

TB-STAIN HOT KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od tri reagensa za bojenje acidorezistentnih bakterija prema Ziehl-Neelsen metodi UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: TBH-100T (za 100 testiranja) TBH-K-100 (4x100 mL) TBH-K-250 (4x250 mL) TBH-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. Svojstvo 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 acidorezistentnima 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. Najpoznatija i danas najraširenija metoda za dokazivanje prisutnosti bakterija tuberkuloze je bojenje po Ziehl-Neelsenu. Ziehl-Neelsen metoda kao glavnu boju koristi Carbol fuchsin, kiseli alkohol kao sredstvo za dekolorizaciju i Methylene Blue otopinu kao kontrastnu boju. BioGnostov TB-Stain Hot komplet sastoji se od TB Carbol Fuchsin reagensa, dva pakovanja TB dekolorizatora i Methylene Blue Loeffler reagensa.

Opis proizvoda

- TB-STAIN HOT** - Komplet od 3 reagensa u 4 pakovanja za bojenje acidorezistentnih bakterija Ziehl-Neelsen metodom.

Komplet sadrži:	za 100 testiranja (TBH-100T)	4 x 100 mL (TBH-K-100)	4 x 250 mL (TBH-K-250)	4 x 500 mL (TBH-K-500)
TB Carbol Fuchsin reagens	30 mL (TBC-OT-30)	100 mL (TBC-OT-100)	250 mL (TBC-OT-250)	500 mL (TBC-OT-500)
TB Dekolorizator	2 x 30 mL (TBD-OT-30)	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	30 mL (MBL-OT-30)	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:

- 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
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema uzorka za bojenje

- Pomoću sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo.
Napomena: Uzorak može biti ispljuvak, punkcijski uzorak ili sediment ispljuvka.
- 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, obraditi uzorak klasičnim histološkim tehnikama.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (TBH-100T)

1.	Nakapati TB Carbol Fuchsin reagens (≥ 5 kapi). Pažljivo zagrijavati predmetno staklo s uzorkom i bojom s donje strane stakla na Bunsenovom plameniku do isparavanja i održavati vrućim 5 minuta. Ne dozvoliti ključanje boje	5 min
2.	Ispirati vodovodnom vodom do obezbojenja vode	
3.	Nakapati TB Dekolorizator i ostaviti da stoji 15-30 sekundi (ovisno o debljini uzorka) (≥ 5 kapi)	15-30 sek
4.	Isprati vodovodnom vodom	
5.	Nakapati Methylene Blue Loeffler reagens (≥ 5 kapi)	30 sek
6.	Dobro isprati vodovodnom vodom	
7.	Osušiti preparat	

b) kompletom s tri reagensa od 100, 250 i 500 mL (TBH-K-100, TBH-K-250, TBH-K-500)

1.	Uzorke potpuno prekriti TB Carbol Fuchsin reagensom. Pažljivo zagrijavati predmetno staklo s uzorkom i bojom s donje strane stakla na Bunsenovom plameniku do isparavanja i održavati vrućim 5 minuta. Ne dozvoliti ključanje boje.	5 min
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 sek

4.	Isprati vodovodnom vodom.	
5.	Bojati BioGnostovim Methylene Blue Loeffler reagensom.	30 sek
6.	Dobro isprati vodovodnom vodom.	
7.	Osušiti preparat	

Rezultat

Acidorezistentne bakterije - crvena boja
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 Hot 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.

TBH-X, V19, 21.10.2019., IŠP/VR

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 REF Kataloški broj	 Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Vrijedi do	 LOT 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

