

# TB FUCHSIN REAGENS

**IVD** In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

## Za primjenu kod bojenja u TB-STAIN ECO kompletu UPUTA ZA RUKOVANJE

[REF] Kataloški broj: TBFR-OT-100 (100 mL) TBFR-OT-250 (250 mL) TBFR-OT-500 (500 mL) TBFR-OT-1L (1000 mL) TBFR-OT-2.5L (2500 mL)

### Uvod

TB Fuchsins reagens primarna je boja TB stain ECO kompleta za bojenje acidorezistentnih bakterija. 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 voštano 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 acidorezistentima zbog toga što i nakon dekolorizacije kiselim alkoholom zadržavaju primarnu boju (TB Fuchsins reagens, bez fenola). 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. U TB-Stain ECO kompletu koristi se modificirana Ziehl-Neelsen metoda, koja sadrži TB Fuchsins 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 Fuchsins reagensa bez fenola, dva pakovanja TB dekolorizatora i Methylene Blue Loeffler reagensa.

### Opis proizvoda

- TB FUCHSIN REAGENS** – otopina Basic Fuchsins boje, ne sadrži fenol

### Primjer primjene TB FUCHSIN REAGENSA kao komponente TB-Stain ECO kompleta

#### 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
- BioGnostovi reagensi: TB Dekolorizator (TBD-OT-100, TBD-OT-250, TBD-OT-500), Methylene Blue Loeffler reagens (MBL-OT-100, MBL-OT-250, MBL-OT-500)

### Priprema mikrobioloških preparata za bojenje

#### Priprema uzorka za bojenje

- Pomoću sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo.  
Napomena: Uzorak mogu biti tjedne tekućine, iscijedak, 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 Fuchsins reagens i inkubirati u termostatu na 80-90°C	3-4 minute
	Napomena: Ukoliko dođe do sušenja uzorka, tijekom inkubacije naknadno dodati TB Fuchsins 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 uzorka. 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 uzorka 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 Fuchsin 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. Ziehl, F. (1882): Zur Farbung des Tuberkelbacillum. Deutsche Medizinische Wochenschrift, V8, pg 451.
2. Neelsen, P. (1883): Zentralblatt fur de 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 (4<sup>th</sup> ed.). McGraw Hill.

TBFR-X, V2, 19.09.2022., KB/IŠP

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Vrijedi do
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Oprez lomljivo

BIOGNOST d.o.o.  
Medugorska 59  
10040 Zagreb  
CROATIA  
[www.biognost.com](http://www.biognost.com)

