

1.32450.0001 **REF****Microscopy****AFB staining kit for histology**

for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue

For professional use only**IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device**Intended purpose**

This "AFB staining kit for histology - for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue" is used for human-medical cell diagnosis and serves the purpose of the histological investigation of sample material of human origin. It is a ready-to-use staining kit that when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio makes bacterial target structures evaluable for diagnostic purposes (e.g. acid-fast bacteria, by fixing, embedding, staining, counterstaining, mounting) in histological specimen materials, for example histological sections of e.g. the lung.

The AFB staining kit is based on the Ziehl-Neelsen staining method for the detection of acid-fast bacteria. The set is modified such, that heating of the carbolfuchsin solution is dispensable. Consequently, the release of potentially hazardous phenolic vapors will be avoided. The use of light green solution renders the background color less dominant, making the acid-fast bacteria considerably more visible and thus enhancing the quality of the diagnosis.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further examinations may be necessary to reach a definitive diagnosis.

Principle

The cell wall of acid-fast bacteria has a high proportion of wax and lipids and hence absorbs dyes only very slowly. The most efficient staining method is the hot staining according to Ziehl-Neelsen. In this method, carbolfuchsin solution is applied to the specimen and heated. This heating process accelerates the rate at which the fuchsin dye is absorbed and thus also that of the formation of the mycolate-fuchsin complex in the cell wall. The AFB staining kit for histology offers a modified carbol fuchsin solution which abolishes heating (Kinyoun method).

Once the acid-fast bacteria have absorbed the fuchsin dye, it is virtually impossible to decolorize them again, even when they are intensively treated with a decolorizing solution such as e.g. hydrochloric acid in ethanol. Accordingly, acid-fast bacteria are termed as acid- and alcohol-fast for staining, and are stained red in the microscopic visualization. Correspondingly, all non-acid-fast microorganisms are counterstained with an appropriate dye.

Sample material

Sections of formalin-fixed tissue of human origin, embedded in paraffin (4 - 6 µm thick paraffin sections)

Reagents

Cat. No. 1.32450.0001

AFB staining kit for histology

for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue

Package components:

The staining kit contains

Reagent 1: Carbol fuchsin solution	250 ml
Reagent 2: Hydrochloric acid in ethanol	2x 250 ml
Reagent 3: Light green SF solution	250 ml

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

All samples must be treated using state-of-the-art technology.

All samples must be clearly labeled.

Suitable instruments must be used for taking samples and their preparation. Follow the manufacturer's instructions for application / use.

When using the corresponding auxiliary reagents, the corresponding instructions for use must be observed.

Deparaffinize sections in the conventional manner and rehydrate in a descending alcohol series.

Histological sections

AFB staining kit for histology can be used to stain histological sections.

Reagent preparation

The reagents of the AFB staining kit for histology - for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

Procedure**Staining in the staining cell**

Deparaffinize histological slides in the conventional manner and rehydrate in a descending alcohol series.

The slides must be immersed and moved briefly about in the solutions, simple immersion alone yields inadequate staining results.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Slide with histological tissue	
Reagent 1 (carbolfuchsin solution)	30 min
Running tap water	45 sec
Reagent 2 (hydrochloric acid in ethanol)	15 sec
Running tap water	15 sec
Reagent 3 (light green SF solution)	5 min
Wash with tap water	10 sec
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.	

After dehydration (ascending alcohol series) and clarification with xylene or Neo-Clear™, histological slides can be covered with non-aqueous mounting agents (e.g. Neo-Mount™, Entellan™ new, or DPX new) and a cover glass and can then be stored.

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

Result

Acid-fast bacteria	red
Background	green

Evaluation

A positive result means "acid-fast bacteria detected" and a negative result "acid-fast bacteria not detected". A positive result does not mean that a taxonomic classification by microscopy is possible. If acid-fast bacteria are detected, further analyses must be performed in specially equipped laboratories.

The vitality (active, inactive) of the bacteria can also not be determined.

Trouble-shooting

No staining of acid-fast bacteria

The critical step of the staining process is the decolorizing step. In addition, a freshly prepared solution of hydrochloric acid in ethanol is highly reactive, meaning that the result should be evaluated with caution. The incubation times stated in this protocol should be kept accurately in the decolorizing step, since otherwise false-negative results may ensue. In addition, care should be taken to ensure that the thickness of the paraffin sections is at least 4 µm and at most 6 µm to yield an optimal staining result.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory. When using histoprocessors or automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software. Remove surplus immersion oil before filing.

Analytical performance characteristics

"AFB staining kit for histology" stains and thereby visualizes biological structures, as described in the "Result" chapter of this IFU. The use of the product is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, histoprocessing, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the product is confirmed by testing each production batch.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100 %:

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Histological staining				
Acid-fast bacteria	3/3	3/3	8/8	8/8
Background	3/3	3/3	8/8	8/8

Analytical performance results

Intra- (performed on the same batch) and inter-assay (performed on different batches) data list the number of correctly stained structures in relation to the number of performed assays.

Clinical performance characteristics

The AFB staining kit components have been used successfully for decades in the clinical environment in a high number of applications.

The clinical performance of the AFB staining kit in particular was determined by establishing its sensitivity and specificity and its PPV and NPV in an in-house study:

	Ziehl-Neelsen Staining
Sensitivity	13/14
Specificity	15/15

Sensitivity: 13 samples out of 14: 92.9 %

Specificity: 15 samples out of 15: 100 %

Positive predictive value (PPV): 100 %

Negative predictive value (NPV): 98.3 %

The results of this Performance Evaluation confirms that the product is suitable for the intended use and performs reliably.

The diagnostic interpretation of the staining results, however, is to be carried out by qualified and authorized professionals, taking into account patient anamnesis, morphology, the use of adequate controls, and additional diagnostic tests, if appropriate. This method can be supplementarily used in human diagnostics.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used.

This method can be supplementarily used in human diagnostics.

Further tests must be selected and implemented according to recognized methods.

Suitable controls (e.g. ISOSLIDE™ AFB, Cat. No. 1.02560.0001) should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

Storage

Store the AFB staining kit for histology - for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue at +15 °C to +25 °C.

Shelf-life

The AFB staining kit for histology - for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue can be used until the stated expiry date.

After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C.

The bottles must be kept tightly closed at all times.

Capacity

The package is sufficient for approx. 250 applications.

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only. National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

Protection against infection

Effective measures must be taken to protect against infection in line with laboratory guidelines.

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines.

Used solutions and solutions that are past their shelf-life must be disposed of as special waste in accordance with local guidelines. Information on disposal can be obtained under the Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" at www.microscopy-products.com. Within the EU the currently applicable REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 applies.

Auxiliary reagents

Cat. No. 1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No. 1.00869	Entellan™ new for cover slipper for microscopy	500 ml
Cat. No. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Control Slides with reference tissue for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue	25 tests
Cat. No. 1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No. 1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No. 1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No. 1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No. 1.09843	Neo-Clear™ (xylene substitute) for microscopy	5 l

Hazard classification

Cat. No. 1.32450.0001

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet.

The safety data sheet is available on the website and on request.

CAUTION! Contains CMR substances. Please observe the corresponding safety instructions given in the safety data sheet.

Main components of the products

Cat. No. 1.32450.0001

Reagent 1 or Cat. No. 1.08512

C.I. 42520 or 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0.99 kg

* Both dyes can be used for the preparation of a solution, resulting in the same staining sensitivity and specificity.

Reagent 2 or Cat. No. 1.00327

HCl 0.75 %
contains C₂H₅OH

1 l = 0.90 kg

Reagent 3

C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2.1 g/l

1 l = 1.0003 kg

General remark

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national authority.

Literature

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H290: May be corrosive to metals.

H314: Causes severe skin burns and eye damage.

H319: Causes serious eye irritation.

H341: Suspected of causing genetic defects.

H410: Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.

P273: Avoid release to the environment.

P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.

P303 + P361 + P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.

P304 + P340 + P310: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

Reagent 1:

H226: Flammable liquid and vapor.

H314: Causes severe skin burns and eye damage.

H341: Suspected of causing genetic defects.

H410: Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

Reagent 2:

H225: Highly flammable liquid and vapor.

H290: May be corrosive to metals.

H319: Causes serious eye irritation.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-24	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Jul-24

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 **REF****Mikroskopie****AFB Färbekit für die Histologie**zur Darstellung von säurefesten Stäbchenbakterien
im histologischen Gewebe**Nur für professionelle Anwendung**

In Vitro Diagnostikum

**Zweckbestimmung**

Das vorliegende „AFB Färbekit für die Histologie – zur Darstellung von säurefesten Stäbchenbakterien im histologischen Gewebe“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der histologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um ein gebrauchsfertiges Färbeset, welches zusammen mit anderen *In Vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio bakterielle Zielstrukturen (z.B. säurefeste Stäbchenbakterien, mittels Fixieren, Einbetten, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken) in histologischem Untersuchungsgut, wie z.B. histologischen Schnitten von z.B. Lunge, für die Diagnostik auswertbar macht.

Das AFB Färbekit für die Histologie basiert auf der Ziehl-Neelsen Färbemethode zum Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien. Durch die Modifikation der Karbolfuchsin-Färbelösung wird ein Erhitzen überflüssig. So wird eine Freisetzung von potenziell schädlichen Phenol-Dämpfen verhindert. Durch die Verwendung der Lichtgrünlösung ist die Hintergrundfärbung weniger dominant und die säurefesten Stäbchenbakterien sind deutlich sichtbarer, was eine bessere Diagnostik zur Folge hat.

Ungefärbte Strukturen sind relativ kontrastarm und lassen sich kaum lichtmikroskopisch differenzieren. Durch die mit Hilfe der Färbelösungen erzeugten Bilder, kann die Form und Struktur durch einen autorisierten und qualifizierten Untersucher besser erkannt werden. Für eine abschließende Diagnostik können weiterführende Untersuchungen notwendig sein.

Prinzip

Säurefeste Stäbchenbakterien haben einen hohen Wachs- und Lipidanteil in der Zellwand und nehmen daher Farbstoffe nur sehr langsam auf. Um die Aufnahme des Fuchsin-Farbstoffs und damit die Bildung des Mykolat-Fuchsin-Komplexes in der Zellwand zu beschleunigen, wird die auf das Präparat aufgebrauchte Karbolfuchsinlösung normalerweise bis zur Dampfbildung erhitzt. Bei dem AFB Färbekit für die Histologie ist das Erhitzen durch eine Modifikation der Karbolfuchsinlösung nicht notwendig (Kinyoun Methode). Haben die säurefesten Stäbchenbakterien den Fuchsin-Farbstoff aufgenommen, ist ein Entfärben auch bei intensiver Behandlung mit Entfärbelösung, wie z.B. Salzsäure-Alkohol, praktisch unmöglich. Säurefeste Stäbchenbakterien werden deshalb als färberisch säure- und alkoholfest bezeichnet und erscheinen im mikroskopischen Präparat rot gefärbt. Alle nicht-säurefesten Mikroorganismen, werden entsprechend des Farbstoffs der Gegenfärbung angefärbt.

Probenmaterial

Schnitte von Formalin fixiertem, Paraffin eingebettetem Gewebe humanen Ursprungs (4 - 6 µm dicke Paraffinschnitte)

Reagenzien

Art. 1.32450.0001

AFB Färbekit für die Histologie

zur Darstellung von säurefesten Stäbchenbakterien im histologischen Gewebe

Bestandteile der Packung:

Das Färbeset enthält

Reagenz 1: Karbolfuchsinlösung	250 ml
Reagenz 2: Salzsäure-Alkohol	2x 250 ml
Reagenz 3: Lichtgrün SF-Lösung	250 ml

Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch Fachpersonal erfolgen.

Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln.

Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen.

Geeignete Instrumente sind zur Probenentnahme und bei der Präparation zu verwenden, die Anweisungen des Herstellers für die Anwendung / den Gebrauch sind zu befolgen.

Bei Verwendung der entsprechenden Hilfsreagenzien sind die dazugehörigen Gebrauchsanweisungen zu beachten.

Schnitte in typischer Weise entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydratisieren.

Histologische Schnitte

Das AFB Färbekit für die Histologie kann für die Färbung histologischer Schnitte verwendet werden.

Reagenz Vorbereitung

Die zur Färbung verwendeten Reagenzien des AFB Färbekit für die Histologie – zur Darstellung von säurefesten Stäbchenbakterien im histologischen Gewebe sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen ist nicht notwendig, mindert das Färberegebnis und die Haltbarkeit.

Durchführung**Färbung in der Färbeküvette**

Histologische Präparate in typischer Weise entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydratisieren.

Die Objektträger müssen in die Lösungen eingetaucht und kurz bewegt werden, einfaches Hineinstellen ergibt ungenügende Färberegebnisse.

Die Objektträger sollten nach den einzelnen Färbeschritten gut abtropfen, so kann eine unnötige Verschleppung von Lösungen vermieden werden.

Für ein optimales Färberegebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit histologischem Gewebe	
Reagenz 1 (Karbolfuchsinlösung)	30 min
Fließendes Leitungswasser	45 sec
Reagenz 2 (Salzsäure-Alkohol)	15 sec
Fließendes Leitungswasser	15 sec
Reagenz 3 (Lichtgrün SF-Lösung)	5 min
Waschen mit Leitungswasser	10 sec
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylol oder Neo-Clear™	5 min
Xylol oder Neo-Clear™	5 min
Eindecken der Neo-Clear™-feuchten Präparate mit Neo-Mount™ oder der Xylol-feuchten Präparate mit z.B. Entellan™ Neu und Deckglas.	

Histologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear™, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. Neo-Mount™, Entellan™ Neu oder DPX Neu) und Deckglas eingedeckt und gelagert werden.

Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Ergebnis

säurefeste Stäbchenbakterien	rot
Hintergrund	grün

Auswertung

Ein positiver Befund bedeutet „säurefeste Stäbchenbakterien vorhanden“, und ein negativer Befund bedeutet „säurefeste Stäbchenbakterien nicht vorhanden“. Aufgrund eines positiven Ergebnisses ist eine taxonomische Klassifizierung mittels Mikroskopie nicht möglich. Werden säurefesten Stäbchenbakterien gefunden, müssen weitere Untersuchungen in Speziallabors durchgeführt werden.

Die Vitalität (aktiv, inaktiv) der Bakterien kann ebenfalls nicht bestimmt werden.

Fehlerfindung

Keine Färbung von säurefesten Stäbchenbakterien

Der kritische Schritt in der Färbung ist der Entfärbeschritt. Des Weiteren ist eine frisch angesetzte Salzsäure-Alkohol-Lösung sehr reaktiv, weshalb das Ergebnis sorgfältig ausgewertet werden sollte. Die hier angegebenen Zeiten sollten beim Entfärben genauestens eingehalten werden, da sonst falsch-negative Ergebnisse resultieren könnten. Zusätzlich sollte darauf geachtet werden, dass die Schnittdicke der Paraffinschnitte zwischen mind. 4 µm bis maximal 6 µm liegt, um ein optimales Färbeer- gebnis zu erreichen.

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch- diagnostischen Labors entsprechen. Werden Histoprozessoren oder Färbeautomaten verwendet, sind die Bedie- nungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten. Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

Analytische Leistung

Das vorliegende „AFB Färbekit für die Histologie“ färbt und visualisiert da- durch biologische Strukturen, wie im Kapitel „Ergebnis“ dieser Gebrauchs- anweisung beschrieben. Die Anwendung des Produkts ist hierbei nur von autorisierten und qualifizierten Personen durchzuführen, dies umfasst, unter anderem, die Proben- und Reagenzvorbereitung, Probenbehandlung, Histo- prozessing, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr. Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produk- tionscharge sichergestellt. Für die folgenden Färbungen wurden die analytische Leistung in Form von Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit des Produkts mit einer Rate von 100 % bestätigt:

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
Histologische Färbung				
säurefeste Stäb- chenbakterien	3/3	3/3	8/8	8/8
Hintergrund	3/3	3/3	8/8	8/8

Analytische Leistungsparameter

Die Daten der Intra- (durchgeführt an derselben Charge) und Inter-Assays (durchgeführt an verschiedenen Chargen) zeigen die Anzahl der erfolgreich angefärbten Strukturen im Verhältnis zur Gesamtzahl der durchgeführten Assays.

Klinische Leistung

Die AFB-Färbekit-Komponenten werden seit Jahrzehnten erfolgreich im klinischen Umfeld in einer hohen Zahl von Anwendungen genutzt. Die klinische Leistung des AFB-Färbekit im Besonderen wurde durch die Er- mittlung ihrer Sensitivität und Spezifität und ihres PPV und NPV im Rahmen einer In-house Studie ermittelt:

	Ziehl-Neelsen-Färbung
Sensitivität	13/14
Spezifität	15/15

Sensitivität: 13 Proben von 14: 92,9 %
Spezifität: 15 Proben von 15: 100 %
Positive predictive value (PPV): 100 %
Negative predictive value (NPV): 98,3 %

Die Ergebnisse der Performance Evaluation belegen, dass dieses Produkt für die beschriebene Zweckbestimmung geeignet ist und verlässlich korrekte Ergebnisse liefert.

Die diagnostische Interpretation der Färbeerergebnisse darf nur von qualifi- zierten und autorisierten Personen durchgeführt werden, welche Morpho- logie, die Verwendung adäquater Kontrollen, weitere diagnostische Tests, wenn angemessen, Patientenanamnese und andere Aspekte berücksich- tigen müssen. Diese Methode kann dem entsprechend ergänzend zur Humandiagnose verwendet werden.

Diagnostik

Diagnosen sind nur von autorisierten und qualifizierten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden. Diese Methode ist ergänzend in der Humandiagnostik anzuwenden. Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen. Geeignete Kontrollen (z.B. ISOSLIDE™ AFB, Art. 1.02560.0001) sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszu- schließen.

Lagerung

AFB Färbekit für die Histologie – zur Darstellung von säurefesten Stäbchen- bakterien im histologischen Gewebe bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Haltbarkeit

Das AFB Färbekit für die Histologie – zur Darstellung von säurefesten Stäbchenbakterien im histologischen Gewebe kann bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +15 °C bis +25 °C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar. Die Flaschen sind stets gut geschlossen zu halten.

Kapazität

Die Packung ist für etwa 230 Anwendungen ausreichend.

Gebrauchshinweise

Nur für professionelle Anwendung. Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen. Entsprechend dem Standard ausgestattete Mikroskope sind zu verwenden.

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbe- dingt zu achten.

Entsorgungshinweise

Die Packung ist entsprechend der gültigen Entsorgungsrichtlinien zu entsorgen. Gebrauchte Lösungen und Lösungen mit abgelaufener Haltbarkeit sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen, dabei ist den lokalen Entsorgungsricht- linien zu folgen. Hinweise zur Entsorgung können unter dem Quick Link „Entsorgungshinweise für Mikroskopie-Produkte“ auf www.Mikroskopie-Produkte.com angefordert werden. Innerhalb der EU gilt die VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verord- nung (EG), Nr. 1907/2006.

Hilfsreagenzien

Art.	1.00579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art.	1.00869	Entellan™ Neu für Eindeckautomaten für die Mikroskopie	500 ml
Art.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrollpräparate mit Referenzgewebe zum Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien im histologischen Gewebe	25 tests
Art.	1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 100 ml, 500 ml
Art.	1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08298	Xylol (Isomerengemisch) für die Histologie	4 l
Art.	1.09016	Neo-Mount™ wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 500 ml
Art.	1.09843	Neo-Clear™ (Xylol-Ersatz) für die Mikroskopie	5 l

GefahrstoffEinstufung

Art. 1.32450.0001
Die GefahrstoffEinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheits- datenblatt sind zu beachten. Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage. ACHTUNG! Enthält CMR-Substanzen. Bitte entsprechende Sicherheitshin- weise im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Hauptbestandteile der Produkte

Art. 1.32450.0001		
Reagenz 1 oder Art. 1.08512		
C.I. 42520 oder 42510	6 g/l*	
C ₆ H ₅ OH	40 g/l	
1 l = 0,99 kg		
* Beide Farbstoffe können für den Ansatz einer Lösung verwendet werden, das Färbeer- gebnis hat die gleiche Sensitivität und Spezifität.		
Reagenz 2 oder Art. 1.00327		
HCl	0,75 %	
enthält C ₂ H ₅ OH		
1 l = 0,90 kg		
Reagenz 3		
C.I. 42095	5 g/l	
CH ₃ COOH	2,1 g/l	
1 l = 1,0003 kg		

Allgemeiner Hinweis

Wenn während oder infolge des Gebrauchs ein schwerwiegender Vorfall aufgetreten ist, melden Sie diesen bitte dem Hersteller und / oder seinem Bevollmächtigten und Ihrer nationalen Behörde.

Literatur

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

H341: Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.

H410: Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.

P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P280: Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

P303 + P361 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen.

P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/ Arzt anrufen.

P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Reagenz 1:

H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

H341: Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.

H410: Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

Reagenz 2:

H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-24	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie



Gebrauchsanweisung
beachten



Hersteller



Katalognummer



Chargen-
code



Achtung, Begleitdokumentation beachten



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT



Temperatur-
begrenzung

Status: 2024-Jul-24

Der Unternehmensbereich Life Science von Merck tritt in den USA und in Kanada als MilliporeSigma auf.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland und/oder Tochterunternehmen. Alle Rechte vorbehalten. Merck und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland. Alle anderen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen zu Markennamen sind über öffentlich zugängliche Informationsquellen erhältlich.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 **REF****Microscopie****Kit de coloration AFB pour l'histologie**

pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques

Réservé à une utilisation professionnelleDispositif médical de diagnostic *in vitro***Objectif prévu**

Le présent « Kit de coloration AFB pour l'histologie - pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen histologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures bactériennes cibles analysables pour le diagnostic (telles que les bactéries acido-résistantes, par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves histologiques, telles que les coupes histologiques de poumon, p.ex.

Le kit de coloration AFB pour l'histologie est basé sur la méthode de coloration selon Ziehl-Neelsen pour la détection de bactéries acido-résistantes. Grâce à la modification de la solution de coloration à la carbolfuchisine, un réchauffement est superflu. Cette méthode empêche la libération de vapeurs phénoliques potentiellement nocives. En utilisant la solution vert clair, la coloration de fond est moins dominante, et les bactéries acido-résistantes sont nettement plus visibles, ce qui permet un meilleur diagnostic.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il peut être nécessaire d'exécuter des examens supplémentaires.

Principe

Les bactéries acido-résistantes ont un taux élevé de cire et lipide dans la paroi cellulaire, elles n'absorbent donc les colorants que très lentement. Habituellement, la solution de carbolfuchisine appliquée sur la préparation est chauffée jusqu'à vaporisation, ce procédé permettant d'accélérer l'absorption du colorant à la fuchisine et la formation du complexe myco-fuchisine dans l'enveloppe cellulaire. La solution de carbolfuchisine (fuchisine phéniquée) de Kit de coloration AFB pour l'histologie a été modifiée de sorte que le chauffage n'est plus nécessaire (méthode Kinyoun). Dès que les bactéries acido-résistantes ont absorbé le colorant de la fuchisine, une décoloration même par un traitement intensif avec une solution décolorante, telle que l'acide chlorhydrique alcoolique, est pratiquement impossible. C'est pourquoi les bactéries acido-résistantes sont désignées comme étant alcoolico-acido-résistantes colorées et apparaissent en rouge dans la préparation microscopique. Tous les microorganismes non acido-résistants se colorent selon le colorant de la contre-coloration.

Matériel d'échantillons

Coupes de tissu d'origine humaine fixé à la formaline et inclus en paraffine (couche de paraffine de 4 - 6 µm d'épaisseur)

Réactifs

Art. 1.32450.0001

Kit de coloration AFB pour l'histologie pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques

Composition d'emballage:

Le kit de coloration contient

Réactif 1:	Solution de carbolfuchisine	250 ml
Réactif 2:	Acide chlorhydrique alcoolique	2x 250 ml
Réactif 3:	Solution de vert malachite	250 ml

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié. Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés. Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Déparaffiner les coupes de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante.

Coupes histologiques

Kit de coloration AFB pour l'histologie peut être utilisé pour la coloration de coupes histologiques.

Préparation du réactif

Les réactifs de Kit de coloration AFB pour l'histologie - pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques utilisés pour colorer sont prêts à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Mode opératoire**Coloration dans la cuve de coloration**

Déparaffiner les préparations histologiques de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante.

Il est nécessaire de plonger et de déplacer à court les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec tissu histologique	
Réactif 1 (solution de carbolfuchisine)	30 minutes
Eau du robinet courante	45 secondes
Réactif 2 (acide chlorhydrique alcoolique)	15 secondes
Eau du robinet courante	15 secondes
Réactif 3 (solution de vert malachite)	5 minutes
Laver avec l'eau du robinet	10 secondes
Ethanol 96 %	1 minute
Ethanol 96 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Monter les préparations humides de Neo-Clear™ avec le Neo-Mount™ ou les préparations humides de xylène avec p.ex. l'Entellan™ néo et couvrir l'objet.	

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear™, les préparations histologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p.ex. Neo-Mount™, Entellan™ néo ou DPX néo) et une lamelle couvre-objets et être conservée.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Résultat

Bactéries acido-résistantes rouge
Fond vert

Evaluation

Un résultat positif signifie « il y a des bactéries acido-résistantes », et un résultat négatif signifie « il n'y a pas de bactéries acido-résistantes ». Sur la base d'un résultat positif, une classification taxonomique par le biais de la microscopie n'est pas possible. Si des bactéries acido-résistantes sont détectées, il faut effectuer d'autres examens en laboratoires spéciaux. La vitalité des bactéries (actives ou inactives) ne peut pas non plus être définie.

Diagnostic d’erreurs

Pas de coloration des bactéries acido-résistantes

L’opération critique de la coloration est la décoloration. De plus, une solution à l’acide chlorhydrique alcoolique fraîchement préparée est très réactive. C’est pourquoi le résultat doit être analysé très soigneusement. Lors de la décoloration, les temps indiqués ici doivent être respectés scrupuleusement, faute de quoi on risque d’obtenir des résultats faux-négatifs. En outre, il faut veiller à ce que l’épaisseur des coupes en paraffine soit comprise entre au moins 4 µm et 6 µm au maximum afin d’obtenir un résultat de coloration optimal.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d’un laboratoire de diagnostics médicaux. En cas d’utilisation des processeurs d’histologie ou des automates de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l’appareil et du logiciel. Éliminer l’excédent d’huile pour immersions avant l’archivage.

Caractéristiques de performance analytique

« Kit de coloration AFB pour l’histologie » colore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d’emploi. Ce produit ne doit être utilisé que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, le traitement histologique (histoprocessing), la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique du produit est confirmée via l’analyse de chaque lot de production.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 %:

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration histologique				
Bactéries acido-résistantes	3/3	3/3	8/8	8/8
Fond	3/3	3/3	8/8	8/8

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d’essais effectués.

Caractéristiques de performance clinique

Les composants du Kit de coloration AFB ont été utilisés avec succès dans le contexte clinique pendant des décennies dans un grand nombre d’applications.

La performance clinique du Kit de coloration AFB en particulier a été définie en déterminant sa sensibilité, sa spécificité ainsi que ses valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) dans le cadre d’une étude interne :

	Coloration de Ziehl-Neelsen
Sensibilité	13/14
Spécificité	15/15

Sensibilité : 13 échantillons sur 14 : 92,9 %
Spécificité : 15 échantillons sur 15 : 100 %
Valeur prédictive positive (VPP) : 100 %
Valeur prédictive négative (VPN) : 98,3 %

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que le produit est approprié à l’usage prévu et peut être utilisé de manière fiable.

L’interprétation diagnostique des résultats de coloration doit cependant être réalisée par des professionnels qualifiés et agréés, en tenant compte des antécédents du patient, de la morphologie, de l’utilisation de contrôles adéquats et d’autres tests de diagnostic, le cas échéant. Cette méthode peut être utilisée dans le diagnostic chez l’être humain comme approche complémentaire.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées. Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées. Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire. Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

Chaque étape doit être effectuée sous contrôle (p.ex. ISOSLIDE™ AFB, art. 1.02560.0001), afin d’exclure toute possibilité de résultat erroné.

Stockage

Stocker le Kit de coloration AFB pour l’histologie - pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques entre +15 °C et +25 °C.

Stabilité

Le Kit de coloration AFB pour l’histologie - pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques peut être utilisé jusqu’à la date de péremption indiqué. Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu’à la date de péremption. Tenir les flacons toujours bien fermés.

Capacité

L’emballage suffit env. 230 applications.

Remarques sur l’utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle. Pour éviter les erreurs, l’application doit être effectuée par un personnel qualifié. Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l’assurance de la qualité. Utiliser des microscopes équipés conformément au standard. En cas de besoin, utiliser une centrifugeuse conforme à la norme de laboratoire et aux critères.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d’élimination

Éliminer l’emballage conformément à la réglementation en vigueur. Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l’élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l’élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com. Au sein de l’UE s’applique le règlement CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l’étiquetage et à l’emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art.	1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art.	1.00869	Neo-Entellan™ pour colleuse de lamelles pour la microscopie	500 ml
Art.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques	25 tests
Art.	1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art.	1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l’histologie	4 l
Art.	1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art.	1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l

Classification des matières dangereuses

Art. 1.32450.0001
Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l’étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité. La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande. ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

Composants principaux des produits

Art.	1.32450.0001	
Réactif 1 ou art.	1.08512	
C.I.	42520 ou 42510	6 g/l*
C ₆ H ₅ OH		40 g/l
1 l =	0,99 kg	
* Les deux colorants peuvent être utilisés pour préparer une solution, le résultat a la même sensibilité et spécificité.		

Réactif 2 ou art. 1.00327
HCl
contient C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

0,75 %

Réactif 3
C.I. 42095
CH₃COOH
1 l = 1,0003 kg

5 g/l
2,1 g/l

Remarque générale

Si un incident grave s’est produit durant ou par suite de l’utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

- 1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- 2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.
H290 : Peut être corrosif pour les métaux.
H314 : Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.
H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.
H341 : Susceptible d’induire des anomalies génétiques.
H410 : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P210 : Tenir à l’écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d’inflammation. Ne pas fumer.
P273 : Éviter le rejet dans l’environnement.
P280 : Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.
P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l’eau.
P304 + P340 + P310 : EN CAS D’INHALATION: transporter la personne à l’extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin.
P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l’eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Réactif 1 :
H226 : Liquide et vapeurs inflammables.
H314 : Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.
H341 : Susceptible d’induire des anomalies génétiques.
H410 : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Réactif 2 :
H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.
H290 : Peut être corrosif pour les métaux.
H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-24	Version initiale avec l’introduction de l’historique des révisions

Respectez les consignes d’utilisation

Fabricant

N° catalogue

Code de lot

Attention : observez la documentation complémentaire

Utilisable jusqu’au AAAA-MM-JJ

Limitation de température

Status: 2024-Jul-24

1.32450.0001 REF

Microscopía

Kit de tinción AFB para la histología

para detectar bacilos acidorresistentes en tejidos histológicos

Solamente para uso profesional



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Finalidad prevista

El presente "Kit de tinción AFB para la histología - para detectar bacilos acidorresistentes en tejidos histológicos" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen histológico de muestras de origen humano. Se trata de un kit de tinción listo para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino bacterianas (p.ej. bacilos acidorresistentes, mediante fijación, inclusión, tinción, contratinción, montaje) en material de examen histológico, como pueden ser frotis de cultivos bacterianos de enriquecimiento o cortes histológicos p.ej. del pulmón.

El kit de tinción AFB para la histología está basado en el método de tinción según Ziehl-Neelsen para la detección de bacilos acidorresistentes. Debido a la modificación de la solución de tinción de fucsina fenicada se hace superfluo realizar un proceso de calentamiento. Ello impide la liberación de vapores de fenol potencialmente nocivos. A través del uso de la solución de verde luz, la tinción de fondo resulta menos dominante y los bacilos acidorresistentes aparecen considerablemente mejor visibles, por lo que se obtiene un mejor diagnóstico.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador automatizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Tal vez se requieren exámenes más complejos para un diagnóstico final.

Principio

Los bacilos acidorresistentes presentan una elevada proporción de cera y lípidos en la pared celular, por lo que absorben los colorantes sólo de forma muy lenta. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micelofucsina en la pared celular, se calienta la solución de carbolfucsina aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. En el caso de kit de tinción AFB para la histología, gracias a una modificación de la solución de carbolfucsina (fucsina fenicada), no es necesario calentar (método de Kinyoun).

