

TB-STAIN HISTO KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

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

REF Kataloški broj: TBHK-100T (za 100 testiranja)

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 8-hidroksi karboksilne kiseline lanaca duljine do 90 atoma ugljika. Svojevremeno 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 (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 Histo komplet sastoji se od TB Carbol Fuchsin reagensa, dva pakovanja TB dekolorizatora i Methylene Blue Loeffler reagensa.

Opis proizvoda

- TB-STAIN HISTO KOMPLET** - Komplet od 3 reagensa u 4 pakovanja za bojenje acidorezistentnih bakterija u histološkim preparatima Ziehl-Neelsen metodom.

Komplet sadrži:	za 100 testiranja (TBHK-100T)
TB Carbol Fuchsin reagens	30 mL (TBC-OT-30)
TB Dekolorizator	2 x 30 mL (TBD-OT-30)
Methylene Blue Loeffler reagens	30 mL (MBL-OT-30)

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 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 pokrovnostakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za umerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak kvalitetno fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100).
- Prosvjetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

1.	Deparafinacija u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Nakapati TB Carbol Fuchsin reagens (≥5 kapi)	30 minuta
	Napomena: preparat staviti u inkubacijsku posudicu kako bi se izbjeglo sušenje preparata	
6.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi i posušiti filter papirom	
7.	Nakapati TB Dekolorizator (≥5 kapi)	5-15 sekundi
8.	Isprati pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
9.	Nakapati Methylene Blue Loeffler reagens (≥5 kapi)	30 sekundi
10.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	3 izmjene u trajanju od 10 sekundi
11.	Isprati u vodovodnoj vodi	2 minute
	Napomena: kako bi intenzitet boje bio jači, preparat je moguće odmah prekriti BioMount Aqua sredstvom i montirati VitroGnost pokrovno staklo	
12.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
13.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute

14.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
-----	--	----------------------------------

Korištenjem BioMount Aqua sredstva izbjegava se ispiranje boje kroz proces dehidracije, te je moguće postići konzistentnije rezultate. U slučaju dehidracije i bistrenja na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

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 HISTO 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.

TBHK-100T, V3, 07.09.2017., KB/AK

 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

