

TERVEZETT ALKALMAZÁS

Az IMMY MycoDDR reagenskészlet tartalmazza a Mycobacterium spp. diagnózisa céljából vett klinikai minták emésztéséhez és dekontaminálásához szükséges összes reagenst.

ÖSSZEFOGLALÁS és MAGYARÁZAT

A normál, transziens jellegű vagy kontamináns baktériumflórát tartalmazó mintákat olyan kémiai dekontaminálási eljárásnak kell alávetni, amely lehetővé teszi a mycobacteriumok hatékony visszanyerését. (1) Az emésztési és dekontaminálási eljárás, valamint az ebben a készletben használt reagensek a Kubica et al. által leírtakon alapulnak. (2) A mukolitikus hatású N-acetil-L-cisztein (NALC) vegyületet egy nátrium-hidroxid/nátrium-citrát oldattal kombinálják: a nátrium-citrát célja a nyák megemésztése, míg a nátrium-hidroxid magas pH-ja elpusztítja a szennyező baktériumokat. Ez az oldat a magas pH-ja miatt 15-20 perc elteltével a mycobacteriumokat is képes elpusztítani, emiatt kritikus az emésztési-dekontaminációs folyamat időzítése.

Az emésztési/fertőtlenítési folyamat után ugyanilyen fontos, hogy az oldat pH-értékét a lehető leggyorsabban semlegesre állítsák vissza. A 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagens pH-indikátort tartalmaz, amelynek a színe a bázikus pH-nál mutatott kékről közel semleges pH-nál szintelenre változik. Ez lehetővé teszi a laboratóriumi technikus számára az oldat vizuális titrálását a mellékelt „B” semlegesítő puffer segítségével. A kapott oldatot centrifugálni és dekantálni kell. Az így kapott ülepitési pelletet a „C” reszuszpendáló pufferben kell reszuszpendálni.

FIGYELMEZTETÉSEK és ÓVINTÉZKEDÉSEK

- Kizárólag in vitro diagnosztikai felhasználásra
- Óvintézkedések kell tenni a minták közötti keresztzennyeződés elkerülése érdekében. Egy retrospektív vizsgálatban a 140 multirezisztens tuberkulózis eset 16%-a laboratóriumi keresztzennyeződés eredménye volt (3)

A REAGENSEKKEL KAPCSOLATOS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagens maró hatású vegyi anyagot, nátrium-hidroxidot tartalmaz. Kérjük, járjon el óvatossággal ennek az oldatnak a kezelésekor.
- A más minták szennyeződésének vagy a laboratóriumi személyzet fertőződésének megelőzése érdekében a biológiai veszélyekre vonatkozó szokásos óvintézkedéseket kell alkalmazni, amikor olyan klinikai mintákkal dolgoznak, amelyek életképes tuberkulózisjeleket tartalmazhatnak.

MELLÉKELT REAGENSEK

Mennyiségek REF-szám szerint					
REF	NALC (300 mg-os ampulla)	2,5% NaOH- „A” reagens (60 ml-es palack)	Semlegesítő „B” puffer (30 ml-es palack)	Reszuszpendáló „C” puffer (3 ml-es palack)	Reszuszpendáló „C” puffer (60 ml-es palack)
TBNN1010-2.5	10	10	Nincs	Nincs	Nincs
TBP300-5	5	Nincs	Nincs	Nincs	Nincs
TBPN67-60	Nincs	Nincs	60	Nincs	Nincs
TBPN67-8	Nincs	Nincs	8 x 500 ml-es palack	Nincs	Nincs
TBRB30-60	Nincs	Nincs	Nincs	60	Nincs

NEM MELLÉKELT ANYAGOK

- Centrifuga
- Vortex-keverő
- Steril pipetták
- Mikroszkópos tárgylemezek
- Centrifugacsövek
- TB táptalaj

A REAGENS ELŐKÉSZÍTÉSE

Megjegyzés: A 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagens a NALC reagens hozzáadása után 72 órán keresztül aktív marad. A legjobb eredmény elérése érdekében a maradék reagenst ezen időtartam elteltével meg kell semmisíteni.