Una vez absorbido el colorante de fucsina por los bacilos acidorresistentes, será prácticamente imposible conseguir la decoloración, incluso a través de un tratamiento intensivo con una solución descolorante como p.ej. ácido clorhídrico-alcohol. Por eso, en lo que se refiere a sus propiedades de tinción, los bacilos acidorresistentes son denominados como resistentes a ácidos y alcohol, y en los preparados microscópicos aparecen teñidos de rojo. Todos los microorganismos no resistentes a ácidos son teñidos de acuerdo con el colorante de la contratinción.

Material de las muestras

Cortes de tejido de origen humano fijados con formalina e incluidos en parafina (cortes de parafina con 4 - 6 µm de espesor)

Reactivos

Art. 1.32450.0001

Kit de tinción AFB para la histología

para detectar bacilos acidorresistentes en tejidos histológicos

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1: Carbolfucsina en solución 250 ml
Reactivo 2: Ácido clorhídrico-alcohol 2x 250 ml
Reactivo 3: Verde malaquita en solución 250 ml

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología.

Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Desparafinar de forma habitual los cortes y rehidratar en serie descendente de alcohol.

Cortes histológicos

El kit de tinción AFB para la histología puede ser utilizado para la tinción de cortes histológicos.

Preparación del reactivo

Los reactivos del Kit de tinción AFB para la histología - para detectar bacilos acidorresistentes en tejidos histológicos utilizados para los procesos de tinción están listos para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

Desparafinar de forma habitual los preparados histológicos y rehidratar en serie descendente de alcohol.

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos brevemente en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Portaobjetos con tejido histológico	
Reactivo 1 (carbolfucsina en solución)	30 minutos
Agua corriente del grifo	45 segundos
Reactivo 2 (ácido clorhídrico-alcohol)	15 segundos
Agua corriente del grifo	15 segundos
Reactivo 3 (verde malaquita en solución)	5 minutos
Lavar con agua del grifo	10 segundos
Etol 96 %	1 minuto
Etol 96 %	1 minuto
Etol 100 %	1 minuto
Etol 100 %	1 minuto
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Montar con Neo-Mount™ los preparados humedecidos con Neo-Clear™, o los preparados humedecidos con xileno con p.ej. Entellan™ Nuevo y cubreobjetos.	

Los preparados histológicos pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™ Nuevo o DPX nuevo) y cubre-objetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Resultado

Bacilos acidorresistentes rojo
Fondo verde

Evaluación

Un hallazgo positivo significa que "hay bacilos acidorresistentes", y un hallazgo negativo significa que "no hay bacilos acidorresistentes". Debido a un resultado positivo ya no es posible una clasificación taxonómica mediante la microscopia. Si se encuentran bacilos acidorresistentes, deben efectuarse más pruebas en laboratorios especiales.

Tampoco se puede verificar la vitalidad de las bacterias (activas, inactivas).

Localización de errores

Ninguna tinción de bacilos acidorresistentes

El paso crítico en la tinción es el paso de descoloración. Por lo demás, una solución recién preparada de ácido clorhídrico-alcohol es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado con gran esmero. Durante la descoloración, los tiempos indicados aquí deberían ser respetados con máxima exactitud, ya que de lo contrario se podrían presentar resultados incorrectamente negativos. Adicionalmente se debería prestar atención a que el espesor de los cortes de parafina sea de entre 4 µm como mínimo y 6 µm como máximo para conseguir un óptimo resultado de tinción.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico. Si se utilizan histoprocadores o aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software. Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Características de rendimiento analítico

“Kit de tinción AFB para la histología” tiñe y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en el capítulo “Resultado” de esta instrucción de uso. Solo deben utilizar el producto personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, el procesamiento histológico, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc. El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción. En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

	Especificidad inter-ensayos	Especificidad inter-ensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción histológica				
Bacilos acidorresistentes	3/3	3/3	8/8	8/8
Fondo	3/3	3/3	8/8	8/8

Resultados de rendimiento analítico

Los datos intraensayos (realizados en el mismo lote) e interensayos (realizados en diferentes lotes) enumeran las estructuras correctamente teñidas en relación con el número de ensayos realizados.

Características de rendimiento clínico

Los componentes de Kit de tinción AFB se ha usado con éxito en el ámbito clínico durante décadas en un gran número de aplicaciones. El rendimiento clínico del Kit de tinción AFB en particular se determinó estableciendo su sensibilidad y especificidad y su VPP y VPN en un estudio interno:

	Tinción de Ziehl-Neelsen
Sensibilidad	13/14
Especificidad	15/15

Sensibilidad: 13 muestras de 14: 92,9 %
Especificidad: 15 muestras de 15: 100 %
Valor predictivo positivo (VPP): 100 %
Valor predictivo negativo (VPN): 98,3 %

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud del producto para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

No obstante, la interpretación diagnóstica de los resultados de las tinciones la deben llevar a cabo profesionales cualificados y autorizados, teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, la morfología, el uso de controles adecuados y otras pruebas diagnósticas, si procede. Este método puede complementar el diagnóstico humano.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas. Deberán emplearse terminologías vigentes. Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos. Cada aplicación debería implicar controles adecuados (p.ej. ISOSLIDE™ AFB, art. 1.02560.0001) para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el Kit de tinción AFB para la histología - para detectar bacilos acidorresistentes en tejidos histológicos de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El Kit de tinción AFB para la histología - para detectar bacilos acidorresistentes en tejidos histológicos puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada. Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Capacidad

El envase es suficiente para aprox. 230 aplicaciones.

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.
Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado. Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad. Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar. Si es necesario, deberá utilizarse una centrifugadora que corresponda al estándar de laboratorios y a las exigencias.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos. Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link “Hints for Disposal of Microscopy Products” en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 1.00869	Entellan™ nuevo para montadores de cubreobjetos para microscopía	500 ml
Art. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Preparados de control con tejido de referencia para la detección de bacilos acidorresistentes en tejido histológico	25 tests
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.32450.0001
Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad. La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud. ¡ATENCIÓN! Contiene sustancias CMR. Por favor, respete los avisos de seguridad correspondientes en la ficha de datos de seguridad.

Componentes principales de los productos

Art. 1.32450.0001		
Reactivo 1 o art. 1.08512		
C.I. 42520 o 42510	6 g/l*	
C ₆ H ₅ OH	40 g/l	
1 l = 0,99 kg		
*Ambos colorantes pueden ser utilizados para preparar una solución, el resultado de la tinción resenta la misma sensibilidad y especificidad.		
Reactivo 2 o art. 1.00327		
HCl	0,75 %	
contiene C ₂ H ₅ OH		
1 l = 0,90 kg		
Reactivo 3		
C.I. 42095	5 g/l	
CH ₃ COOH	2,1 g/l	
1 l = 1,0003 kg		

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H341: Se sospecha que provoca defectos genéticos.

H410: Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara.

P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua.

P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Reactivo 1:

H226: Líquidos y vapores inflamables.

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

H341: Se sospecha que provoca defectos genéticos.

H410: Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Reactivo 2:

H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H319: Provoca irritación ocular grave.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-24	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones

Observe las instrucciones de uso

Fabricante

Número de catálogo

Código del lote

Atención, observar la documentación pertinente

Utilizable hasta AAAA-MM-DD

Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-24

La división Life Science de Merck opera como MilliporeSigma en los Estados Unidos y en Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. Merck y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

1.32450.0001 **REF****Microscopia****Kit di colorazione AFB per istologia**

per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuti sottoposti a esame istologico

Solo per uso professionale

Dispositivo medico-diagnostico *in vitro***Scopo previsto**

Il presente "Kit di colorazione AFB per istologia - per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuti sottoposti a esame istologico" è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame istologico di campioni di origine umana. È un kit di colorazione pronto all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio batteriche (p.es., batteri acido-resistenti, mediante fissaggio, inclusione, colorazione, controcolorazione, montaggio) nei campioni istologici, quali ad esempio strisci di colture batteriche arricchite o sezioni istologiche di polmoni.

Il kit di colorazione AFB per istologia si basa sul metodo di colorazione di Ziehl-Neelsen per la rilevazione di batteri acido-resistenti. Grazie all'impiego della soluzione di colorazione di carbolfucsina modificata, non è necessario procedere al riscaldamento, evitando in tal modo la formazione di vapori di fenolo potenzialmente nocivi. Utilizzando la soluzione verde luce, la colorazione di fondo appare meno dominante e i batteri acido-resistenti sono visibili più chiaramente, con conseguente diagnosi migliore.

Le strutture non colorate presentano un contrasto relativamente poco marcato e sono difficili da distinguere al microscopio ottico. In virtù delle immagini ottenute con le soluzioni di colorazione, il ricercatore autorizzato e qualificato è in grado di distinguere in modo più preciso la forma e la struttura. Per una diagnosi definitiva potrebbe essere necessario eseguire ulteriori esami.

Principio

A causa dell'elevata percentuale di cera e lipidi nella membrana cellulare, i batteri acido-resistenti assorbono i coloranti solo molto lentamente. Per accelerare il processo di assorbimento della sostanza colorante fucsina e di conseguenza la formazione del complesso acidi micolici-fucsina nella parete cellulare, la soluzione carbolfucsina impiegata nel preparato viene generalmente riscaldata fino ad emissione di vapori. Grazie alla soluzione di carbolfucsina modificata impiegata nel kit di colorazione AFB per istologia, non è necessario procedere al riscaldamento (metodo di Kinyoun).

Una volta che i batteri acido-resistenti hanno assorbito il colorante fucsina, non lo cedono praticamente più, anche se sottoposti a trattamenti intensivi con soluzioni decoloranti come ad esempio l'acido cloridrico alcolico. I batteri acido-resistenti si caratterizzano dunque per la loro resistenza agli acidi e all'alcol e al microscopio appaiono di colore rosso, mentre tutti i microrganismi non resistenti agli acidi assumono una colorazione corrispondente al colorante impiegato per la controcolorazione.

Materiale d'esame

Sezioni di tessuto di origine umana fissate con formalina e incluse in paraffina (sezioni di paraffina dello spessore di 4 - 6 µm)

Reattivi

Art. 1.32450.0001

Kit di colorazione AFB per istologia
per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuti sottoposti a esame istologico

Componenti della confezione:

Il kit di colorazione contiene

Reattivo 1: Carbolfucsina soluzione	250 ml
Reattivo 2: Acido cloridrico alcolico	2x 250 ml
Reattivo 3: Verde malachite soluzione	250 ml

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati.

Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso.

Quando si utilizzano i reattivi ausiliari corrispondenti, osservare le relative istruzioni per l'uso.

Sparaffinare e riportare le sezioni all'acqua attraverso una serie discendente di alcoli come di consueto. Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente.

Sezioni istologiche

Il kit di colorazione AFB per istologia può essere utilizzato per la colorazione di sezioni istologiche.

Preparazione del reattivo

I reattivi di Kit di colorazione AFB per istologia - per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuti sottoposti a esame istologico utilizzati per la colorazione sono pronti all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Esecuzione**Colorazione nella cuvetta di colorazione**

Sparaffinare e riportare le preparati istologici all'acqua attraverso una serie discendente di alcoli come di consueto.

I portaoggetti vanno immersi e fatti muovere breve nelle soluzioni; la semplice immersione non produce risultati soddisfacenti.

I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinarsi (carry-over) delle soluzioni.

Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con tessuto istologico	
Reattivo 1 (carbolfucsina soluzione)	30 minuti
Acqua di rubinetto corrente	45 secondi
Reattivo 2 (acido cloridrico alcolico)	15 secondi
Acqua di rubinetto corrente	15 secondi
Reattivo 3 (verde malachite soluzione)	5 minuti
Lavare con acqua di rubinetto	10 secondi
Etanolo 96 %	1 minuto
Etanolo 96 %	1 minuto
Etanolo 100 %	1 minuto
Etanolo 100 %	1 minuto
Xilene o Neo-Clear™	5 minuti
Xilene o Neo-Clear™	5 minuti
Montare i preparati inumiditi con Neo-Clear™ con Neo-Mount™ o i preparati inumiditi con xilene con ades. Entellan™ Neo e coprioggetto.	

Dopo la disidratazione (con serie alcolica a concentrazione ascendente) i preparati istologici possono essere chiarificati con xilene o Neo-Clear™, montati con mezzi di montaggio anidri (per esempio, Neo-Mount™, Entellan™ Neo o DPX Neo), coperti con un vetrino coprioggetto e conservati.

Per l'analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Risultato

Batteri acido-resistenti	rosso
Sfondo	verde

Valutazione

In base al referto positivo "accertamento di batteri acido-resistenti" o negativo "non sono stati accertati batteri acido-resistenti". Alla luce di un risultato positivo non è possibile eseguire la classificazione tassonomica al microscopio. Dopo aver trovato batteri acido-resistenti nel campione è necessario eseguire ulteriori analisi in un laboratorio specializzato. Non si può nemmeno determinare la vitalità dei batteri (attivi, inattivi).

Individuazione e soluzione di problemi

Nessuna colorazione dei batteri acido-resistenti

Il passo fondamentale della colorazione è la decolorazione. La soluzione di acido cloridrico alcolico appena preparata è inoltre molto reattiva e quindi è necessario valutare con attenzione il risultato. I tempi qui indicati per la decolorazione devono essere rigorosamente osservati, poiché in caso contrario si possono ottenere risultati falsi negativi. Occorre inoltre assicurare che le sezioni di paraffina presentino uno spessore compreso tra min. 4 µm e max. 6 µm, per ottenere un risultato ottimale della colorazione.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico. Se vengono impiegati gli istoprocessatori e i strumenti di colorazione automatici, seguire attentamente le istruzioni d'uso del produttore dell'apparecchio e del software. Eliminare l'olio di immersione in eccesso prima dell'archiviazione.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

„Kit di colorazione AFB per istologia“ colora e pertanto permette di visualizzare strutture biologiche, come descritto nel capitolo „Risultato“ di questa IFU. Il prodotto deve essere utilizzato solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, la manipolazione del campione, l'istoprocessazione, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.

Le prestazioni analitiche del prodotto sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione.

Per le seguenti colorazioni, le prestazioni analitiche sono state confermate in termini di specificità, sensibilità e ripetibilità del prodotto con un tasso del 100 %:

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione istologica				
Batteri acido-resistenti	3/3	3/3	8/8	8/8
Sfondo	3/3	3/3	8/8	8/8

Risultati delle prestazioni analitiche

I dati intrasaggio (eseguiti sullo stesso lotto) e intersaggio (eseguiti su lotti diversi) elencano il numero di strutture correttamente colorate in relazione al numero di saggi eseguiti.

Caratteristiche delle prestazioni cliniche

I componenti del Kit di colorazione AFB sono stati utilizzati con successo in ambito clinico per decenni in un elevato numero di applicazioni. In particolare, le prestazioni cliniche del Kit di colorazione AFB sono state determinate stabilendo la sua sensibilità e specificità, il suo PPV e il suo NPV in uno studio interno:

	Colorazione di Ziehl-Neelsen
Sensibilità	13/14
Specificità	15/15

Sensibilità: 13 campioni su 14: 92,9 %
Specificità: 15 campioni su 15: 100 %
Valore predittivo positivo (PPV): 100 %
Valore predittivo negativo (NPV): 98,3 %

I risultati di questa valutazione delle prestazioni confermano che il prodotto è adatto all'uso previsto e funziona in modo affidabile.

L'interpretazione diagnostica dei risultati della colorazione, tuttavia, deve essere effettuata da professionisti qualificati e autorizzati, tenendo conto dell'anamnesi del paziente, della morfologia, dell'uso di controlli adeguati e di ulteriori test diagnostici, se necessario. Questo metodo può essere utilizzato in modo supplementare nella diagnostica umana.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale autorizzato e qualificato. Devono essere utilizzate nomenclature valide. La presente metodologia deve essere utilizzata quale strumento integrativo per la diagnostica umana. Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti. Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati (per esempio, ISOSLIDE™ AFB, art. 1.02560.0001), per escludere possibili risultati errati.

Conservazione

Il Kit di colorazione AFB per istologia - per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuti sottoposti a esame istologico va conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Stabilità

Il Kit di colorazione AFB per istologia - per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuti sottoposti a esame istologico) può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata. Una volta aperto il flacone, il contenuto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata se conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C. Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Capacità

La confezione è sufficiente per circa 230 applicazioni.

Istruzioni per l'uso

Solo per uso professionale.
Per evitare errori, la applicazione deve essere eseguita da personale specializzato. Vanno osservate le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di assicurazione di qualità. Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti. All'occorrenza utilizzare una centrifuga che soddisfi gli standard di laboratorio ed i rispettivi requisiti.

Protezione contro le infezioni

Vanno rigorosamente osservate le norme di laboratorio relative alla protezione contro le infezioni.

Istruzioni per lo smaltimento

La confezione deve essere smaltita nel rispetto delle vigenti direttive in materia. Le soluzioni usate e le soluzioni scadute vanno smaltite come rifiuti pericolosi, in conformità alle disposizioni locali vigenti in materia di smaltimento dei rifiuti. Per richiedere informazioni sullo smaltimento selezionare il Quick link "Hints for Disposal of Microscopy Products" all'indirizzo www.microscopy-products.com. Nell'Unione europea trova applicazione il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.

Reattivi ausiliari

Art. 1.00579	DPX Neo mezzo di montaggio anidro per microscopia	500 ml
Art. 1.00869	Entellan™ Nuovo montante per vetrini per microscopia	500 ml
Art. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Preparati di controllo con tessuto di riferimento per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuto sottoposti a esame istologico	25 tests
Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xilene (miscela di isomeri) per istologia	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sostituto xilolo) per microscopia	5 l

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.32450.0001
Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza. La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta. ATTENZIONE! Contiene sostanze CMR. Attenersi alle relative indicazioni di sicurezza riportate nella scheda di dati di sicurezza.

Componenti principali dei prodotti

Art. 1.16450.0001	
Reattivo 1 o art. 1.08512	
C.I. 42520 o 42510	6 g/l*
C ₆ H ₅ OH	40 g/l
1 l = 0,99 kg	
*Per la preparazione della soluzione possono essere utilizzati entrambi i coloranti; il risultato presenta la stessa sensibilità e specificità.	
Reattivo 2 o art. 1.00327	
HCl	0,75 %
contiene C ₂ H ₅ OH	
1 l = 0,90 kg	
Reattivo 3	
C.I. 42095	2 g/l
CH ₃ COOH	2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg	

Indicazione generale

Se durante o in seguito all'uso del dispositivo si verifica un incidente, segnalare l'evento al fabbricante e/o al suo mandatario e alle autorità nazionali.

Letteratura

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H290: Può essere corrosivo per i metalli.

H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H341: Sospettato di provocare alterazioni genetiche.

H410: Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P280: Indossare guanti/ indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso.

P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.

P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.

P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Reattivo 1:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H341: Sospettato di provocare alterazioni genetiche.

H410: Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Reattivo 2:

H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H290: Può essere corrosivo per i metalli.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-24	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni



Attenersi alle
istruzioni per l'uso



Fabbricante



N. di catalogo



Codice del
lotto



Attenzione, consultare
la documentazione di
accompagnamento



Data di scadenza
AAAA-MM-GG



Limiti di
temperatura

Status: 2024-Jul-24

Negli USA e in Canada il comparto Life Science di Merck opera con il nome MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germania e/o sue affiliate. Tutti i diritti sono riservati. Merck e Sigma-Aldrich sono marchi di Merck KGaA, Darmstadt, Germania. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei legittimi detentori. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse pubblicamente accessibili.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Μικροσκοπία**Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση**

για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων σε ιστικό δείγμα

Για επαγγελματική χρήση μόνο

IVD

In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

CE

Προβλεπόμενος σκοπός

Το «Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων σε ιστικό δείγμα» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και εξυπηρετεί τον σκοπό της ιστολογικής διερεύνησης υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για ένα κιτ χρώσης που, όταν χρησιμοποιείται μαζί με άλλα *in vitro* διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τις βακτηριακές δομών-στόχων (π.χ. οξεάντοχων βακτηρίων (AFB)) σε υλικά ιστολογικών δειγμάτων (π.χ. ιστολογικές τομές, όπως μαστικό ιστό, ήπαρ ή πνεύμονες) αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς, μέσω μονιμοποίησης, έγκλεισης, χρώσης, αντιχρώσης και στερέωσης.

Το κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση βασίζεται στη μέθοδο χρώσης Ziehl-Neelsen για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων. Το σετ είναι τροποποιημένο έτσι, ώστε η θέρμανση του διαλύματος φαινοκούχου φουξίνης να είναι επουσιώδης. Κατά συνέπεια, η έκλυση δυνητικά επικίνδυνων ατμών φαινόλης θα αποφευχθεί. Η χρήση ανοιχτού πράσινου διαλύματος καθιστά το χρώμα του υποστρώματος λιγότερο κυρίαρχο, με αποτέλεσμα τα οξεάντοχα βακτήρια να είναι αρκετά πιο ορατά και να βελτιώνεται η ποιότητα της διάγνωσης.

Οι άβαφες βακτηριακές δομές παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή αντίθεση και είναι εξαιρετικά δύσκολη η διάκρισή τους με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι εικόνες που δημιουργούνται χρησιμοποιώντας τα διαλύματα χρώσης βοηθούν τον εξουσιοδοτημένο και εξειδικευμένο ερευνητή να προσδιορίσει καλύτερα τον τύπο και το βακτήριο σε αυτές τις περιπτώσεις. Ενδέχεται να είναι απαραίτητη η διενέργεια επιπλέον εξετάσεων για την οριστική διάγνωση.

Αρχή της μεθόδου

Τα οξεάντοχα βακτήρια είναι δύσκολα στη χρώση λόγω του υψηλού ποσοστού λιπιδίων και κεριού στα κυτταρικά τους τοιχώματα. Προκειμένου να επιταχυνθεί η απορρόφηση της χρωστικής φουξίνης και έτσι ο σχηματισμός του συμπλόκου μυκοϊκού-φουξίνης στο κυτταρικό τοίχωμα, το διάλυμα καρμπολ φουξίνης που εφαρμόζεται στο παρασκεύασμα θερμαίνεται κανονικά έως ότου σχηματιστεί ατμός. Το κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση προσφέρει ένα τροποποιημένο διάλυμα καρβολικής φουξίνης που καταργεί τη θέρμανση (μέθοδος Kinyoun, ψυχρή χρώση).

Μόλις τα οξεάντοχα βακτήρια απορροφήσουν τη χρωστική φουξίνη, είναι ουσιαστικά αδύνατος ο αποχρωματισμός τους, ακόμα και εάν υποβληθούν σε εντατική επεξεργασία με ένα διάλυμα αποχρωματισμού, όπως υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη. Αντιστοίχως, τα οξεάντοχα βακτήρια ορίζονται ως οξεάντοχα και αλκοολάντοχα για χρώση και χρώνονται κόκκινα στη μικροσκοπική απεικόνιση. Αντιστοίχως, όλοι οι μη οξεάντοχοι μικροοργανισμοί αντιχρώνονται με κατάλληλη χρωστική.

Υλικό δείγματος

Τομές μονιμοποιημένου με φορμαλίνη ιστού ανθρώπινης προέλευσης, εγκλεισμένου σε παραφίνη (τομές παραφίνης πάχους 4 - 6 μm)

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση
1.32450.0001 για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων σε ιστικό δείγμα

Μέρη συσκευασίας:

Το κιτ χρώσης περιέχει

Αντιδραστήριο 1:	Διάλυμα καρμπολ φουξίνης	250 ml
Αντιδραστήριο 2:	Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη	2 x 250 ml
Αντιδραστήριο 3:	Διάλυμα ανοιχτού πράσινου SF	250 ml

Προετοιμασία δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό.

Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγμένης τεχνολογίας.

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση.

Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα.

Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση.

Κατά τη χρήση των αντίστοιχων βοηθητικών αντιδραστηρίων, πρέπει να τηρούνται οι αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

Κάντε αποπαραφίνωση ενόπτητες με συμβατικό τομών και επανενυδάτωση σε φθίνουσα σειρά αλκοόλης.

Ιστολογικές τομές

Το Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη χρώση ιστολογικών τομών.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια του Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων σε ιστικό δείγμα είναι έτοιμα για χρήση. Η αρραίωση αυτών των διαλυμάτων δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς τους.

Διαδικασία**Χρώση στο κύτταρο χρώσης**

Κάντε ιστολογικών δειγμάτων πλακών με συμβατικό τρόπο και επανενυδάτωση σε φθίνουσα σειρά αλκοόλης.

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες πρέπει να εμβαπτίζονται και να μετακινούνται για λίγο στα διαλύματα, η απλή εμβάπτιση μόνο δίνει ακατάλληλα αποτελέσματα χρώσης.

Οι πλάκες θα πρέπει να αφήνονται να σταλάξουν καλά μετά από τα μεμονωμένα βήματα χρώσης, ως μέτρο αποφυγής οποιασδήποτε άσκοπης διασταυρούμενης μόλυνσης διαλυμάτων.

Οι αναγραφόμενοι χρόνοι θα πρέπει να τηρούνται για τη διασφάλιση ενός βέλτιστου αποτελέσματος χρώσης.

Αντικειμενοφόρος πλάκα με ιστολογικό ιστό	
Αντιδραστήριο 1 (διάλυμα καρβολικής φουξίνης)	30 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	45 δευτ.
Αντιδραστήριο 2 (υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη)	15 δευτ.
Τρεχούμενο νερό βρύσης	15 δευτ.
Αντιδραστήριο 3 (διάλυμα ανοιχτού πράσινου SF)	5 λεπτά
Πλύνετε με νερό βρύσης	10 δευτ.
Αιθανόλη 96%	1 λεπτό
Αιθανόλη 96%	1 λεπτό
Αιθανόλη 100%	1 λεπτό
Αιθανόλη 100%	1 λεπτό
Ξυλάνιο ή Neo-Clear™	5 λεπτά
Ξυλάνιο ή Neo-Clear™	5 λεπτά
Στερεώστε τις εφυγραμμένες με Neo-Clear™ πλάκες με Neo-Mount™ ή τις εφυγραμμένες με ξυλάνιο πλάκες με π.χ. Entellan™ νέο και καλυπτρίδα.	

Μετά από αφυδάτωση (ανιούσα σειρά αλκοόλης) και διαύγαση με ξυλάνιο ή Neo-Clear™, τα ιστολογικά δείγματα μπορούν να στερεωθούν με παράγοντες στερέωσης χωρίς νερό (π.χ. Neo-Mount™, Entellan™ νέο ή DPX νέο) και μια καλυπτρίδα και κατόπιν μπορούν να αποθηκευτούν.

Η χρήση ελαίου εμβάπτισης συνιστάται για την ανάλυση πλακών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με μεγέθυνση μικροσκοπίου >40x.

Αποτέλεσμα

οξεάντοχα βακτήρια ερυθρό
Υπόβαθρο πράσινο

Αξιολόγηση

Ένα θετικό αποτέλεσμα σημαίνει «παρουσία οξεάντοχα βακτήρια», ενώ ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει «απουσία οξεάντοχα βακτήρια». Το θετικό αποτέλεσμα δεν σημαίνει ότι είναι δυνατή η ταξινόμηση μέσω μικροσκοπίας. Εάν ανιχνευθούν οξεάντοχα βακτήρια, πρέπει να πραγματοποιηθούν επιπλέον αναλύσεις σε ειδικά εξοπλισμένα εργαστήρια. Η ζωτικότητα των βακτηρίων (ενεργά, ανενεργά) δεν μπορεί επίσης να προσδιοριστεί.

Αντιμετώπιση προβλημάτων

Μη χρώση των οξεάντοχα βακτήρια

Το κρίσιμο βήμα της διαδικασίας χρώσης μυκοβακτηριδίων αυτής της διαδικασίας χρώσης είναι το βήμα αποχρωματισμού, το οποίο μπορεί να επηρεαστεί από το πάχος του δείγματος επιχρίσματος. Επιπρόσθετα, ένα φρέσκο διάλυμα υδροχλωρικού οξέος σε αιθανόλη είναι υψηλά αντιδρόν, που σημαίνει ότι το αποτέλεσμα θα πρέπει να αξιολογείται με προσοχή. Οι χρόνοι επώασης που αναγράφονται σε αυτό το πρωτόκολλο θα πρέπει να τηρούνται με ακρίβεια στο βήμα αποχρωματισμού, επειδή διαφορετικά μπορεί να προκύψουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Επιπλέον, απαιτείται προσοχή προκειμένου να διασφαλίζεται ότι το πάχος των τομών παραφίνης είναι τουλάχιστον 4 μμ και το πολύ 6 μμ για ένα βέλτιστο αποτέλεσμα χρώσης.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου. Όταν χρησιμοποιούνται συστήματα επεξεργασίας ιστών ή συστήματα αυτόματης χρώσης, παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης που παρέχονται από τον προμηθευτή του συστήματος και του λογισμικού. Αφαιρέστε το επιπλέον έλαιο εμβάπτισης πριν από την αρχειοθέτηση.

Χαρακτηριστικά αναλυτικής απόδοσης

Το «Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση» χρωματίζει και κατ’ αυτόν τον τρόπο απεικονίζει βιολογικές δομές, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Αποτέλεσμα» αυτών των οδηγιών χρήσης. Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από εξουσιοδοτημένα και εξειδικευμένα άτομα και η χρήση του περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων, τον χειρισμό δειγμάτων, την ιστοεπεξεργασία, τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους κατάλληλους μάρτυρες και άλλα.

Η αναλυτική απόδοση του προϊόντος επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο κάθε παρτίδας παραγωγής.

Για τις ακόλουθες χρώσεις επιβεβαιώθηκε η αναλυτική απόδοση όσον αφορά την ειδικότητα, την ευαισθησία και την επαναληψιμότητα του προϊόντος με ποσοστό 100%:

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορισμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορισμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορισμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορισμού
Ιστολογική χρώση				
οξεάντοχων βακτηρίων	3/3	3/3	8/8	8/8
Υπόβαθρο	3/3	3/3	8/8	8/8

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

Τα δεδομένα εντός του προσδιορισμού (στην ίδια παρτίδα) και μεταξύ των προσδιορισμών (σε διαφορετικές παρτίδες) δείχνουν τον αριθμό των δομών που χρωματίστηκαν ορθά σε σχέση με τον αριθμό των προσδιορισμών που εκτελέστηκαν.

Χαρακτηριστικά κλινικής απόδοσης

Τα στατιστικά του Κιτ χρώσης AFB χρησιμοποιείται με επιτυχία στο κλινικό περιβάλλον εδώ και δεκαετίες σε μεγάλο αριθμό εφαρμογών.

Η κλινική απόδοση του Κιτ χρώσης AFB προσδιορίστηκε συγκεκριμένα με τον καθορισμό της ευαισθησίας και ειδικότητάς του και της θετικής προγνωστικής τιμής (PPV) και αρνητικής προγνωστικής τιμής (NPV) του σε μια εσωτερική μελέτη:

	Χρώση Ziehl-Neelsen
Ευαισθησία	13/14
Ειδικότητα	15/15

Ευαισθησία: 13 στα 14 δείγματα: 92,9%

Ειδικότητα: 15 στα 15 δείγματα: 100%

Θετική προγνωστική τιμή (PPV): 100%

Αρνητική προγνωστική τιμή (NPV): 98,3%

Τα αποτελέσματα από αυτήν την αξιολόγηση της απόδοσης επιβεβαιώνουν ότι το προϊόν είναι αξιόπιστο και κατάλληλο για τη χρήση για την οποία προορίζεται.

Ωστόσο, η διαγνωστική ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης πρέπει να πραγματοποιείται από εξειδικευμένους και εξουσιοδοτημένους επαγγελματίες, λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενούς, τη μορφολογία, τη χρήση επαρκών μαρτύρων και επιπρόσθετες διαγνωστικές εξετάσεις, κατά περίπτωση. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.

Διάγνωση

Οι διαγνώσεις θα πρέπει να γίνονται μόνο από αρμόδιο και εξουσιοδοτημένο προσωπικό.

Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία.

Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.

Θα πρέπει να επιλεγούν και να εφαρμοστούν περισσότερες δοκιμασίες σύμφωνα με αναγνωρισμένες μεθόδους.

Κατάλληλοι έλεγχοι (π.χ. ISOSLIDE™ AFB, αρ. καταλόγου 1.02560.0001) θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος.

Φύλαξη

Αποθηκεύστε το Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων σε ιστικό δείγμα σε +15 °C έως +25 °C.

Διάρκεια ζωής

Το Κιτ χρώσης AFB για ιστολογική χρήση - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων σε ιστικό δείγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C.

Οι φιάλες πρέπει να διατηρούνται ερμητικά κλειστές συνεχώς.

Ικανότητα

Η συσκευασία επαρκεί για περίπου 230 εφαρμογές.

Πρόσθετες οδηγίες

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

Για την αποφυγή σφαλμάτων, η εφαρμογή πρέπει να πραγματοποιείται μόνο από έμπειρο προσωπικό.

