

TB-STAIN FLUORESCENT KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od tri reagensa za bojanje acidorezistentnih bakterija fluorescencijskom metodom UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: TBF-100T (za 100 testiranja) TBF-K-100 (4x100 mL) TBF-K-250 (4x250 mL) TBF-K-500 (4x500 mL)

Uvod

Mnoge bakterijske stanice lako se boje jednostavnim bojama ili Gram bojom. Međutim, nekoliko bakterijskih vrsta, poput *Mycobacteria* i *Nocardia*, 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 analizu. 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-STAIN FLUORESCENT KOMPLET**- Komplet od tri reagensa za bojenje acidorezistentnih bakterija fluorescencijskom metodom.

| Komplet sadrži: | za 100 testiranja (TBF-100T) | 4 x 100 mL (TBF-K-100) | 4 x 250 mL (TBF-K-250) | 4 x 500 mL (TBF-K-500) |
|-------------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| TB Auramine-Rhodamine reagens | 30 ml (TBA-OT-30) | 100 ml (TBA-OT-100) | 250 ml (TBA-OT-250) | 500 ml (TBA-OT-500) |
| TB Dekolorizator Fluorescent | 2 x 30 ml (TBF-OT-30) | 2 x 100 ml (TBF-OT-100) | 2 x 250 ml (TBF-OT-250) | 2 x 500 ml (TBF-OT-500) |
| TB Permanganat reagens | 30 ml (TBP-OT-30) | 100 ml (TBP-OT-100) | 250 ml (TBP-OT-250) | 500 ml (TBP-OT-500) |

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta VitroGnost predmetnih stakala
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

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. | Ispirati vodovodnom vodom | 5 min |
| 5. | Bojiti TB Permanganat reagensom | 5 min |
| 6. | Dobro ispirati 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. | Ispirati vodovodnom vodom (do obezbojenja vode) | |
| 5. | Bojiti TB Permanganat reagensom | 30 sekundi |
| 6. | Dobro ispirati vodovodnom vodom | |
| 7. | Osušiti preparat | |

Rezultat

Acidorezistentne bakterije - crveno-narančasta 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-Stain Fluorescent 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. 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.

TBF-X, V7, 17.08.2020.,KB/IŠP

| | | | | | | | | | |
|---|--|--|--------------------------------------|---|--------------------------|--|----------------|--|---------------------|
|  | Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju |  °C | 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

