ besiyerine kıyasla daha fazla olur. Bu, mikobakterilerin üremesini hızlandırır.

Genel Bilgi:

Klinik örnek dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra besiyerine ekilir. Ekimden 2-6 hafta sonra koloniler görülür hale gelir.

Yöntemin kısıtlı yanları:

LÖWENSTEIN JENSEN COOL gliserol içerir. Besiyerine gliserol eklemek *Mycobacterium tuberculosis*'in üremesini hızlandırırken, *M.bovis*'in pek çok kökeni için inhibe edici etkiye sahiptir. *M.bovis* izolasyonu için gliserolsüz **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** kullanılmalıdır.

Yöntemin Bilimsel Temeli:

LÖWENSTEIN JENSEN COOL mikobakteriyel üreme için gerekli olan tüm besinleri içeren zengin bir besiyeridir. Yumurta ekledikten sonra besiyerinin ısıtılmadan katılaştırılması, besiyerine ek zenginlik katmaktadır. Yumurta albümini, mikobakteriyel üreme sırasında ortaya çıkan, toksik yağ asitlerine bağlanır. Besiyerine yeşil rengini veren malaşit yeşili, diğer pek çok farklı türde bakterinin üremesini inhibe ederek bu boyaya karşı dirençli olan mikobakteriler için seçici bir besiyeri oluşturur.^{1,2}

İçerik:

Potasyum dihidrojen fosfat, magnezyum sülfat, magnezyum sitrat, asparajin, malaşit yeşili, gliserol, kıvam artırıcı kimyasallar ve yumurta.

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.
- 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.
- Klinik örneklerde bakteriler dışında Hepatit B virüsü, "Human Immunodeficiency Virus" (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.

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 sepetler 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:

Besiyerlerinde renk değişikliği, kontaminasyon, kuruma veya çatlama söz konusu ise besiyerini kullanmayınız.

Kültür için Örnek Toplanması ve Hazırlanması:

Balgam gibi *M. tuberculosis* dışında başka mikroorganizmalar içeren klinik örneklerin **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** besiyerine ekimine hazır hale getirebilmek için dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi gereklidir.³ Beyin omurilik sıvısı gibi, steril vücut bölgelerinden alınan örnekler ise doğrudan **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** besiyerine ekilebilir.

Önerilen Yöntemler:

Dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi için pH'ın iyi ayarlanmasını sağlayan **DECOCENT** veya pH'ın iyi ayarlanmasını sağlamanın yanı sıra santrifüj gereksinimini ortadan kaldıran **DECOMICS** kitlerimizi öneririz.

Ekimler, düzey II biyogüvenlik odacığında gerçekleştirilmelidir. Standart tüpte **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** kullanıyorsanız ekimden sonra tüpleri 30 dakika boyunca eğimli yüzey, yere yatay olacak şekilde bekletiniz. Böylece sıvının besiyerinin tüm yüzeyi tarafından emilmesi ve mikobakterilerin besiyeri yüzeyine tutunması sağlanmış olur.

"Clever" tüp, hem dik hem de besiyeri yüzeye paralel yatırılacak şekilde tasarlanmıştır. Tüpün kısa boyu pipetle ekim veya özeye koloni alma gibi işlemler sırasında pipet veya özenin steril olmayan kısmının tüp içerisine girişini engelleyerek kontaminasyon olasılığını azaltır. Ekim sonrası tüplerin yatık olarak inkübatörde inkübe edilebilmesi, ekim sonrası besiyerine örneğin yayılması ve bakterilerin tutunması için beklemeye gereksinimini ortadan kaldırır. Clever tüplerdeki **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** kendi karton kutuları içerisinde inkübatöre üst üste konarak yerleştirilebilir. Karbondioksitli inkübatör kullanmıyorsanız ve besiyeri uzun inkübasyon sürelerinde kuruma eğilimi gösteriyorsa kapağı sıkıca kapatınız.

Verilen Malzemeler:

Standart tüplerdeki ürün 150 adetlik karton kutularda sunulmaktadır.

"Clever" tüplerdeki ürün 22 adetlik 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. Inkübasyonlar 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:

1. **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** tüpünün üzerine hasta ve örneğe ait gerekli bilgileri yazınız.
2. Tüpün kapağını açınız.
3. Dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemleri yapılmış klinik örnekten veya steril vücut bölgelerinden doğrudan alınan örneği 200-500µL besiyerine ekiniz.



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

4. Tüpün kapağını, gaz alış-verişini engellemeyecek şekilde çok sıkımadan kapatınız. (Karbondioksitli inkübatöre konmayan besiyerleri standart inkübatörde uzun sürede kurumaya eğilimli olurlar. Bu durumda hem tüpte karbondioksit birikmesi hem de kurumanın engellenmesi için kapak sıkıca kapatılabilir.)
5. Standart tüpte **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** kullanıyorsanız, örneğin besiyeri yüzeyine düzgün yayılması ve bakterilerin tutunabilmesi için ekim sonrası tüplerdeki besiyerini yere paralel olacak şekilde yatırarak yarım saat bekletiniz. "Clever" tüpte **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** kullanıyorsanız tüpleri doğrudan inkübatöre yatık olarak koyup bütün inkübasyonu bu şekilde yapabilirsiniz.
6. Ekim yapılan tüpü 37°C' lik standart inkübatör veya olanaklı ise karbondioksitli inkübatöre koyunuz.

Sonuçlarının Değerlendirilmesi:

Kültür besiyeri, 2-3 günde bir kontrol edilmelidir. Herhangi bir üreme görüldüğünde mikobakteri varlığını saptamak için aside dirençli boyama sonrası mikroskop ile inceleme yapılmalıdır. Eğer üreme gözlenmezse test sonucunu negatif olarak verebilmek için inkübasyonu en az 6 hafta sürdürmek gerekmektedir.

Kalite Kontrol:

Kalite kontrol için *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra ve *Mycobacterium smegmatis* kullanılmıştır.

Yöntemin Kısıtlı Yanları:

Örneğin pH' ı dekontaminasyon ve konsantrasyon uygulaması sırasında dikkatlice ayarlanmalıdır. Eğer pH uygun olarak ayarlanmazsa mikobakteriler **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** besiyerinde üreyemeyebilirler. Değiştirilmiş, geliştirilmiş formülü sayesinde **LÖWENSTEIN JENSEN COOL** üzerindeki *M. tuberculosis* kolonileri, klasik Löwenstein Jensen besiyerinde daha sarımsı krem rengi görünen kolonilere kıyasla beyaz görünecektir. Bu tamamen normal beklenen bir sonuçtur.

Performans Özellikleri:

LÖWENSTEIN JENSEN COOL besiyerinde *M. tuberculosis* saptanması için gereken zaman genellikle 2 ile 6 hafta arasındadır.

Raf ömrü:

Altı ay.

Kaynaklar:

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. *Mycobacteria*. In *Diagnostic Microbiology* 5th Ed. 1997. 892-952.
2. 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.
3. 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.

Üretici Firma:

İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti.

Ahmet Yesevi Mah. Kerem Sok.

No:9/1-7

Pendik 34903

İSTANBUL, TÜRKİYE

Katalog Numarası:

TL060-065