Θα πρέπει να ακολουθούνται οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ασφάλεια στην εργασία και τη διασφάλιση ποιότητας. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρότυπα.

Προστασία από λοίμωξη

Θα πρέπει να λαμβάνονται αποτελεσματικά μέτρα για την προστασία από λοίμωξη σύμφωνα με τις εργαστηριακές κατευθυντήριες γραμμές.

Οδηγίες απόρριψης

Η συσκευασία πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες απόρριψης.

Τα χρησιμοποιημένα διαλύματα και τα διαλύματα των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει πρέπει να απορρίπτονται ως ειδικά απόβλητα σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές. Οι πληροφορίες για την απόρριψη παρέχονται στον σύνδεσμο «Hints for Disposal of Microscopy Products» (Συμβουλές για την απόρριψη των προϊόντων μικροσκοπίας) στη διεύθυνση www.microscopy-products.com. Εντός της ΕΕ, ο τρεχόντως εφαρμοζόμενος ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ είναι ο κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1272/2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση των Οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ, και την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1907/2006.

Βοηθητικά αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.00579	DPX νέο μη υδατικό μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.00869	Entellan™ νέο για καλυπτρίδα για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.02560	Πλάκες ελέγχου AFB ISOSLIDE™ με ιστό αναφοράς για ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων στο ιστολογικό υλικό	25 δοκιμασίες
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμβάπτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.08298	Ξυλένιο (ισομερές μείγμα) για ιστολογία	4 l
Αρ. καταλόγου 1.09016	Neo-Mount™ άνυδρο μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09843	Neo-Clear™ (υποκατάστατο Ξυλενίου) για μικροσκοπία	5 l

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.32450.0001

Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της επικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφάλειας.

Το φύλλο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

ΠΡΟΣΟΧΗ! Περιέχει ουσίες που είναι καρκινογόνες, μεταλλαξιογόνες ή τοξικές για την αναπαραγωγή (ΚΜΤ). Τηρείτε τις αντίστοιχες οδηγίες ασφαλείας που αναφέρονται στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας.

Κύρια συστατικά του προϊόντος

Αρ. καταλόγου 1.32450.0001

Αντιδραστήριο 1 ή αρ. καταλόγου 1.08512

C.I. 42520 ή 42510 6 g/l*

C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

* Αμφότερες οι χρωστικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προετοιμασία του διαλύματος, το αποτέλεσμα χρώσης έχει ίδια ευαισθησία και ειδικότητα.

Αντιδραστήριο 2 ή αρ. καταλόγου 1.00327

HCl 0,75 %

περιέχει C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Αντιδραστήριο 3

C.I. 42095 5 g/l

CH₃COOH 2,1 g/l

1 l = 1,0003 kg

Γενική παρατήρηση

Εάν κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή εξαιτίας της χρήσης της, προκληθεί σοβαρό συμβάν, να το αναφέρετε στον κατασκευαστή και/ή στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του καθώς και στις εθνικές αρχές.

Δογοτεχνία

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H341: Ύποπτο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων.

H410: Πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

P210: Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνή φλόγα και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.

P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/ πρόσωπο.

P303 + P361 + P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.

P304 + P340 + P310: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρατε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/ γιατρό.

P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Αντιδραστήριο 1:

H226: Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.

H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.

H341: Ύποπτο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων.

H410: Πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

Αντιδραστήριο 2:

H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-24	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα

Χρήση έως
EEEE-MM-HH

Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-24

H Life Science Business της Merck λειτουργεί ως MilliporeSigma στις Η.Π.Α. και τον Καναδά

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany και/ή οι συνδεδεμένες αυτής εταιρείες. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το Merck και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω πόρων που διατίθενται δημοσίως.

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopi

AFB-colorset för histologi

för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad

Endast för yrkesmässig användning

Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik

Avsett syfte

Denna "AFB-colorset för histologi - för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad" används till humanmedicinsk celldiagnostik för histologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. Det är en bruksfärdig färgningssats som, när den används tillsammans med andra *in vitro*-diagnostiska produkter från vårt sortiment, möjliggör en diagnostisk utvärdering av bakteriella målstrukturer (t.ex. syrefasta bakterier (AFB) genom fixering, inbäddning, färgning, motfärgning och monterning) i histologiska provmaterial, t.ex. histologiska snitt av t.ex. lunga.

AFB-colorset för histologi är baserad på Ziehl-Neelsen-färgningsmetoden för detektion av syrefasta bakterier. Satsen är modifierad så att karbolfuchsin-lösningen inte behöver upphettas. Satsen är modifierad så att karbolfuchsin-lösningen inte behöver upphettas. Därför undviks frisättning av potentiellt skadliga fenoliska ångor. Användningen av ljusgrön lösning ger bakgrunden mindre dominant färg, så att syrefasta bakterier blir avsevärt bättre synliga så att diagnosens kvalitet förbättras.

Ofärgade strukturer har relativt låg kontrast och är extremt svåra att särskilja i ljusmikroskop. De bilder som skapas med färgningslösningen underlättar för den behöriga och kvalificerade forskaren att bättre definiera formen och strukturen i sådant fall. Ytterligare undersökningar kan bli nödvändiga för att ställa en definitiv diagnos.

Princip

Syrefasta bakterier är svåra att färga, eftersom cellväggarna innehåller en stor andel lipid och vax. För att påskynda absorptionen av fuchsinfärgämnet och därmed bildandet av mykolate-fuchsin-komplexet i cellväggen upphettas normalt karbolfuchsinlösningen som appliceras på beredningen tills den bildar ånga. AFB-colorset för histologi erbjuder en modifierad karbolfuchsinlösning, som gör att upphettning inte behövs (Kinyoun-metoden, kallfärgning).

När syrefasta bakterier har absorberat fuchsinfärgämnet är det nästan omöjligt att avfärga dem igen, även om de intensivbehandlas med en avfärgande lösning som saltsyra i etanol. Följaktligen betecknas syrefasta bakterier som syra- och alkoholfasta när det gäller färgning, och färgas röda i den mikroskopiska visualiseringen. På motsvarande sätt avfärgas alla icke-syrefasta mikroorganismer med ett lämpligt färgämne

Provmaterial

Snitt av formalinfixerad human vävnad, inbäddad i paraffin (snittjocklek 4–6 µm)

Reagens

Kat.nr 1.32450.0001 AFB-colorset för histologi för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad

Paketinnehåll:

Färgningssatsen innehåller

Reagens 1:	Karbolfuchsinlösning	250 ml
Reagens 2:	Saltsyra i etanol	2x 250 ml
Reagens 3:	Ljusgrön SF-lösning	250 ml

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal.

Alla prover måste bearbetas med modern teknik.

Alla prover måste märkas tydligt.

Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning.

Följ tillverkarens instruktioner för applicering/användning.

Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas.

Avparaffinera de snitten på sedvanligt vis och rehydrera med alkohol i fallande koncentrationer.

Histologiska snitt

AFB-colorset för histologi kan användas till att färga histologiska snitt.

Reagensberedning

Reagensen i AFB-Color set för histologi - för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad är bruksfärdiga. Spädning av lösningarna är inte nödvändigt - det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrade färgningsstabilitet.

Förfarande

Färgning i infärgad cell

Avparaffinera de histologiska objektglasen på sedvanligt vis och rehydrera med alkohol i fallande koncentrationer.

Objektglasen måste sänkas ned och flyttas runt i lösningarna, att enbart sänka ned leder till otillräckliga färgningsresultat.

Objektglasen måste droppa av ordentligt efter de enskilda färgningsstegen, i syfte att undvika onödig korskontaminering av lösningar.

De angivna tiderna ska följas för att ett optimalt färgningsresultat ska kunna garanteras.

Objektglas med histologisk vävnad	
Reagens 1 (karbolfuchsinlösning)	30 min.
Rinnande kranvatten	45 s
Reagens 2 (saltsyra i etanol)	15 s
Rinnande kranvatten	15 s
Reagens 3 (ljusgrön SF-lösning)	5 min.
Tvätta med kranvatten	10 s
Etanol 96%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Montera de Neo-Clear™-våta objektglasen med Neo-Mount™ eller de xylen-våta objektglasen med t.ex. Entellan™ ny och täckglas.	

Efter dehydratisering (med alkohol i stigande koncentrationer) och klargörande med xylen eller Neo-Clear™ kan histologiska prover monteras med vattenfria monteringsmedel (t.ex. Neo-Mount™, Entellan™ ny eller DPX ny) och täckglas. Efter det är de redo att förvaras.

Det rekommenderas att immersionsolja används för analys av infärgade objektglas med en mikroskopisk förstoring på >40 x.

Resultat

Syrefasta bakterier	röda
Bakgrund	grön

Utvärdering

Ett positivt resultat innebär "förekomst av syrefasta bakterier" och ett negativt resultat innebär "ingen förekomst av syrefasta bakterier". Ett positivt resultat betyder inte att en taxonomisk klassificering med mikroskop är möjlig. Om syrefasta bakterier upptäcks måste ytterligare analyser göras i laboratorier med särskild utrustning. Inte heller bakteriernas vitalitet (aktiva, inaktiva) kan fastställas.

Felsökning

Ingen färgning av syrefasta bakterier

De kritiska stegen i färgningsprocessen är avfärgningssteget, vilket kan påverkas av utstrykets tjocklek.

Dessutom är en färsk lösning av saltsyra i etanol ytterst reaktiv, vilket innebär att resultatet ska bedömas med försiktighet. Under avfärgningssteget ska inkubationstiderna som anges i det här protokollet följas exakt. Annars kan resultaten bli falskt negativa. Var dessutom noga med att paraffinsnittens tjocklek blir minst 4 µm och högst 6 µm för att få optimalt färgningsresultat.

Tekniska anmärkningar

Mikroskopet som används ska uppfylla kraven för ett laboratorium för medicinsk diagnostik.

Om histoprocessorer eller automatiska färgningssystem används ska du följa bruksanvisningarna från leverantören av systemet och programvaran. Ta bort överskott av immersionsolja före inmatningen.

Analytiska prestandaegenskaper

"AFB-colorset för histologi" infärgar och visualiserar därmed biologiska strukturer enligt beskrivningen i kapitlet "Resultat" i den här bruksanvisningen. Produkten får bara användas av behöriga och kvalificerade personer för bland annat prov- och reagenspreparering, provhantering, vävnadsanalys, val av lämpliga kontroller med mera.

Produktens analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktionssats testas.

För följande infärgningar verifierades analytiska prestanda avseende specificitet, känslighet och repeterbarhet hos produkten i 100 % av fallen:

	Specificitet mellan analyser	Känslighet mellan analyser	Specificitet inom en analys	Känslighet inom en analys
Histologisk infärgning				
syrefasta bakterier	3/3	3/3	8/8	8/8
Bakgrund	3/3	3/3	8/8	8/8

Analytiska prestandaresultat

Intradata (erhållna från samma sats) och interdata (erhållna från olika satser) anger antalet korrekt infärgade strukturer i förhållande till antalet genomförda analyser.

Kliniska prestandaegenskaper

AFB-colorset-komponenterna har använts med lyckat resultat i klinisk miljö i flera decennier inom många olika användningsområden.

I synnerhet har klinisk prestanda för AFB-colorset bestämts genom att fastställa känslighet och specificitet samt PPV och NPV i en intern studie:

	Ziehl-Neelsen-färgning
Känslighet	13/14
Specificitet	15/15

Känslighet: 13 prover av 14: 92,9 %
Specificitet: 15 prover av 15: 100 %
Positivt prediktivt värde (PPV): 100 %
Negativt prediktivt värde (NPV): 98,3 %

Resultatet av prestandautvärderingen bekräftar att produkten är lämplig för den avsedda användningen och fungerar tillförlitligt.

Men den diagnostiska tolkningen av infärgningsresultatet ska utföras av kvalificerade och behöriga yrkesverksamma personer med hänsyn till patientanamnes, morfologi, användning av adekvata kontroller och eventuella andra diagnostiska test. Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik.

Diagnostik

Diagnoser ska ställas av behörig och kvalificerad personal.
Giltiga nomenklaturer måste användas.
Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik.
Ytterligare tester måste väljas och genomföras i enlighet med erkända metoder.

Lämpliga kontroller (t.ex. ISOSLIDE™ AFB, kat.nr 1.02560.0001) ska genomföras med varje applicering för att undvika ett felaktigt resultat.

Förvaring

Förvara AFB-colorset för histologi - för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad vid +15 °C till +25 °C.

Hållbarhetstid

AFB-colorset för histologi - för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad kan användas fram till angivet utgångsdatum.
När flaskan har öppnats för första gången kan innehållet användas fram till angivet utgångsdatum om den förvaras vid +15 °C till +25 °C.
Flaskorna måste alltid vara väl tillslutna.

Kapacitet

Paketet räcker för cirka 230 appliceringar.

Ytterligare instruktioner

Endast för yrkesmässig användning.
För att undvika fel får appliceringen endast utföras av kvalificerad personal.
Nationella riktlinjer för arbetsskydd och kvalitetssäkring måste följas.
Mikroskop som används måste vara utrustade enligt standard.

Skydd mot infektion

Effektiva åtgärder måste vidtas för att skydda mot infektion i linje med laboratoriets riktlinjer.

Instruktioner för avfallshantering

Paketet måste kasseras i enlighet med gällande riktlinjer för avfallshantering.
Använda lösningar och lösningar som passerat utgångsdatum måste tas om hand som farligt avfall i enlighet med lokala riktlinjer. Information om avfallshantering finns under snabbblänken "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Tips för kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. Inom EU gäller förordning (EG) nr 1272/2008 om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar, ändring och upphävande Direktiv 67/548/EEG och 1999/45/EG och ändring av förordning (EG) nr 1907/2006 tillämpas.

Hjälpreagens

Kat.nr 1.00579	DPX ny vattenfritt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr 1.00869	Entellan™ ny täckglas för mikroskopi	500 ml
Kat.nr 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrollglas med referensvävnad för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad	25 test
Kat.nr 1.04699	Immersionsolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml
Kat.nr 1.07961	Entellan™ ny snabbt monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr 1.08298	Xylen (isomerblandning) för histologi	4 l
Kat.nr 1.09016	Neo-Mount™ vattenfritt monteringsmedel för mikroskopi	100 ml droppflaska, 500 ml
Kat.nr 1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitut) för mikroskopi	5 l

Faroklassificering

Kat.nr 1.32450.0001
Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet.
Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran.
VAR FÖRSIKTIG! Innehåller CMR-ämnen. Beakta respektive säkerhetsanvisningar i säkerhetsdatabladet.

Produktens huvudsakliga beståndsdelar

Reagens 1 eller kat.nr 1.08512
Färgindex 42520 eller 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l
1 l = 0,99 kg
* Båda färgämnena kan användas vid beredning av en lösning – färgningsresultatets sensitivitet och specificitet blir desamma.

Reagens 2 eller kat.nr Art. 1.00327
HCl 0,75 %
innehåller C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reagens 3
Färgindex 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg

Generell anmärkning

Om en allvarlig händelse inträffat vid eller som ett resultat av användning av den här enheten ska den rapporteras till tillverkaren eller dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Litteratur

- 1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- 2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.
H290: Kan vara korrosivt för metaller.
H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon.
H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.
H341: Misstänks kunna orsaka genetiska defekter.
H410: Mycket giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter.

P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
P273: Undvik utsläpp till miljön.
P280: Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ ögonskydd/ ansiktsskydd.
P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten.
P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se

till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/ läkare.

P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

- Reagens 1:
- H226: Brandfarlig vätska och ånga.
 - H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon.
 - H341: Misstänks kunna orsaka genetiska defekter.
 - H410: Mycket giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter.

- Reagens 2:
- H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.
 - H290: Kan vara korrosivt för metaller.
 - H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-24	Första version med införande av revisionshistorik



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperaturbegränsning

Status: 2024-Jul-24

1.32450.0001 REF

Mikroskopie

Souprava pro barvení AFB pro histologii

pro detekci acidorezistentních bakterií
v histologické tkáni

Pouze pro profesionální použití

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*

Zamýšlený účel

Tato „Souprava pro barvení AFB pro histologii – pro detekci acidorezistentních bakterií v histologické tkáni“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k histologickému vyšetření vzorků lidského původu. Jedná se o barvicí soupravu, kterou lze použít v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku *in vitro* z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové bakteriální struktury (např. acidorezistentní bakterie (AFB) prostřednictvím fixace, zalití, barvení, dobarvení, montování) v materiálech histologických vzorků, například v histologických řezech tkání plic, pro diagnostické účely.

Souprava pro barvení AFB pro histologii je založena na Ziehl-Neelsenově metodě barvení k detekci acidorezistentních bakterií. Souprava je upravena tak, že odpadá zahřívání roztoku karbolfuchsinu. Souprava je upravena tak, že odpadá zahřívání roztoku karbolfuchsinu. Tím se zabraňuje uvolňování potenciálně nebezpečných fenolických výparů. Díky použití světle zeleného roztoku je barva pozadí méně dominantní, takže acidorezistentní bakterie jsou výrazně viditelnější, a tím se zvyšuje kvalita diagnózy.

Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímků získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy mohou být nutná další vyšetření.

Princip

Barvení acidorezistentní bakterie je náročné vzhledem k vysokému obsahu lipidů a vosku v jejich buněčných stěnách. Aby se urychlila absorpce fuchsinového barviva a tím tvorba komplexu mykolát-fuchsin v buněčné stěně, roztok karbolfuchsinu aplikovaný na přípravek se normálně zahřívá, dokud nevytvoří páru. Souprava pro barvení AFB pro histologii obsahuje modifikovaný roztok karbolfuchsinu, který se nezahřívá (Kinyounova metoda, barvení za studena).

Jakmile acidorezistentní bakterie absorbují fuchsinové barvivo, je prakticky nemožné je znovu odbarvit, i po intenzivním ošetření odbarvujícím roztokem jako je např. kyselina chlorovodíková v ethanolu. Acidorezistentní bakterie jsou proto označovány jako acidorezistentní a alkohol-rezistentní bakterie, a při mikroskopické vizualizaci se barví červeně. Všechny ostatní mikroorganismy, které nejsou acidorezistentní, se dobarví příslušným barvivem.

Materiál vzorku

Řezy formalínem fixované tkáni lidského původu zalité do parafínu (4-6 µm silné parafínové řezy)

Činidla

Kat.nr
1.32450.0001 Souprava pro barvení AFB pro histologii
pro detekci acidorezistentních bakterií v histologické tkáni

Složky balení:

Barvicí souprava obsahuje

Činidlo 1:	Roztok karbolfuchsinu	250 ml
Činidlo 2:	Kyselina chlorovodíková v ethanolu	2 x 250 ml
Činidlo 3:	Roztok světle zelený SF	250 ml

Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené.

K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje.

Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Řezy zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Histologické řezy

K barvení histologických řezů lze použít Souprava pro barvení AFB pro histologii.

Příprava činidla

Činidla Souprava pro barvení AFB pro histologii – pro detekci acidorezistentních bakterií v histologické tkáni jsou určena k přímému použití, ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného barvení a jeho stability.

Postup

Barvení v barvicí komůrce

Histologická sklíčka zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Sklíčka je nutné ponořit a pohybovat jimi v roztoku; samotné ponoření nevede k dostatečnému výslednému obarvení.

Sklíčka je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabrání jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků.

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčko s histologické tkáni	
Činidlo 1 (roztok karbolfuchsinu)	30 min
Tekoucí vodovodní voda	45 sekundy
Činidlo 2 (kyselina chlorovodíková v ethanolu)	15 sekundy
Tekoucí vodovodní voda	15 sekundy
Činidlo 3 (roztok světle zelený SF)	5 min
Omyjte vodou z vodovodu	10 sekundy
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylen nebo Neo-Clear™	5 min
Xylen nebo Neo-Clear™	5 min
Vlhká sklíčka Neo-Clear™ montujte za použití přípravku Neo-Mount™, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan™ nový a krycího sklíčka.	

Po dehydrataci (vzestupnou alkoholovou řadou) a pročištění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear™ lze histologické vzorky montovat za použití bezvodých montovacích přípravků (např. Neo-Mount™, Entellan™ nový nebo DPX nový) a krycího sklíčka a poté uskladnit.

Při analýze obarvených preparátů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

Výsledek

Acidorezistentní bakterie	červená
Pozadí	zelené

Hodnocení

Pozitivní výsledek znamená „přítomnost acidorezistentní bakterie“, negativní výsledek znamená „nepřítomnost acidorezistentní bakterie“. Pozitivní výsledek ještě neznamená, že lze provést taxonomickou klasifikaci mikroskopicky. V případě detekce acidorezistentní bakterie je nutné provést další vyšetření ve specializovaných laboratořích. Nelze také stanovit vitalitu (aktivní, neaktivní) bakterií.

Odstraňování potíží

Absence obarvení acidorezistentní bakterie

Kritickým je v tomto procesu barvení krok odbarvení, který může být ovlivněn tloušťkou nátěru vzorku.

Čerstvý roztok kyseliny chlorovodíkové v ethanolu je navíc vysoce reaktivní, proto je třeba výsledky hodnotit s obezřetností. Inkubační doby uvedené v tomto protokolu v kroku odbarvení je nutné přesně dodržet. V opačném případě můžete získat falešně negativní výsledky. Kromě toho je třeba dbát na to, aby tloušťka parafínových řezů byla nejméně 4 µm a nejvýše 6 µm, aby byl výsledek barvení optimální.

Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře. Při používání histoprocessorů nebo automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a software. Před uložením odstraňte přebytek imerzního oleje.

Analytické výkonnostní parametry

„Souprava pro barvení AFB pro histologii“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitole „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek směji používat pouze oprávněné a kvalifikované osoby, což platí mimo jiné pro přípravu vzorků a činidel, manipulaci se vzorky, zpracování histogramů, rozhodnutí o vhodných kontrolách a další.

Analytické parametry výrobku jsou validovány testováním každé výrobní šarže.

U následujícího barvení byla potvrzena analytická výkonnost výrobku z hlediska specifičnosti, senzitivity a opakovatelnosti na 100 %:

	Specifič- nost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifič- nost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Histologické barvení				
Acidorezistentní bakterie	3/3	3/3	8/8	8/8
Pozadí	3/3	3/3	8/8	8/8

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

Výsledky v rámci jednoho testu (provedeného na stejné šarži) a mezi testy (provedenými na různých šaržích) uvádějí počet správně obarvených struktur v poměru k počtu provedených testů.

Klinické výkonnostní parametry

Složky Souprava pro barvení AFB se už desítky let úspěšně používají v klinickém prostředí ve velkém počtu aplikací.

Klinická účinnost Souprava pro barvení AFB byla stanovena zejména stanovením její senzitivity a specificity a hodnot PPV a NPV v interní studii:

	Ziehlovo–Neelsenovo barvení
Senzitivita	13/14
Specifičnost	15/15

Senzitivita: 13 vzorků z 14: 92,9 %
Specifičnost: 15 vzorků z 15: 100 %
Prediktivní hodnota pozitivního testu (PPV): 100 %
Prediktivní hodnota negativního testu (NPV): 98,3 %

Výsledky tohoto hodnocení funkčnosti potvrzují, že výrobek je vhodný pro zamýšlené použití a spolehlivě funguje.

Diagnostickou interpretaci výsledků barvení však musejí provádět kvalifikovaní a oprávnění odborníci po zvážení pacientovy anamnézy, morfologie, použití vhodných kontrol a případně dalších diagnostických testů. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál. Je nutné používat platné nomenklatury. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí. Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznanych metod. Při každé aplikaci použijte vhodné kontroly (např. ISOSLIDE™ AFB, kat. č. 1.02560.0001), předejdete tak nesprávným výsledkům.

Skladování

Souprava pro barvení AFB pro histologii - pro detekci acidorezistentních bakterií v histologické tkáni skladujte při teplotě +15 až +25 °C.

Doba použitelnosti

Souprava pro barvení AFB pro histologii - pro detekci acidorezistentních bakterií v histologické tkáni lze používat až do uvedeného data použitelnosti. Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 až +25 °C. Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

Kapacita

Obsah balení stačí pro přibližně 230 aplikací.

Další pokyny

Pouze pro profesionální použití.
Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál. Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality. Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnicemi.

Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrnicemi týkajícími se likvidace. Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnicemi. Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese www.microscopy-products.com. V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící Směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

Pomocná činidla

Kat. č. 1.00579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.00869	Entellan™ nový pro coverslipper pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci acidorezistentních bakterie v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.08298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l
Kat. č. 1.08512	AFB-Color roztok karbolfuchsinu pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací medium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.09843	Neo-Clear™ (náhražka xylenu) pro mikroskopii	5 l

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.32450.0001
Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě. Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání. POZOR! Obsahuje látky karcinogenní, mutagenní a/nebo toxické pro reprodukci. Dodržujte příslušné bezpečnostní pokyny v bezpečnostním listu.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.32450.0001
Činidlo 1 nebo kat. č. 1.08512
C.I. 42520 nebo 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l
1 l = 0,99 kg
* K přípravě roztoku lze použít obě barviva, citlivost a specifičnost výsledného barvení budou stejné.

Činidlo 2 nebo kat. č. 1.00327
HCl 0,75 %
obsahuje C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Činidlo 3
C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg

Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

Literaturu

- 1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- 2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.
H290: Může být korozivní pro kovy.

H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
H319: Způsobuje vážné podráždění očí.
H341: Podezření na genetické poškození.
H410: Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

P210: Chraňte před teplem, horkými povrchy, jiskrami, otevřeným ohněm a jinými zdroji zapálení. Zákaz kouření.

P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ ochranné brýle/ obličejový štít.

P303 + P361 + P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou.

P304 + P340 + P310: PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/ lékaře.

P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Činidlo 1:

H226: Hořlavá kapalina a páry.

H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

H341: Podezření na genetické poškození.

H410: Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Činidlo 2:

H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.

H290: Může být korozivní pro kovy.

H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-24	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si
připojené dokumenty



Spotřebujte do
RRRR-MM-DD



Teplotní
omezení

Status: 2024-Jul-24

Divize Life Science společnosti Merck používá v USA a Kanadě název MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany, a/nebo její dceřiné a sesterské společnosti. Všechna práva vyhrazena. Merck a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách lze získat ve veřejně dostupných zdrojích.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Microscopie

Kit de colorare AFB pentru histologie

pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi
în țesutul histologic

Exclusiv pentru uz profesional

IVD

Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*

Scopul preconizat

Acest „Kit de colorare AFB pentru histologie - pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic” este utilizat pentru diagnosticul medical al celulelor umane și servește scopului de investigație histologică a eșantioanelor de origine umană. Acesta este un kit de colorare gata de utilizare care, atunci când este utilizat împreună cu alte produse pentru diagnostic *in vitro* din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă bacteriene (ex. bacterii rezistente la acizi (AFB) prin fixare, încastrare, colorare, contracolorare, montare) din eșantioanele de testat histologice, de exemplu secțiuni histologice din țesut din plămân.

Kit de colorare AFB pentru histologie se bazează pe metoda de colorare Ziehl-Neelsen pentru detectarea bacteriilor acidorezistente. Setul este modificat astfel încât încălzirea soluției de fuxină carbol nu mai este necesară. Setul este modificat astfel încât încălzirea soluției de fuxină carbol nu mai este necesară. În acest fel se va evita eliberarea de vapori fenolici potențial periculoși. Prin utilizarea soluției de culoare verde deschis, culoarea de fundal este mai puțin dominantă iar bacteriile acidorezistente devin considerabil mai vizibile, crescând calitatea diagnosticării.

Structurile necolorate au un contrast relativ scăzut și sunt extrem de dificil de distins sub microscopul optic. Imaginile create folosind soluțiile de colorare ajută investigatorul autorizat și calificat să definească mai bine forma și structura în astfel de cazuri. Pot fi necesare examinări suplimentare pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Principiu de funcționare

Bacterii rezistente la acizi sunt dificil de colorat din cauza proporției mari de lipide și cerumen din pereții celulelor lor. Pentru a accelera absorbția colorantului fucsină și, astfel, formarea complexului micolat-fucsină în peretele celular, soluția de carbol-fuchsină aplicată preparatului este încălzită în mod normal până când formează abur. Kit de colorare AFB pentru histologie oferă o soluție modificată de carbol fuxină care face ca încălzirea să nu mai fie necesară (metoda Kinyoun, colorare la rece).

După ce bacterii rezistente la acizi au absorbit colorantul fucsină, este practic imposibil să fie decolorate din nou, chiar dacă sunt tratate intensiv cu soluții de decolorare, cum ar fi acidul clorhidric din etanol. Prin urmare, bacterii rezistente la acizi sunt considerate rezistente la acizi și la alcool pentru colorare și sunt colorate roșu la vizualizarea microscopică. În mod corespunzător, toate microorganismele nerezistente la acizi sunt contracolorate cu un colorant adecvat.

Eșantion de probă

Secțiuni de țesut de origine umană fixate în formol, incluse în parafină (secțiuni în parafină de 4 - 6 μm grosime)

Reactivi

Cat. nr. 1.32450.0001 Kit de colorare AFB pentru histologie pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic

Componentele pachetului:

Kitul de colorare conține

Reactiv 1:	Soluție carbol fucsină	250 ml
Reactiv 2:	Acid clorhidric în etanol	2 x 250 ml
Reactiv 3:	Soluție SF verde-gălbui	250 ml

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.

Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.

Toate probele vor fi etichetate clar.

Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor.

Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.

La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Deparafinizați secțiunile prin metoda convențională și rehidrați într-o serie descendentă de alcooluri.

Secțiuni histologice

Kit de colorare AFB pentru histologie poate fi utilizat pentru colorarea secțiunilor histologice.

Prepararea reactivului

Reactivii din Kit de colorare AFB pentru histologie - pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic sunt gata de utilizare, diluarea soluțiilor nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Procedură

Colorarea în celula de colorare

Deparafinizați lamele histologice prin metoda convențională și rehidrați într-o serie descendentă de alcooluri.

Lamele trebuie introduse și mișcate în soluții, doar imersia simplă produce rezultate necorespunzătoare de colorare.

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăsate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală. Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu țesutul histologic	
Reactiv 1 (soluție carbol fucsină)	30 min
Jet de apă de la robinet	45 sec.
Reactiv 2 (acid clorhidric în etanol)	15 sec.
Jet de apă de la robinet	15 sec.
Reactiv 3 (soluție SF verde-gălbui)	5 min
Spălați cu apă de la robinet	10 sec.
Etanol 96%	1 min
Etanol 96%	1 min
Etanol 100%	1 min
Etanol 100%	1 min
Xilen sau Neo-Clear™	5 min
Xilen sau Neo-Clear™	5 min
Montați lamele umezite cu Neo-Clear™ cu Neo-Mount™ sau lamele umezite cu xilen cu de ex. Entellan™ nou și capac de sticlă.	

După deshidratare (serie descendentă de alcooluri) și curățare cu xilen sau Neo-Clear™, probele histologice pot fi montate cu agenți de montare fără apă (ex. Neo-Mount™, Entellan™ nou sau DPX nou) și un capac de sticlă, apoi pot fi depozitate.

Utilizarea uleiului de imersie este recomandată pentru analiza lamelor colorate cu mărire microscopică >40x.

Rezultat

Bacterii rezistente la acizi roșu
Fundal verde

Evaluare

Un rezultat pozitiv înseamnă „bacterii rezistente la acizi prezente”, un rezultat negativ „bacterii rezistente la acizi nu sunt prezente”. Un rezultat pozitiv nu înseamnă că este posibilă o clasificare taxonomică prin microscopie. Dacă sunt detectate bacterii rezistente la acizi, trebuie efectuate analize suplimentare în laboratoare special echipate. Nici vitalitatea bacteriilor (active, inactive) nu poate fi stabilită.

Depanarea

Nu există colorare a bacterii rezistente la acizi

Faza critică a acestui proces de colorare este faza de decolorare, care poate fi influențată de grosimea frotiului de specimen.
În plus, o soluție proaspătă de acid clorhidric în etanol este puternic reactivă, ceea ce înseamnă că rezultatul trebuie evaluat cu atenție. Perioadele de incubare specificate în acest protocol trebuie respectate cu strictețe în faza de decolorare, pentru că, în caz contrar, pot fi obținute rezultate fals-negative. În plus, trebuie să vă asigurați că grosimea secțiunilor de parafină este de cel puțin 4 µm și de cel mult 6 µm pentru a obține un rezultat optim de colorare.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical.
Atunci când folosiți sisteme histoprocesoare sau sisteme pentru colorare automată, respectați instrucțiunile de utilizare oferite de furnizorul sistemului și al software-ului.
Înlăturați excesul de ulei de imersie înainte de umplere.