- Lazítsa meg a 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagenst tartalmazó ampulla kupakját.
- A műanyag biztonsági védőhévely eltávolítása nélkül, óvatosan törje le a NALC port tartalmazó üvegampulla csúcsát.
- Adja hozzá a NALC port a 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagenst tartalmazó ampullához. Jelenleg nem szükséges rehidratálni az ilyenkor az ampullában visszamaradó maradék NALC port.

A REAGENS STABILITÁSA ÉS TÁROLÁSA

Az ebben a csomagban található MycoDDR reagensek 15–30 °C-on tárolva a címkén feltüntetett lejárati időig stabilak.

A 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagens és az NALC por összekeverése után a fel nem használt rész 2–8 °C-on legfeljebb 72 órán át tárolható. Ne fagyassza le és ne melegítse 30 °C fölé. Használat előtt hagyja a terméket szobahőmérsékletre melegedni.

MINTAGYŰJTÉS ÉS -FELDOLGOZÁS

A klinikai mintákat meghatározott protokollok és szabványok szerint kell összegyűjteni és laboratóriumba szállítani. Kérjük, olvassa el a szükséges gyűjtési és szállítási eljárásokra vonatkozó helyi intézményi irányelveket.

Minden mintát a Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH) irányelveinek vagy a helyi intézményi irányelveknek megfelelően kell kezelni bármely potenciálisan fertőző humán szérumba, vérre vagy más testfolyadékra vonatkozóan. Ártalmatlanítás előtt autoklávozással sterilizálja a mintatárolókat és más szennyezett anyagokat.

A MINTAFELDOLGOZÁS MENETE

- Feldolgozás előtt helyezze a klinikai mintákat (50 ml-es centrifugacsőben) egy megfelelő biológiai biztonsági fülkébe.
- Lazítsa meg, de ne távolítsa el az egyes mintavételi csövek kupakjait. Fontos, hogy egyszerre csak egy mintát nyisson ki, ezzel megelőzve a kupakok felcserélését
- Egyszerre egy mintával dolgozva, aszeptikusan pipetázzon bele a minta térfogatával megegyező térfogatú (legfeljebb 10 ml) elkészített 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagenst/NALC reagenst (lásd A reagensek előkészítése fejezetet). A 10 ml-nél nagyobb térfogatú mintákat két csőbe szét kell osztani, és azokat külön kell feldolgozni. Ezután az ülepités/reszuszpendálás lépéseit követően kapott pelletet egyesíteni kell.
- Szorítsa meg a kupakokat a centrifugácson, és vortexelje mindegyiket körülbelül 30 másodpercig.
- Hagyjon a mintákat szobahőmérsékleten inkubálódni 15-20 percig, közben 5 percenként rövid ideig vortexelje azokat.
- Az inkubációs lépés után távolítsa el a kupakot az egyik mintatartó csőről, és lassan kezdje el átönteni a „B” semlegesítő puffer ampullájának tartalmát a csőbe. Figyelje meg a csőben lévő folyadék színét, és hagyja abba az öntést, amikor az oldat színe tisztára vagy szintelenre vált.
- Használat után semmisítse meg a maradék „B” semlegesítő puffert.
- Ismételje meg minden egyes minta esetében a 6. és 7. lépést, mindegyiknél külön „B” semlegesítő puffert tartalmazó ampullát használva. Ne használja fel újra az ampullát több mintához, mert ez keresztzennyeződéshez és hibás eredményekhez vezethet.
- Szorítsa meg a kupakot minden csővön.
- Centrifugáljon minden csövet 15 percig 3000 x g sebességgel.
- Helyezze vissza a mintavető csöveket a biológiai biztonsági fülkébe.
- A keresztzennyeződés megelőzése érdekében lassan öntse le az összes felülúszót egy fröccsenésgátló tartályba, amely egy megfelelő fertőtlenítőszerez részben fel lett töltve, vagy egy külön eldobható mintahulladék-csőbe.
- Steril átvívó pipettával adjon hozzá kb. 0,5-1,0 ml-t egy ampulla „C” reszuszpendáló pufferből a pelletbe és összekeverve reszuszpendálja.
- Készítse elő a megfelelő kenetmintákat saválló festéshez és/vagy oltsa le a táptalajt a laboratóriumi protokolloknak megfelelően.
- Steril átvívó pipetta segítségével adjon további 1,2 ml „C” reszuszpendáló puffert (a laboratóriumi térfogatkövetelményeknek megfelelően) a pellethez.
- Kövesse a gyártó ajánlásait az újrászuszpendált pelletekkel kapcsolatos további diagnosztikai eljárásokra vonatkozóan

