

GABBETT REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Kontrastna plava boja za bojenje acidorezistentnih bakterija prema Kinyoun metodi UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: GAB-OT-100 (100 mL)

GAB-OT-250 (250 mL)

GAB-OT-500 (500 mL)

GAB-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Mnoge bakterijske stanice lako se boje jednostavnim bojama ili Gram bojom. Međutim, nekoliko bakterijskih rodova, poput *Mycobacteria* i *Nocardia*, ne mogu se obojiti jednostavnim bojama ili, ako se oboje, rezultati se jako razlikuju. Stanične stijenke roda *Mycobacteria* sadrže voštanu tvar - mikoličnu kiselinu. To su β-hidroksi karboksilne kiseline lanaca duljine do 90 atoma ugljika. Svojsstvo acidorezistentnosti povezuje se s dužinom lanca mikolične kiseline. Za bojanje takvih bakterijskih rodova potrebna je viša koncentracija boje ili duži period zagrijavanja. Međutim, kada se bakterije oboje, boju je još teže ukloniti iz stanice. Takve bakterije nazivaju se acidorazistentnima zbog toga što i nakon dekolorizacije kiselim alkoholom zadržavaju primarnu boju (Carbol Fuchsin). Rana laboratorijska dijagnoza tuberkuloze temelji se na pregledu obojenih razmaza, a odličan izbor među dijagnostičkim metodama predstavlja mikroskopiranje ispljuvka. Alternativa Ziehl-Neelsenovoj metodi za dokazivanje prisutnosti bakterija tuberkuloze je metoda po Kinyounu po kojoj nije potrebno zagrijavanje stakalca s uzorkom. Kinyoun metoda kao glavnu boju koristi Carbol fuchsin, kiselu alkohol kao sredstvo za dekolorizaciju i TB Malachite Green reagens kao kontrastnu boju. Umjesto TB Malachite Green reagensa, može se koristiti i Gabbett reagens koji sadrži plavu, Methylene blue boju.

Opis proizvoda

- **GABBETT REAGENS** – Kontrastna plava otopina za bojenje acidorezistentnih bakterija.

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Predmetna stakla za primjenu u mikrobiologiji poput VitroGnost ECONOMY GRADE ili predmetna stakla za primjenu u citologiji poput VitroGnost STANDARD GRADE ili predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- Otopina primarne boje za primjenu u postupcima bojanja prema Ziehl-Neelsenu ili Kinyounu poput BioGnostovog TB Carbol Fuchsin reagensa ili TB Carbol Fuchsin Kinyoun reagensa
- Otopina dekolorizatora za primjenu u postupcima bojenja prema Ziehl-Neelsenu ili Kinyounu poput BioGnostovog TB Dekolorizatora
- Otopina kontrastne boje za primjenu u postupcima bojenja prema Ziehl-Neelsenu poput BioGnostovog Methylene Blue Loeffler reagensa
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Cedrovog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, B, NVH, FF i 37

Priprema uzorka za bojenje

- Pomoću sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo.
Napomena: Uzorak može biti ispljuvak, punkcijski uzorak, sediment ili histološki preparat.
- Ravnomjerno raširiti uzorak po predmetnom staklu uz pomoć 1-2 kapi fiziološke otopine.
- Nakon sušenja na zraku, fiksirati uzorak iznad plamena Bunsenovog plamenika kratko provlačeći predmetno staklo kroz konus plamena 2-3 puta.
Napomena: Uzorke je moguće fiksirati i u pećnici na 100°C do 110 °C kroz 20 minuta.
- Ohladiti predmetno staklo i krenuti s postupkom bojenja.
Napomena: Ako je uzorak histološki preparat, nanijeti preparat klasičnim histološkim tehnikama.

Postupak bojenja uzorka prema Kinyoun metodi

1.	Uzorke potpuno prekriti TB Carbol Fuchsin Kinyoun reagensom	20 minuta
2.	Ispirati vodovodnom vodom do obezbojenja vode.	
3.	Potpuno prekriti TB Dekolorizatorom i ostaviti da stoji 15-30 sekundi (ovisno o debljini uzorka).	15-30 sekundi
4.	Bojiti Gabbett reagensom	5 minuta
5.	Dobro ispirati vodovodnom vodom.	
6.	Osušiti preparat.	10-15 sekundi

Rezultat

Acidorezistentne bakterije - crvena boja

Pozadina - plava boja

Napomena

Postupci bojenja u mikrobiologiji nisu standardizirani i ovisno o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojenje uzoraka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojenje može se izvoditi i prema drugim protokolima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno pratiti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se prije primjene provesti pozitivnu i negativnu kontrolu.

Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjericama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjericama. Kemikalije korištene u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjericama dobre

laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u Biognostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Gabbett reagens potrebno je čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na 15°C do 25°C. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Madan, M., Ranjitham, M., Laksham, C. (1999): Cold Staining Method for Acid Fast Bacilli, *Ind. J. Pathol. Microbiol.* 42(4): 505-507
2. Tan Thiam Hok (1962): Simple and rapid Cold Satining Method for Acid Fast Bacteria, *Am. Rev. Resp. Disc.*; 85,753
3. Vasantha K.R., Jagannath,K., Rajasekaran, S. (1986): A Cold Staining Method For Acid Fast Bacilli, *Bull. W.H.O.*, 64 (5), 741.

GAB-OT-X, V2, 21.02.2017., AK/VR

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju		Kataloški broj		Europska sukladnost
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Vrijedi do		Broj serije		Proizvođač
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Oprez lomljivo				



BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