Caracteristici de performanță analitică

„Kit de colorare AFB pentru histologie” colorează și, prin urmare, vizibilizează structurile biologice, așa cum este descris în capitolul „Rezultat” al acestei IDU. Produsul trebuie utilizat numai de către persoane autorizate și calificate, utilizarea incluzând, printre altele, pregătirea probelor și a reactivilor, manipularea probelor, histoprocizarea, deciziile privind controalele adecvate și multe altele.

Performanța analitică a produsului este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție.

Pentru următoarele colorări, performanța analitică a fost confirmată din punct de vedere al specificității, sensibilității și repetabilității produsului cu o rată de 100%:

	Specificate inter-test	Sensitivitate inter-test	Specificate intra-test	Sensitivitate intra-test
Colorație histologică				
Bacterii rezistente la acizi	3/3	3/3	8/8	8/8
Fundal	3/3	3/3	8/8	8/8

Rezultate de performanță analitică

Datele intra- (efectuate pe același lot) și inter-test (efectuate pe loturi diferite) indică numărul de structuri colorate corect în raport cu numărul de teste efectuate.

Caracteristici de performanță clinică

Componentele Kit de colorare AFB au fost utilizate cu succes în contextul clinic de zeci de ani într-un număr mare de aplicații.
Performanța clinică a Kit de colorare AFB, în special, a fost determinată prin stabilirea sensibilității și specificității acesteia și a PPV și NPV într-un studiu intern:

	Colorarea Ziehl-Neelsen
Sensitivitate	13/14
Specificitate	15/15

Sensibilitate: 13 mostre din 14: 92,9%
Specificitate: 15 mostre din 15: 100%
Valoare predictivă pozitivă (PPV): 100%
Valoare predictivă negativă (NPV): 98,3%

Rezultatele acestei evaluări de performanță confirmă faptul că produsul este potrivit pentru utilizarea prevăzută și funcționează fiabil.

Cu toate acestea, Interpretarea diagnostică a rezultatelor colorării trebuie efectuată de către profesioniști calificați și autorizați, luând în considerare anamneza pacientului, morfologia, utilizarea controalelor adecvate și teste de diagnostic suplimentare, dacă este cazul. Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman.

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare.
Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman. Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute.
Seruri de control adecvate (ex. ISOSLIDE™ AFB, Cat. nr. 1.02560.0001) trebuie efectuate la fiecare aplicație, pentru a se evita rezultate incorecte.

Depozitarea

Depozitați Kit de colorare AFB pentru histologie - pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic la temperaturi cuprinse între +15 °C și +25 °C.

Durata de depozitare

Kit de colorare AFB pentru histologie - pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic poate fi utilizată până la termenul de valabilitate menționat.
După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C.

Flacoanele trebuie păstrate în permanență bine închise.

Capacitatea

Pachetul este suficient pentru aproximativ 230 de aplicații.

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional.

Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat.
Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigurarea calității.
Trebuie utilizate microscopae echipate conform standardelor.

Protecția împotriva infecției

Vor fi luate măsuri active pentru protejarea împotriva infecției, conform recomandărilor laboratorului.

Instrucțiuni privind eliminarea

Ambalajul trebuie eliminat în conformitate cu reglementările locale. Soluțiile utilizate și soluțiile expirate trebuie eliminate ca deșeuri speciale, în conformitate cu normele naționale. Informații privind eliminarea pot fi găsite sub opțiunea Legături Rapide „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Indicii privind eliminarea produselor de microscopie”) la www.microscopy-products.com. În cadrul UE, în prezent se aplică REGULAMENTUL (CE) Nr 1272/2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE, precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006.

Reactivi auxiliari

Cat. nr. 1.00579	DPX nou mediu de montare neapos pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.00869	Entellan™ nou mediu de montare pentru lamelă pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.02560	Lame de control ISOSLIDE™ AFB cu țesut de referință pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic	25 teste
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.08298	Xilen (amestec de izomeri) pentru histologie	4 l
Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.09843	Neo-Clear™ (substituit de xilen) pentru microscopie	5 l

Categoria de risc

Cat. nr. 1.32450.0001
Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate.
Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere.
ATENȚIE! Conține substanțe CMR. Vă rugăm să respectați instrucțiunile de siguranță corespunzătoare oferite în fișa cu date de securitate.

Componentele principale ale produsului

Cat. nr. 1.32450.0001
Reactiv 1 sau Cat. nr. 1.08512
C.I. 42520 sau 425106 g/l*
C₆H₅OH40 g/l
1 l = 0,99 kg
* Ambii coloranți pot fi utilizați pentru prepararea unei soluții, sensibilitatea și specificitatea colorării rezultate vor fi identice.

Reactiv 2 sau Cat. nr. 1.00327
HCl0,75 %
conține C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reactiv 3
C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg

Observație generală

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Literatură

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.

H290: Poate fi corosiv pentru metale.

H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.

H341: Susceptibil de a provoca anomalii genetice.

H410: Foarte toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

P210: A se păstra departe de surse de căldură, suprafețe fierbinți, scânteii, flăcări și alte surse de aprindere. Fumatul interzis.

P273: Evitați dispersarea în mediu.

P280: A se purta mănuși de protecție/ îmbrăcăminte de protecție/ echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P303 + P361 + P353: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Scoateți imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă.

P304 + P340 + P310: ÎN CAZ DE INHALARE: transportați persoana la aer liber și mențineți-o într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/ un medic.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

Reactiv 1:

H226: Lichid și vapori inflamabili.

H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

H341: Susceptibil de a provoca anomalii genetice.

H410: Foarte toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

Reactiv 2:

H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.

H290: Poate fi corosiv pentru metale.

H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-24	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



A se folosi până în
data de AAAA-LL-ZZ



Temperatura
limită

Status: 2024-Jul-24

The Life Science Business aparținând Merck operează ca MilliporeSigma în SUA și Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany și / sau afiliații săi. Toate drepturile rezervate. Merck și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărci comerciale sunt disponibile prin resurse disponibile public.

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopi

AFB-farvesæt til histologi

til detektion af syrefaste bakterier i histologisk væv

Kun til professionel brug

IVD Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose



Beregnet formål

Dette "AFB-farvesæt til histologi - til detektion af syrefaste bakterier i histologisk væv" anvendes til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til histologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. Det er et klar-til-brug farvningskit, som når det bruges sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnose fra vores sortiment laver bakterielle målstrukturer (f.eks. syrefaste bakterier (AFB) ved fiksering, indstøbning, farvning, kontrastfarvning, montering) i histologiske prøvematerialer, eksempelvis i histologiske snit af f.eks. lunge, der kan evalueres til diagnoseformål.

AFB-farvesæt til histologi er baseret på Ziehl-Neelsen-farvningsmetoder til detektion af syrefaste bakterier. Sættet er modificeret, så det ikke er nødvendigt med opvarmning af karbolfuchsin-opløsningen. Sættet er modificeret, så det ikke er nødvendigt med opvarmning af karbolfuchsin-opløsningen. Det betyder, at udledningen af potentielt farlige fenoldampe undgås. Brugen af den lysegrønne opløsningen før baggrundsfarven mindre domintet, så syrefaste bakterier bliver mere synlige, hvilket dermed forbedrer kvaliteten af diagnosen.

Ufarvede strukturer har en relativ lav kontrast og er ekstremt vanskelige at skelne under lysmikroskopet. De dannede billeder med farveopløsninger hjælper autoriseret og kvalificerede undersøgere med bedre at definere formen og strukturen i sådanne tilfælde. Det kan være nødvendigt med yderligere undersøgelser for at få en definitiv diagnose.

Princip

Syrefaste bakterier er vanskelige at farve på grund af den høje lipid- og voksandel i deres cellevægge. For at fremskynde absorptionen af fuchsinfarvestoffet og dermed dannelsen af mycolat-fuchsin-komplekset i cellevæggen opvarmes karbolfuchsinopløsningen, der påføres præparatet, normalt, indtil den danner damp. AFB-farvesæt til histologi har en modificeret karbolfuchsinopløsning, som ikke kræver opvarmning (Kinyoun-metode, kold farvning).

Når syrefaste bakterier har absorberet fuchsinfarvestoffet, er det næsten umuligt at affarve dem, også selvom de bliver behandlet grundigt med en affarvningsopløsning såsom saltsyre i ethanol. Af denne grund betegnes syrefaste bakterier som syre- og alkoholfaste i forbindelse med farvning, og de farves røde ved mikroskopisk visualisering. Derfor kontrastfarves alle ikke-syrefaste mikroorganismer med et passende farvestof.

Prøvemateriale

Snit af formalinfikseret væv af human oprindelse i paraffin (4 - 6 µm tykke paraffinsnit)

Reagenser

Varenr. 1.32450.0001 AFB-farvesæt til histologi til detektion af syrefaste bakterier i histologisk væv

Pakkens komponenter:

Farvesættet indeholder

Reagens 1:	Karbolfuchsinopløsning	250 ml
Reagens 2:	Saltsyre i ethanol	2 x 250 ml
Reagens 3:	Lysegrøn SF-opløsning	250 ml

Forberedelse af prøverne

Prøveudtagningen skal udføres af faguddannet personale.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

Der skal anvendes egnede instrumenter til prøveudtagning og forberedelse af prøverne.

Følg producentens anvisninger med henblik på anvendelse/brug.

Når der anvendes tilhørende hjælpereagenser, skal man følge de tilhørende brugsanvisninger.

Deparaffiner de snittene på traditionel vis, og rehydrer dem i en faldende alkoholrække.

Histologiske snit

AFB-farvningssæt til histologi kan anvendes til farvning af histologiske snit.

Forberedelse af reagenserne

Reagenserne i AFB-farvesæt til histologi - til detektion af syrefaste bakterier i histologisk væv er klar til brug. Fortynding af opløsningerne er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningernes stabilitet.

Procedure

Farvning i farvningkuvetten

Deparaffiner de histologiske snit på traditionel vis, og rehydrer dem i en faldende alkoholrække.

Objektglassene skal nedsænkes og bevæges i opløsningerne. Nedsækning alene resulterer i inadaekvate farveresultater.

Snittene skal dryppe godt af efter hvert farvetrin for at undgå unødvendig krydskontaminering af opløsningerne.

De anførte tider skal overholdes for at sikre et optimalt resultat af farvningen.

Snit med histologisk væv	
Reagens 1 (karbolfuchsinopløsning)	30 min.
Rindende postevand	45 sek.
Reagens 2 (saltsyre i ethanol)	15 sek.
Rindende postevand	15 sek.
Reagens 3 (lysegrøn SF-opløsning)	5 min.
Vaskes med postevand	10 sek.
Ethanol 96 %	1 min.
Ethanol 96 %	1 min.
Ethanol 100 %	1 min.
Ethanol 100 %	1 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Monter Neo-Mount™ på de Neo-Clear™-vædede objektglas eller monter f.eks. Entellan™ ny på de xylenvædede objektglas, og sæt dækglass på.	

Efter dehydrering (stigende alkoholrække) og klaring med xylen eller Neo-Clear™, kan de histologiske prøver monteres med vandfri monteringsmidler (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™ ny eller DPX ny) og et dækglass og kan derefter opbevares.

Brugen af immersionsolie anbefales til analyse af farvede objektglas med en mikroskopforstørrelse på >40x.

Resultat

Syrefaste bakterier	rød
Baggrund	grøn

Evaluering

Et positivt resultat betyder "syrefaste bakterier til stede", og et negativt resultat betyder "ingen syrefaste bakterier til stede". Et positivt resultat betyder ikke, at det er muligt med en taksonomisk klassifikation med mikroskop. Hvis der påvises syrefaste bakterier, skal der udføres flere undersøgelser på et specialiseret laboratorium. Bakteriernes vitalitet (aktiv, inaktiv) kan heller ikke bestemmes.

Fejlfinding

Ingen farvning af syrefaste bakterier

Det kritiske trin i denne farvningsproces er affarvningstrinet, som kan påvirkes af prøveudstrygningens tykkelse. Derudover har en frisk opløsning af saltsyre i ethanol meget reaktiv, hvilket betyder, at resultatet skal evalueres med omhu. De inkuberingstider, der er anført i denne protokol, skal overholdes nøje under affarvningstrinnet, da det i modsat fald kan medføre falske negative resultater. Derudover skal man sørge for, at paraffinsnittenes tykkelse er på mindst 4 µm og maksimalt 6 µm for at opnå et optimalt farvningsresultat.

Tekniske bemærkninger

Det anvendte mikroskop skal leve op til kravene på et laboratorium til medicinsk diagnose. Ved brug af histoprocessorer og automatiske farvesystemer skal brugervejledningen fra leverandøren af systemet og softwaren følges. Fjern overskydende immersionsolie forud for arkivering.

Analytiske ydeevnekarakteristika

”AFB-farvesæt til histologi” farver og visualiserer derved biologiske strukturer, som beskrevet i kapitlet ”Resultat” i denne brugsanvisning. Dette produkt må kun anvendes af autoriserede og kvalificerede personer, hvilket bl.a. inkluderer forberedelse af prøve og reagens, prøvehåndtering, bearbejdning af vævsprøver, afgørelser angående egnede kontroller med mere. Produktets analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktionsparti. For de følgende farver blev den analytiske ydeevne bekræftet med henblik på specificitet, sensitivitet og repeterbarhed for produktet med en rate på 100 %:

	Inter-undersøgelse specificitet	Inter-undersøgelse sensitivitet	Intra-undersøgelse specificitet	Intra-undersøgelse sensitivitet
Histologisk farvning				
Syrefaste bakterier	3/3	3/3	8/8	8/8
Baggrund	3/3	3/3	8/8	8/8

Analytiske ydeevneresultater

Data fra intra- (udført på samme parti) og inter-undersøgelse (udført på forskellige partier) oplyster antallet af korrekt farvede strukturer i forhold til antallet af udførte undersøgelser.

Kliniske ydeevnekarakteristika

AFB-farvesæt-komponenterne er blevet anvendt med vellykket resultat i kliniske miljøer i årtier med et højt antal anvendelser. Den kliniske ydeevne for AFB-farvesæt er isæt blevet konstateret ved at fastlægge dets følsomhed og specificitet samt dets PPV og NPV i en intern undersøgelse:

	Ziehl-Neelsen-farvning
Sensitivitet	13/14
Specificitet	15/15

Sensitivitet: 13 prøver ud af 14: 92,9 %
Specificitet: 15 prøver ud af 15: 100 %
Positiv prognoseværdi (PPV): 100 %
Negativ prognoseværdi (NPV): 98,3 %

Resultaterne af denne ydeevnevurdering bekræfter, at produktet er egnet til den beregnede brug og har en pålidelig ydeevne.

Den diagnostiske tolkning af farvningsresultaterne skal dog udføres af kvalificerede og autoriserede eksperter med henblik på patientens anamnese, morfologi, brugen af passende kontroller og yderligere diagnostiske tests, såfremt relevant. Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik.

Diagnostik

Diagnoser må udelukkende stilles af autoriseret og kvalificeret personale. Der skal anvendes gyldige nomenklaturer. Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik. Yderligere test skal udvælges og udføres i henhold til anerkendte metoder.

Egnede kontroller (f.eks. ISOSLIDE™ AFB, varenr 1.02560.0001) skal udføres ved hver anvendelse for at undgå forkerte resultater.

Opbevaring

AFB-farvesæt til histologi - til detektion af syrefaste bakterier i histologisk væv skal opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhed

AFB-farvesæt til histologi - til detektion af syrefaste bakterier i histologisk væv) kan bruges indtil den anførte udløbsdato. Efter åbning af flasken kan indholdet bruges indtil den anførte udløbsdato, hvis flasken opbevares ved +15 °C til +25 °C. Flaskerne skal altid være forsvareligt lukkede.

Kapacitet

Pakken er tilstrækkelig til ca. 230 anvendelser.

Yderligere anvisninger

Kun til professionel brug.

For at undgå fejl må produktet kun anvendes af faguddannet personale. Nationale bestemmelser vedrørende arbejdssikkerhed og kvalitetssikring skal overholdes. Der skal anvendes mikroskoper, der udstyret i henhold til de gældende standarder.

Beskyttelse mod infektioner

Der skal træffes effektive foranstaltninger til beskyttelse mod infektioner i henhold til laboratoriets retningslinjer.

Bortskaffelse

Emballagen skal bortskaffes i overensstemmelse med de gældende bestemmelser for bortskaffelse. Brugte opløsninger og opløsninger, hvor holdbarheden er udløbet, skal bortskaffes som særligt affald i overensstemmelse med de lokale bestemmelser. Oplysninger om bortskaffelse kan findes under linket ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tip til bortskaffelse af produkter til mikroskopi) under www.microscopy-products.com. I EU skal den gældende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassificering, mærkning og emballering af stoffer og blandinger og om ændring og ophævelse af direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og om ændring af forordning (EF) nr. 1907/2006 overholdes.

Øvrige reagenser

Varenr. 1.00579	DPX ny vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.00869	Entellan™ ny til coverslipper til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolglas med referencevæv til påvisning af syrefaste bakterier i histologisk væv	25 test
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.08298	Xylen (isomerisk blanding) til histologi	4 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 500 ml
Varenr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylenerstatning) til mikroskopi	5 l

Fareklassificering

Varenr. 1.32450.0001
Vær opmærksom på den fareklassificering, der er trykt på etiketten, og oplysningerne i sikkerhedsdatabladet. Sikkerhedsdatabladet fås på hjemmesiden og ved forespørgsel. FORSIGTIG! Indeholder CMR-stoffer. Følg de pågældende sikkerhedsanvisninger, som findes i sikkerhedsdatabladet.

Produktets hovedkomponenter

Varenr. 1.32450.0001		
Reagens 1 eller varenr. 1.08512		
Farvenideks 42520 eller 42510	6 g/l*	
C ₆ H ₅ OH	40 g/l	
1 l =	0,99 kg	
* Begge farvestoffer kan bruges til fremstilling af opløsningen. Farveresultatet har samme følsomhed og specificitet.		
Reagens 2 eller varenr. 1.00327		
HCl	0,75 %	
indeholder C ₂ H ₅ OH		
1 l =	0,90 kg	
Reagens 3		
Farvenideks 42095	5 g/l	
CH ₃ COOH	2,1 g/l	
1 l =	1,0003 kg	

Generel bemærkning

Hvis der under brugen af dette apparat eller som følge af dets brug opstår en alvorlig hændelse, skal dette meddeles producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og den nationale myndighed.

Litteratur

- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H290: Kan ætse metaller.

H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

H341: Mistænkt for at forårsage genetiske defekter.

H410: Meget giftig med langvarige virkninger for vandlevende organismer.

P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.

P273: Undgå udledning til miljøet.

P280: Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af/ fjernes. Skyl huden med vand.

P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/ læge.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

Reagens 1:

H226: Brandfarlig væske og damp.

H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

H341: Mistænkt for at forårsage genetiske defekter.

H410: Meget giftig med langvarige virkninger for vandlevende organismer.

Reagens 2:

H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H290: Kan ætse metaller.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-24	Første version med introduktion af revisionshistorik



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation



Skal bruges inden
ÅÅÅÅ-MM-DD



Tilladt
temperatur

Status: 2024-Jul-24

Life science-afdelingen hos Merck drives under navnet MilliporeSigma i US og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany og/eller dennes tilknyttede selskaber. Alle rettigheder forbeholdes. Merck og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan findes via de offentligt tilgængelige ressourcer.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopiju

Komplet za bojenje AFB za histologiju

za detekciju acidorezistentnih bakterija u histološkom tkivu

Samo za profesionalnu uporabu

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

Ovaj „Komplet za bojenje AFB za histologiju - za detekciju acidorezistentnih bakterija u histološkom tkivu“ koristi se za dijagnozu ljudskih stanica te služi u histološkim ispitivanjima materijala uzorka ljudskog podrijetla. Radi se o kompletu za bojenje pripremljenom za upotrebu zahvaljujući kojem je, kada se upotrebljava s drugim *in vitro* dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće procijeniti bakterijske ciljne strukture (npr. acidorezistentne bakterije (AFB) i to fiksiranjem, uklapanjem, bojenjem, protuboženjem, poklapanjem) u materijalima histoloških uzoraka, primjerice u histološkim sekcijama npr. pluća, procjenjive u dijagnostičke svrhe.

Komplet za bojenje AFB za histologiju temelji se na metodi bojenja po Ziehl i Neelsenu za detekciju acidorezistentnih bakterija. Ovaj komplet izmijenjen je tako da zagrijavanje otopine karbol-fuksina nije potrebno. Ovaj komplet izmijenjen je tako da zagrijavanje otopine karbol-fuksina nije potrebno. Zahvaljujući tome izbjegava se oslobađanje potencijalno opasnih para fenola. Pri primjeni svjetlozelene otopine boja pozadine postaje manje dominantna, zbog čega su acidorezistentne bakterije značajno vidljivije te je dijagnoza kvalitetnija.

Neobojene strukture imaju relativno niski kontrast i iznimno ih je teško razlikovati pod svjetlosnim mikroskopom. Slike dobivene uz primjenu otopina za bojenje ovlaštenom i kvalificiranom ispitivaču pomažu da u takvim slučajevima bolje definira oblik i strukturu. Možda će biti potrebni dodatni pregledi za postavljanje konačne dijagnoze.

Princip

Acidorezistentne bakterije su teške za bojenje zbog visokog udjela lipida i voska u svojim staničnim stjenkama. Kako bi se ubrzala apsorpcija fuksin boje i time nastao kompleks mikolat-fuksin u staničnoj stijenci, otopina karbol fuksina koja se nanosi na pripravak normalno se zagrijava dok ne stvara paru. Komplet za bojenje AFB za histologiju sadržava izmijenjenu otopinu karbol-fuksina zbog koje nije potrebno zagrijavanje (metoda po Kinyounu, hladno bojenje).

Nakon što acidorezistentne bakterije apsorbiraju boju fuksin, gotovo je nemoguće da opet izgube boju, čak i kad se intenzivno tretiraju otopinom za uklanjanje boje kao što je npr. klorovodična kiselina u etanolu. Dakle, acidorezistentne bakterije se nazivaju otpornima na kiseline i alkohol kod bojenja te poprimaju crvenu boju kod mikroskopske vizualizacije. Prema tome, svi mikroorganizmi koji nisu otporni na kiseline protubojaju se odgovarajućom bojom.

Uzorak

Rezovi tkiva humanog porijekla fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin (parafinski rezovi debljine 4 – 6 µm)

Reagensi

Kat. br. 1.32450.0001 Komplet za bojenje AFB za histologiju za detekciju acidorezistentnih bakterija u histološkom tkivu

Komponente pakiranja:

Komplet za bojenje sadrži

Reagens 1:	Karbol fuksin otopina	250 ml
Reagens 2:	Kloridna kiselina u etanolu	2 x 250 ml
Reagens 3:	Svjetlozelena SF otopina	250 ml

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje.

Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom.

Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti.

Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagense, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Uklonite parafin s sekcije na uobičajen način i rehidrirajte silaznim nizom alkohola.

Histološki rezovi

Komplet za bojenje AFB za histologiju može se upotrebljavati za bojenje histoloških rezova.

Priprema reagensa

Reagensi Komplet za bojenje AFB za histologiju - za detekciju acidorezistentnih bakterija u histološkom tkivu spremni su za uporabu, a razrjeđivanje otopina nije potrebno i samo pogoršava rezultate bojenja i njihovu stabilnost.

Postupak

Bojenje u stanicama za bojenje

Uklonite parafin s histoloških stakalaca na uobičajen način i rehidrirajte silaznim nizom alkohola.

Stakalca se moraju uroniti i pomaknuti u otopinama, jednostavno uranjanje ne daje adekvatne rezultate bojenja.

Stakalca se trebaju postaviti tako da se dobro ocijede nakon svakog zasebnog koraka bojenja da bi se izbjegla nepotrebna unakrsna kontaminacija otopina.

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce s histološkom tkivu	
Reagens 1 (karbol fuksin otopina)	30 min
Voda iz slavine	45 s
Reagens 2 (kloridna kiselina u etanolu)	15 s
Voda iz slavine	15 s
Reagens 3 (svjetlozelena SF otopina)	5 min
Operite vodom iz slavine	10 s
Etanol 96 %	1 min
Etanol 96 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Ksilen ili Neo-Clear™	5 min
Ksilen ili Neo-Clear™	5 min

Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear™ poklopite otopinom Neo-Mount™ ili mokra stakalca s ksilenom npr. otopinom Novi Entellan™ i staklenim pokrovom.

Nakon dehidracije (uzlazni niz alkohola) i čišćenja ksilenom ili otopinom Neo-Clear™, histološki uzorci mogu se pokriti agansom za poklapanje bez vode (npr. Neo-Mount™, Novi Entellan™ ili Novi DPX) i staklenim pokrovom te se zatim mogu pohraniti.

Upotreba imerzijskog ulja preporučuje se za analizu obojanih stakalaca s pomoću mikroskopskog povećanja > 40x.

Rezultat

Acidorezistentne bakterije crveno
Pozadina zelena

Procjena

Pozitivan rezultat znači „prisutne acidorezistentne bakterije“, a negativan rezultat „acidorezistentne bakterije nisu prisutne“. Pozitivan rezultat ne znači da je moguća taksonomska klasifikacija mikroskopom. Ako se otkriju acidorezistentne bakterije, moraju se provesti dodatne analize u posebno opremljenim laboratorijima. Također, ne može se utvrditi ni vitalnost bakterija (aktivne, neaktivne).

Ne dolazi do bojenja acidorezistentne bakterije

Glavni korak tog postupka bojenja jest korak dekolorizacije, na koji može utjecati debljina razmaza uzorka. Uz to, svježa otopina klorovodične kiseline u etanolu vrlo je reaktivna, zbog čega se rezultat mora pažljivo procijeniti. U koraku uklanjanja boje treba se precizno pridržavati vremena inkubacije navedenih u ovom protokolu jer inače mogu uslijediti lažno negativni rezultati. Uz to osigurajte da su parafinski rezovi debeli najmanje 4 µm, a najviše 6 µm, da bi se postigao optimalan rezultat bojenja.

Tehničke napomene

Upotrebljavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Prilikom upotrebe histoprocesora i automatske opreme za bojenje slijedite upute za uporabu dobavljača sustava i softvera. Prije punjenja uklonite suvišno imerzijsko ulje.

Značajke analitičke učinkovitosti

„Komplet za bojenje AFB za histologiju” boji i tako omogućava vizualizaciju bioloških struktura, kao što je opisano u poglavlju „Rezultat” u ovim uputama za uporabu. Ovaj proizvod smiju upotrebljavati samo ovlaštene i kvalificirane osobe. To se, između ostalog, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, histološku obradu, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd.

Analitička učinkovitost ovog proizvoda potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije.

Za sljedeće je postupke bojenja potvrđena 100 %-tna analitička učinkovitost proizvoda u pogledu specifičnosti, osjetljivosti i ponovljivosti:

	Specifičnost među ispitivanjima	Osjetljivost među ispitivanjima	Specifičnost unutar ispitivanja	Osjetljivost unutar ispitivanja
Histološko bojenje				
Acidorezistentne bakterije	3/3	3/3	8/8	8/8
Pozadina	3/3	3/3	8/8	8/8

Rezultati analitičke učinkovitosti

Podaci dobiveni unutar ispitivanja (provedeno na istoj seriji) i među ispitivanjima (provedena na različitim serijama) pokazuju broj ispravno obojenih struktura s obzirom na broj provedenih ispitivanja.

Značajke kliničke učinkovitosti

Komponente Komplet za bojenje AFB desetljećima se uspješno upotrebljavaju u kliničkom okruženju za velik broj primjena.

Klinička učinkovitost Komplet za bojenje AFB posebno je određena utvrđivanjem njegove osjetljivosti i specifičnosti te PPV-a i NPV-a u internoj studiji:

	Ziehl-Neelsen bojenje
Osjetljivost	13/14
Specifičnost	15/15

Osjetljivost: 13 uzoraka od 14: 92,9 %
Specifičnost: 15 uzoraka od 15: 100 %
Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV): 100 %
Negativna prediktivna vrijednost (NPV): 98,3 %

Rezultati ove procjene učinkovitosti potvrđuju da je proizvod prikladan za predviđenu uporabu i da pouzdano djeluje.

Međutim, kvalificirani i ovlašteni stručnjaci moraju provesti dijagnostičko tumačenje rezultata bojenja, pri čemu prema potrebi trebaju uzeti u obzir pacijentovu anamnezu, morfologiju, primjenu odgovarajućih kontrola i dodatne dijagnostičke testove. Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima.

Dijagnostika

Dijagnoze smije donositi jedino ovlašteno i kvalificirano osoblje. Potrebno je upotrebljavati valjanu nomenklaturu. Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima. Potrebno je odabrati i implementirati dodatne testove sukladno prepoznatim metodama.

Potrebno je provesti odgovarajuće kontrole (npr. ISOSLIDE™ AFB, kat. br. 1.02560.0001) prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati.

Skladištenje

Čuvajte Komplet za bojenje AFB za histologiju - za detekciju acidorezistentnih bakterija u histološkom tkivu na temperaturi od +15 °C to +25 °C.

Rok uporabe

Komplet za bojenje AFB za histologiju - za detekciju acidorezistentnih bakterija u histološkom tkivu može se koristiti do navedenog datuma isteka roka valjanosti.

Nakon prvog otvaranja boce, sadržaj se može upotrebljavati do navedenog roka uporabe ako je pohranjen na +15 °C do +25 °C.

Boce moraju biti čvrsto zatvorene u svakom trenutku.

Kapacitet

Paket je dostatan za približno 230 primjena.

Dodatne upute

Samo za profesionalnu uporabu.

Da bi se izbjegle pogreške, primjenu smije provoditi samo kvalificirano osoblje. Potrebno je slijediti nacionalne smjernice za sigurnost na radu i osiguravanje kvalitete. Potrebno je upotrebljavati mikroskope opremljene sukladno standardu.

Zaštita od infekcije

Potrebno je poduzeti učinkovite mjere za zaštitu od infekcije sukladno smjernicama laboratorija.

Upute za odlaganje

Pakiranje se mora odložiti sukladno trenutnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na brzoj poveznici „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Savjeti za odlaganje mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutačno primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označivanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br. 1.00579	Novi DPX nevodeni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.00869		500 ml
Kat. br. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju acidorezistentnih bakterije u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 1.04699	Imerzijsko ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklopavanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br. 1.08298	Ksilen (izomerna smjesa) za histologiju	4 l
Kat. br. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.09843	Neo-Clear™ (zamjena za ksilen) za mikroskopiju	5 l

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.32450.0001
Slijedite klasifikaciju rizika ispisanu na oznaci i informacije navedene na sigurnosno-tehničkom listu. Sigurnosno-tehnički list dostupan je na web-mjestu i na zahtjev. OPREZ! Sadržava CMR tvari. Pridržavajte se odgovarajućih uputa vezanih uz sigurnost navedenih u sigurnosno-tehničkom listu.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.32450.0001		
Reagens 1 ili kat. br. 1.08512		
C.I. 42520 ili 42510	6 g/l*	
C ₆ H ₅ OH	40 g/l	
1 l = 0,99 kg		
* Obje boje mogu se upotrebljavati za pripremu otopine. Osjetljivost i specifičnost rezultata bojenja bit će jednaki.		
Reagens 2 ili kat. br. 1.00327		
HCl	0,75 %	
sadrži C ₂ H ₅ OH		
1 l = 0,90 kg		
Reagens 3		
C.I. 42095	5 g/l	
CH ₃ COOH	2,1 g/l	
1 l = 1,0003 kg		

Opća napomena

Ako se tijekom uporabe ovog uređaja ili zbog njegove uporabe dogodi ozbiljan štetni događaj, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom zastupniku te nacionalnom nadležnom tijelu.

Književnost

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Lako zapaljiva tekućina i para.

H290: Može nagrizati metale.

H314: Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka.

H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.

H341: Sumnja na moguća genetska oštećenja.

H410: Vrlo otrovno za vodeni okoliš, s dugotrajnim učincima.

P210: Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti.

P273: Izbjegavati ispuštanje u okoliš.

P280: Nositi zaštitne rukavice/ zaštitno odijelo/ zaštitu za oči/ zaštitu za lice.

P303 + P361 + P353: U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom.

P304 + P340 + P310: AKO SE UDIŠE: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje. Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/ liječnika.

P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

Reagens 1:

H226: Zapaljiva tekućina i para.

H314: Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka.

H341: Sumnja na moguća genetska oštećenja.

H410: Vrlo otrovno za vodeni okoliš, s dugotrajnim učincima.

Reagens 2:

H225: Lako zapaljiva tekućina i para.

H290: Može nagrizati metale.