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Szemrevételezéssel ellenőrizze a puffereket, hogy megbizonyosodjon arról, hogy azok tiszták és szintelenek, kivéve a 2,5% NaOH-tartalmú „A” reagens oldatot, amelynek kék színűnek kell lennie. Semmisítsen meg minden olyan reagenst, amely csapadékot, homályosságot vagy zavarosságot mutat.

AZ ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS MEGJEGYZÉSEK

A Pseudomonas-fajokkal folyamatosan szennyezett mintáknál további oxálsavkezelésre lehet szükség a Kent és Kubica által leírtak szerint (2).

KORLÁTOZÁSOK

A fent ismertetett eljárás pontos betartása szükséges. A pontatlan időzítés, pufferelés, dekantálás stb. az életképes Mycobacterium spp. elvesztéséhez és hibás tenyésztési eredményekhez vezethet.

VÁRT EREDMÉNYEK

Az életképes Mycobacterium spp. organizmusok visszanyerése akkor várható, ha azok jelen vannak a klinikai mintában, és a használati útmutatónak megfelelően kerülnek feldolgozásra.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A rutin mycobacterium vizsgálatra benyújtott mintákat párhuzamosan dolgozták fel az IMMY Myco-DDR rendszerrel és a Company A vállalat rendszerével. A mai napig összesen 99 mintát vizsgáltak: 38 tüdőmintát (köpet, BAL, pleurális folyadék) és 61 különféle mintát (szöveti és seb-). A 99 mintából 10 pozitív lett mycobacteriumra. Az IMMY és a Company A közötti általános egyezés kiváló (kappa=0,878, 95%-os CI: 0,712-1,00).

IMMY Co. A	Mycobacteriumra pozitív	Mycobacteriumra negatív
Mycobacteriumra pozitív	8	0
Mycobacteriumra negatív	2	89

HIVATKOZÁSOK

- Cernoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Saubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coord. ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Kent, P., Kubica, G.P., Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1985.
- Small, P.M., N.B. McClenny et al., Molecular Strain Typing of Mycobacterium tuberculosis to confirm cross-contamination in the mycobacteriology laboratory and modification of procedures to minimize occurrence of false-positive cultures. J. Clin. Microbiol. 31(7):1677- 1682.

IMMY, Inc. 2701 Corporate Centre Drive, Norman, OK 73069 U.S.A (405)360-4669/(800) 654-3639 Fax: (405) 364-1058 E-mail: info@immy.com Weboldal: www.immy.com		CE EC REP MDSS Schiffgraben 41 30175 Hannover, Németország	
HASZNÁLT NEMZETKÖZI SZIMBÓLUMOK			
15 °C 30 °C	Tárolás 15-30 °C	LOT	Tételszám
Gyártó		REF	Referenciaszám
Lejárat dátum		IVD	In vitro diagnosztikum
Ce	Megfelel az európai uniós követelményeknek	Σ	„#” számú teszthez elegendő

2,5% NaOH

TERVEZETT ALKALMAZÁS

Az IMMY MycoDDR reagenskészlet tartalmazza a Mycobacterium spp. diagnózisa céljából vett klinikai minták emésztéséhez és dekontaminálásához szükséges összes reagenst.

