

TB PERMANGANAT REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

Za primjenu u TB-Stain Fluorescent kompletu

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: TBP-OT-100 (100 mL) TBP-OT-250 (250 mL) TBP-OT-500 (500 mL) TBP-OT-1L (1000 mL) TBP-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 stjenke 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 acidorezistentnima zbog toga što i nakon djelovanja kiselim alkoholom (3%-tina alkoholna otopina HCl) stanice zadržavaju primarnu boju. Fluorescencija se već mnogo godina koristi za dokazivanje acidorezistentnih bakterija. Fluoresencijska metoda je osjetljivija od metode po Kinyounu te je potrebitno kraće vrijeme za proučavanje. Metoda kao glavnu boju koristi Auramine-Rhodamine, kiseli alkohol (0,75%-tina alkoholna otopina HCl) kao sredstvo za diferencijaciju i kalijev permanganat kao kontrastnu boju.

Opis proizvoda

- TB PERMANGANAT REAGENS** - Kontrastna boja za identifikaciju acidorezistentnih bakterija fluorescencijskom metodom.

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za prosvjjetljavanje poput BioClear ksilena ili supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- 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 30-tak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- 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
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- TB Dekolorizator Fluorescent - za primjenu u TB-Stain Fluorescent kompletu, kat. br. TBF-OT-100; TBF-OT-110, TBF-OT-250; TBF-OT-500
- TB Auramine-Rhodamine reagens - za primjenu u TB-Stain Fluorescent kompletu, kat br. TBA-OT-100; TBA-OT-110, TBA-OT-250; TBA-OT-500

Priprema preparata za bojanje

ISPLJUVAK

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

PUNKCIJSKI UZORCI, SEDIMENTI

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

HISTOLOŠKI PREPARATI

- Prosvijetliti uzorak 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

Otopina	Vrijeme primjene (minute)
Auramine-Rhodamine	15
Isprati vodovodnom vodom	10
TB dekolorizator fluorescent	1
Isprati vodovodnom vodom	5
Kalijev permanganat	5
Isprati vodovodnom vodom i osušiti	5

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 uzorka 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 laboratoriјa. 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-Permanganat 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. Bartlett. 2000: Diagnostic Bacteriology: A Study Guide, F.A. Davis Company.

TBP-OT-X, V6, 19.09.2022., KB/IŠP

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova pakovanju	 Kataloški broj	 Evropska 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		