H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-24	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2024-Jul-24

The Life Science Business tvrtke Merck posluje kao MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/ili društva-kćeri tog društva. Sva prava pridržana. Merck i Sigma-Aldrich u jarkim bojama zaštitni su znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Svi drugi zaštitni znakovi pripadaju odgovarajućim vlasnicima. Detaljne informacije o zaštitnim znakovima dostupne su putem javno dostupnih resursa.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopia

Zestaw do barwienia AFB do histologii

do wykrywania bakterii kwasoopornych w tkance histologicznej

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

IVD

Urządzenia medyczne do diagnostyki *in vitro*

Przeznaczenie

„Zestaw do barwienia AFB do histologii - do wykrywania bakterii kwasoopornych w tkance histologicznej” jest stosowany w cytologicznej diagnostyce klinicznej do badania histologicznego materiału pobieranego od pacjentów. Ten zestaw do barwienia, w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki *in vitro* z naszej oferty, umożliwia ocenę diagnostyczną bakteryjne struktur docelowych (np. bakterii kwasoopornych (AFB) poprzez utrwalanie, zatapianie, barwienie, barwienie kontrastowe, zamykanie) preparatów histologicznych przygotowanych z materiału pobranego od pacjentów, na przykład skrawków tkanka płuco.

Zestaw do barwienia AFB do histologii jest oparty na metodzie barwienia Ziehl-Neelsen służącej do wykrywania bakterii kwasoopornych. Zestaw jest zmodyfikowany w taki sposób, że podgrzewanie roztworu karbolfuksyny jest zbędne. Zestaw jest zmodyfikowany w taki sposób, że podgrzewanie roztworu karbolfuksyny jest zbędne. Dzięki temu można uniknąć uwalniania potencjalnie niebezpiecznych oparów fenolu. Zastosowanie jasnozielonego roztworu sprawia, że kolor tła jest mniej dominujący, co znacznie poprawia widoczność bakterii kwasoopornych, a tym samym - jakość rozpoznania.

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnionemu i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Konieczne mogą być dalsze badania w celu postawienia ostatecznej diagnozy.

Zasada działania

Ściany komórkowe bakterii kwasoopornych zawierają duże ilości wosków i lipidów, wskutek czego bardzo powoli absorbują barwniki. W celu przyspieszenia wchłaniania barwnika fuksyny, a tym samym tworzenia kompleksu mykolan-fuksyna w ścianie komórkowej, roztwór fuksyny karbolowej nakładany na preparat jest zwykle podgrzewany do momentu utworzenia pary. Zestaw do barwienia AFB do histologii zawiera zmodyfikowany roztwór fuksyny karbolowej, który eliminuje ogrzewanie (metoda Kinyouna, barwienie na zimno). Gdy bakterii kwasoopornych wchłona fuksynę, ich ponowne odbarwienie jest niemal niemożliwe, nawet w przypadku intensywnego stosowania roztworu odbarwiającego takiego jak np. roztwór kwasu solnego w etanolu. Dlatego też bakterii kwasoopornych klasyfikuje się jako kwaso- i alkoholoporne dla celów barwienia, a pod mikroskopem przybierają one czerwone zabarwienie. Wszystkie drobnoustroje niekwasooporne należy natomiast poddać barwieniu kontrastowemu odpowiednim barwnikiem.

Materiał próbek

Skrawki tkanek ludzkich utrwalone w formalinie, zatopione w parafinie (skrawki parafinowe o grubości 4-6 µm)

Odczynniki

Nr kat. Zestaw do barwienia AFB do histologii
1.32450.0001 do wykrywania bakterii kwasoopornych w tkance histologicznej

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera

Odczynnik 1:	Roztwór fuksyny karbolowej	250 ml
Odczynnik 2:	Kwas solny, roztwór etanolowy	2 x 250 ml
Odczynnik 3:	Roztwór zieleni jasna SF	250 ml

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być przygotowywane przez wykwalifikowany personel.

Wszystkie próbki muszą być opracowywane z użyciem najnowocześniejszych technologii.

Wszystkie próbki należy wyraźnie oznaczać.

Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich urządzeń i narzędzi.

Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi zastosowania/użycia.

Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania.

Odparafinować skrawki w sposób konwencjonalny i uwodnić w malejącym szeregu alkoholowym.

Skrawki histologiczne

Zestaw do barwienia AFB do histologii może być stosowany do barwienia skrawków histologicznych.

Przygotowywanie odczynników

Odczynniki wchodzące w skład Zestaw do barwienia AFB do histologii do wykrywania bakterii kwasoopornych w tkance histologicznej są gotowe do użycia, ich rozcieńczanie nie jest wymagane i prowadzi do pogorszenia wyników barwienia i jego stabilności.

Procedura

Barwienie w komorze do barwienia

Odparafinować preparaty histologiczne w sposób konwencjonalny i uwodnić w malejącym szeregu alkoholowym.

Szkiełka należy zanurzyć i obmyć roztworem. Samo zanurzenie nie wystarczy do uzyskania odpowiedniego wyniku barwienia.

Po każdym z etapów barwienia preparaty należy pozostawić do obcieknięcia, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.

Aby osiągnąć optymalny wynik, należy stosować się do zalecanych czasów barwienia.

Szkiełko z tkanką histologiczną	
Odczynnik 1 (roztwór fuksyny karbolowej)	30 min
Bieżąca woda z kranu	45 s
Odczynnik 2 (kwas solny, roztwór etanolowy)	15 s
Bieżąca woda z kranu	15 s
Odczynnik 3 (roztwór zieleni jasna SF)	5 min
Opłukać wodą wodociągową	10 s
Etanol 96%	1 min
Etanol 96%	1 min
Etanol 100%	1 min
Etanol 100%	1 min
Ksylene lub Neo-Clear™	5 min
Ksylene lub Neo-Clear™	5 min

Preparaty namoczone w roztworze Neo-Clear™ należy zamknąć, używając środka Neo-Mount™, a preparaty namoczone w ksylenie należy zamknąć, używając np. środka Entellan™ nowy i szkiełka nakrywkowego.

Po odwodnieniu (w rosnącym szeregu alkoholowym) i oczyszczeniu ksylenem lub roztworem Neo-Clear™ preparaty histologiczne można zamknąć za pomocą bezwodnych odczynników do zamykania (np. Neo-Mount™, Entellan™ nowy lub DPX nowy) i szkiełka nakrywkowego, a następnie przechowywać.

Do analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopu >40x zaleca się stosować olejek immersyjny.

Wynik

Bakterii kwasooporne	czerwone
Tło	zielone

Ocena

Wynik dodatni oznacza obecność bakterii kwasoopornych, a wynik ujemny – brak bakterii kwasoopornych. Wynik pozytywny nie oznacza, że możliwa jest klasyfikacja taksonomiczna pod mikroskopem. W przypadku wykrycia bakterii kwasoopornych należy przeprowadzić dalsze analizy w specjalnie wyposażonych laboratoriach. Nie można również ustalić żywotności bakterii (aktywne, nieaktywne).

Rozwiązywanie problemów

Brak wybarwienia bakterii kwasoopornych

Krytycznym etapem tego procesu barwienia jest etap odbarwiania, na który może mieć wpływ grubość rozmazu próbki. Ponadto świeży roztwór kwasu chlorowodorowego w etanolu jest wysoce reaktywny, co oznacza, że wynik należy oceniać ostrożnie. Należy ściśle przestrzegać podanych w niniejszej procedurze czasów inkubacji na etapie odbarwiania, gdyż w przeciwnym wypadku otrzymane wyniki mogą być fałszywie ujemne. Ponadto należy upewnić się, że grubość skrawków parafinowych wynosi co najmniej 4 µm i nie więcej niż 6 µm, aby uzyskać optymalny wynik barwienia.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi laboratorium diagnostyki medycznej. Podczas korzystania z procesorów tkankowych i automatycznych systemów barwiących należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta systemu i oprogramowania. Przed archiwizacją preparatu, należy usunąć nadmiar oleju immersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

„Zestaw do barwienia AFB do histologii” wybarwia i tym samym wizualizuje struktury biologiczne, jak opisano w rozdziale „Wynik” niniejszej Instrukcji obsługi (IFU). Produkt może być używany wyłącznie przez osoby upoważnione i wykwalifikowane. Dotyczy to między innymi przygotowania próbek i odczynników, postępowania z próbkami, obróbki histologicznej, decyzji dotyczących odpowiednich kontroli i innych. Wydajność analityczna produktu jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej. Dla poniższych barwników, w zakresie paramterów analitycznych wymienio-nych poniżej, potwierdzono, że wskaźnik swoistości, czułości i powtarzalno-ści produktu wynosi 100%:

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz-seryjna	Czułość wewnątrz-seryjna
Barwienie histologiczne				
Bakterii kwasooporne	3/3	3/3	8/8	8/8
Tło	3/3	3/3	8/8	8/8

Wyniki analityczne

Dane wewnątrz- (wykonane na tej samej serii) i międzyseryjne (wykonane na różnych seriach) przedstawiają wiele prawidłowo wybarwionych struktur w stosunku do liczby wykonanych testów.

Parametry wydajności klinicznej

Elementy Zestaw do barwienia AFB są z powodzeniem wykorzystywane w wielu zastosowaniach w warunkach klinicznych od kiludziesięciu lat. Wydajność kliniczna Zestaw do barwienia AFB w szczególności została okre-ślona poprzez ustalenie jego czułości i swoistości oraz PPV i NPV w badaniu wewnętrzym:

	Barwienie metodą Ziehl-Neelsen
Czułość	13/14
Swoistość	15/15

Czułość: 13 z 14 próbek: 92,9%
Swoistość: 15 z 15 próbek: 100%
Wartość predykcyjna dodatnia (PPV): 100%
Warrtość predykcyjna ujemna (NPV): 98,3%

Wyniki niniejszej Oceny Wydajności potwierdzają, że produkt jest odpo-wiedni do zamierzonego zastosowania i działa niezawodnie.

Interpretacja diagnostyczna wyników barwienia powinna być jednak przeprowadzona przez wykwalifikowanych i upoważnionych specjalistów, z uwzględnieniem wywiadu z pacjentem, morfologii, zastosowania odpowied-nich kontroli oraz dodatkowych badań diagnostycznych, jeśli jest to wskaza-ne. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel. Należy stosować obowiązujące nazewnictwo. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej. Dalsze badania należy planować i prowadzić zgodnie z uznaną metodologią. Każdorazowe stosowanie odpowiednich kontroli (np. ISOSLIDE™ AFB, Nr kat. 1.02560.0001) pozwala unikać niepoprawnych wyników.

Przechowywanie

Zestaw do barwienia AFB do histologii - do wykrywania bakterii kwasoopornych w tkance histologicznej należy przechowywać w temperaturze między +15°C a +25°C.

Okres przydatności do użycia

Produktu Zestaw do barwienia AFB do histologii - do wykrywania bakterii kwasoopornych w tkance histologicznej nie należy używać po upływie wskazanego terminu przydatności do użycia. Po pierwszym otwarciu butelki, zawartość nadaje się do użycia przed upływem wskazanego terminu przydatności, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze między +15°C a +25°C. Butelki należy przechowywać zawsze szczelnie zamknięte.

Wielkość opakowania

Opakowanie wystarcza na ok. 230 zastosowań.

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów. W celu uniknięcia błędów, produkt powinien być stosowany wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Należy przestrzegać krajowych wytycznych dotyczących bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości. Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązują-cym normom.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi obowiązującymi w pracowni.

Instrukcje dotyczące unieszkodliwiania odpadów

Opakowanie należy unieszkodliwić zgodnie z aktualnymi wytycznymi w zakresie unieszkodliwiania odpadów. Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy unieszkodliwić zgodnie z lokalnymi wytycznymi dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące unieszkodliwiania odpadów można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące unieszkodliwiania produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 1.00579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.00869	Entellan™ nowy środek do nakrywarek do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB preparaty porównawcze z tkanką referencyjną do wykrywania bakterii kwasoopornych w materiale histologicznym	25 badań
Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakrapla-czem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.08298	Ksylene (mieszanina izomerów) do histologii	4 l
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml – butelka z zakrapla-czem, 500 ml
Nr kat. 1.09843	Neo-Clear™ (zamiennik ksylenu) do mikroskopii	5 l

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.32450.0001
Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej. Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie. UWAGA! Zawiera substancje CMR. Należy przestrzegać odpowiednich wskazówek bezpieczeństwa podanych w karcie charakterystyki.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.32450.0001
Odczynnik 1 lub Nr kat. 1.08512
C.I. 42520 lub 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l
1 l = 0,99 kg
* Do przygotowania roztworu można użyć obu barwników, wyniki barwienia charaktery-zują się taką samą czułością i swoistością.

Odczynnik 2 lub Nr kat. 1.00327
HCl 0,75 %
zawiera C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Odczynnik 3
C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg

Uwaga ogólna

Jeśli podczas użytkowania tego urządzenia lub w wyniku jego użytkowania wystąpił poważny incydent, to należy zgłosić to producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz organowi krajowemu.

Literatura

- 1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- 2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H290: Może powodować korozję metali.
H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
H319: Działa drażniąco na oczy.
H341: Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
H410: Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

P210: Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.
P273: Unikać uwolnienia do środowiska.
P280: Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.
P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody.
P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/ lekarzem.
P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

Odczynnik 1:
H226: Łatwopalna ciecz i pary.
H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
H341: Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
H410: Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Odczynnik 2:
H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H290: Może powodować korozję metali.
H319: Działa drażniąco na oczy.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-24	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian

Zapoznać się z instrukcją użytkowania

Producent

Numer katalogowy

Kod partii

Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.

Termin przydatności do użycia: RRRR-MM-DD

Ograniczenia termiczne

Status: 2024-Jul-24

1.32450.0001 REF

Microscopia

Kit de coloração AFB para histologia

para a detecção de bactérias ácidosresistentes em tecidos histológicos

Apenas para utilização profissional

IVD Dispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro*

Finalidade prevista

O presente "Kit de coloração AFB para histologia - para a detecção de bactérias ácidosresistentes em tecidos histológicos" é utilizado para diagnóstico médico de célula humana e serve para investigação, histológica de material de amostra de origem humana. Trata-se de um kit de coloração pronto a utilizar que, quando utilizado juntamente com outros produtos de diagnóstico *in vitro* da nossa gama, torna as estruturas-alvo bacterianas (bactérias ácidosresistentes (AFB), por fixação, integração, coloração, contracoloração, montagem) em material de amostras bacteriológicas, por exemplo, secções histológicas do estômago, avaliáveis para fins de diagnóstico.

O Kit de coloração AFB é baseado no método de coloração segundo Ziehl-Neelsen para a detecção de bactérias ácidosresistentes. Graças à modificação da solução de carbolfucsina, o aquecimento é dispensável, evitando assim a libertação de vapores fenólicos potencialmente nocivos. A utilização da solução verde-clara suaviza a coloração do fundo, tornando as bactérias ácidosresistentes consideravelmente mais visíveis e melhorando assim a qualidade do diagnóstico.

As estruturas não coradas têm relativamente pouco contraste e são extremamente difíceis de distinguir no microscópio ótico. As imagens criadas utilizando as soluções de coloração ajudam o investigador autorizado e qualificado a definir melhor a forma e a estrutura, nestes casos. Poderão ser necessários mais exames para se chegar a um diagnóstico definitivo.

Princípio

Os bactérias ácidosresistentes possuem uma elevada proporção de cera e lípidos na parede celular e, por isso, absorvem o corante muito lentamente. Para acelerar a absorção do corante fucsina e, deste modo, a formação do complexo micolato-fucsina na parede celular, a solução de carbolfucsina aplicada na amostra é normalmente aquecida até à formação de vapor. No Kit de coloração AFB para histologia, não é necessário o aquecimento através de uma modificação da solução de carbolfucsina (método de Kinyoun). Assim que os bactérias ácidosresistentes tenham absorvido o corante fucsina, é virtualmente impossível voltar a descolorá-los, mesmo com tratamento intensivo com solução descorante, como, p.ex., ácido clorídrico em etanol. Os bactérias ácidosresistentes são, por isso, denominadas ácido-álcool resistentes e surgem na amostra microscópica corados de vermelho. Todos os microrganismos não ácido-resistentes são corados de acordo com o corante da contracoloração.

Material da amostra

Secções de tecido de origem humana embutidas em parafina fixada com formalina (secções de parafina com espessura de 4 - 6 µm)

Reagentes

Cat. n.º 1.32450.0001

Kit de coloração AFB para histologia

para a detecção de bactérias ácidosresistentes em tecidos histológicos

Package components:

Componentes da embalagem:

O kit de coloração contém

Reagente 1: Solução de carbol-fucsina 250 ml
 Reagente 2: Ácido clorídrico em etanol 2x 250 ml
 Reagente 3: Solução verde-clara SF 250 ml

Preparação da amostra

A recolha da amostra tem de ser realizada por pessoal qualificado.

Todas as amostras têm de ser tratadas usando a mais moderna tecnologia. Todas as amostras têm de ser inequivocamente rotuladas.

Têm de ser usados instrumentos adequados para retirada e preparação das amostras. Siga as instruções de aplicação / utilização do fabricante.

Ao utilizar os reagentes auxiliares correspondentes, têm de ser cumpridas as instruções de utilização correspondentes.

Desparafine as as seções pela forma convencional e volte a hidratar numa série de álcool descendente.

Secções histológicas

O Kit de coloração AFB para histologia pode ser utilizado para a coloração de secções histológicas.

Preparação do reagente

Os reagentes utilizados para a coloração do Kit de coloração AFB para histologia - para a detecção de bactérias ácidosresistentes em tecidos histológicos estão prontas a usar; não é necessária diluição das soluções, o que apenas causaria deterioração do resultado da coloração e da estabilidade.

Procedimento

Coloração na célula de coloração

Desparafine as lâminas histológicas pela forma convencional e volte a hidratar numa série de álcool descendente.

As lâminas têm de ser imersas e movidas dentro das soluções; a simples imersão gera resultados de coloração inadequados.

Deixe que as lâminas escurram bem depois dos passos de coloração individuais, como medida para evitar qualquer contaminação cruzada desnecessária das soluções.

Os tempos indicados devem ser cumpridos para garantir um resultado de coloração ideal.

Lâmina com amostra histológica	
Reagente 1 (solução de carbol-fucsina)	30 min.
Água de torneira corrente	45 seg.
Reagente 2 (ácido clorídrico em etanol)	15 seg.
Água de torneira corrente	15 seg.
Reagente 3 (solução verde-clara SF)	5 min.
Lavagem com água da torneira	10 seg.
Etanol 96 %	1 min.
Etanol 96 %	1 min.
Etanol 100 %	1 min.
Etanol 100 %	1 min.
Xileno ou Neo-Clear™	5 min.
Xileno ou Neo-Clear™	5 min.
Monte as lâminas humedecidas em Neo-Clear™ com o Neo-Mount™, ou as lâminas humedecidas em xileno com, p.ex., Entellan™ Novo e um vidro de cobertura.	

Após a desidratação (série de álcool ascendente) e a limpeza com xileno ou Neo-Clear™, podem ser montadas amostras histológicas com meios de montagem sem água (p. ex., Neo-Mount™, Entellan™ Novo ou DPX novo) e um vidro de cobertura, e depois guardadas.

A utilização de óleo de imersão é recomendada para análise de lâminas coloridas com ampliação microscópica de >40x.

Resultado

Bactérias ácidosresistentes vermelho
 Fundo verde

Avaliação

Um resultado positivo reflete a "presença de bactérias ácidosresistentes", significando um resultado negativo "ausência de bactérias ácidosresistentes". A classificação taxonómica por microscopia não é possível com base num resultado positivo. Se forem constatadas bactérias ácidosresistentes, devem ser realizados outros exames em laboratórios especiais. De igual forma, não é possível determinar a vitalidade (ativo, inativo) das bactérias.

Resolução de anomalias

Sem coloração das bactérias ácidosresistentes

A fase crítica do procedimento de coloração é o passo de descoloração, que pode ser influenciado pela espessura do esfregaço. Além disso, uma solução de ácido clorídrico em etanol fresca é altamente reativa, razão pela qual o resultado deve ser avaliado com cautela. Durante o passo de descoloração, o utilizador deverá cumprir os tempos de incubação exatos descritos no protocolo, uma vez que, de contrário, podem surgir resultados falso-negativos. Além disso, para obter o melhor resultado possível deve ter-se o cuidado de assegurar que a espessura das secções de parafina se situa entre 4 µm, no mínimo, e 6 µm, no máximo.

Notas técnicas

O microscópio usado deverá cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico. Ao utilizar sistemas histoprocessadores ou sistemas de coloração automática, por favor, siga as instruções de utilização disponibilizadas pelo fornecedor do sistema e do software. Retire o excedente do óleo de imersão antes de encher.

Características do desempenho analítico

“Kit de coloração AFB para histologia” cora e, por conseguinte, visualiza estruturas biológicas, tal como descrito no capítulo “Resultado” desta instrução de utilização. A utilização do produto deve ser efetuada apenas por pessoas autorizadas e qualificadas e isto inclui, entre outras coisas, preparação de amostras e reagentes, manuseamento de amostras, histoprocessamento, decisões relativamente a controlos adequados e mais. O desempenho analítico do produto é confirmado através da testagem de todos os lotes de produção. Para os seguintes corantes, o desempenho analítico foi confirmado em termos de especificidade, sensibilidade e repetibilidade do produto com uma taxa de 100 %:

	Especificidade inter-ensaio	Sensibilidade inter-ensaio	Especificidade intra-ensaio	Sensibilidade intra-ensaio
Coloração histológica				
Bactérias ácidorresistentes	3/3	3/3	8/8	8/8
Fundo	3/3	3/3	8/8	8/8

Resultados do desempenho analítico

Os dados intra-ensaio (efetuado com o mesmo lote) e inter-ensaio (efetuado com lotes diferentes) listam o número de estruturas coradas corretamente em relação ao número de ensaios efetuados.

Características do desempenho clínico

Os componentes do Kit de coloração AFB são utilizados há décadas com sucesso em ambiente clínico num elevado número de aplicações. O desempenho clínico do Kit de coloração AFB em particular foi determinado através do estabelecimento da sua sensibilidade e especificidade e do seu PPV e NPV num estudo interno:

	Coloração de Ziehl-Neelsen
Sensibilidade	13/14
Especificidade	15/15

Sensibilidade: 13 amostras em 14: 92,9 %
Especificidade: 15 amostras em 15: 100 %
Valor preditivo positivo (VPP): 100 %
Valor preditivo negativo (VPN): 98,3 %

Os resultados desta avaliação do desempenho confirmam que o produto é adequado para a utilização prevista e que tem um desempenho fiável.

Contudo, a interpretação para diagnóstico destes resultados de coloração deve ser efetuada por profissionais qualificados e autorizados, levando em conta a anamnese do doente, a morfologia, a utilização de controlos adequados e testes de diagnóstico adicionais, se apropriado. Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico em seres humanos.

Diagnóstico

Os diagnósticos devem ser feitos apenas por pessoal autorizado e qualificado. Devem ser utilizadas nomenclaturas válidas. Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico em seres humanos. Devem ser selecionados e implementados outros testes, de acordo com métodos reconhecidos. Devem ser realizados controlos adequados (p. ex., ISOSLIDE™ AFB, Cat. n.º 1.02560.0001) a cada aplicação, a fim de evitar resultados incorretos.

Armazenamento

Armazene o Kit de coloração AFB para histologia - para a deteção de bactérias ácidorresistentes em tecidos histológicos entre +15°C e +25°C.

Durabilidade

O Kit de coloração AFB para histologia - para a deteção de bactérias ácidorresistentes em tecidos histológicos pode ser usada até expirar a data de validade. Após a primeira abertura do frasco, o conteúdo pode ser usado até expirar a data de validade indicada, desde que conservado entre +15°C e +25°C. Os frascos têm de ser sempre mantidos hermeticamente fechados.

Capacidade

A embalagem é suficiente para até 250 aplicações.

Instruções adicionais

Apenas para utilização profissional.
A fim de evitar erros, a aplicação apenas pode ser realizada por pessoal qualificado. Têm de ser seguidas as diretrizes nacionais sobre segurança no trabalho e garantia de qualidade. Têm de ser utilizados microscópios equipados de acordo com o padrão.

Proteção contra infeções

Deverão ser tomadas medidas eficazes para proteger contra infeções, em linha com as diretrizes laboratoriais.

Instruções para eliminação

A embalagem tem de ser eliminada de acordo com as atuais diretrizes sobre eliminação. As soluções utilizadas e as soluções que excedam a durabilidade têm de ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais. Informação sobre eliminação pode ser obtida através do link rápido “Dicas para Eliminação de Produtos de Microscopia” em www.microscopy-products.com. Dentro da UE, aplica-se o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 sobre classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

Reagentes auxiliares

Cat. n.º	1.00579	DPX novo meio de montagem não aquoso para uso em microscopia	500 ml
Cat. n.º	1.00869	Entellan™ novo para montagem de lâminas para microscopia	500 ml
Cat. n.º	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Lâminas de controlo com tecido de referência para deteção de bactérias ácidorresistentes em tecido histológico	25 tests
Cat. n.º	1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco de instalação de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. n.º	1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. n.º	1.08298	Xileno (mistura de isómeros) para histologia	4 l
Cat. n.º	1.09016	Neo-Mount™ Meio de montagem anidro para microscopia	Frasco de instalação de 100 ml, 500 ml
Cat. n.º	1.09843	Neo-Clear™ (substituto do xileno) para microscopia	5 l

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.32450.0001
Observe a classificação de perigo impressa no rótulo e a informação dada na ficha de dados de segurança. A ficha de dados de segurança está disponível no site na Internet e por pedido. CUIDADO! Contém substâncias CMR. Cumpra as instruções de segurança correspondentes fornecidas da ficha de dados de segurança.

Principais componentes dos produtos

Cat. n.º	1.32450.0001
Reagente 1 ou Cat. n.º	1.08512
C.I.	42520 ou 42510
C ₆ H ₅ OH	6 g/l* 40 g/l
1 l =	0,99 kg
* Ambos os corantes podem ser utilizados para a preparação de uma solução, o resultado da coloração possui a mesma sensibilidade e especificidade.	
Reagente 2 ou Cat. n.º	1.00327
HCl	0,75 %
contém C ₂ H ₅ OH	
1 l =	0,90 kg
Reagente 3	
C.I.	42095
CH ₃ COOH	5 g/l 2,1 g/l
1 l =	1,0003 kg

Comentário geral

Se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, queira comunicá-lo ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Literatura

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.
H290: Pode ser corrosivo para os metais.
H314: Provoca queimadura severa à pele e dano aos olhos.
H319: Provoca irritação ocular grave.
H341: Suspeito de provocar defeitos genéticos.
H410: Muito tóxico para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

P210: Mantenha afastado do calor/ faísca/ chama aberta/ superfícies quentes.- Não fume.

P273: Evite a liberação para o meio ambiente.

P280: Use luvas protetoras/ roupas protetoras/ proteção para os olhos/ proteção para o rosto.

P303 + P361 + P353: EM CASO DE CONTATO COM A PELE (ou com o cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxague a pele com água.

P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: Remova a pessoa para local ventilado e a mantenha em repouso numa posição que não dificulte a respiração. Contate imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA ou um médico.

P305 + P351 + P338: EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.

Reagente 1:

H226: Líquido e vapores inflamáveis.
H314: Provoca queimadura severa à pele e dano aos olhos.
H341: Suspeito de provocar defeitos genéticos.
H410: Muito tóxico para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

Reagente 2:

H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.
H290: Pode ser corrosivo para os metais.
H319: Provoca irritação ocular grave.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-24	Versão inicial com a introdução do histórico de revisões



Consulte as instruções de utilização



Fabricante



Número de catálogo



Código do lote



Cuidado: consulte os documentos anexos



Usar até
AAAA-MM-DD



Limite de temperatura

Status: 2024-Jul-24

O sector Life Science da Merck opera como MilliporeSigma nos EUA e Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany e/ou as suas sociedades afiliadas. Todos os direitos reservados. Merck e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respetivos proprietários. Para informações pormenorizadas em matéria de marcas comerciais consultar os recursos disponíveis ao público.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Микроскопия

AFB Набор за оцветяване за хистология

за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хистологична тъкан

Само за професионална употреба



Медицинско изделие за *in vitro* диагностика



Предназначение

Този „AFB Набор за оцветяване за хистология - за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хистологична тъкан“ се използва за клетъчна диагностика в хуманната медицина и служи за хистологично изследване на материал от проби от човешки произход. Той е готов за употреба кит за оцветяване, който при употреба заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашия портфейл прави таргетните бактериални структури оценени за диагностични цели (напр. киселиноустойчиви бактерии (AFB) чрез фиксиране, вграждане, оцветяване, контраоцветяване, поставяне върху предметно стъкло) в материал от хистологични проби, например хистологични срезове напр. на белия дроб.

AFB Набор за оцветяване се основава на метода за оцветяване по Ziehl-Neelsen детекция на киселиноустойчиви бактерии. Китът е модифициран така че да не е задължително загряването на карболфуксиновия разтвор. Следователно ще се избегне освобождаването на потенциално опасни фенолни пари. Използването на светлостеления разтвор прави фоновия цвят по-слабо доминиращ, правейки киселиноустойчивите бактерии значително по-видими и повишавайки по този начин качеството на диагностиката.

Неоцветените структури са със сравнително слаб контраст и са изключително трудни за разграничаване под наблюдение със светлинен микроскоп. Изображенията, създадени с помощта на разтворите за оцветяване, помагат на упълномощения и квалифициран изследовател по-добре да определи формата и структурата в такива случаи. За достигане до дефинитивна диагноза може да са необходими допълнителни изследвания.

Принцип

Клетъчната стена на киселиноустойчивите бактерии има висок процент восък и липиди и затова абсорбира много бавно багрила. Най-ефективният метод е горещото оцветяване по Ziehl-Neelsen. При този метод върху пробата се прилага карболфуксинов разтвор и се загрява. Този процес на загряване ускорява бързината, с която фуксиновото багрило се абсорбира и следователно тази на образуване комплекса миколат-фуксин в клетъчната стена. AFB Набор за оцветяване за хистология предлага модифициран карболфуксинов разтвор, който отменя нуждата от загряване (метод на Kinyoun).

След като киселиноустойчивите бактерии абсорбират фуксиновото багрило, на практика е невъзможно отново да се обезцветят, дори когато се третира интензивно с разтвор за обезцветяване, като например солна киселина в етанол. По тази причина киселиноустойчивите бактерии се определят като устойчиви на киселини и алкохол за оцветяване и са оцветени в червено при микроскопска визуализация. Съответно всички не-киселиноустойчиви микроорганизми се контраоцветяват с подходящо багрило.

Материал на пробите

Срезове от фиксирана във формалин тъкан от човешки произход, вградени в парафин (4 - 6 µm дебели парафинови срезове)

Реагенти

Кат. № 1.32450.0001

AFB Набор за оцветяване за хистология

за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хистологична тъкан

Компоненти в опаковката:

Китът за оцветяване съдържа

Реагент 1:	Карбол-фуксин разтвор	250 ml
Реагент 2:	Солна киселина в етанол	2x 250 ml
Реагент 3:	Светлозелен SF разтвор	250 ml

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал.

Всички проби трябва да се третират с използване на най-актуалната технология.

Всички проби трябва ясно да се обозначат.

За вземане на проби и тяхната подготовка трябва да се използват подходящи инструменти. Следвайте инструкциите за приложение / употреба на производителя.

Когато се използват съответните помощни реагенти, трябва да се спазват съответните инструкции за употреба.

Депарафинизирайте срезове по конвенционалния начин и рехидрирайте в серия с низходящ процент алкохол.

Хистологични срезове

AFB Набор за оцветяване за хистология за хистология може да се използва за оцветяване на хистологични срезове.

Подготовка на реагентите

Реагенти на кита за AFB Набор за оцветяване за хистология - за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хистологична тъкан са готови за употреба, не се налага разреждане на разтворите и то само води до влошаване на резултата от оцветяването и тяхната стабилност.

Процедура

Оцветяване в клетката за оцветяване

Депарафинизирайте хистологичните предметни стъкла по конвенционалния начин и рехидрирайте в серия с низходящ процент алкохол.

Предметните стъкла трябва да се потопят и да се раздвижат за кратко в разтворите, простото потапяне води до недостатъчно оцветяване.

Предметните стъкла трябва да имат възможност добре да се отцеждат след отделните стъпки на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите.

Посочените времена трябва да се спазват, за да се гарантира оптимален резултат от оцветяването.