ÖSSZEFOGLALÁS és MAGYARÁZAT

A normál, tranziens jellegű vagy kontamináns baktériumflórát tartalmazó mintákat olyan kémiai dekontaminálási eljárásnak kell alávetni, amely lehetővé teszi a mycobacteriumok hatékony visszanyerését. (1) Az emésztési és dekontaminálási eljárás, valamint az ebben a készletben használt reagens a Kubica et al. által leírtakon alapulnak. (2) A mukolitikus hatású N-acetil-L-cisztein (NALC) vegyületet egy nátrium-hidroxid/nátrium-citrát oldattal kombinálják: a nátrium-citrát célja a nyák megemésztése, míg a nátrium-hidroxid magas pH-j a elpusztítja a szennyező baktériumokat. Ez az oldat a magas pH-ja miatt 15-20 perc elteltével a mycobacteriumokat is képes elpusztítani, emiatt kritikus az emésztési-dekontaminációs folyamat időzítése.

Az emésztési/fertőtlenítési folyamat után ugyanilyen fontos, hogy az oldat pH-értékét a lehető leggyorsabban semlegesre állítsák vissza. A 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagens pH-indikátort tartalmaz, amelynek a színe a bázikus pH-nál mutatott kékről közel semleges pH-nál szintelenre változik. Ez lehetővé teszi a laboratóriumi technikus számára az oldat vizuális titrálását a mellékelt „B” semlegesítő puffer segítségével. A kapott oldatot centrifugálni és dekantálni kell. Az így kapott ülepet és a „C” reszuszpendáló pufferben kell reszuszpendálni.

FIGYELMEZTETÉSEK és ÓVINTÉZKEDÉSEK

- Kizárólag in vitro diagnosztikai felhasználásra
- Óvintézkedéseket kell tenni a minták közötti keresztzennyeződés elkerülése érdekében. Egy retrospektív vizsgálatban a 140 multirezisztens tuberkulózisos eset 16%-a laboratóriumi keresztzennyeződés eredménye volt (3)

A REAGENSEKKEL KAPCSOLATOS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagens maró hatású vegyi anyagot, nátrium-hidroxidot tartalmaz. Kérjük, járjon el óvatossággal ennek az oldatnak a kezelésekor.
- A más minták szennyeződésének vagy a laboratóriumi személyzet fertőződésének megelőzése érdekében a biológiai veszélyekre vonatkozó szokásos óvintézkedéseket kell alkalmazni, amikor olyan klinikai mintákkal dolgoznak, amelyek életképes tuberkulózisjeleket tartalmazhatnak.

MELLÉKELT REAGENSEK

Mennyiségek REF-szám szerint					
REF	NALC (300 mg-os ampulla)	3,0% NaOH (60 ml-es palack)	Semlegesítő „B” puffer (30 ml-es palack)	Reszuszpendáló „C” puffer (3 ml-es palack)	Reszuszpendáló „C” puffer (60 ml-es palack)
TBNN1010-3.0	10	10	Nincs	Nincs	Nincs
TBP300-5	5	Nincs	Nincs	Nincs	Nincs
TBPN67-60	Nincs	Nincs	60	Nincs	Nincs
TBPN67-8	Nincs	Nincs	8 x 500 ml-es palack	Nincs	Nincs
TBRB30-60	Nincs	Nincs	Nincs	60	Nincs

NEM MELLÉKELT ANYAGOK

- Centrifuga
- Vortex-keverő
- Steril pipetták
- Mikroszkópos tárgylemezek
- Centrifugacsövek
- TB táptalaj

A REAGENS ELŐKÉSZÍTÉSE

Megjegyzés: A 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagens a NALC reagens hozzáadása után 72 órán keresztül aktív marad. A legjobb eredmény elérése érdekében a maradék reagenst ezen időtartam elteltével meg kell semmisíteni.

