

# TB AURAMINE-RHODAMINE REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Za primjenu u TB-Stain Fluorescent kompletu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: TBA-OT-100 (100 mL) TBA-OT-250 (250 mL) TBA-OT-500 (500 mL) TBA-OT-1L (1000 mL) TBA-OT-2.5L (2500 mL)

### Uvod

Mnoge bakterijske stanice lako se boje jednostavnim bojama ili Gram bojom. Međutim, nekoliko bakterijskih vrsta, poput *Mycobacteria* i *Nocardia species*, ne mogu se obojiti jednostavnim bojama ili, ako se oboje, rezultati jako variraju. Stanične stijenke vrste *Mycobacteria* sadrže masne kiseline zbog čega se teško boje. Kako bi se obojale, potrebna je viša koncentracija boje ili duži period zagrijavanja. Međutim, kada se oboje, boju je još teže ukloniti iz stanice. Takve bakterije nazivaju se acidorazistentnima zbog toga što i nakon djelovanja kiselim alkoholom (3%-tna alkoholna otopina HCl) stanice zadržavaju primarnu boju. Fluorescencija se već mnogo godina koristi za dokazivanje acidorezistentnih bakterija. Fluorescencijska metoda je osjetljivija od metode po Kinyounu te je potrebno kraće vrijeme za proučavanje. Metoda kao glavnu boju koristi Auramine-Rhodamine, kiseli alkohol (0,75%-tna alkoholna otopina HCl) kao sredstvo za diferencijaciju i kalijev permanganat kao kontrastnu boju.

### Opis proizvoda

- **TB AURAMINE-RHODAMINE REAGENS** - Reagens primarne boje za identifikaciju acidorezistentnih bakterija fluorescencijskom metodom.

### Primjer primjene TB Auramine-Rhodamine reagensa kao komponente TB-Stain Fluorescent kompleta

#### Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojanja:

- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovih neutralno puferiranih otopina formaldehida: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za prosvjetljavanje poput BioClear ksilena ili supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus, BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount DPX Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- TB Permanganat reagens - za primjenu u TB-Stain Fluorescent kompletu, kat. br. TBP-OT-100; TBP-OT-250; TBP-OT-500; TBP-OT-1L; TBP-OT-2.5L
- TB Dekolorizator Fluorescent - za primjenu u TB-Stain Fluorescent kompletu, kat. br. TBF-OT-100; TBF-OT-250; TBF-OT-500; TBF-OT-1L; TBF-OT-2.5L

### Priprema preparata za bojanje

#### ISPLJUVAK

- Uzorak ispljuvka potrebno je tretirati preparatom koji sadrži hipoklorit kako bi se izolirale mikobakterije iz okolne sluzi.

#### PUNKCIJSKI UZORCI, SEDIMENTI

- Nakon provođenja odgovarajućih mjera obogaćivanja, razmazati uzorak po predmetnom staklu i osušiti na zraku.

#### HISTOLOŠKI PREPARATI

- Prosvjetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New)
- Rehidrirati uzorak kroz seriju silaznih alkoholnih otopina (Histanol 100, Histanol 95, Histanol 80 i Histanol 70).

Napomena: priprema uzorka ovisi o vrsti uzorka. Priprema nije potrebna za sve vrste uzoraka. Uzorke je potrebno fiksirati toplinom - na Bunsenovom plameniku ili u pećnici.

### Postupak bojanja uzorka

#### a) Histološki preparati

1.	Uzorke potpuno prekriti TB Auramine-Rhodamine reagensom	15 min
2.	Ispirati vodovodnom vodom	10 min
3.	Potpuno prekriti TB Dekolorizator Fluorescent reagensom	1 min
4.	Isprati vodovodnom vodom	5 min
5.	Bojiti TB Permanganat reagensom	5 min
6.	Dobro isprati vodovodnom vodom	5 min
7.	Osušiti preparat	

#### b) Citološki uzorci (ispljuvak, razmazi)

1.	Uzorke potpuno prekriti TB Auramine-Rhodamine reagensom	2 min
2.	Ispirati vodovodnom vodom (do obezbojenja vode)	
3.	Potpuno prekriti TB Dekolorizator Fluorescent reagensom	1 min
4.	Isprati vodovodnom vodom (do obezbojenja vode)	
5.	Bojiti TB Permanganat reagensom	30 sekundi
6.	Dobro isprati vodovodnom vodom	
7.	Osušiti preparat	

## Rezultat

Acidorezistentne bakterije - crveno-narančasta boja ili žuto zelena boja (ovisi o korištenoj kombinaciji filtera na mikroskopu)  
Pozadina - crna boja

## Napomena

Vremenski periodi postupka bojanja nisu standardizirani. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojanja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

## Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno pratiti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojanja 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 smjernicama 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 smjernicama. 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 smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu dostupnim na zahtjev.

## Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

TB Auramine-Rhodamine reagens 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. Madison B (2001). "Application of stains in clinical microbiology". *Biotech Histochem* **76** (3): 119–25.
2. Ryan KJ, Ray CG (editors) (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill.
3. Margaret A. Bartelt, 2000: Diagnostic Bacteriology: A Study Guide, F.A. Davis Company.

TBA-OT-X, V6, 24.02.2021., KB/IŠP

	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