Предметно стъкло с тъкан за хистология	
Реагент 1 (карбол-фуксин разтвор)	30 мин.
Течаща чешмяна вода	45 сек.
Реагент 2 (солна киселина в етанол)	15 сек.
Течаща чешмяна вода	15 сек.
Реагент 3 (Светлозелен SF разтвор)	5 мин.
Измийте с вода от чешмата	10 сек.
Етанол 96 %	1 мин.
Етанол 96 %	1 мин.
Етанол 100 %	1 мин.
Етанол 100 %	1 мин.
Ксилен или Neo-Clear™	5 мин.
Ксилен или Neo-Clear™	5 мин.
Поставете навлажнените с Neo-Clear™ предметни стъкла с Neo-Mount™ или навлажнените с ксилен предметни стъкла напр. с Entellan™ new и покрийте стъклото.	

След дехидратация (с серия с повишаващ се процент алкохол) и проявяване с ксилен или Neo-Clear™, цитологичните проби могат да се поставят върху предметни стъкла с безводни среди (напр. Neo-Mount™, Entellan™ new или DPX Ново) и с покривни стъкла и след това могат да се съхраняват.

Препоръчва се използване на имерсионно масло за анализ на оцветени предметни стъкла с микроскопско увеличение >40x.

Резултат

Киселиноустойчиви бактерии	червено
Фон	зелено

Оценка

Положителен резултат означава „открити са киселиноустойчиви бактерии“, а отрицателен резултат - „не са открити киселиноустойчиви бактерии“. Положителен резултат не означава, че е възможна таксономична класификация чрез микроскопия. Ако са открити киселиноустойчиви бактерии, трябва да се извършат допълнителни анализи в специално оборудвани лаборатории.

Виталността на бактериите (активни, неактивни) също не може да се определи.

Отстраняване на проблеми

Липса на оцветяване на киселиноустойчиви бактерии

Критичният етап на процедурата за оцветяване е стъпката за обезцветяване, която може да се повлияе от дебелината на натривката.

В допълнение, пресният разтвор на солна киселина в етанол е високо реактивен, което означава, че резултатът трябва да се оценява внимателно. Посочените в този протокол времена за инкубация трябва да се спазват точно в стъпката за обезцветяване, в противен случай могат да се получат фалшиво отрицателни резултати. В допълнение трябва да се внимава дебелината на парафиновите срезове да е най-малко 4 µm и най-много 6 µm за получаване на оптимален резултат от оцветяването.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на изискванията на медицинска диагностична лаборатория. Когато се използват хистологични структури, както е описано в главата „Резултат“ на настоящите инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица, това включва, освен другите неща, подготовка на пробите и реагентите, боравене с пробите, хистологична обработка, решения по отношение на подходящите контроли и други. Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида. Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повтарямост на продукта на ниво 100 %:

Аналитични работни характеристики

„AFB Набор за оцветяване за хистология“ оцветява и следователно визуализира биологични структури, както е описано в главата „Резултат“ на настоящите инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица, това включва, освен другите неща, подготовка на пробите и реагентите, боравене с пробите, хистологична обработка, решения по отношение на подходящите контроли и други.

Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида.

Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повтарямост на продукта на ниво 100 %:

	Специ- фичност между тестовете	Чувстви- телност между тестовете	Специ- фичност в рамките на теста	Чувстви- телност в рамките на теста
Хистологично оцветяване				
Киселиннoустой- чиви бактерии	3/3	3/3	8/8	8/8
Фон	3/3	3/3	8/8	8/8

Аналитични работни резултати

Данните в рамките на теста (извършени върху една и съща партида) и между тестовете (извършени върху различни партиди) посочват броя правилно оцветени структури спрямо броя на извършените тестове.

Клинични работни характеристики

Компонентите на AFB Набор за оцветяване са използвани успешно в продължение на десетилетия в клинична среда при голям брой приложения.

Клиничните характеристики на Набор за сребърно оцветяване по AFB Набор за оцветяване по-специално са определени чрез установяване на чувствителността и специфичността и неговите PPV и NPV му в собствено проучване:

	Оцветяване по Ziehl-Neelsen
Чувствителност	13/14
Специфичност	15/15

Чувствителност: 13 от 14 проби: 92,9 %
Специфичност: 15 от 15 проби: 100 %
Положителна прогнозна стойност (PPV): 100 %
Отрицателна прогнозна стойност (NPV): 98,3 %

Резултатите на тази оценка на работните характеристики потвърждават че продуктът е подходящ за предназначението и функционира надеждно.

Въпреки това диагностичната интерпретация на резултатите от оцветяването трябва да се извършва от квалифицирани и упълномощени специалисти, като се вземат предвид анамнезата на пациента, морфологията, използването на подходящи контроли и допълнителни диагностични тестове, ако е подходящо. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора.

Диагностика

Диагнозите следва да се поставят само от упълномощен и квалифициран персонал. Трябва да се използва валидна номенклатура. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора. Трябва да се подберат и извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати методи. При всяко приложение трябва да се използват подходящи контроли (напр. ISOSLIDE™ AFB, кат. № 1.02560.0001), за да се избегне неправилен резултат.

Съхранение

Съхранявайте AFB Набор за оцветяване за хистология - за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хистологична тъкан при +15 °C до +25 °C.

Срок на годност

Разтвор по AFB Набор за оцветяване за хистология - за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хистологична тъкан може да се използва до посочената дата на срок на годност.

След първото отваряне на бутилката съдържанието може да се използва до посочената дата на срок на годност, когато се съхранява при +15 °C до +25 °C.

Бутилките трябва винаги да се съхраняват плътно затворени.

Капацитет

Опаковката е достатъчна за до 250 приложения.

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба

За да се избегнат грешки приложението трябва да се извършва самоот квалифициран персонал. Трябва да се следват националните указания за осигуряване на безопасност и качество при работа. Трябва да се използват микроскопи със стандартно оборудване.

Защита от инфекция

Трябва да се вземат ефективни мерки за защита срещу инфекция в съответствие с лабораторните указания.

Инструкции за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърли в съответствие с актуалните указания за изхвърляне. Използваните разтвори и разтворите с изтекъл срок на годност трябва да се изхвърлят като специален отпадък в съответствие с местните указания. Информация за изхвърлянето може да се получи от бързия линк „Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия“ от www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС е в сила приложимият понастоящем РЕГЛАМЕНТ (ЕК) № 1272/2008 за класификация, обозначаване и опаковане на вещества и смеси, поправящ и заместващ Директиви 67/548/ЕИО и 1999/45/ЕК, и поправящ Регламент (ЕК) № 1907/2006.

Спомагателни реагенти

Кат. №	1.00579	DPX Ново неводна среда за заливка при микроскопия	500 ml
Кат. №	1.00869	Entellan™ new за покриване на микроскопски препарати за микроскопия	500 ml
Кат. №	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Контролни слайдове с референтна тъкан за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хисто	25 tests
Кат. №	1.04699	Имерсионно масло за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 100 ml, 500 ml
Кат. №	1.07961	Entellan™ new бърз среда за заливка за микроскопия	100 ml, 500 ml, 1 l
Кат. №	1.08298	Ксилол (изомерна смес) за хистология	4 l
Кат. №	1.09016	Neo-Mount™ безводна среда за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 500 ml
Кат. №	1.09843	Neo-Clear™ (заместител на ксилол) за микроскопия	5 l

Класификация на рисковете

Кат. № 1.32450.0001 Моля, спазвайте класификацията на рисковете, отпечатана на етикета, и информацията, дадена в листа с данни за безопасност. Листът с данни за безопасност може да се намери в уебсайта и при поискване. ВНИМАНИЕ! Съдържа CMR вещества. Моля, спазвайте съответните инструкции за безопасност от листа с данни за безопасност.

Основни компоненти на продуктите

Кат. № 1.32450.0001	
Реагент 1 или Кат. № 1.08512	
C.I. 42520 или 42510	6 g/l*
C ₆ H ₅ OH	40 g/l
1 l = 0,99 kg	
* И двете багрила могат да се използват за приготвяне на разтвора, в резултат се получава идентична чувствителност и специфичност на оцветяването.	
Реагент 2 или Кат. № 1.00327	
HCl	0,75 %
съдържа C ₂ H ₅ OH	
1 l = 0,90 kg	
Реагент 3	
C.I. 42095	5 g/l
CH ₃ COOH	2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg	

Обща забележка

Ако по време на използването на това изделие или в резултат на употребата му възникне сериозен инцидент, моля, съобщете за него на производителя и/или на неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Литература

- 1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- 2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



- H225: Силно запалими течност и пари.
H290: Може да бъде корозивно за металите.
H314: Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.
H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.
H341: Предполага се, че причинява генетични дефекти.
H410: Силно токсичен за водните организми, с дълготраен ефект.

- P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък и други източници на запалване. Тютюнопушенето забранено.
P273: Да се избягва изпускане в околната среда.
P280: Използвайте предпазни ръкавици/ предпазно облекло/ предпазни очила/ предпазна маска за лице.
P303 + P361 + P353: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.
P304 + P340 + P310: ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/ на лекар.
P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

- Реагент 1:
H226: Запалими течност и пари.
H314: Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.
H341: Предполага се, че причинява генетични дефекти.
H410: Силно токсичен за водните организми, с дълготраен ефект.

- Реагент 2:
H225: Силно запалими течност и пари.
H290: Може да бъде корозивно за металите.
H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-24	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите

Направете справка в инструкциите за употреба

Производител

REF

Каталожен номер

LOT

Код на партида

Внимание, направете справка в придружаващите документи

Срок на годност
ГГГГ-ММ-ДД

Ограничение за температура

Status: 2024-Jul-24

1.32450.0001 REF

Mikroszkópia

AFB hisztológiai készlet,

saválló baktériumok észlelésére hisztológiai szövetben

Csak professzionális használatra

IVD *In vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz



Rendeltetés

Ez az "AFB hisztológiai készlet, - saválló baktériumok észlelésére hisztológiai szövetben" embergyógyászati sejtdiagnózisra használatos és célja humán eredetű mintaanyag hisztológiai vizsgálata. Ez használatra kész színező készlet, amely termékínálatunk más *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva diagnosztikai célokra értékelhetővé teszi a bakteriális célstruktúrákat (pl. saválló baktériumok (AFB), rögzítés, beágyazás, színezés, kontrasztízínezés, berakás hisztológiai mintaanyagokba, például pl. a tüdő hisztológiai metszeteibe.

Az AFB festőkészlet a Ziehl-Neelsen-féle, saválló baktériumok észlelésére szolgáló színezési módszeren alapul. A készlet módosított oly módon, hogy a karbolfukszin oldat hevítése elengedhető. Következésképpen elkerülhető a potenciálisan veszélyes fenológázók kibocsátása. A világos zöld oldat a háttér színét kevésbé dominánssá teszi, így módon sokkal láthatóbbá téve a saválló baktériumokat, és megnövelve a diagnózis minőségét.

Nem színezett struktúrák viszonylag alacsony kontrasztuak és fénymikroszkópban rendkívül nehezen megkülönböztethetőek. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálót az alak és a struktúra jobb meghatározásában. További vizsgálatok lehetnek szükségesek definitív diagnózis felállításához.

Elv

A saválló baktériumok sejtfala magas arányban tartalmaz viaszt és a lipideket, és ezért csak nagyon lassan veszi fel a színező oldatokat. A leghatékonyabb színezési módszer a Ziehl-Neelsen szerinti meleg színezés. Ebben a módszerben karbolfukszin oldatot alkalmaznak a mintára, majd hevítik. Ez a hevítési folyamat meggyorsítja a fukszin festék abszorpciójának sebességét, és így módon a mikolat-fukszin komplex sejtfalbeli képződését is.

A AFB hisztológiai készlet módosított karbolfukszin oldatot nyújt, amely megszünteti a melegítést (Kinyoun-módszer).

Ha a saválló baktériumok már abszorbeálták a fukszin festéket, virtuálisan lehetetlen azokat újra szinteleníteni, még szintelenítő oldattal (pl. sósavval etanolban) végzett intenzív kezeléssel sem. Ennek megfelelően a saválló baktériumokat színezési szempontból sav- és alkoholállóknak tekintik, és azok mikroszkópos láthatóvá tétel céljából vörösré színezettek. Ennek megfelelően minden nem saválló mikroorganizmus megfelelő festékekkel kontrasztízínezett.

Mintaanyag

Humán eredetű, formalinnal rögzített szövet metszetei, paraffinba ágyazva (4 - 6 µm vastag paraffinmetszetek)

Reagensek

Kat. sz. 1.32450.0001

AFB hisztológiai készlet,

saválló baktériumok észlelésére hisztológiai szövetben

A csomag összetevői:

A színező készlet az alábbiakat tartalmazza

Reagens 1: Carbol fuksin oldat	250 ml
Reagens 2: Sósav, etanolban oldva	2x 250 ml
Reagens 3: Világos zöld SF oldat	250 ml

Minta-előkészítés

A mintavételt kiképzett személyzetnek kell végrehajtani.

Minden mintát a legkorszerűbb technológiával kell kezelni.

Minden mintát világosan fel kell címkézni.

Megfelelő műszereket kell használni mintavételhez és előkészítéshez. Kövesse a gyártó utasításait az alkalmazásra / használatra vonatkozóan.

A megfelelő kisegítő reagentisek használatakor be kell tartani a megfelelő utasításokat.

Paraffinmentesítse a metszeteket a szokásos módon, majd rehidratálja csökkenő alkoholsorozatban.

Hisztológiai metszetek

A AFB hisztológiai készlet használható hisztológiai metszetek színezésére.

Reagens-előkészítés

A AFB hisztológiai készlet, - saválló baktériumok észlelésére hisztológiai szövetben reagentisei használatra kész, az oldatok hígítása nem szükséges és az csak a színezési eredmény és a stabilitás rosszabbodását eredményezi.

Eljárás

Színezés a színező cellában

Paraffinmentesítse a hisztológiai tárgylemezeket a szokásos módon, majd rehidratálja csökkenő alkoholsorozatban.

A tárgylemezeket bele kell meríteni az oldatokba és rövid ideig ott mozgatni, az egyszerű bemerítés önmagában nem megfelelő színezési eredményeket ad.

Az individuális színező lépések után hagyni kell a tárgylemezeket jól lecsopogni, az oldatok szükségtelen keresztszennyeződésének elkerülése végett.

A megadott időket be kell tartani az optimális színezési eredmény garantálása céljából.

Tárgylemez hisztológiai szövetrel	
Reagens 1 (carbol fuksin oldat)	30 perc
Folyó csapvízben	45 sec
Reagens 2 (sósav, etanolban oldva)	15 sec
Folyó csapvízben	15 sec
Reagens 3 (világos zöld SF oldat)	5 perc
Mossa csapvízzel	10 sec
Etanol 96 %-os	1 perc
Etanol 96 %-os	1 perc
Etanol 100 %-os	1 perc
Etanol 100 %-os	1 perc
Xylene vagy Neo-Clear™	5 perc
Xylene vagy Neo-Clear™	5 perc
Rakja fel a Neo-Clear™ anyaggal nedvesített tárgylemezeket Neo-Mount™ használatával vagy a xilollal nedvesített tárgylemezeket pl. Entellan™ new használatával és fedje le üveglappal.	

Dehidratálás (növekvő alkoholsorozatok) és xilol vagy Neo-Clear™ használatával történt tisztítás után a hisztológiai tárgylemezek lefedhetők bármilyen nem vizes felrakó szerrel (pl. Neo-Mount™, Entellan™ new vagy DPX új) és fedőüveggel, majd tárolhatók.

Immerziós olaj használata javasolt a színezett tárgylemezek elemzésére >40x mikroszkópos nagyítás mellett.

Eredmény

Saválló baktériumok	piros
Háttér	zöld

Értékelés

Pozitív eredmény jelentése: "saválló baktériumok észlelése történt" és a negatív eredmény jelentése: "saválló baktériumok nem észlelhetők". Pozitív eredmény nem jelenti azt, hogy lehetséges a taxonómiai besorolás mikroszkópos vizsgálattal. Ha saválló baktériumok észlelése történt, további elemzéseket kell végrehajtani speciálisan felszerelt laboratóriumokban. A baktériumok vitalitását (aktív, inaktív) sem lehet meghatározni.

Hibaelhárítás

Saválló baktériumok nincsenek színezve

A színezési eljárás kritikus szakasza a szintelenítési lépés, amit befolyásolhat a kenet vastagsága.

Ráadásul a sósav friss oldata etanolban erősen reakcióképes, tehát az eredményt óvatosan kell értékelni. A szintelenítési lépés alatt a felhasználóknak be kell tartásuk a protokollban leírt inkubációs időket, egyébként hamis negatív eredményeket kaphatnak. Ezenkívül az optimális színezési eredmény eléréséhez gondoskodni kell annak biztosításáról, hogy a paraffinmetszetek vastagsága legalább 4 µm és legfeljebb 6 µm.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkóp meg kell feleljen az orvosi diagnosztikai laboratórium követelményeinek.

Kérjük, hisztofeldolgozók és automatikus színezési rendszerek használatát követően kövesse a rendszer és a szoftver gyártójától kapott használati utasításokat.

Feltöltés előtt távolítsa el a többlet immerziós olajat.

Analitikai teljesítményjellemzők

"AFB hisztológiai készlet" színezi és ezáltal láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, amint ismertetjük ezen Használati utasítás "Eredmény" c. fejezetében. Csak engedélyezett és kiképzett személyek hajthatják végre a termék használatát, többek között a minta- és reagens-előkészítését, a mintafeldolgozást, a hisztokézelést, és hozhatnak a megfelelő kontrollokra vonatkozó döntéseket és még sok más.

A termék analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden termékfürdő ellenőrzésével.

Az alábbi színezékekre 100%-os arányban megerősítést nyert a termék anaitikai teljesítménye a specificitás, érzékenység és reprodukálhatóság vonatkozásában:

	Inter-assay specificitás	Inter-assay érzékenység	Intra-assay specificitás	Intra-assay érzékenység
Szövettani festés				
Saválló baktériumok	3/3	3/3	8/8	8/8
Háttér	3/3	3/3	8/8	8/8

Analitikai teljesítmény eredmények

Intra- (ugyanabban az adagban végrehajtva) és inter-assay (különböző adagokban végrehajtva) adatok megadják a helyesen színezett struktúrák számát a végrehajtott vizsgálatok számának arányában.

Klinikai teljesítményjellemzők

Az AFB színező készlet komponenseit évtizedek óta sikeresen használják klinikai környezetben nagyszámú alkalmazásban.

Különösképpen a AFB készlet vonatkozóan egy házon belüli vizsgálatban megállapították az érzékenységet és a specificitást, valamint annak PPV és NPV a klinikai teljesítmény meghatározásához:

	Ziehl-Neelsen színezés
Érzékenység	13/14
Specificitás	15/15

Érzékenység: 13 minta 14 közül: 92,9 %

Specificitás: 15 minta 15 közül: 100 %

Pozitív prediktív érték (PPV): 100 %

Negatív prediktív érték (NPV): 98,3 %

Ezen teljesítményértékelés megerősíti, hogy a termék alkalmas a rendeltetés szerinti használatra és megbízhatóan teljesít.

A színezési eredmények diagnosztikai értelmezését azonban képzett és jóváhagyott szakemberek kell végezzék, figyelembe véve a beteg anamnézisét, a morfológiát, a megfelelő kontrollok használatát, valamint a további diagnosztikai tesztek, ha vannak ilyenek. Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában.

Diagnosztika

Diagnózt csak engedélyezett és kiképzett személyzet készíthet.

Érvényes nomenklatúrákat kell használni.

Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában. További vizsgálatokat kell kiválasztani és bevezetni elismert módszerek szerint.

Megfelelő kontrollokat (pl. ISOSLIDE™ AFB, kat. sz. 1.02560.0001) kell végeznie minden alkalmazásnál, a helytelen eredmény elkerülése végett.

Tárolás

Tárolja a AFB hisztológiai készlet, - saválló baktériumok észlelésére hisztológiai szövetben +15 °C - +25 °C-on.

Élettartam

A AFB hisztológiai készlet, - saválló baktériumok észlelésére hisztológiai szövetben használható a megadott lejárati ideig.

A palack első felnyitása után a tartalom használható a megadott lejárati ideig, ha a tárolás +15 °C - +25 °C hőmérsékleten történt.

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani.

Kapacitás

A csomag tartalma maximum 250 alkalmazásra elegendő.

További utasítások

Csak professzionális használatra.

Hibák elkerülése végett az alkalmazást csak kiképzett személyzet hajthatja végre.

A munka biztonságára és a minőségbiztosításra vonatkozó országos útmutatókat be kell tartani.

A szabványnak megfelelően felszerelt mikroszkópokat kötelező használni.

Fertőzés elleni védelem

Hatékony intézkedéseket kell tenni a fertőzés elleni védelemre, a laboratóriumi útmutatókkal összhangban.

Megsemmisítési utasítások

A csomagot az aktuális megsemmisítési útmutatókkal összhangban kell megsemmisíteni.

A használt oldatokat, illetve a lejárt szavatossági idejű oldatokat speciális hulladékként kell megsemmisíteni, a helyi útmutatásokkal összhangban.

Megsemmisítésre vonatkozó információ kapható a www.microscopy-products.com oldalról, a "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Ötletek mikroszkópiai termékek megsemmisítésére) gyors hivatkozás alatt. Az EU jelenleg érvényes, anyagok és keverékek osztályozására, címkézésére és csomagolására vonatkozó, 1272/2008. sz RENDELETE (EC) van érvényben, amely javítja és hatályon kívül helyezi a 67/548/EEC és 1999/45/EC direktívákat, és javítja az (EC) 1907/2006. sz rendeletet.

Kisegítő reagens

Kat. sz.	1.00579	DPX új nem-vizes rögzítőszer mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.00869	Entellan™ new, fedőlemezekhez mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontroll lemezek referenciaszövettel savgyors baktériumok szövettani kimutatásához	25 tests
Kat. sz.	1.04699	Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 100 ml, 500 ml
Kat. sz.	1.07961	Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz.	1.08298	Xylene (isomerikus elegy) szövettani célokra	4 l
Kat. sz.	1.09016	Neo-Mount™ vízmentes fedőanyag mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 500 ml
Kat. sz.	1.09843	Neo-Clear™ (xilohelyettesítő) mikroszkópiai célra	5 l

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.32450.0001

Kérjük, vegye figyelembe a címkére nyomtatott veszélyminősítést és a biztonsági adatlapon megadott információt.

A biztonsági adatlap megtalálható a webhelyen, illetve megkapható kérésre. VIGYÁZAT! CMR-anyagokat tartalmaz. Kérjük, tartsa be a biztonsági adatlapon megadott, megfelelő biztonsági utasításokat.

A termékek fő összetevői

Kat. sz. 1.32450.0001

Reagens 1 vagy Kat. sz. 1.08512

C.I. 42520 vagy 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

* Mindkét festék használható oldat előállítására, a színezés eredményének azonos az érzékenysége és specificitása.

Reagens 2 vagy Kat. sz. 1.00327

HCI 0,75 %

C₂H₅OH-t tartalmaz

1 l = 0,90 kg

Reagens 3

C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l

1 l = 1,0003 kg

Általános megjegyzés

Ha ezen eszköz használata során vagy használata eredményeképpen súlyos incidens történt, kérjük, jelentse a gyártónak és/vagy jóváhagyott képviselőének, illetve az országos hatóságoknak.

Irodalom

- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H290: Fémekre korrozív hatású lehet.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

H341: Feltehetően genetikai károsodást okoz.

H410: Nagyon mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P210: Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/ védőruha/ szemvédő/ arcvédő/ hallásvédelem.

P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

P304 + P340: + P310 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/ orvoshoz.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Reagens 1:

H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H341: Feltehetően genetikai károsodást okoz.

H410: Nagyon mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Reagens 2:

H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H290: Fémekre korrozív hatású lehet.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-24	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Nézze meg a
használati utasítást



Gyártó



Katalógus szám



Tételkód



Vigyázat, olvassa el a mel-
lékelt dokumentumokat



Lejáratí idő:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsék-
lethatár

Status: 2024-Jul-24

A Merck Life Science üzletága az USA-ban és Kanadában MilliporeSigma néven működik.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Németország és/vagy leányvállalatai. Minden jog fenntartva. Merck és Sigma-Aldrich a Merck KGaA, Darmstadt, Németország, védjegyei. Minden más védjegy megfelelő tulajdonosa birtokában van. A védjegyekre vonatkozó információ rendelkezésre áll nyilvánosan elérhető forrásokból.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopija

AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai

acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce

Paredzētais pielietojums

Šo "AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai - acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos" izmanto cilvēka šūnu diagnostikā, lai veiktu cilvēka izcelsmes parauga materiāla histoloģisko izmeklēšanu. Tas ir lietošanai gatavs krāsošanas komplekts, kas kopā ar citiem mūsu piedāvātajiem *in vitro* diagnostikas izstrādājumiem nodrošina baktēriju mērķa struktūru izvērtēšanu diagnostiskos nolūkos (piem., acidorezistentas baktērijas (AFB), veicot fiksāciju, ieguldīšanu, krāsošanu, kontrastkrāsošanu, nostiprināšanu) histoloģisko paraugu materiāliem, piemēram, plaušu audu histoloģiskajiem griezumumiem.

AFB krāsošanas komplekts par pamatu ir izmantota Čila-Nilsena krāsošanas metode, lai noteiktu acidorezistentās baktērijas. Komplekts ir modificēts tā, lai karbolfuksīna šķīduma karsēšana nebūtu obligāta. Līdz ar to iespējams izvairīties no iespējami bīstamo fenola izgarojumu veidošanās. Gaiši zaļā šķīduma izmantošana samazina fona krāsojuma izteiktību, būtiski uzlabojot acidorezistentu baktēriju saskatāmību un tādējādi uzlabojot diagnostikas kvalitāti.

Nekrāsotām struktūrām ir relatīvi neliels kontrasts, un tās ir ārkārtīgi grūti atšķirt gaismas mikroskopā. Šādos gadījumos ar krāsošanas šķīdumiem iekrāsoti preparāti palīdz pilnvarotam un kvalificētam speciālistam labāk noteikt formu un struktūru. Lai noteiktu galīgo diagnozi, var būt nepieciešama papildu izmeklēšana.

Princips

Acidorezistentu baktēriju šūnas siena satur lielu daudzumu vasku un lipīdu un tāpēc ļoti lēni absorbē krāsvielas. Visefektīvākā krāsošanas metode ir karstā krāsošana pēc Čila-Nilsena metodes. Ja tiek izmantota šī metode, uz parauga uzklāj karbolfuksīna šķīdumu un karsē. Karsēšanas process paātrina fuksīna krāsvielas absorbciju un, līdz ar to — mikolāta-fuksīna kompleksa veidošanos šūnas sienā. AFB krāsošanas komplektā histoloģiskai izmeklēšanai tiek izmantots modificēts karbolfuksīna šķīdums, kuram nav nepieciešama karsēšana (Kinyoun metode).

Tiklīdz acidorezistentās baktērijas ir absorbējušas fuksīna krāsvielu, tās praktiski nav iespējams atkrāsot, pat tad, ja tās intensīvi apstrādā ar atkrāsošanas šķīdumu, piemēram, sālskābi etilspirtā. Līdz ar to, acidorezistentās baktērijas sauc par „skābes un spirta izturīgām”, un mikroskopiskā izmeklēšanā tās ir redzamas sarkanā krāsā. Attiecīgi mikroorganismi, kas nav izturīgi pret skābi, tiek iekrāsoti kontrastkrāsošanas laikā ar atbilstošu krāsvielu.

Parauga materiāls

Cilvēka izcelsmes formalinā fiksētu audu griezumumi, kas ieguldīti parafinā (4 – 6 µm bieži parafina griezumumi)

Reaģenti

Kat. nr. 1.32450.0001

AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos

Iepakojuma sastāvdaļas:

Krāsošanas komplektā iekļauts

Reaģents 1: Karbolfuksīna šķīdums	250 ml
Reaģents 2: Sālskābe etilspirtā	2x 250 ml
Reaģents 3: Gaiši zaļais SF šķīdums	250 ml

Parauga sagatavošana

Paraugi jāpaņem kvalificētam personālam.

Strādājot ar visiem paraugiem, jāizmanto modernākās tehnoloģijas.

Visi paraugi skaidri jāmarķē.

Paraugu paņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Ievērojiet ražotāja norādījumus par pielietojumu/lietošanu.

Ja izmantojat atbilstošus papildu reaģentus, jāievēro atbilstošā lietošanas instrukcija.

Deparafinizējiet griezumus, izmantojot standarta metodi, un rehidratējiet ar spirta atšķaidījumu sēriju dilstošā koncentrācijā.

Histoloģiskie griezumumi

AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai var izmantot histoloģisko griezumumu krāsošanai.

Reaģentu sagatavošana

Krāsošanai izmantotā AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai - acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos reaģenti ir gatavi lietošanai, šķīdumu atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina krāsošanas rezultātu un krāsojuma stabilitāti.

Procedūra

Krāsošana krāsošanas traukā

Deparafinizējiet histoloģisko paraugu priekšmetstiklīšus, izmantojot standarta metodi, un rehidratējiet ar spirta atšķaidījumu sēriju dilstošā koncentrācijā.

Priekšmetstiklīņi jāiemērc un mazliet jāpakustina šķīdumos, tikai iemērkšana nenodrošina atbilstošus krāsošanas rezultātus.

Pēc katras krāsošanas darbības priekšmetstiklīņiem jāļauj pilnībā notecēt, lai nepieļautu nevajadzīgu savstarpēju piesārņojumu ar šķīdumiem.

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstiklīšs ar histoloģijas paraugu	
Reaģents 1 (karbolfuksīna šķīdums)	30 min.
Tekošs krāna ūdens	45 sek.
Reaģents 2 (sālskābe etilspirtā)	15 sek.
Tekošs krāna ūdens	15 sek.
Reaģents 3 (gaiši zaļais SF šķīdums)	5 min.
Nomazgājiet ar krāna ūdeni	10 sek.
96% Etanols	1 min.
96% Etanols	1 min.
100% Etanols	1 min.
100% Etanols	1 min.
Ksilēns vai Neo-Clear™	5 min.
Ksilēns vai Neo-Clear™	5 min.
Nostipriniet Neo-Clear™ samitrinātos priekšmetstiklīšus ar Neo-Mount™ vai ksilēnā samitrinātos priekšmetstiklīšus ar, piem., Entellan™ new un pārklājiet ar segstiklīņu.	

Pēc dehidratācijas (spirta atšķaidījumu sērija augošā koncentrācijā) un dzidrināšanas ar ksilēnu vai Neo-Clear™ histoloģijas priekšmetstiklīšus var pārklāt ar ūdeni nesaturošiem nostiprināšanas līdzekļiem (piem., Neo-Mount™, Entellan™ new vai DPX new), pārklāt ar segstiklīņu un pēc tam uzglabāt.

Krāsoto priekšmetstiklīņu analīzei ar mikroskopa palielinājumu > 40 x ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Rezultāts

Acidorezistentās baktērijas	sarkanas
Fons	zaļš

Novērtējums

Pozitīvs rezultāts nozīmē, ka „ir atklātas acidorezistentās baktērijas” un negatīvs rezultāts nozīmē, ka „nav atklātas acidorezistentās baktērijas”. Pozitīvs rezultāts nenozīmē, ka mikroskopiskajā izmeklēšanā iespējams noteikt taksonomisko klasifikāciju. Ja ir atklātas acidorezistentās baktērijas, turpmākās analīzes jāveic īpaši aprīkotās laboratorijās. Nav iespējams noteikt arī baktēriju dzīvotspēju (aktīva, neaktīva).

Traucējumu novēršana

Acidorezistentu baktēriju niekrāsošana

Krāsošanas pēc kritiskais posms ir atkrāsošana, kuru var ietekmēt iztriepes biežums.

Turklāt sveigs sālskābes šķīdums etilspirtā ir īpaši reaktīvs, kas nozīmē, ka rezultāts jāvērtē piesardzīgi. Atkrāsošanas darbības laikā precīzi jāievēro šajā protokolā norādītie inkubācijas laiki, pretējā gadījumā var iegūt viltus negatīvus rezultātus. Turklāt, lai iegūtu optimālu krāsošanas rezultātu, jānodrošina, ka parafina griezumumu biežums ir vismaz 4 µm, bet ne vairāk kā 6 µm.

Tehniskas piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostiskās laboratorijas prasībām.

Ja izmantojot histoloģisko paraugu apstrādes ierīces un automātiskās krāsošanas ierīces, ievērojiet iekārtu un programmatūru piegādātāja lietošanas instrukcijas.

Pirms uzpildīšanas notīriet imersijas eļļas atliekas.

Analītiskās veikspējas raksturojums

“AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai” nokrāso un tādējādi vizualizē bioloģiskās struktūras, kā aprakstīts šīs lietošanas instrukcijas nodaļā “Rezultāts”. Šo izstrādājumu drīkst lietot tikai pilnvarotas un kvalificētas personas; lietošana ietver (bet ne tikai) paraugu un reaģentu sagatavošanu, rīkošanos ar paraugu, histoloģisko paraugu apstrādi, lēmumu pieņemšanu par piemērotu kontroli uzmantošanu u.c.