- Lazítsa meg a 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagenst tartalmazó ampulla kupakját.
- A műanyag biztonsági védőhüvely eltávolítása nélkül, óvatosan törje le a NALC port tartalmazó üvegampulla csúcsát.
- Adja hozzá a NALC port a 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagenst tartalmazó ampullához. Jelenleg nem szükséges rehidratálni az ilyenkor az ampullában visszamaradó maradék NALC port.

A REAGENS STABILITÁSA ÉS TÁROLÁSA

Az ebben a csomagban található MycoDDR reagens 15–30 °C-on tárolva a címkén feltüntetett lejárati időig stabilak.

A 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagens és az NALC por összekeverése után a fel nem használt rész 2–8 °C-on legfeljebb 72 órán át tárolható. Ne fagyassza le és ne melegítse 30 °C fölé. Használat előtt hagyja a terméket szobahőmérsékletre melegedni.

MINTAGYÚJTÁS ÉS -FELDOLGOZÁS

A klinikai mintákat meghatározott protokollok és szabványok szerint kell összegyűjteni és laboratóriumba szállítani. Kérjük, olvassa el a szükséges gyűjtési és szállítási eljárásokra vonatkozó helyi intézményi irányelveket. Minden mintát a CDC/NIH irányelveinek vagy a helyi intézményi irányelveknek megfelelően kell kezelni bármely potenciálisan fertőző humán szérumba, vérre vagy más testfolyadékra vonatkozóan. Ártalmatlanítás előtt autoklávozással sterilizálja a mintatárolókat és más szennyezett anyagokat.

A MINTAFELDOLGOZÁS MENETE

- Feldolgozás előtt helyezze a klinikai mintákat (50 ml-es centrifugacsőben) egy megfelelő biológiai biztonsági fülkébe.
 - Lazítsa meg, de ne távolítsa el az egyes mintavételi csövek kupakjait. Fontos, hogy egyszerre csak egy mintát nyisson ki, ezzel megelőzve a kupakok felcserélését
 - Egyszerre egy mintával dolgozva, aseptikusan pipettázzon bele elkészített 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagenst/NALC reagenst (lásd A reagens előkészítése fejezetet) az alábbi táblázatban ismertetettek szerint:
- | MINTA | 3,0% NaOH Hozzáadandó térfogat |
|---------|--|
| 1-9 ml | Minta térfogatával megegyező |
| 9-10 ml | 9 ml |
| >10 ml | Felezze meg a mintát és dolgozza fel külön. Egyesítse a pilleket |
- Szorítsa meg a kupakokat a centrifugácson, és vortexelje mindegyiket körülbelül 30 másodpercig.
 - Hagyjon a mintákat szobahőmérsékleten inkubálódni 15-20 percig, közben 5 percenként rövid ideig vortexelje azokat.
 - Az inkubációs lépés után távolítsa el a kupakot az egyik mintatartó csőről, és lassan kezdje el átönteni a „B” semlegesítő puffer ampullájának tartalmát a csőbe. Figyelje meg a csőben lévő folyadék színét, és hagyja abba az öntést, amikor az oldat színe tisztára vagy szintelenre vált.
 - Használat után semmisítse meg a maradék „B” semlegesítő puffert.
 - Ismétlje meg minden egyes minta esetében a 6. és 7. lépést, mindegyiknél külön „B” semlegesítő puffert tartalmazó ampullát használva. Ne használja fel újra az ampullát több mintához, mert ez keresztzennyeződéshez és hibás eredményekhez vezethet.
 - Szorítsa meg a kupakot minden csővön.
 - Centrifugáljon minden csövet 15 percig 3000 x g sebességgel.
 - Helyezze vissza a mintavető csöveket a biológiai biztonsági fülkébe.
 - A keresztzennyeződés megelőzése érdekében lassan öntse le az összes felülúszót egy fröcsenésztől tartályba, amely egy megfelelő fertőtlenítőszerrel részben fel lett töltve, vagy egy külön eldobható mintahulladék-csőbe.
 - Steril átvívó pipettával adjon hozzá kb. 0,5-1,0 ml-t egy ampulla „C” reszuszpendáló pufferből a pelletbe és összekeverve reszuszpendálja.
 - Készítse elő a megfelelő kenetmintákat saválló festéshez és/vagy oltsa le a táptalajt a laboratóriumi protokolloknak megfelelően.
 - Steril átvívó pipetta segítségével adjon további 1,2 ml „C” reszuszpendáló puffert (a laboratóriumi térfogatkövetelményeknek megfelelően) a pellethez.
 - Kövesse a gyártó ajánlásait az újrereszuszpendált pilletekkel kapcsolatos további diagnosztikai eljárásokra vonatkozóan

