



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

TK PZA KİT

PIRAZİNAMİT DUYARLILIĞI SAPTAMAK İÇİN HIZLI TEST KİTİ

Katalog No:TK280

Kullanım Yönergesi

Canlı Dışında Kullanım İçindir

Ürünün İsmi:

TK PZA KİT

Kullanım Amacı:

TK PZA KİT, mikobakterilerin pirazinamid duyarlılığının 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. Renk değişikliği çıplak gözle kolayca değerlendirilebildiği gibi tüpler çok gelişmiş bir otomatik inkübatör ve okuyucu olan **MYCOLOR TK** ile de izlenebilir. Pirazinamid etkisini pH 5.5-6.0 arasında gösterebilen bir ilaştır. Pirazinamid bir önilaştır. Mikobakteri içerisine girdikten sonra pirazinamidaz enzimi tarafından pirazinoik aside çevrilir. Asıl antimikobakteriyel etki gösteren madde pirazinoik asittir. Nötral pH (pH 7.0) civarında bakteri içerisinde oluşan pirazinoik asit, aktif dışa atım pompası tarafından hızla dışarıya atıldığı için ilaç etkisini gösteremez. Düşük pH'da ise bu pompa etkin çalışmaz ve ilaç etkili olur. Mikobakteri enfeksiyonlarına karşı önemli savunma hücreleri olan makrofajlara girip bu hücrelerin fagozom pH'sı 5.5'de etki gösterebilen bir ilaç olduğu için pirazinamid tüberküloz basillerinin vücuttan tamamen temizlenmesinde önemli bir yer tutar. Pirazinamid karşı direnç genellikle pirazinamidaz enzim aktivitesini bozan genetik değişiklikler sonucunda pirazinamidin aktif ilaç pirazinoik aside dönüşmesinin bozulması sonucunda ortaya çıkar.^{1,2}

Yöntemin kısıtlı yanları:

TK PZA KİT sadece mikobakterilerin pirazinamid duyarlılığını saptamak amacı ile geliştirilmiştir.

Yöntemin Bilimsel Temeli:

Nötral pH (pH 7.0) civarında bakteri içerisinde oluşan pirazinoik asit hızla dışarıya atıldığı için pirazinamid etkisini gösteremez. Bu nedenle bugüne dek pirazinamid duyarlılık testleri pH'sı 5.5-6.0 arasına ayarlanmış besiyerlerinde yapılabilmektedir. **TK PZA KİT** dışa atım pompası inhibitörlü özel bir üreme kontrol besiyeri ve yine dışa atım pompa inhibitörlü pirazinamitli bir besiyerinden oluşur. Bu sayede test, nötral pH civarında gerçekleştirilebilmektedir. Test edilecek suş her iki besiyerine de ekilir. Kontrol besiyerinde üreme olup ilaçlı besiyerinde üreme olmaması tüberküloz basillerin pirazinamid duyarlı, üreme olması ise dirençli olduğunu gösterir.^{1,2,3}

İçerik:

TK MEDIUM da polipeptitler, karbohidratlar, tuzlar, renk belirteçleri ve vitaminler bulunur. **TK PGC** kontrol tüpü bu maddelere ek olarak aktif pompa inhibitörü rezepin ve **TK PZA** tüpü ise rezepinle birlikte pirazinamid içermektedir (beyaz kapak).

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

DILUTION TUBE T80 Tween80 çözeltisi içermektedir (mor kapak).

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 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.

Örnek Hazırlama:

Löwenstein-Jensen, Middlebrook Besiyeri, **TK MEDIA** veya **TK MEDIA** gibi herhangi bir besiyerinde üretilmiş mikobakteri **TK PZA KİT** ile incelemeye alınabilir.

Önerilen Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığında yapılmalıdır.

Verilen Malzemeler:

Ürün 15' lik setler halinde karton kutularda sunulmaktadır. Her set 1 **TK PGC**, 1 **TK PZA**, 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:

Örnek işlenmesinden ekime dek geçen sürenin üreme üzerine etkisi belirlenmemiş olmakla birlikte örnek hazırlandıktan hemen sonra ekim yapılması önerilir.

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 en az 30 saniye vorteks yardımı ile karıştırınız.
2. Polikarbonat boncuklu tüpteki süspansiyondan **DILUTION TUBE T80** seyreltim tüpüne 500µL aktarıp karıştırarak seyreltiniz.
3. Bir **TK PGC** bir de **TK PZA** tüpü 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.)



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

İnkübasyon:

Tüpleri standart bir 37°C inkübatöre veya **MYCOLOR TK** ya yerleştiriniz. **MYCOLOR TK** kullanıyorsanız hasta ve örneğe ait bilgileri kaydediniz. Programda **TK PZA** 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. Eğer **TK PGC** sarıya döndüğünde **TK PZA** sarıya dönmüşse bu mikobakterinin pirazinamide dirençli, kırmızı kalmış ise duyarlı olduğunu gösterir. Mikobakteri suşunda bazen kısmi direnç olabilir. Bu nedenle **TK PGC** rengi sarıya döndüğünde ise kesin sonucu vermeden önce 48 saat daha ilaç içeren tüplerde üreme olup olmadığının gözlenmesi önerilir. Bu gözlenme süresine titizlikle dikkat edilmelidir. 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:

TK PGC ve **TK PZA** daki 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 mikroskopa 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 PGC	Sarı
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TK PZA	Kırmızı
Pirazinamid dirençli mikobakteri:	TK PGC	Sarı
Pirazinamid dirençli mikobakteri:	TK PZA	Sarı
Ekim yapılmamış besiyeri:		Kırmızı

Yöntemin Kısıtlı Yanları:

TK PZA KIT sadece mikobakterilerin pirazinamid duyarlılığını saptamak amacı ile geliştirilmiştir.

Performans Özellikleri:

TK PZA KIT kullanarak, mikobakterilerin pirazinamide duyarlılığının saptanması 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. Zang Y., Mitchison D. The Curious Characteristics of Pyrazinamide. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2003; 7(1):6–21
2. Zang Y., Parmar S., Zhonghe S. Conditions that may affect the results of susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to pyrazinamide. J. Med. Microbiol. 2002; 51:42-49.
3. Kocagöz T., Sarıbaş Z., Şınık G., Öktem S., Aytekin N., Akyar I., Köksalan K. TK PZA: *Mycobacterium tuberculosis*'te Pirazinamid Duyarlılığını Hızlı Saptayabilen Yeni Bir Besiyeri. Trabzon Mikobakteri Günleri. 4-7 Kasım 2009. Trabzon.

Üretici Firma:

İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti.

Ahmet Yesevi Mah. Kerem Sok.

No:9/1-7

Pendik 34903

İSTANBUL, TÜRKİYE

Katalog Numarası:

TK280