Izstrādājuma analītiskā veikspēja ir apstiprināta, pārbaudot katru izstrādājuma sēriju.

Turpmāk minētajām krāsvielām apstiprinātais izstrādājuma analītiskās veikspējas specifiskums, jutība un atkārtojamība ir 100%:

	Specifiskums starp analīzes sērijām	Jutīgums starp analīzes sērijām	Specifiskums vienā analīzes sērijā	Jutīgums vienā analīzes sērijā
Histoloģiski krāsošana				
Acidorezistentās baktērijas	3/3	3/3	8/8	8/8
Fons	3/3	3/3	8/8	8/8

Analītiskās veikspējas rezultāti

Datos, kas iegūti, analizējot vienu analīzes sēriju un dažādas analīzes sērijas, norādīts pareizi iekrāsoto struktūru skaits attiecībā pret veikto analīžu skaitu.

Klīniskās veikspējas raksturojums

AFB krāsošanas komplekts sastāvdaļas ir vairākas desmitgades veiksmīgi un ļoti bieži izmantotas klīniskajā vidē.

AFB krāsošanas komplekts klīniskā veikspēja tika izvērtēta, nosakot analīzes jutīgumu un specifiskumu un tā NPV un PPV uzņēmuma iekšējā pētījumā:

	Krāsošana pēc Ziehl-Neelsen metodes
Jutīgums	13/14
Specifiskums	15/15

Jutīgums: 13 paraugi no 14: 92,9%

Specifiskums: 15 paraugi no 15: 100%

Pozitīvā prognostiskā vērtība (positive predictive value – PPV): 100%

Negatīvā prognostiskā vērtība (negative predictive value – NPV): 98,3%

Šie veikspējas novērtējuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājums ir piemērots paredzētajam pielietojumam un tā darbība ir uzticama.

Krāsošanas rezultātu diagnostiskā interpretācija tomēr ir jāveic kvalificētiem un pilnvarotiem speciālistiem, ņemot vērā pacienta anamnēzi, morfoloģiju, atbilstošu kontroli izmantošanu un papildu diagnostiskos izmeklējumus, ja nepieciešams. Šo metodi var izmantot kā papildmetodi diagnozes noteikšanai cilvēkiem.

Diagnostika

Diagnoze jānosaka tikai pilnvarotam un kvalificētam personālam. Jāizmanto apstiprināta terminoloģija. Šo metodi var izmantot kā papildmetodi diagnozes noteikšanai cilvēkiem. Jāizvēlas un jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas metodes.

Katrā lietošanas reizē jāizmanto piemērotas kontroles (piem., ISOSLIDE™ AFB, kat. nr. 1.02560.0001), lai izvaiļtos no nepareiza rezultāta iegūšanas.

Uzglabāšana

AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai - acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos uzglabājiet no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Derīguma termiņš

AFB krāsošanas komplekts histoloģiskai izmeklēšanai - acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam.

Pēc pirmās pudeles atvēršanas tās saturu drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam, ja to uzglabā no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Pudeles vienmēr jāuzglabā cieši noslēgtas.

Ietilpība

Iepakojuma tilpums ir pietiekams līdz 250 lietošanas reizēm.

Papildu norādījumi

Tikai profesionālai lietošanai.

Lai izvairītos no kļūdām, lietot drīkst tikai kvalificēts personāls. Jāievēro valsts norādījumi par darba drošību un kvalitātes nodrošināšanu. Jālieto mikroskopi ar standartam atbilstošu aprīkojumu.

Aizsardzība pret infekcijām

Jāizmanto efektīvi pasākumi aizsardzībai pret infekcijām atbilstoši laboratorijas vadlīnijām.

Norādījumi par likvidēšanu

Iepakojums jālikvidē atbilstoši spēkā esošajām vadlīnijām par likvidēšanu. Izlietotie šķidrumi un šķidrumi, kuriem beidzies derīguma termiņš, jālikvidē kā speciālie atkritumi atbilstoši vietējām vadlīnijām. Informāciju par likvidēšanu skatiet tīmekļa vietnē www.microscopy-products.com, noklikšķinot uz ātrās saites „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Ieteikumi mikroskopiskai izmeklēšanai izmantoto izstrādājumu likvidēšanai). ES šobrīd ir spēkā REGULA (EK) Nr. 1272/2008 par vielu un maisījumu klasificēšanu, marķēšanu un iepakojšanu un ar ko groza un atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Papildu reaģenti

Kat. nr.	1.00579	DPX new ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.00869	Entellan™ new segstikliņiem mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontroles priekšmetstikliņus ar atsauces audiem acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos	25 tests
Kat. nr.	1.04699	Imersijas eļļa mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 100 ml, 500 ml
Kat. nr.	1.07961	Entellan™ new ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. nr.	1.08298	Ksilēns (izomēru maisījums) histoloģiskai izmeklēšanai	4 l
Kat. nr.	1.09016	Neo-Mount™ ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 500 ml
Kat. nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksilēna aizvietotājs) mikroskopiskai izmeklēšanai	5 l

Bīstamības klasifikācija

Kat. nr. 1.32450.0001

Lūdzu, ievērojiet marķējumā norādīto bīstamības klasifikāciju un drošības datu lapā sniegto informāciju. Drošības datu lapa ir pieejama tīmekļa vietnē un pēc pieprasījuma. UZMANĪBU! Satur kancerogēnas, mutagēnas vai toksiskas reproduktīvajai sistēmai (CMR) vielas. Ievērojiet atbilstošos norādījumus par drošību, kas sniegti drošības datu lapā.

Galvenās izstrādājumus sastāvdaļas

Kat. nr. 1.32450.0001

Reaģents 1 vai Kat. nr. 1.08512

C.I. 42520 vai 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l
1 l = 0,99 kg

* Abas krāsvielas var izmantot šķiduma pagatavošanai, krāsošanas rezultātiem ir identiska jutība un specifiskums.

Reaģents 2 vai Kat. nr. 1.00327

HCl 0,75%
satur C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reaģents 3

C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg

Vispārēja piezīme

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai lietošanas rezultātā rodas nopietns negatīvs, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī vietējai regulējošai iestādei.

Literatūra

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



- H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H290: Var kodīgi iedarboties uz metāliem.
H314: Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.
H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.
H341: Ir aizdomas, ka var izraisīt ģenētiskus bojājumus.
H410: Ļoti toksisks ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

P210: Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.

P273: Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280: Izmantot aizsargcimdus/ aizsargapģērbu/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

P303 + P361 + P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): Nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.

P304 + P340 + P310: IEELPOŠANAS GADĪJUMĀ: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu. Nekavējoties sazinieties ar SAIN-DEŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ ārstu.

P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot:

Reaģents 1:

H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H314: Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.

H341: Ir aizdomas, ka var izraisīt ģenētiskus bojājumus.

H410: Ļoti toksisks ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

Reaģents 2:

H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H290: Var kodīgi iedarboties uz metāliem.

H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-24	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu



Skatīt lietošanas instrukciju



Ražotājs



Kataloga numurs



Sērijas kods



Uzmanību! Skatīt pievienotos dokumentus



Izlietot līdz
GGGG-MM-DD



Temperatūras ierobežojums

Status: 2024-Jul-24

1.32450.0001 REF

Mikroskopija

AFB dažymo rinkinys histologijai

nustatant rūgštims atsparias bakterijas
histologiniame audinyje

Tik profesionaliam naudojimui

IVD In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Numatytoji paskirtis

Šis „AFB dažymo rinkinys histologijai“ - nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje - naudojamas žmogaus ir medicininių ląstelių diagnostikai ir skirtas histologiniam žmogaus kilmės mėginio medžiagos tyrimui. Tai paruoštas naudoti dažymo rinkinys, kurį naudojant kartu su kitais *in vitro* diagnostikos produktais iš mūsų asortimento, tikslinės bakterijų struktūros gali būti vertinamos diagnostikos tikslais (pvz., rūgštims atsparios bakterijos (AFB)) fiksuojant, įterpiant, dažant, kontrastuojant, dengiant histologinių mėginių medžiagose, pavyzdžiui, histologiniuose pjūviuose, pvz., plaučių.

AFB dažymo rinkinys pagrįstas Ziehl-Neelsen dažymo metodu, skirtu rūgštims atsparioms bakterijoms aptikti. Rinkinys modifikuotas taip, kad karbolfuksino tirpalo nereikėtų kaitinti. Todėl išvengiama potencialiai pavojingų fenolio garų išsiskyrimo. Naudojant šviesiai žalią tirpalą, fono spalva tampa mažiau dominuojanti, todėl rūgštims atsparios bakterijos tampa daug geriau matomos ir taip pagerėja diagnozės kokybė.

Nedažytos struktūros yra palyginti mažai kontrastingos ir jas labai sunku atskirti šviesiniu mikroskopu. Vaizdai, sukurti naudojant dažymo tirpalus, padeda įgaliotam ir kvalifikuotam tyrėjui tokiais atvejais geriau nustatyti formą ir struktūrą. Galutinei diagnozei nustatyti gali prireikti papildomų tyrimų.

Principas

Rūgštims atsparių bakterijų ląstelės sienelėje yra daug vaško ir lipidų, todėl jos labai lėtai sugeria dažus. Veiksmingiausias dažymo metodas yra karštas dažymas pagal Ziehl-Neelsen. Taikant šį metodą karbolfuksino tirpalas užlašinamas ant mėginio ir kaitinamas. Šis kaitinimo procesas pagreitina fukso dažiklio absorbciją, o kartu ir mikolato-fukso kompleksą susidarymą ląstelės sienelėje. AFB dažymo rinkinys histologijai naudojamas modifikuotas karbolfuksino tirpalas, kuriam nereikalingas kaitinimas (Kinyoun metodas). Kai rūgštims atsparios bakterijos absorbuoja fukso dažiklį, jų spalvos panaikinti praktiškai neįmanoma, net jei jos intensyviai apdorojamos spalvos naikinimo tirpalu, pavyzdžiui, druskos rūgštimi etanolyje. Atitinkamai rūgštims atsparios bakterijos dažymo tikslais vadinamos rūgštims ir alkoholiui atspariomis bakterijomis, kurios mikroskopinėje vizualizacijoje nusidažo raudonai. Atitinkamai visi mikroorganizmai, kurie nėra atsparūs rūgštims, yra kontrastuojami atitinkamais dažais.

Mėginių medžiaga

Formalinu fiksuoto žmogaus kilmės audinio pjūviai, įterpti į parafiną (4–6 µm storio parafino pjūviai)

Reagentai

Kat. Nr. 1.32450.0001
AFB dažymo rinkinys histologijai
nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje

Pakuotės komponentai:

Dažymo rinkinio sudėtis

Reagentas 1: Karbolfuksino tirpalas	250 ml
Reagentas 2: Druskos rūgštis etanolyje	2x 250 ml
Reagentas 3: Šviesiai žalias SF tirpalas	250 ml

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Visi mėginiai turi būti apdorojami naudojant pažangiausias technologijas.

Visi mėginiai turi būti aiškiai sužymėti.

Mėginiams imti ir ruošti turi būti naudojami tinkami instrumentai. Laikykitės gamintojo pateiktų taikymo ir naudojimo instrukcijų.

Naudojant atitinkamus pagalbinus reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Deparafinuokite pjūvius įprastiniu būdu ir rehidratuokite mažėjančioje alkoholio serijoje.

Histologiniai pjūviai

AFB dažymo rinkinys histologijai gali būti naudojamas histologiniams pjūviams dažyti.

Reagentų paruošimas

Dažymo reagentai iš AFB dažymo rinkinys histologijai - nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje, yra paruošti naudoti, tirpalų skiesti nereikia, dėl to tik pablogėja dažymo rezultatas ir jų stabilumas.

Procedūra

Dažymas dažymo kameroje

Deparafinuokite histologinius stiklelius įprastiniu būdu ir rehidratuokite mažėjančioje alkoholio serijoje.

Stiklelius reikia panardinti į tirpalus ir trumpai juose pajudinti, nes vien tik panardinus dažymo rezultatai būna nepakankami.

Siekiant išvengti nereikalingo tirpalų kryžminio užteršimo, po atskirų dažymo etapų reikia leisti stikleliams gerai nuvarvėti.

Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

Stiklelis su histologiniu audiniu	
Reagentas 1 (karbolfuksino tirpalas)	30 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	45 sek
Reagentas 2 (druskos rūgštis etanolyje)	15 sek
Tekantis vanduo iš čiaupo	15 sek
Reagentas 3 (šviesiai žalias SF tirpalas)	5 min
Nuplaukite vandeniu iš čiaupo	10 sek
Etanolis 96 %	1 min
Etanolis 96 %	1 min
Etanolis 100 %	1 min
Etanolis 100 %	1 min
Ksileno arba Neo-Clear™	5 min
Ksileno arba Neo-Clear™	5 min
Uždėkite Neo-Clear™ sudrėkintus stiklelius su Neo-Mount™ arba ksilenu sudrėkintus stiklelius su, pvz., Entellan™ new ir dengiamuoju stikleliu.	

Po dehidratacijos (didėjančia alkoholio serija) ir nuskaidrinimo ksilenu arba Neo-Clear™, histologinius stiklelius galima dengti bevandenėmis dengimo medžiagomis (pvz., Neo-Mount™, Entellan™ new arba DPX new) ir dengiamuoju stikleliu, o po to padėti laikyti.

Analizuojant dažytus stiklelius, kurių mikroskopinis didinimas >40x, rekomenduojama naudoti imersinę alyvą.

Rezultatas

Rūgštims atsparios bakterijos	raudona
Fonas	žalias

Vertinimas

Teigiamas rezultatas reiškia „rūgštims atsparių bakterijų aptikta“, o neigiamas – „rūgštims atsparių bakterijų neaptikta“. Teigiamas rezultatas nereiškia, kad mikroskopuojant galima nustatyti taksonominę klasifikaciją. Jei aptinkama rūgštims atsparių bakterijų, tolesni tyrimai turi būti atliekami specialiai įrengtose laboratorijose.

Taip pat negalima nustatyti bakterijų gyvybingumo (aktyvios, neaktyvios).

Trikčių šalinimas

Rūgštims atsparios bakterijos nenusidažo

Dažymo procedūros etapas yra spalvos šalinimo etapas, kuriam įtakos gali turėti tepinėlės storis.

Be to, šviežias druskos rūgšties tirpalas etanolyje yra labai reaktyvus, todėl rezultatą reikia vertinti atsargiai. Šiame protokole nurodytas inkubavimo laikas turi būti tiksliai išlaikytas spalvos naikinimo etape, nes priešingu atveju gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai. Be to, reikia pasistengti, kad parafininių pjūvių storis būtų ne mažesnis kaip 4 µm ir ne didesnis kaip 6 µm, idant būtų gautas optimalus dažymo rezultatas.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininės diagnostikos laboratorijos reikalavimus.

Naudojami histoprocesorius ir automatinės dažymo sistemos, laikykitės sistemų ir programinės įrangos tiekėjo pateiktų naudojimo instrukcijų. Prieš pildami pašalinkite imersinės alyvos perteklių.

Analitinio veiksmingumo savybės

„AFB dažymo rinkinys histologijai“ nudažo ir taip vizualizuoja biologines struktūras, kaip aprašyta šios naudojimo instrukcijos skiltyje „Rezultatai“. Gaminį gali naudoti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys, įskaitant, be kita ko, mėginių ir reagentų ruošimą, mėginių tvarkymą, histologinį apdorojimą, sprendimus dėl tinkamų kontrolės priemonių ir kt.

Gaminio analitinis veiksmingumas patvirtinamas tiriant kiekvieną pagaminimą partiją.

Toliau išvardytiems dažymo atvejams gaminio specifiškumo, jautrumo ir pakartojamumo analitinis veiksmingumas buvo patvirtintas 100 %:

	Tyrimų tarpusavio specifiškumas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifiškumas	Tyrimo vidinis jautrumas
Histologinis dažymas				
Rūgštims atsparios bakterijos	3/3	3/3	8/8	8/8
Fonas	3/3	3/3	8/8	8/8

Analitinio veiksmingumo rezultatai

Duomenys apie teisingai nudažytų struktūrų skaičių, palyginti su atliktų tyrimų skaičiumi, pateikiami tyrimo viduje (su ta pačia partija) ir tarp tyrimų (su skirtingomis partijomis).

Klinikinio veiksmingumo savybės

AFB dažymo rinkinio komponentai jau kelis dešimtmečius sėkmingai naudojami klinikinėje praktikoje įvairiems atvejams.

Klinikinis AFB dažymo rinkinys veiksmingumas buvo nustatytas atlikus vidinį tyrimą ir nustačius jo jautrumą ir specifiškumą bei jo NPV ir PPV nustatymą:

	Ziehl-Neelsen dažymas
Jautrumas	13/14
Specifiškumas	15/15

Jautrumas: 13 mėginių iš 14: 92,9 %
Specifiškumas: 15 mėginių iš 15: 100 %
Prognostinė teigiamo testo vertė (PPV): 100 %
Prognostinė neigiamo testo vertė (NPV): 98,3 %

Šio veiksmingumo vertinimo rezultatai patvirtina, kad gaminyje yra tinkamas naudoti pagal paskirtį ir veikia patikimai.

Tačiau diagnostinę dažymo rezultatų interpretaciją turi atlikti kvalifikuoti ir įgalioti specialistai, atsižvelgdami į paciento anamnezę, morfologiją, tinkamą kontrolę ir, jei reikia, papildomus diagnostinius tyrimus. Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai.

Diagnostika

Diagnozę turi nustatyti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai. Turi būti naudojamos tinkamos klasifikacijos. Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai. Papildomi tyrimai turi būti parenkami ir atliekami pagal pripažintus metodus.

Kad būtų išvengta neteisingų rezultatų, kiekvieno naudojimo metu turėtų būti taikomi tinkami kontrolės metodai (pvz., ISOSLIDE™ AFB, Kat. Nr. 1.02560.0001).

Laikymas

Laikykite AFB dažymo rinkinys histologijai - nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje.

Tinkamumo laikas

AFB dažymo rinkinys histologijai - nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos.

Pirmą kartą atidarius buteliuką, laikant nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje, turinį galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos. Buteliukai visada turi būti sandariai uždaryti.

Išėiga

Pakuotės užtenka iki 250 panaudojimų.

Papildomos instrukcijos

Tik profesionaliam naudojimui.

Tam, kad būtų išvengta klaidų, naudoti turi tik kvalifikuotas personalas. Būtina laikytis nacionalinių darbo saugos ir kokybės užtikrinimo gairių. Turi būti naudojami pagal standartus įrengti mikroskopai.

Apsauga nuo infekcijos

Reikia imtis veiksmingų priemonių apsaugoti nuo infekcijos pagal laboratorijos rekomendacijas.

Šalinimo instrukcijos

Pakuotę reikia išmesti laikantis galiojančių šalinimo gairių. Panaudoti tirpalai ir tirpalai, kurių tinkamumo naudoti terminas pasibaigęs, turi būti šalinami kaip specialiosios atliekos pagal vietos gaires. Informacijos apie šalinimą galima rasti pasinaudojus greitąja nuoroda „Hints for Disposal of Microscopy Products“ adresu www.microscopy-products.com. ES taikomas šiuo metu galiojantis REGLAMENTAS (EB) Nr. 1272/2008 dėl cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimo, ženklinimo ir pakavimo, iš dalies keičiantis ir panaikinantis Direktyvas 67/548/EEB bei 1999/45/EB ir iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006.

Pagalbiniai reagentai

Kat. Nr.	1.00579	DPX new nevandeninė dengimo terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.00869	Entellan™ new dangteliui, skirtas mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolinių stiklelių su etaloniniu audiniu nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje	25 tests
Kat. Nr.	1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 100 ml, 500 ml
Kat. Nr.	1.07961	Entellan™ new greito dengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.08298	Ksilenas (izomerinis mišinys) histologijai	4 l
Kat. Nr.	1.09016	Neo-Mount™ bevandenė dengimo terpė mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 500 ml
Kat. Nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksileno pakaitalas) mikroskopijai	5 l

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.32450.0001
Laikykites etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duomenų lape pateiktos informacijos. Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje arba specialiai paprašyti. PERSPĖJIMAS! Sudėtyje yra CMR medžiagų. Laikykites atitinkamų saugos instrukcijų, pateiktų saugos duomenų lape.

Pagrindiniai gaminių komponentai

Kat. Nr. 1.32450.0001
Reagentas 1 arba Kat. Nr. 1.08512
C.I. 42520 arba 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l
1 l = 0,99 kg
* Tirpalui ruošti galima naudoti abu dažus, o dažymo rezultatai pasižymi vienodu jautrumu ir specifiškumu.

Reagentas 2 arba Kat. Nr. 1.00327
HCl 0,75 %
sudėtyje yra C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reagentas 3
C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l
1 l = 1,0003 kg

Bendro pobūdžio pastaba

Jei naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo šalies kompetentingai institucijai.

Literatūra

- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Labai degūs skystis ir garai.
H290: Gali ėsdinti metalus.
H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.
H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.
H341: Įtariama, kad gali sukelti genetinius defektus.
H410: Labai toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P210: Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, karštų paviršių, žiežirbų, atviros liepsnos ir kitų uždegimo šaltinių. Nerūkyti.
P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
P280: Mūvėti apsaugines pirštines/ dėvėti apsauginius drabužius/ naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu.
P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į AP-SINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ/ kreiptis į gydytoją.
P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Reagentas 1:

H226: Degūs skystis ir garai.

H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.

H341: Įtariama, kad gali sukelti genetinius defektus.

H410: Labai toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Reagentas 2:

H225: Labai degūs skystis ir garai.

H290: Gali ėsdinti metalus.

H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-24	Pradinė versija su peržiūrų istorijos žanga



Žiūrėkite naudojimo instrukciją



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Perspėjimas, susipažinkite su pridėtais dokumentais



Naudoti iki
MMMM-MM-DD



Temperatūros apribojimas

Status: 2024-Jul-24

1.32450.0001 **REF**

Mikroskopi

AFB-fargingssett for histologi

for påvisning av syrefaste bakterier i histologisk vev

Kun til profesjonell bruk

IVD Medisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk



Tiltenkt formål

Denne "AFB-fargingssett for histologi – for påvisning av syrefaste bakterier i histologisk vev" brukes til medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og bidrar til histologisk undersøkelse av prøvemateriale fra mennesker. Det er et bruksklart fargingssett som, når det brukes sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnostikk fra vår portefølje, gjør at bakterielle målstrukturer kan evalueres til diagnostiske formål (f.eks. syrefaste bakterier (AFB)) ved hjelp av fiksering, innstøping, farging, kontrastfarging, montering i histologiske prøvematerialer, for eksempel histologiske snitt fra f.eks. lungen.

AFB-fargingssett er basert på Ziehl-Neelsen-fargingsmetoden for påvisning av syrefaste bakterier. Settet er modifisert slik at oppvarming av karbol-fuksinløsningen ikke er nødvendig. Dette forhindrer frigjøring av potensielt farlig fenoldamp. Bruk en av lysegrønn løsning gjør bakgrunnsfargen mindre dominant, slik at de syrefaste bakteriene blir langt mer synlige, hvilket forbedrer kvaliteten av diagnosen.

Ufargede strukturer har relativt lav kontrast og er ekstremt vanskelige å skjelne under lysmikroskopet. Bildene som opprettes ved bruk av fargingsløsningene hjelper den autoriserte og kvalifiserte forskeren med bedre å definere formen og strukturen i slike tilfeller. Ytterligere undersøkelser kan være nødvendig for å oppnå en definitiv diagnose.

Prinsipp

Celleveggen i syrefaste bakterier inneholder en høy andel voks og lipider, og absorberer derfor fargestoffer svært langsomt. Den mest effektive fargingsmetoden er den varme fargingen i henhold til Ziehl-Neelsen. I denne metoden blir karbol-fuksin påført prøven og varmet opp. Denne oppvarmingsprosessen fremskynder absorpsjonen av fuksinfargestoffet, og fremskynder dermed også dannelsen av mykolat-/fuksinkomplekset i celleveggen. AFB-fargingssett for histologi gir en modifisert karbol-fuksinløsning som fjerner behovet for oppvarming (Kinyoun-metode).

Når de syrefaste bakteriene har absorbert fuksinfargestoffet, er det så godt som umulig å avfarge dem igjen, selv når de behandles intensivt med en avfargingsløsning som f.eks. saltsyre i etanol. Syrefaste bakterier betegnes derfor som syre- og alkoholfaste for farging, og farges røde ved visualisering i mikroskop. Alle mikroorganismer som ikke er syrefaste, kontrastfarges derfor med et egnet fargestoff.

Prøvemateriale

Snitt av formalinfiksert vev fra mennesker, parafininnstøpt (4–6 µm tykke parafinsnitt)

Reagenser

Kat.nr. 1.32450.0001

AFB-fargingssett for histologi
for påvisning av syrefaste bakterier i histologisk vev

Komponenter i pakningen:

Fargingssettet inneholder

Reagens 1: Karbol-fuksin løsning	250 ml
Reagens 2: Saltsyre i etanol	2x 250 ml
Reagens 3: Lysegrønn SF-løsning	250 ml

Prøvetilberedning

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell.

Alle prøver skal behandles ved bruk av den nyeste teknologien.

Alle prøver skal merkes tydelig.

Egnede instrumenter skal brukes for å ta og tilberede prøver. Følg instruksjonene fra produsenten for applisering/bruk.

Ved bruk av de tilsvarende hjelpereagensene må den tilsvarende bruksanvisningen følges.

Avparafiniser snitt på normal måte og rehydrer i en serie med avtakende alkoholnivå.

Histologiske snitt

AFB-fargingssett for histologi kan benyttes til å farge histologiske snitt.

Tilberedning av reagens

Reagens i AFB-fargingssett for histologi – for påvisning av syrefaste bakterier i histologisk vev brukt til farging er bruksklare. Fortynning av løsningsene er ikke nødvendig, og vil bare medføre dårligere fargingsresultat og stabilitet.

Prosedyre

Farging i fargingscellen

Avparafiniser histologiske objektglass på normal måte og rehydrer i en serie med avtakende alkoholnivå.

Objektglassene skal senkes ned i og beveges raskt rundt i løsningene. Kun nedsenking gir utilstrekkelige fargingsresultater.

Objektglassene må få dryppe godt av etter de enkelte fargingstrinnene for å unngå unødvendig krysskontaminasjon av løsningene.

De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargingsresultat.

Objektglass med histologisk vev	
Reagens 1 (karbol-fuksin løsning)	30 minutter
Rennende vann fra springen	45 sekunder
Reagens 2 (saltsyre i etanol)	15 sekunder
Rennende vann fra springen	15 sekunder
Reagens 3 (lysegrønn SF-løsning)	5 minutter
Vask med vann fra kranen	10 sekunder
Etanol 96 %	1 minutt
Etanol 96 %	1 minutt
Etanol 100 %	1 minutt
Etanol 100 %	1 minutt
Xylen eller Neo-Clear™	5 minutter
Xylen eller Neo-Clear™	5 minutter
Monter våte Neo-Clear™-objektglass med Neo-Mount™ eller våte xylen-objektglass med f.eks. Entellan™ ny og dekkglass.	

Etter dehydrering (serie med stigende alkoholnivå) og klaring med xylen eller Neo-Clear™, kan histologiske objektglass dekkes med ethvert ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™ ny eller DPX ny) og et dekkglass, og kan deretter lagres.

Bruk av bløtleggingsolje er anbefalt for analysering av fargede objektglass med en mikroskopforstørrelse på > 40x.

Resultat

Syrefaste bakterier	rød
Bakgrunn	grønn

Evaluerings

Et positivt resultat betyr "syrefaste bakterier påvist" og et negativt resultat betyr "syrefaste bakterier ikke påvist". Et positivt resultat betyr ikke at en taksonomisk klassifisering av mikroskopi er mulig. Hvis syrefaste bakterier er påvist, må ytterligere analyser utføres i spesialutstyrte laboratorier. Bakteriernes vitalitet (aktiv, inaktiv) kan heller ikke bestemmes.

Feilsøking

Ingen farging av de syrefaste bakteriene

Det avgjørende stadiet i fargingsprosedyren er avfargingstrinnet, som kan påvirkes av utstrykets tykkelse.

I tillegg er en fersk saltsyreløsning i etanol svært reaktiv, hvilket betyr at resultatet skal evalueres med forsiktighet. Inkubasjonstidene som er angitt i denne protokollen skal overholdes nøyaktig i avfargingstrinnet, siden det ellers kan oppstå falskt negative resultater. I tillegg skal man være påpasselig for å forsikre at parafinsnittenes tykkelse er minst 4 µm og høyst 6 µm for å gi et optimalt fargingsresultat.

Tekniske merknader

Det anvendte mikroskopet skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium.

Ved bruk av histologiske prosessorer og automatiske fargingsystemer må du følge bruksanvisningen fra leverandøren av systemet og programvaren. Fjern overflødig bløtleggingsolje før fylling.

Analytiske ytelsesegenskaper

"AFB-fargingssett for histologi" farger og synliggjør dermed biologiske strukturer, som beskrevet i "Resultat"-kapittel i denne bruksanvisningen. Produktet skal kun brukes av autoriserte og kvalifiserte personer, inkludert bl.a. tilberedning av prøver og reagenser, prøvehåndtering, histologisk prosessering, beslutninger om egnede kontroller osv.

Den analytiske ytelsen av produktet bekreftes ved å teste hvert produktionsparti.

For følgende farginger ble analytisk ytelse bekreftet med tanke på produktets spesifisitet, sensitivitet og repeterbarhet med en et resultat på 100 %:

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innen analyse	Sensitivitet innen analyse
Histologisk farging				
Syrefaste bakterier	3/3	3/3	8/8	8/8
Bakgrunn	3/3	3/3	8/8	8/8

Analytiske ytelsesresultater

Data fra intraanalyser (utført på samme parti) og interanalyser (utført på forskjellige partier) lister opp antallet korrekt fargede strukturer sammenlignet med antallet utførte analyser.

Kliniske ytelsesegenskaper

Komponentene i AFB-fargingssettet har blitt brukt med suksess i flere tiår i det kliniske miljøet innen en rekke bruksområder.

Den kliniske ytelsen til den AFB-fargingssett i særdeleshet ble bestemt ved å fastslå dens sensitivitet og spesifisitet og dens PPV og NPV i en intern studie:

	Ziehl-Neelsen-farging
Sensitivitet	13/14
Spesifisitet	15/15

Sensitivitet: 13 av 14 prøver: 92,9 %

Spesifisitet: 15 av 15 prøver: 100 %

Positiv prediktiv verdi (PPV): 100 %

Negativ prediktiv verdi (NPV): 98,3 %

Resultatene av denne ytelseevalueringen bekrefter at produktet er egnet for den tiltenkte bruken og har pålitelig ytelse.

Den diagnostiske tolkingen av fargingsresultatene skal imidlertid utføres av kvalifisert og autorisert personell med hensyn til pasientens anamnese, morfologi, bruk av tilstrekkelige kontroller og ytterligere diagnostiske tester, ved behov. Denne metoden kan brukes som et supplement i diagnostikk hos mennesker.

Diagnostikk

Diagnoser skal kun stilles av autorisert og kvalifisert personell.

Gyldig terminologi må benyttes.

Denne metoden kan brukes som et supplement i diagnostikk hos mennesker.

Ytterligere tester må velges og implementeres i samsvar med anerkjente metoder.

Egnede kontroller (f.eks. ISOSLIDE™ AFB, kat.nr. 1.02560.0001) skal utføres med hver applisering for å unngå et feilaktig resultat.

Oppbevaring

Oppbevar AFB-fargingssett for histologi – for påvisning av syrefaste bakterier i histologisk vev ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhet

AFB-fargingssett for histologi – for påvisning av syrefaste bakterier i histologisk vev kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen.

Etter anbrudd av flasken kan innholdet brukes frem til den angitte utløpsdatoen når det oppbevares ved +15 °C til +25 °C.

Flaskene må holdes godt lukket til enhver tid.

Kapasitet

Pakningen er tilstrekkelig til opptil 250 appliseringer.

Ytterligere instruksjoner

Kun til profesjonell bruk.

For å unngå feil må applisering kun utføres av kvalifisert personell.

Nasjonale retningslinjer for arbeidssikkerhet og kvalitetssikring må følges.

Mikroskopene som brukes må være utstyrt i samsvar med standarden.

Beskyttelse mot infeksjon

Effektive tiltak må tas for å beskytte mot infeksjon i samsvar med laboratoriets retningslinjer.

Instruksjoner for kassering

Pakningen skal kasseres i samsvar med gjeldende retningslinjer for kassering.

