

TB-STAIN ECO KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od tri reagensa za bojenje acidorezistentnih bakterija prema modificiranoj Ziehl-Neelsen metodi, ne sadrži fenol

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: TBE-K-100 (4x100 mL)

TBE-K-250 (4x250 mL)

TBE-K-500 (4x500 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. Svojsvo acidorezistentnosti povezuje se s dužinom lanca mikolične kiseline. Za bojenje 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 (TB Fuchsin reagens, bez fenola). Rana laboratorijska dijagnoza tuberkuloze temelji se na pregledu obojenih razmaza, a odličan izbor među dijagnostičkim metodama predstavlja mikroskopiranje ispljivka. Najpoznatija i danas najraširenija metoda za dokazivanje prisutnosti bakterija tuberkuloze je bojenje po Ziehl-Neelsenu. U ovom kompletu koristi se modificirana Ziehl-Neelsen metoda, koja sadrži TB Fuchsin reagens bez fenola, kiseli alkohol kao sredstvo za dekolorizaciju i Methylene Blue otopinu kao kontrastnu boju. BioGnostov TB-Stain ECO komplet sastoji se od TB Fuchsin reagens bez fenola, dva pakovanja TB dekolorizatora i Methylene Blue Loeffler reagensa.

Opis proizvoda

- **TB-STAIN ECO KOMPLET** - Komplet od 3 reagensa u 4 pakovanja za bojenje acidorezistentnih bakterija, ne sadrži fenol.

Komplet sadrži:	4x100 mL (TBE-K-100)	4x250 mL (TBE-K-250)	4x500 mL (TBE-K-500)
TB Fuchsin reagens	100 mL (TBFR-OT-100)	250 mL (TBFR-OT-250)	500 mL (TBFR-OT-500)
TB Dekolorizator	2 x 100 mL (TBD-OT-100)	2 x 250 mL (TBD-OT-250)	2 x 500 mL (TBD-OT-500)
Methylene Blue Loeffler reagens	100 mL (MBL-OT-100)	250 mL (MBL-OT-250)	500 mL (MBL-OT-500)

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

- 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 imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema mikrobioloških preparata za bojenje

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni 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 30-tak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja i Imerzijskih ulja tipova 37, A ili FF

Priprema uzorka za bojenje

- Pomoću sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo.
Napomena: Uzorak mogu biti tjelesne tekućine, iscjedak, gnoj i tekuća ili čvrsta bakterijska kultura.
- Ravnomjerno raširiti uzorak po predmetnom staklu uz pomoć 1-2 kapi fiziološke otopine.
- Nakon sušenja na zraku, fiksirati preparat pomoću Bunsenovog plamenika kratko provlačeći predmetno staklo kroz konus plamena 2-3 puta. Ohladiti predmetno staklo i krenuti s postupkom bojenja.
- Uzorak se može fiksirati i nanošenjem nekoliko kapi metanola na preparat. Ostaviti da djeluje 1-2 minute pa nastaviti s bojenjem.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

1.	Uzorke kratko zagrijati na 80-90°C u termostatu.	
2.	Nanijeti TB Fuchsin reagens i inkubirati u termostatu na 80-90°C.	3-4 minute
	Napomena: Ukoliko dođe do sušenja uzorka, tijekom inkubacije naknadno dodati TB Fuchsin reagens.	
3.	Kapaljkom isprati preparate s 5 mL destilirane (demi) vode.	10 sekundi
4.	Uzorke prekriti TB Dekolorizatorom.	15 sekundi
5.	Kapaljkom isprati preparate s 5 mL destilirane (demi) vode.	10 sekundi
5.	Obojiti Methylene Blue Loeffler reagensom	2-3 minute
6.	Kapaljkom isprati preparate s 3-5 mL destilirane (demi) vode.	
7.	Preparate osušiti na zraku.	

Na osušeni preparat nanijeti kap imerzijskog ulja i gledati pod imerzijskim objektivom.

Rezultat

Acidorezistentne bakterije - crvena boja

Jezgre i pozadina - plava boja

Napomena

Postupci bojenja u mikrobiologiji nisu standardizirani i ovise 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 slijediti uputu proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

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 koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

TB-Stain ECO komplet 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. Ziehl, F. (1882): Zur Färbung des Tuberkelbacillum. Deutsche Medizinische Wochenschrift, V8, pg 451.
2. Neelsen, P. (1883): Zentralblatt für die Medizinischen Wissenschaften, V21, pg497
3. Madison, B. (2001): Application of stains in clinical microbiology. Biotech Histochem 76 (3): 119–25.
4. Ryan, K.J., Ray, C.G. (editors) (2004). Sherris Medical Microbiology (4th ed.). McGraw Hill.

TBE-X, V3, 13.02.2020., NI/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