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Szemrevételezéssel ellenőrizze a puffereket, hogy megbizonyosodjon arról, hogy azok tiszták és szintelenek, kivéve a 3,0% NaOH-tartalmú „A” reagens oldatot, amelynek kék színűnek kell lennie. Semmisítsen meg minden olyan reagenst, amely csapadékat, homályosságot vagy zavarosságot mutat.

AZ ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS MEGJEGYZÉSEK

A Pseudomonas-fajokkal folyamatosan szennyezett mintáknál további oxálsavkezelés lehet szükség a Kent és Kubica által leírtak szerint (2).

KORLÁTOZÁSOK

A fent ismertetett eljárás pontos betartása szükséges. A pontatlan időzítés, pufferelés, dekantálás stb. az életképes

Mycobacterium spp. elvesztéséhez és hibás tenyésztési eredményekhez vezethet.

VÁRT EREDMÉNYEK

Az életképes Mycobacterium spp. organizmusok visszanyerése akkor várható, ha azok jelen vannak a klinikai mintában, és a használati útmutatónak megfelelően kerülnek feldolgozásra.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A rutin mycobacterium vizsgálatra benyújtott mintákat párhuzamosan dolgozták fel az IMMY Myco-DDR rendszerrel és a Company A vállalat rendszerével. A mai napig összesen 99 mintát vizsgáltak: 38 tődmintát (köpet, BAL, pleurális folyadék) és 61 különféle mintát (szöveti és seb-). A 99 mintából 10 pozitív lett mycobacteriumra. Az IMMY és a Company A közötti általános egyezés kiváló (kappa=0,878, 95%-os CI: 0,712-1,00).

IMMY Co. A \ Mycobacteriumra	Mycobacteriumra pozitív	Mycobacteriumra negatív
Mycobacteriumra pozitív	8	0
Mycobacteriumra negatív	2	89

HIVATKOZÁSOK

- Cernoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Saubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coord. ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Kent, P., Kubica, G.P., Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1985.
- Small, P.M., N.B. McClenny et.al., Molecular Strain Typing of Mycobacterium tuberculosis to confirm cross-contamination in the mycobacteriology laboratory and modification of procedures to minimize occurrence of false-positive cultures. J. Clin. Microbiol. 31(7):1677-1682.

IMMY, Inc.
2701 Corporate Centre Drive. Norman,
OK 73069 U.S.A
(405)360-4669/(800) 654-3639
Fax: (405) 364-1058
E-mail: info@immy.com
Weboldal: www.immy.com



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Németország

HASZNÁLT NEMZETKÖZI SZIMBÓLUMOK

15 °C 30 °C	Tárolás 15-30 °C	LOT	Tételszám
Gyártó	Gyártó	REF	Referenciaszám
Lejárat dátum	Lejárat dátum	IVD	In vitro diagnosztikum
CE	Megfelel az európai uniós követelményeknek	Σ	„#” számú teszthez elegendő

3,0% NaOH