Brukte løsninger og løsninger som har gått ut på dato må kasseres som spesialavfall i samsvar med lokale retningslinjer. Informasjon om kassering kan skaffes under hurtigkoblingen "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Tips for kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. I EU gjelder den nåværende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassifisering, merking og emballering av stoffer og blandinger, endring og avskaffing av direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og endring av forordning (EF) nr. 1907/2006.

Hjelpereagenser

Kat.nr.	1.00579	DPX ny vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.00869	Entellan™ ny for cover slipper for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrollobjektglass med referansevev til påvisning av syre-raske bakterier i histologisk vev	25 tests
Kat.nr.	1.04699	Immerjonsolje for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Kat.nr.	1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr.	1.08298	Xylene (isomer blanding) for histologi	4 l
Kat.nr.	1.09016	Neo-Mount™ vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 500 ml
Kat.nr.	1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitutt) for mikroskopi	5 l

Fareklassifikasjon

Kat.nr. 1.32450.0001

Overhold fareklassifikasjonen som er trykt på etiketten og informasjonen i sikkerhetsdatabladet.

Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på anmodning.

FORSIKTIG! Inneholder CMR-stoffer. Følg de relevante sikkerhetsinstruksjonene som er gitt i sikkerhetsdatabladet.

Hovedkomponenter i produktene

Kat.nr. 1.32450.0001

Reagens 1 eller Kat.nr. 1.08512

C.I. 42520 eller 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

* Begge fargestoffer kan brukes for å tilberede løsningen, med identisk sensitivitet og spesifisitet som resultat av fargingen.

Reagens 2 eller Kat.nr. 1.00327

HCl 0,75 %
contains C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reagens 3

C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l

1 l = 1,0003 kg

Generell merknad

Hvis en alvorlig hendelse oppstår under bruk av denne enheten eller som følge av denne bruken, må det rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant, samt til dine nasjonale myndigheter.

Litteratur

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H290: Kan være etsende for metaller.

H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

H341: Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader.

H410: Meget giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

P210: Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.

P273: Unngå utslipp til miljøet.

P280: Bruk vernehansker/ verneklær/ øyebeskyttelse/ ansiktsbeskyttelse.

P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.

P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/ en lege.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

Reagens 1:

H226: Brannfarlig væske og damp.

H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

H341: Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader.

H410: Meget giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

Reagens 2:

H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H290: Kan være etsende for metaller.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-24	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



Se bruksanvisningen



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen DD.MM.ÅÅÅÅ



Temperaturbegrensning

Status: 2024-Jul-24

Life Science-virksomheten til Merck drives under navnet MilliporeSigma i USA og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland og/eller deres samarbeidspartnere. Med enerett. Merck og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland. Alle andre varemerker tilhører deres respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopia

Súpravu na farbenie AFB pre histológiu

na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkanive

Iba na profesionálne použitie

Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*

Určený účel

Tento „Súpravu na farbenie AFB pre histológiu“ - na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkanive“ je určený na humánno-medicínsku bunkovú diagnostiku a slúži na histologické vyšetrenie vzoriek ľudského pôvodu. Ide o súpravu na farbenie pripravenú na použitie, ktorá pri použití spolu s ďalšími *in vitro* diagnostickými produktmi z nášho portfólia, umožňuje vyhodnocovať bakteriálne cieľové štruktúry pre diagnostické účely (napr. acidorezistentné baktérie (AFB), fixáciou, vloženie, farbením, kontrastným farbením, uchytением) v histologických vzorkách, napríklad v histologických rezoch pľúc.

Súpravu na farbenie AFB vychádza z Ziehl-Neelsenovej farbiacej metódy na detekciu acidorezistentných baktérií. Súprava je upravená takým spôsobom, že zahrievanie karbol-fuchsinového roztoku odpadá. Dôsledkom toho je, že sa zamedzí uvoľňovaniu potenciálne nebezpečných fenolických výparov. Vďaka použitiu svetlozeleného roztoku sa farba pozadia stáva menej dominantnou, čím sú acidorezistentné baktérie podstatne viditeľnejšie a kvalita diagnózy lepšia.

Nesfarbené štruktúry sú relatívne málo kontrastné a pod svetelným mikroskopom ich možno veľmi ťažko rozlíšiť. Snímky vytvorené použitím farbiacich roztokov pomáhajú autorizovanému a kvalifikovanému odborníkovi v týchto prípadoch lepšie definovať tvar a štruktúru. Na určenie definitívnej diagnózy môže byť potrebné vykonať ďalšie vyšetrenia.

Princíp

V bunkovej stene acidorezistentných baktérií je vysoký podiel vosku a lipidov, preto len veľmi pomaly absorbujú farbivá. Najúčinnnejšou metódou farbenia je Ziehl-Neelsenova metóda farbenia za tepla. Pri použití tejto metódy sa na vzorku naniesie karbol-fuchsinový roztok a zahreje. Vďaka tomuto procesu zahrievania sa urýchľuje absorpcia fuchsinového farbiva, a tým aj proces tvorby mykolát-fuchsinového komplexu v bunkovej stene. Súčasťou Súpravy na farbenie AFB pre histológiu je modifikovaný karbol-fuchsinový roztok, ktorý sa nezahrieva (Kinyounova metóda).

Po tom, čo acidorezistentné baktérie absorbujú fuchsinové farbivo, je takmer nemožné ich znovu odfarbiť, a to ani po intenzívnom ošetrovaní použitím dekolizačného roztoku, ako je napr. kyselina chlorovodíková v etanole. Z tohto dôvodu sa acidorezistentné baktérie označujú ako acidorezistentné a alkoholorezistentné na farbenie a pri mikroskopickom zobrazovaní sa sfarbia na červenú. Zodpovedajúcim spôsobom sa všetky mikroorganizmy, ktoré nie sú kyselinovzdorné, kontrastne zafarbia vhodným farbivom.

Materiál vzorky

Rezy z formalínom fixovaného tkaniva ľudského pôvodu, zaliaté do parafínu (parafínové rezy s hrúbkou 4 - 6 µm)

Reagencie

Kat. č. 1.32450.0001

Súpravu na farbenie AFB pre histológiu na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkanive

Komponenty balenia:

Obsah súpravy na farbenie

Reagencia 1: Carbol fuchsin riešenie	250 ml
Reagencia 2: Kyselina chlorovodíková v etanole	2x 250 ml
Reagencia 3: Svetlozelený roztok SF	250 ml

Príprava vzorky

Odbor vzoriek musí robiť kvalifikovaný personál.

Všetky vzorky sa musia spracovávať použitím najmodernejšej technológie.

Všetky vzorky sa musia jasne označiť.

Pri odbere a príprave vzoriek sa musia používať vhodné prístroje. Pri aplikácii/používaní dodržujte pokyny výrobcu.

Pri používaní príslušných pomocných reagentov je potrebné dodržiavať príslušné návody na používanie.

Rezy deparafinujte bežným spôsobom a rehydratujte v zostupnej alkoholovej sérii.

Histologické rezy

Súpravu na farbenie AFB pre histológiu je možné použiť na farbenie histologických rezov.

Príprava reagentie

Reagencie farbiacej Súpravy na farbenie AFB pre histológiu - na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkanive používané na farbenie sú pripravené na použitie, nie je potrebné riedenie roztokov, ktoré len zhoršuje výsledok farbenia a stabilitu.

Postup

Farbenie vo farbiacej kvete

Histologické podložné sklíčka deparafinujte bežným spôsobom a rehydratujte v zostupnej alkoholovej sérii.

Podložné sklíčka sa musia ponoriť a nakrátko sa musí s nimi pohybovať v roztokoch, samotné ponorenie neposkytuje dostatočné výsledky sfarbenia.

Po ukončení jednotlivých krokov farbenia by sa mali podložné sklíčka nechať dobre odkvapkať, aby nedošlo k prípadnej zbytočnej krížovej kontaminácii roztokov.

Uvedené časy je potrebné dodržať, aby bol zaručený optimálny výsledok sfarbenia.

Sklíčko s histologickým tkanivom	
Reagencia 1 (carbol fuchsin riešenie)	30 min
Tečúca voda z vodovodu	45 sek
Reagencia 2 (kyselina chlorovodíková v etanole)	15 sek
Tečúca voda z vodovodu	15 sek
Reagencia 3 (svetlozelený roztok SF)	5 min
Umyte vodou z vodovodu	10 sek
Etanol 96 %	1 min
Etanol 96 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Xylene alebo Neo-Clear™	5 min
Xylene alebo Neo-Clear™	5 min
Vlhčená sklíčka Neo-Clear™ fixujte pomocou Neo-Mount™ alebo xylénové vlhčené sklíčka napr. pomocou Entellan™ new a krycím sklíčkom.	

Po dehydratácii (vzostupná alkoholová séria) a vyčistení pomocou xylénu alebo Neo-Clear™ je možné cytologické vzorky fixovať pomocou bezvodých fixačných prostriedkov (napr. Neo-Mount™, Entellan™ new alebo DPX new) a krycieho sklíčka a potom ich uskladniť.

Pri analýze sfarbených podložných sklíčok s mikroskopickým zväčšením > 40x sa odporúča používať imerzný olej.

Výsledok

Acidorezistentné baktérie	červené
Pozadie	zelená

Vyhodnotenie

Pozitívny výsledok znamená „detekované acidorezistentné baktérie“ a negatívny výsledok „nedetekované acidorezistentné baktérie“. Pozitívny výsledok neznamená, že je možná taxonomická klasifikácia pomocou mikroskopie. Ak sú detekované acidorezistentné baktérie, je potrebné vykonať ďalšie analýzy v špeciálne vybavených laboratóriách. Víralitu (aktívnu, neaktívnu) baktérií takisto nie je možné určiť.

Odstraňovanie problémov

Žiadne sfarbenie acidorezistentné baktérií

Kritickou fázou postupu farbenia je krok dekolizácie, ktorý môže byť ovplyvnený hrúbkou steru.

Čerstvý roztok kyseliny chlorovodíkovej v etanole je navyše vysoko reaktívny, čo znamená, že by sa mal výsledok hodnotiť opatrne. Inkubačné doby uvedené v tomto protokole je potrebné v kroku odfarbovania presne dodržiavať, pretože v opačnom prípade môže dôjsť k falošne negatívnym výsledkom. Okrem toho je potrebné dbať na to, aby bola hrúbka parafínových rezov najmenej 4 µm a najviac 6 µm, aby bol výsledok farbenia optimálny.

Technické poznámky

Použitý mikroskop musí spĺňať požiadavky lekárskeho diagnostického laboratória.

Pri používaní histoprocessorov a automatických farbiacich systémov postupujte podľa návodu na používanie od dodávateľa systému a softvéru.

Pred plnením odstráňte prebytočný imerzný olej.

Analytické výkonnostné charakteristiky

„Súpravu na farbenie AFB pre histológiu“ vyfarbí a tým vizualizuje biologické štruktúry, ako je opísané v kapitole „Výsledok“ tohto návodu na používanie. Používanie tohto produktu môžu vykonávať len autorizované a kvalifikované osoby, čo medzi iným zahŕňa prípravu vzoriek a reagencií, manipuláciu so vzorkami, spracovanie histologických procesov, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a podobne.

Analytická výkonnosť produktu sa potvrdzuje testovaním každej výrobnéj šarže.

U nasledujúcich sfarbení sa potvrdila analytická výkonnosť z hľadiska špecifity, citlivosti a opakovateľnosti produktu s percentuálnou hodnotou 100 %:

	Špecifita medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecifita v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
Histologické farbenie				
Acidorezistentné baktérie	3/3	3/3	8/8	8/8
Pozadie	3/3	3/3	8/8	8/8

Výsledky analytickej výkonnosti

Údaje v rámci jedného testu (vykonané na tej istej šarži) a medzi testami (vykonané na rôznych šaržiach) udávajú počet správne sfarbených štruktúr v pomere k počtu vykonaných testov.

Klinické výkonnostné charakteristiky

Komponenty súpravy na farbenie AFB sa už celé desaťročia s úspechom používajú v klinickom prostredí pri veľkom počte aplikácií.

Klinická účinnosť Súpravu na farbenie AFB sa určila najmä stanovením jeho citlivosti a špecifity a jeho NPV a PPV štúdie v rámci vlastného pracoviska:

	Farbenie Ziehl-Neelsen
Citlivosť	13/14
Špecifita	15/15

Citlivosť: 13 vzoriek z 14: 92,9 %
Špecifita: 15 vzoriek z 15: 100 %
Pozitívna prediktívna hodnota (PPV): 100 %
Negatívna prediktívna hodnota (NPV): 98,3 %

Výsledky tohto hodnotenia výkonnosti potvrdzujú, že produkt je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostickú interpretáciu výsledkov sfarbenia však majú vykonať kvalifikovaní a autorizovaní odborníci s ohľadom na anamnézu pacienta, morfológiu, použitie adekvátnych kontrol a prípadné ďalšie diagnostické testy. Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky.

Diagnostika

Diagnostiku môže vykonávať len autorizovaný a kvalifikovaný personál. Musí sa používať platné názvoslovie. Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky. Ďalšie testy je potrebné vybrať a vykonať podľa uznaných metód. Pri každej aplikácii je potrebné vykonať vhodné kontroly (napr. ISOSLIDE™ AFB, kat. č. 1.02560.0001), aby sa zamedzilo nesprávnemu výsledku.

Skladovanie

Súpravu na farbenie AFB pre histológiu - na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkanive skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C.

Doba použiteľnosti

Súpravu na farbenie AFB pre histológiu - na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkanive je možné používať až do uvedeného dátumu expirácie.

Po prvom otvorení fľaše je možné obsah používať až do uvedeného dátumu expirácie za predpokladu, že sa skladuje pri teplote +15 °C až +25 °C. Fľaše musia byť vždy tesne uzavreté.

Kapacita

Balenie vystačí až na 250 aplikácií.

Ďalšie pokyny

Iba na profesionálne použitie.

Aby sa zamedzilo chybám, aplikáciu musí vykonávať iba kvalifikovaný personál. Je potrebné dodržiavať národné smernice týkajúce sa bezpečnosti práce a zabezpečenia kvality. Musia sa používať mikroskopy so zodpovedajúcim vybavením podľa normy.

Ochrana pred infekciou

Na ochranu pred infekciou je potrebné prijať účinné opatrenia v súlade s laboratórnymi smernicami.

Pokyny týkajúce sa likvidácie

Obal musí byť zlikvidovaný v súlade s platnými pokynmi na likvidáciu. Použité roztoky a roztoky, ktorým uplynula doba použiteľnosti, sa musia likvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informácie o likvidácii možno získať pod odkazom „Hints for Disposal of Microscopy Products“ na webovej stránke www.microscopy-products.com. V rámci EU sa aktuálne uplatňuje nariadenie (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, o zmene, doplnení a zrušení smerníc 67/548/EHS a 1999/45/ES a o zmene a doplnení nariadenia (ES) č. 1907/2006.

Pomocné reagencie

Kat. č.	1.00579	DPX new nevodné fixačné médium pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.00869	Entellan™ new, kvapalné krycie sklíčko pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolné sklíčka s referenčným tkanivom na detekciu acidorezistentných baktérií v histologickom tkaniv	25 tests
Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.08298	Xylene (zmes izomérov) pre histológiu	4 l
Kat. č.	1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médium pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.09843	Neo-Clear™ (náhrada xylénu) pre mikroskopiu	5 l

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.32450.0001
Dodržiavajte klasifikáciu nebezpečenstva vytlačenú na etikete a informácie uvedené v bezpečnostných listoch. Bezpečnostný list je k dispozícii na webových stránkach a na vyžiadanie. POZOR! Obsahuje CMR látky. Dodržiavajte príslušné bezpečnostné pokyny uvedené v bezpečnostných listoch.

Hlavné komponenty produktov

Kat. č.	1.32450.0001
Reagencia 1 alebo Kat. č.	1.08512
C.I. 42520 alebo 42510	6 g/l*
C ₆ H ₅ OH	40 g/l
1 l =	0,99 kg
* Na prípravu roztoku sa môžu použiť obe farbivá, pričom výsledok farbenia má rovnakú citlivosť a špecifitu.	

Reagencia 2 alebo Kat. č.	1.00327
HCl	0,75 %
obsahuje C ₂ H ₅ OH	
1 l =	0,90 kg

Reagencia 3	
C.I. 42095	5 g/l
CH ₃ COOH	2,1 g/l
1 l =	1,0003 kg

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytnú závažný incident, nahláste ho výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu vnútroštátnemu orgánu.

Literatúra

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.
H290: Môže byť korozívna pre kovy.
H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.
H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H341: Podozrenie, že spôsobuje genetické poškodenie.
H410: Veľmi toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P210: Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčiťe.

P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P280: Noste ochranné rukavice/ ochranný odev/ ochranné okuliare/ ochranu tváre.

P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou.

P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMACNÉ CENTRUM/ lekára.

P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Reagencia 1:

H226: Horľavá kvapalina a pary.

H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.

H341: Podozrenie, že spôsobuje genetické poškodenie.

H410: Veľmi toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Reagencia 2:

H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.

H290: Môže byť korozívna pre kovy.

H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-24	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod
na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód šarže



Pozor, pozrite si sprievod-
nú dokumentáciu



Použitie do
RRRR-MM-DD



Teplotné ob-
medzenia

Status: 2024-Jul-24

Life Science spoločnosť Merck pôsobí v USA a Kanade pod názvom MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko a/alebo jej pobočky. Všetky práva vyhradené. Merck a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov. Detailné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii z verejne dostupných zdrojov.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.32450.0001 REF

Mikroskopi

AFB histoloji boyama kiti

histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD In vitro Tanısal Tıbbi Cihaz



Kullanım amacı

Bu "AFB histoloji boyama kiti - histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için", insanlarda tıbbi hücre tanılamasında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin histolojik incelemesi amacıyla hizmet eder. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanısal ürünlerle birlikte kullanıldığında, akciğerin histolojik kesitleri gibi histolojik numune materyallerinde bakteriyel hedef yapıları tanısal amaçlar için değerlendirilebilir hale getiren (örn. fiksasyon, gömme, boyama, karşıt boyama, kapatma yoluyla aside dirençli bakteriler (AFB)), kullanıma hazır bir boyama kitidir.

AFB boyama kiti, aside dirençli bakterilerin saptanması için Ziehl-Neelsen boyama yöntemini temel alır. Set, karbol fuksin solüsyonunun ısıtılmasını gereksiz kılacak bir şekilde modifiye edilmiştir. Böylece potansiyel olarak tehlikeli fenolik buharların salınımı önlenmiştir. Açık yeşil solüsyonun kullanılması, arka plan rengini daha az baskın hale getirerek aside dirençli bakterileri büyük ölçüde daha görünür hale getirir ve böylece tanı kalitesini artırır.

Boyanmamış yapıların kontrastı görece düşüktür ve ışık mikroskobu altında ayırt edilmeleri son derece zordur. Boyama solüsyonlarının kullanılmasıyla oluşturulan görüntüler, yetkili ve kalifiye araştırmacının bu gibi durumlarda form ve yapıyı daha iyi tanımlamasına yardımcı olur. Kesin bir tanıya ulaşmak için daha ileri tetkikler gerekebilir.

Prensip

Aside dirençli bakterilerin hücre duvarında yüksek oranda mum ve lipid bulunur ve bu nedenle boyaları çok yavaş emer. Ziehl-Neelsen'e göre en etkili boyama yöntemi sıcak boyamadır. Bu yöntemde, numuneye karbol fuksin solüsyonu uygulanır ve ısıtılır. Bu ısıtma prosesi, fuksin boyasının emilme hızını ve dolayısıyla hücre duvarında mikolat-fuksin kompleksinin oluşuma hızını da artırır. AFB histoloji boyama kiti, ısıtma işlemini ortadan kaldırarak modifiye edilmiş bir karbol fuksin solüsyonu sunar (Kinyoun yöntemi). Aside dirençli bakteriler fuksin boyasını bir kez emdikten sonra, etanol içinde hidroklorik asit gibi bir renk giderici solüsyonla yoğun bir şekilde işlem görseler bile, tekrar renklendirilmeleri neredeyse imkansızdır. Aside dirençli bakteriler, boyama için asit ve alkol dirençli olarak adlandırılır ve mikroskobik görselleştirmede kırmızıya boyanır. Bu nedenle aside dirençli olmayan tüm mikroorganizmalar uygun bir boya ile karşıt boyanır.

Numune materyali

İnsan kaynaklı, formalin fikse parafine gömülü doku kesitleri (4-6 µm kalınlığında parafin kesitleri)

Reaktifler

Kat. No. 1.32450.0001

AFB histoloji boyama kiti

histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için

Paket içeriği:

Boyama kiti şunları içerir

Reaktif 1:	Karbol fuksin çözeltisi	250 ml
Reaktif 2:	Hidroklorik asit etanolde	2x 250 ml
Reaktif 3:	Açık yeşil SF solüsyonu	250 ml

Numunelerin hazırlanması

Numuneler kalifiye personel tarafından alınmalıdır.

Tüm numuneler en son teknoloji kullanılarak işlem görmelidir.

Tüm numuneler açıkça etiketlenmelidir.

Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun aletler kullanılmalıdır.

Üreticinin uygulama/kullanım talimatlarını izleyin.

İlgili yardımcı reaktifleri kullanırken ilgili kullanım talimatlarına uyulmalıdır.

Kesitlerini geleneksel şekilde deparafinize edin ve azalan bir alkol serisinde rehidrate edin.

Histolojik kesitler

AFB histoloji boyama kiti, histolojik kesitleri boyamak için kullanılır.

Reaktifin hazırlanması

AFB histoloji boyama kiti - histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için boyama için kullanılan reaktifleri kullanıma hazırdır, solüsyonların seyreltilmesi gereksizdir ve sadece boyama sonucunun ve stabilitenin bozulmasına neden olur.

Prosedür

Boyama hücrelerinde boyama

Histolojik lamaları geleneksel şekilde deparafinize edin ve azalan bir alkol serisinde rehidrate edin.

Lamlar solüsyonlara daldırılmalı ve içinde kısa süre hareket ettirilmelidir; tek başına basit bir daldırma işlemi tek başına yetersiz boyama sonuçları verecektir.

Solüsyonlarda gereksiz çapraz kontaminasyonlardan kaçınmak için bir önlem olarak, ayrı boyama adımlarından sonra lamaların iyice damlamasına izin verilmelidir.

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

Histolojik dokulu lam	
Reaktif 1 (karbol fuksin çözeltisi)	30 dk
Akan musluk suyu	45 sn
Reaktif 2 (hidroklorik asit etanolde)	15 sn
Akan musluk suyu	15 sn
Reaktif 3 (açık yeşil SF solüsyonu)	5 dk
Musluk suyuyla yıkayın	10 sn
Etanol %96	1 dk
Etanol %96	1 dk
Etanol %100	1 dk
Etanol %100	1 dk
Ksilen veya Neo-Clear™	5 dk
Ksilen veya Neo-Clear™	5 dk
Neo-Clear™ ıslak lamaları Neo-Mount™ ile veya ksilen ıslak lamaları örn. Entellan™ new ve lamel ile kapatın.	

Dehidratasyondan (artan alkol serisi) ve ksilen veya Neo-Clear™ ile beraklaştırmadan sonra, sitolojik numuneler susuz montaj ajanlarıyla (örn. Neo-Mount™, Entellan™ new veya DPX yeni) ve lamel ile kapatılabilir ve ardından saklanabilir.

Mikroskobik büyütmeye > 40x olan boyalı lamaların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Sonuç

Aside dirençli bakteriler	kırmızı
Arka plan	yeşil

Değerlendirme

Pozitif sonuç "aside dirençli bakteri saptandı", negatif sonuç ise "aside dirençli bakteri saptanmadı" anlamına gelir. Olumlu bir sonuç, mikroskopi ile taksonomik bir sınıflandırmanın mümkün olduğu anlamına gelmez. Aside dirençli bakteriler saptanırsa özel donanımlı laboratuvarlarda daha ileri analizler yapılmalıdır. Bakterilerin canlılığı da belirlenemez (aktif, inaktif).

Sorun giderme

Aside dirençli bakterilerin boyanması yok

Boyama prosedürünün kritik aşaması, yaymanın kalınlığından etkilenebilecek olan renk giderme aşamasıdır.

Ek olarak etanol içindeki taze bir hidroklorik asit solüsyonu yüksek düzeyde reaktif olduğundan sonucun dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Renk giderme adımı sırasında bu protokole belirtilen inkübasyon sürelerine titizlikle uyulmalıdır, aksi takdirde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Ayrıca, en iyi boyama sonucunu elde etmek için parafin kesitlerinin kalınlığının en az 4 µm, en fazla 6 µm olmasına dikkat edilmelidir.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop, bir tıbbi tanı laboratuvarının gereksinimlerini karşılamalıdır.

Histoilemciler ve otomatik boyama sistemleri kullanırken, lütfen sistem ve yazılım tedarikçisi tarafından verilen kullanım talimatlarına uyun. Doldurmadan önce fazla daldırma yağını çıkarın.

Analitik performans karakteristikleri

"AFB histoloji boyama kiti", bu Kullanma Kılavuzunun "Sonuç" bölümünde açıklandığı gibi, biyolojik yapıları boyar ve görünür hale getirir. Ürünün kullanımı sadece yetkili ve kalifiye kişiler tarafından gerçekleştirilmelidir ve buna numune ve reaktif hazırlama, numune elleçleme, histolojik proses, uygun kontrollere ilişkin kararlar ve daha fazlası dahildir.

Ürünün analitik performansı, her bir üretim partisinin test edilmesiyle onaylanmıştır.

Şu boyalar için ürünün özgüllüğü, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği açısından analitik performans %100 oranında doğrulandı:

	Testler Arası Özgüllük	Testler Arası Duyarlılık	Test İçi Özgüllük	Test İçi Duyarlılık
Histolojik boyama				
Aside dirençli bakteriler	3/3	3/3	8/8	8/8
Arka plan	3/3	3/3	8/8	8/8

Analitik performans sonuçları

Test içi (aynı parti üzerinde gerçekleştirilen) ve testler arası (farklı partiler üzerinde gerçekleştirilen) veriler, yapılan test sayısına göre doğru şekilde boyanmış yapıların sayısını listeler.

Klinik performans karakteristikleri

AFB histoloji boyama kiti bileşenleri, klinik ortamda pek çok uygulamada onlarca yıldır başarıyla kullanılmaktadır.

Özellikle AFB boyama kiti klinik performansı, kurum içi bir çalışmada solüsyonun duyarlılığı ve özgüllüğü ve NPV ve PPV'si ölçülerek belirlendi:

	Ziehl-Neelsen boyama
Duyarlılık	13/14
Özgüllük	15/15

Duyarlılık: 14 numuneden 13'ü: %92,9

Özgüllük: 15 numuneden 15'i: %100

Pozitif tahmin değeri (PPV): %100

Negatif tahmin değeri (NPV): %98,3

Bu Performans Değerlendirmesinin sonuçları, ürünün amaçlanan kullanıma uygun olduğunu ve güvenilir şekilde çalıştığını doğrular.

Ancak boyama sonuçlarının tanısal yorumu, hasta anamnezi, morfolojisi, uygun kontrollerin kullanımı ve uygunsa ek tanı testleri dikkate alınarak kalifiye ve yetkili profesyoneller tarafından yapılmalıdır. Bu yöntem, insan teşhislerinde tamamlayıcı olarak kullanılabilir.

Tanılama

Tanılama sadece yetkili ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

Geçerli isimlendirmeler kullanılmalıdır.

Bu yöntem, insan teşhislerinde tamamlayıcı olarak kullanılabilir.

Daha ileri testler, tanınmış yöntemlere göre seçilmeli ve uygulanmalıdır.

Hatalı bir sonuçtan kaçınmak için her uygulamayla birlikte uygun kontrollere (örn. ISOSLIDE™ AFB, Kat. No. 1.02560.0001) gerçekleştirilmelidir.

Saklama

AFB histoloji boyama kiti - histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için +15 °C ila +25 °C'de saklayın.

Raf ömrü

AFB histoloji boyama kiti - histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişenin ilk açılışından sonra, içeriği +15 °C ile +25 °C arasında saklandığında belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişeler her zaman sıkıca kapalı durumda tutulmalıdır.

Kapasite

Paket 250 uygulamaya kadar yeterlidir.

Diğer talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanım içindir.

Hatalardan kaçınmak için uygulama sadece kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergelerle uyulmalıdır.

Standarta uygun şekilde donatılmış mikroskoplar kullanılmalıdır.

Enfeksiyona karşı korunma

Laboratuvar yönergeleri doğrultusunda, enfeksiyona karşı korunmak için etkili önlemler alınmalıdır.

İmha talimatları

Paket, yürürlükteki imha yönergelerine uygun şekilde imha edilmelidir. Kullanılmış ve raf ömrü dolmuş olan solüsyonlar yerel yönergelere uygun şekilde özel atık olarak atılmalıdır. İmha ile ilgili bilgiler, www.microscopy-products.com adresinde "Mikroskopi Ürünlerinin İmhasına İlişkin İpuçları" Hızlı Bağlantısı altında verilmiştir. AB içinde şu anda, mad-delerin ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve paketlenmesine ilişkin olarak, 67/548/EEC ve 1999/45/EC Yönergelerinin değiştirilmesi ve yürürlükten kaldırılması ve 1907/2006 Sayılı Yönetmeliğin (EC) değiştirilmesi ile, 1272/2008 Sayılı (AT) YÖNETMELİK geçerlidir.

Yardımcı reaktifler

Kat. No. 1.00579	DPX yeni susuz kapama ortamı mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.00869	Entellan™ new lamel için mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrol Lamaları histolojik dokuda aside dirençli bakterilerin saptanması için referans dokulu	25 tests
Kat. No. 1.04699	İmmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 100 ml, 500 ml
Kat. No. 1.07961	Entellan™ new hızlı destek besiyeri mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. No. 1.08298	Ksilen (izometrik karışım) histoloji için	4 l
Kat. No. 1.09016	Neo-Mount™ susuz destek besiyeri mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 500 ml
Kat. No. 1.09843	Neo-Clear™ (ksilen yedeği) mikroskopi için	5 l

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.32450.0001

Lütfen etikette yazılı olan tehlike sınıflandırmasına ve güvenlik bilgi formunda verilen bilgilere uyun.

Güvenlik bilgi formu web sitesinde ve talep üzerine mevcuttur.

DİKKAT! CMR maddeleri içerir. Lütfen güvenlik bilgi formunda belirtilen ilgili güvenlik talimatlarına uyun.

Ürünlerin ana bileşenleri

Kat. No. 1.32450.0001

Reaktif 1 veya Kat. No. 1.08512

C.I. 42520 veya 42510 6 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

* Her iki boya da bir solüsyon hazırlamak için kullanılabilir; boyama sonuçları aynı boyama duyarlılığına ve özgüllüğüne sahip olacaktır.

Reaktif 2 veya Kat. No. 1.00327

HCl 0,75 %

C₂H₅OH içerir

1 l = 0,90 kg

Reaktif 3

C.I. 42095 5 g/l
CH₃COOH 2,1 g/l

1 l = 1,0003 kg

Genel açıklama

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal makama bildirin.

Literatür

1. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
2. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H290: Metalleri aşındırabilir.

H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar.

H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

341: Genetik hasara yol açma şüphesi var.

H410: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, çok toksik etk.

P210: Isıdan, sıcakı yüzeylerden, kıvılcımdan, açık alevden ve diğer tutuşma kaynaklarından uzak tutun. - Sigara içilmez.

P273: Çevreye verilmesinden kaçının.

P280: Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruyucu/yüz koruyucu.

P303 + P361 + P353: CİLT [veya saç]ÜZERİNDE İSE: Bütün kirlenmiş giysileri hemen çıkarın. Cildi su ile durulayın.

P304 + P340 + P310: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/ hekimi arayın.

P305 + P351 + P338: GÖZLERDE İSE: birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin

Reaktif 1:

H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar.

H341: Genetik hasara yol açma şüphesi var.

H410: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, çok toksik etk.

Reaktif 2:

H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H290: Metalleri aşındırabilir.

H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-24	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.



Kullanım talimatla-
rına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Parti kodu



Dikkat, beraberindeki
belgelere bakın



Son kullanma ta-
rihi: YYYY-AA-GG



Sıcaklık
sınırlaması

Status: 2024-Jul-24

Merck'in Life Science bölümü, ABD ve Kanada'da MilliporeSigma olarak faaliyet göstermektedir.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Almanya ve/veya bağlı şirketleri. Tüm Hakları Saklıdır. Merck ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya'nın ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerine aittir. Ticari markalarla ilgili ayrıntılı bilgiler kamuoyuna açık kaynaklarda mevcuttur.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK