

1.00497.0001 **REF****Microscopy****AFB-Color modified**

Staining kit for the detection of acid-fast bacteria (AFB) by hot staining method

For professional use only

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device

**Intended purpose**

This "AFB-Color modified - Staining kit for the detection of acid-fast bacteria (AFB) by hot staining method" is used for human-medical cell diagnosis and serves the purpose of the bacteriological 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 (acid-fast bacteria (AFB)) by fixing, staining, counterstaining, mounting in bacteriological specimen materials, for example smears of enriched bacterial cultures.

AFB-Color modified staining set uses the classical Ziehl-Neelsen hot staining procedure and can be used for staining on the staining rack.

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 tests must be carried out according to recognized, valid methods 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, carbol-fuchsin 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. 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.

This AFB-Color modified staining kit uses methylene blue as counterstain. Pretreatment of the specimens with Sputofluor™ dissolves the bacteria from the surrounding viscid sputum and cell material.

Sample material

Smears of bacteriological material that have been air-dried, heat-fixed, and pretreated with Sputofluor™ like sputum, smears from fine needle aspiration biopsies (FNAB), rinses, imprints, effusions, pus, exudates, liquid and solid cultures

Reagents

Cat. No. 1.00497.0001

AFB-Color modified

Staining kit for the detection of acid-fast bacteria (AFB) by hot staining method

Package components:

The staining kit contains

Reagent 1: Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin solution 500 ml
Reagent 2: Hydrochloric acid in ethanol 2 x 500 ml
Reagent 3: Löffler's methylene blue solution 500 ml

Also required:

Cat. No. 1.08000 Sputofluor™ 1 l
for microscopy

Single reagents

Instead of the staining kit 1.00497.0001, the following combination of reagents can be used:

Cat. No. 1.09215 Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin solution 100 ml, 500 ml, 2.5 l
for microscopy
Cat. No. 1.01287 Löffler's methylene blue solution 100 ml, 500 ml, 2.5 l
for microscopy
Cat. No. 1.00327 Hydrochloric acid in ethanol 1 l, 5 l
for microscopy

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.

Sputum

The acid-fast bacteria should be pretreated with Sputofluor™ to dissolve them from mucus and cellular structures. In this process, the active ingredient hypochlorite dissolves the organic material by oxidation and gently releases the acid-fast bacteria so that they can be processed further.

Reagent preparation: Preparation of Sputofluor™ solution 15 %

For preparation of approx. 100 ml solution mix:

Sputofluor™	15 ml
Distilled water	85 ml

Preparing sample material in centrifuge tubes:	
Sample	1 part (min. 2 ml)
Sputofluor™ solution (15 % in distilled water)	3 parts
Shake vigorously	10 min
Centrifuge at 3000 - 4800 rpm	20 min
Decant supernatant Prepare smears of the sediment Air-dry	

Punctates, lavages, sediments

After appropriate enrichment measures, smear sample material on the slide and allow to air-dry.

Fixation of smear samples

Specimens are fixed over a Bunsen burner flame (2 - 3 times, taking care to avoid excessive heating).

The specimens can also be fixed by heating at 100 - 110 °C in a drying cabinet or on a heating plate for 20 min.

Excessive temperatures or prolonged heating may involve a deterioration of the staining performance.

Reagent preparation

The reagents of the AFB-Color modified - Staining kit for the detection of acid-fast bacteria (AFB) by hot staining method are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary.

Procedure**Staining on the staining rack**

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

Slide with fixed smear		
Reagent 1 (Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin solution)	cover completely, carefully heat three times from below with the Bunsen burner until steam forms Do not allow the staining solution to boil!	stain for 5 min in total
Tap water	rinse until no further clouds of dye are produced	
Reagent 2 (hydrochloric acid in ethanol)	cover completely and leave to react	15 - 30 sec*
Tap water	rinse immediately	
Reagent 3 (Löffler's methylene blue solution)	counterstaining, cover completely and leave to react	30 sec**
Tap water	rinse carefully	
Air-dry (e.g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

* depending on thickness of specimen

** or 1 min with diluted reagent 3 (methylene blue solution) (dilution: 1:10 (1+9) with dist. water)

Covering with non-aqueous mounting media (e.g. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new, or Entellan™ new) and a cover glass is recommended for the storage of bacteriological specimens for several months. For this purpose, the stained specimens must be dried very well.

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

Main components of the products

Cat. No. 1.00497.0001

Reagent 1 or Cat. No. 1.09215

C.I. 42520 or C.I. 42510 6.3 g/l*

C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0.99 kg

*Both dyes can be used for preparing the solution, the staining result has the identical sensitivity and specificity.

Reagent 2 or Cat. No. 1.00327

HCl 0.75 %

contains C₆H₅OH

1 l = 0.90 kg

Reagent 3 or Cat. No. 1.01287

C.I. 52015 4.2 g/l

C₆H₅OH 190 g/l

pH 8.0 - 8.6

1 l = 0.97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H290: May be corrosive to metals.

H314: Causes severe skin burns and eye damage.

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/ hearing 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.

Reagent 3:

H226: Flammable liquid and vapor.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jun-03	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-Jun-03

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

1.00497.0001



Mikroskopie

AFB-Color modifiziert

Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung

Nur für professionelle Anwendung



In Vitro Diagnostikum



Zweckbestimmung

Das vorliegende „AFB-Color modifiziert - Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der bakteriologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um ein gebrauchsfertiges Färbeset, welches zusammen mit anderen *In Vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio bakterielle Zielstrukturen (säurefeste Stäbchenbakterien (AFB)) mittels Fixieren, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken in bakteriologischem Untersuchungsgut, wie z.B. Ausstrichen von Anreicherungs-Bakterienkulturen, für die Diagnostik auswertbar macht.

Der AFB-Color modifiziert Färbekit basiert auf der klassischen Ziehl-Neelsen Heiß-Färbemethode und kann für die Färbung auf der Färbekbank eingesetzt werden.

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 sind weiterführende Tests nach anerkannten, validen Methoden durchzuführen.

Prinzip

Säurefeste Stäbchenbakterien haben einen hohen Wachs- und Lipidanteil in der Zellwand und nehmen daher Farbstoffe nur sehr langsam auf. Die effizienteste Färbemethode ist daher die Heißfärbung nach Ziehl-Neelsen. Dabei wird eine Karbolfuchsinlösung auf das Präparat aufgebracht und bis zur Dampfbildung erhitzt. Dieses Erhitzen beschleunigt die Aufnahme des Fuchsin-Farbstoffs und damit die Bildung des Mykolat-Fuchsin-Komplexes in der Zellwand.

Haben die säurefeste 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.

Im vorliegenden AFB-Color modifiziert Färbeset wird entsprechend mit Methylenblau gegengefärbt.

Durch eine Vorbehandlung der Präparate mit Sputofluor™, werden die Bakterien aus dem umgebenden, zähen Sputum und Zellmaterial gelöst.

Probenmaterial

Luftgetrocknete, hitzefixierte und Sputofluor™-vorbehandelte Ausstriche von bakteriologischem Material wie Sputum, Ausstriche von Feinnadel-Aspirations-Biopsien (FNAB), Spülflüssigkeiten, Imprinte, Ergüsse, Eiter, Exsudate, flüssige und feste Kulturen

Reagenzien

Art. 1.00497.0001

AFB-Color modifiziert

Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung

Bestandteile der Packung:

Das Färbeset enthält

Reagenz 1: Ziehl-Neelsens Karbolfuchsinlösung	500 ml
Reagenz 2: Salzsäure-Alkohol	2x 500 ml
Reagenz 3: Löfflers Methylenblaulösung	500 ml

Zusätzlich erforderlich:

Art. 1.08000 Sputofluor™ für die Mikroskopie	1 l
--	-----

Einzelreagenzien

Anstatt des Färbesets 1.00497.0001 kann die Kombination folgender Reagenzien verwendet werden:

Art. 1.09215 Ziehl-Neelsens Karbolfuchsinlösung für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.01287 Löfflers Methylenblaulösung für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.00327 Salzsäure-Alkohol für die Mikroskopie	1 l, 5 l

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.

Sputum

Zur Freisetzung der säurefesten Stäbchenbakterien aus Schleim und Zellverbänden, sollte Sputum mit Sputofluor™ vorbehandelt werden. Der aktive Wirkstoff Hypochlorit löst dabei das organische Material oxidativ auf und setzt die säurefesten Stäbchenbakterien schonend frei.

Reagenzvorbereitung: Herstellung von Sputofluor™-Lösung 15 %

Zur Herstellung von etwa 100 ml Lösung werden zusammengegeben:

Sputofluor™	15 ml
Aqua dest.	85 ml

Probenansatz im Zentrifugenröhrchen:	
Probe	1 Teil (mind. 2 ml)
Sputofluor™-Lösung (15 %ig in Aqua dest.)	3 Teile
Kräftig schütteln	10 min
Bei 3000 - 4800 U/min zentrifugieren	20 min
Überstehende Flüssigkeit dekantieren Sediment austreichen Lufttrocknen	

Punktate, Lavagen, Sedimente

Proben nach geeigneten Anreicherungs-schritten auf dem Objektträger austreichen und lufttrocknen lassen.

Fixierung der Ausstrichpräparate

Die Fixierung wird über der Bunsenbrennerflamme (2 - 3 mal unter Vermeidung zu starker Hitzeeinwirkung) durchgeführt.

Das Material kann auch 20 min bei 100 - 110°C in einem Trockenschrank oder auf einer Wärmeplatte fixiert werden.

Bei höheren Temperaturen oder längerer Erhitzung muss mit einer Verschlechterung der Färbeleistung gerechnet werden.

Reagenzvorbereitung

Die verwendeten Reagenzien des AFB-Color modifiziert - Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen ist nicht notwendig.

Durchführung

Färbung auf der Färbekbank

Für ein optimales Färbeergergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
Reagenz 1 (Ziehl-Neelsens Karbolfuchsinlösung)	vollständig bedecken, vorsichtig mit dem Bunsenbrenner 3 x von unten bis zur Dampfbildung erhitzen Die Färbelösung darf nicht kochen!	insgesamt 5 min färben
Leitungswasser	spülen bis keine Farbwolken mehr abgehen	
Reagenz 2 (Salzsäure-Alkohol)	vollständig bedecken und einwirken lassen	15 - 30 sec*
Leitungswasser	unverzüglich spülen	
Reagenz 3 (Löfflers Methylenblaulösung)	Gegenfärbung, vollständig bedecken und einwirken lassen	30 sec**

Leitungswasser	sorgfältig spülen	
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)		

* in Abhängigkeit von der Dicke des Materials
** oder 1 min mit verdünntem Reagenz 3 (Methylenblaulösung)
(Verdünnung: 1:10 (1+9) mit Aqua dest.)

Für die Lagerung von bakteriologischen Präparaten über mehrere Monate, wird das Eindecken mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. Neo-Mount™, Entellan™, DPX Neu oder Entellan™ Neu) und Deckglas empfohlen. Die gefärbten Präparate müssen dafür sehr gut getrocknet werden.
Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Ergebnis

Säurefeste Stäbchenbakterien	rot
Hintergrund	blau

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

Fixierung der Ausstrichpräparate

Eine ausreichende Hitzeфикierung mit dem Bunsenbrenner oder in einem Hitzeschrank ist wichtig, um das infektiöse Potential der Präparate und ein Weiterwachsen der Bakterien zu verhindern.

Keine Färbung von säurefesten Stäbchenbakterien

Der kritische Schritt bei dieser Färbung ist der Entfärbeschritt, welcher durch die Dicke des Ausstrichs beeinflusst werden kann. Des Weiteren ist eine frische 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.

Technische Hinweise

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

Analytische Leistung

Das vorliegende „AFB-Color modifiziert - Färbekit“ färbt und visualisiert dadurch biologische Strukturen, wie im Kapitel „Ergebnis“ dieser Gebrauchsanweisung beschrieben. Die Anwendung des Produkts ist hierbei nur von autorisierten und qualifizierten Personen durchzuführen, dies umfasst, unter anderem, die Proben- und Reagenz Vorbereitung, Probenbehandlung, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr.
Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt. Dazu belegen die erfolgreichen Teilnahmen an internationalen Ringversuchen die analytische Spezifität und Wiederholbarkeit regelmäßig.
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
Ziehl-Neelsen-Färbung				
säurefeste Stäbchenbakterien	17/17	17/17	6/6	6/6
Hintergrund	17/17	17/17	6/6	6/6

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 klinische Leistung wurde durch die mehrfache erfolgreiche Anwendung in wissenschaftlichen Publikationen dargestellt.
Das AFB-Color modifiziert - Färbekit wird seit Jahrzehnten erfolgreich im klinischen Umfeld in einer hohen Zahl von Anwendungen genutzt.
Die klinische Leistung des AFB-Color modifiziert - Färbekit im Besonderen wurde durch die Ermittlung ihrer Sensitivität und Spezifität im Rahmen einer In-house Studie ermittelt:

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

Sensitivität: 15 Proben von 15: 100 %
Spezifität: 15 Proben von 15: 100 %

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

Die diagnostische Interpretation der Färbeergebnisse darf nur von qualifizierten und autorisierten Personen durchgeführt werden, welche Morphologie, die Verwendung adäquater Kontrollen, weitere diagnostische Tests, wenn angemessen, Patientenanamnese und andere Aspekte berücksichtigen 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 sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszuschließen.

Lagerung

AFB-Color modifiziert - Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Haltbarkeit

AFB-Color modifiziert - Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung 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 bis zu 250 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. Bei Bedarf ist eine dem Laborstandard und den Anforderungen entsprechende Zentrifuge zu verwenden.

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbedingt 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 Entsorgungsrichtlinien 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 Verordnung (EG), Nr. 1907/2006.

Hilfsreagenzien

Art.	1.00327	Salzsäure-Alkohol für die Mikroskopie	1 l, 5 l
Art.	1.00579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art.	1.01287	Löfflers Methylenblaulösung für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art.	1.01597	AFB-Fluor phenolfrei Färbeset für die Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien mit der Fluoreszenzmikroskopie (Auramin-Rhodamin-Färbung)	1 set
Art.	1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropfflasche, 100 ml, 500 ml
Art.	1.07960	Entellan™ Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml

Art. 1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	Sputofluo™ für die Mikroskopie	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. 1.09215	Ziehl-Neelsens Karbolfuchsinlösung für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (Xylol-Ersatz) für die Mikroskopie	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color Färbeset für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien mittels Kaltfärbung	1 set

Gefahrstoffeinstufung

Art. 1.00497.0001

Die Gefahrstoffeinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

ACHTUNG! Enthält CMR-Substanzen. Bitte entsprechende Sicherheitshinweise im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Hauptbestandteile der Produkte

Art. 1.00497.0001

Reagenz 1 oder Art. 1.09215

C.I. 42520 oder C.I. 42510	6,3 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 Färberegebnis hat die gleiche Sensitivität und Spezifität.

Reagenz 2 oder Art. 1.00327

HCl	0,75 %
enthält C ₆ H ₅ OH	
1 l = 0,90 kg	

Reagenz 3 oder Art. 1.01287

C.I. 52015	4,2 g/l
C ₆ H ₅ OH	190 g/l
pH	8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

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/Gehörschutz 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.

Reagenz 3:

H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jun-03	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-Jun-03

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

1.00497.0001



Microscopie

AFB-Color modifié

Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration à chaud

Réservé à une utilisation professionnelle



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Objectif prévu

Le présent « AFB-Color modifié - Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration à chaud » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen bactériologique 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 (bactéries acido-résistantes (AFB)) par fixation, coloration, contre-coloration, montage dans des épreuves bactériologiques, telles que les frottis de cultures bactériennes d'enrichissement, p. ex.

Le kit de coloration AFB-Color modifié se base sur la méthode classique de coloration à chaud Ziehl-Neelsen et peut être utilisé pour la coloration sur le banc de coloration.

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 est nécessaire d'effectuer des examens supplémentaires selon des méthodes valides et reconnues.

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. De ce fait, la méthode de coloration la plus efficace est la coloration à chaud de Ziehl-Neelsen. On applique pour cela une solution de carbolfuchisine (fuch-sine phéniquée) sur la préparation que l'on chauffe jusqu'à formation de vapeur. Ce réchauffement accélère l'absorption du colorant de la fuch-sine et, de ce fait, la formation du complexe mycolate-fuch-sine dans la paroi cellulaire.

Dès que les bactéries acido-résistantes ont absorbé le colorant de la fuch-sine, 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 alcool-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.

Dans le présent kit de coloration AFB-Color modifié la contre-coloration est effectuée au bleu de méthylène.

Grâce à un traitement préliminaire des préparations avec Sputofluor™ les bactéries se détachent du crachat visqueux et du matériel cellulaire environnant.

Matériel d'échantillons

Frottis de matériel bactériologique séchés à l'air, fixés par la chaleur et traités au préalable avec Sputofluor™ comme crachat, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), solutions de lavage, empreintes, liquides d'épanchement, pus, exsudats, cultures liquides et solides

Réactifs

Art. 1.00497.0001

AFB-Color modifié

Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration à chaud

Composition d'emballage :

Le coffret de coloration contient

Réactif 1 : Ziehl Neelsen fuch-sine phéniquée en solution 500 ml
Réactif 2 : Acide chlorhydrique alcoolique 2 x 500 ml
Réactif 3 : Bleu de méthylène en solution selon Löffler 500 ml

Nécessaire en plus :

Art. 1.08000 Sputofluor™ pour la microscopie 1 l

Réactifs individuels

Une combinaison des réactifs suivants peut être utilisée à la place du coffret de coloration 1.00497.0001 :

Art. 1.09215	Fuch-sine phéniquée en solution selon Ziehl-Neelsen pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.01287	Bleu de méthylène en solution selon Löffler pour la microscopie	100 ml, 500ml, 2,5 l
Art. 1.00327	Acide chlorhydrique alcoolique pour la microscopie	1 l, 5 l

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.

Crachats

Pour libérer les bactéries acido-résistantes des muqueuses et complexes cellulaires, le crachat devrait être traité au préalable avec Sputofluor™. L'actif hypochlorite dissout le matériel organique par oxydation et libère les bactéries acido-résistantes avec ménagement.

Préparation du réactif : Préparation de la solution au Sputofluor™ 15 %

Pour la préparation d'env. 100 ml de solution, il faut additionner :

Sputofluor™	15 ml
Eau distillée	85 ml

Préparation d'un échantillon en tube à centrifuger :	
Echantillon	1 partie (au moins 2 ml)
Solution au Sputofluor™ (15 % dans de l'eau distillée)	3 parties
Agiter vigoureusement	10 minutes
Centrifuger à 3000 - 4800 tours/min	20 minutes
Décanter le liquide excédentaire Étaler le sédiment Sécher à l'air	

Ponctions, lavages, sédiments

Étaler l'échantillon sur un porte-objet après avoir effectué les opérations d'enrichissement appropriées et laisser sécher à l'air.

Fixation des préparations de frottis

La fixation s'effectue sur la flamme d'un bec Bunsen (2 à 3 fois en évitant une trop grande chaleur).

Le matériel peut également être fixé en le mettant pour 20 minutes à 100 - 110 °C dans une armoire de séchage ou sur une plaque chauffante.

Si les températures sont trop élevées ou si le chauffage se prolonge, il faut s'attendre à une altération de la faculté de coloration.

Préparation du réactif

Les réactifs de AFB-Color modifié - Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration à chaud utilisés sont prêts à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions.

Mode opératoire

Coloration sur le banc de coloration

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

Porte-objet avec frottis fixé		
Réactif 1 (Ziehl Neelsen fuch-sine phéniquée en solution)	recouvrir complètement, chauffer avec précaution au bec Bunsen 3 x par le bas jusqu'à la formation de vapeur La solution de coloration ne doit pas être portée à ébullition !	colorer 5 minutes au total
Eau du robinet	rincer jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur	
Réactif 2 (acide chlorhydrique alcoolique)	recouvrir complètement et laisser agir	15 - 30 secondes*

Eau du robinet	rincer immédiatement	
Réactif 3 (bleu de méthylène en solution selon Löffler)	contre-coloration, recouvrir complètement et laisser agir	30 secondes**
Eau du robinet	rincer soigneusement	
Sécher à l’air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l’armoire de séchage)		

* dépend de l’épaisseur du matériel
** ou 1 minute avec du réactif 3 (solution de bleu de méthylène) dilué (dilution : 1:10 (1+9) à l’eau distillée)

Si l’on souhaite stocker des préparations bacteriologiques pendant plusieurs mois, il est conseillé de les recouvrir d’un produit de montage anhydre (p.ex. Neo-Mount™, Entellan™, DPX néo ou Entellan™ néo) et d’une lamelle couvre-objet. Les préparations colorées doivent être alors parfaitement sèches.
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	bleu

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
Fixation des préparations de frottis

Il est important d’effectuer une fixation à la chaleur suffisante avec un bec Bunsen ou dans une étuve, afin d’empêcher le potentiel infectieux des préparations et une prolifération des bactéries.

Pas de coloration des bactéries acido-résistantes

L’opération critique lors de cette coloration est la décoloration, qui peut être influencée par l’épaisseur du frottis.
De plus, une solution fraîche à l’acide chlorhydrique alcoolique 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.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d’un laboratoire de diagnostics médicaux.
En cas d’utilisation d’un automate 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

« AFB-Color modifié - Kit de coloration » 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, 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. La participation réussie à des tests en laboratoires internationaux réguliers est une confirmation supplémentaire et indépendante de la spécificité et de la répétabilité analytiques.

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 de Ziehl-Neelsen				
Bactéries acido-résistantes	17/17	17/17	6/6	6/6
Fond	17/17	17/17	6/6	6/6

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

De plus, la performance clinique de ce produit a été prouvée avec succès dans de nombreuses publications scientifiques.
Le AFB-Color modifié - Kit de coloration a été utilisé avec succès dans le contexte clinique pendant des décennies dans un grand nombre d’applications.
La performance clinique du AFB-Color modifié - Kit de coloration en particulier a été définie en déterminant sa sensibilité et sa spécificité dans le cadre d’une étude interne :

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

Sensibilité : 15 échantillons sur 15 : 100 %
Spécificité : 15 échantillons sur 15 : 100 %

Les résultats de cette évaluation de performance confirmer 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, afin d’exclure toute possibilité de résultat erroné.

Stockage

Stocker le AFB-Color modifié - Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration a chaud entre +15 °C et +25 °C.

Stabilité

Le AFB-Color modifié - Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration a chaud 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 jusqu’à 250 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. 1.00327	Acide chlorhydrique alcoolique pour la microscopie	1 l , 5 l
Art. 1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 1.01287	Bleu de méthylène en solution selon Löffler pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l

Art. 1.01597	AFB-Fluor exempt de phénol Coffret de coloration pour l'examen en microscopie de fluorescence des bactéries acido-résistantes (coloration Auramine-Rhodamine)	1 set
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte- gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ produit de montage rapide pour la microscopie	
Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	Sputofluor™ pour la microscopie	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. 1.09215	Fuch sine phéniquée en solution selon Ziehl-Neelsen pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color Coffret de coloration pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes par coloration	1 set

Classification des matières dangereuses

Art. 1.00497.0001
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. 1.00497.0001
Réactif 1 ou art. 1.09215
C.I. 42520 ou C.I. 42510 6,3 g/l*
C₆H₅OH 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 0,75 %
contient C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg
Réactif 3 ou art. 1.01287
C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- 3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kieran, J.A). Bios, 2002
- 4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



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.
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/ une protection auditive.
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.

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 :
RH225 : Liquide et vapeurs très inflammables.
H290 : Peut être corrosif pour les métaux.
H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

Réactif 3 :
H226 : Liquide et vapeurs inflammables.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jun-03	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-Jun-03

1.00497.0001

REF

Microscopía

AFB-Color modificado

Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Finalidad prevista

El presente " AFB-Color modificado - Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen bacteriológico 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 (bacilos acidorresistentes (AFB)) mediante fijación, tinción, contratinción, montaje en material de examen bacteriológico, como pueden ser frotis de cultivos bacterianos de enriquecimiento.

El kit de tinción AFB-Color modificado se basa en el método clásico de tinción en caliente de Ziehl-Neelsen y puede ser utilizado para teñir en bancos de tinción.

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 autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

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. Por consiguiente, el método más eficaz de tinción es la tinción en caliente según Ziehl-Neelsen. Este procedimiento consiste en aplicar al preparado una solución de carbolfucsina (fucsina fenicada) y calentarlo hasta que se forme vapor. Este calentamiento acelera la absorción del colorante de fucsina y al mismo tiempo la formación del complejo micolato-fucsina en la pared celular.

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 teñidas de rojo. Todos los microorganismos no resistentes a ácidos son teñidos de acuerdo con el colorante de la contratinción. En el presente kit de tinción AFB-Color modificado se contratiñe de la forma correspondiente con azul de metileno. A través de un tratamiento previo de los preparados con Sputofluor™ se liberan las bacterias del esputo viscoso y material celular circundante.

Material de las muestras

Frotis de material bacteriológico secados al aire, termofijados y sometidos a un tratamiento previo con Sputofluor™ como esputos, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), soluciones de lavado, imprints, efusiones, pus, exsudados, cultivos líquidos y sólidos

Reactivos

Art. 1.00497.0001

AFB-Color modificado

Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1:	Fucsina fenicada en solución según Ziehl-Neelsen	500 ml
Reactivo 2:	Ácido clorhídrico-alcohol	2x 500 ml
Reactivo 3:	Azul de metileno en solución según Löffler	500 ml

Necesario además:

Art. 1.08000	Sputofluor™ para microscopía	1 l
--------------	---------------------------------	-----

Reactivos sueltos

En lugar del kit de tinción 1.00497.0001 puede utilizarse también una combinación de los siguientes reactivos:

Art. 1.09215	Fucsina fenicada en solución según Ziehl-Neelsen para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.01287	Azul de metileno en solución según Löffler para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.00327	Ácido clorhídrico-alcohol para microscopía	1 l, 5 l

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.

Espuito

Para liberar bacilos acidorresistentes de mucosidad y conjuntos celulares se debería tratar el esputo previamente con Sputofluor™. En esto, el principio activo hipoclorita disuelve el material orgánico de forma oxidativa, liberando de esta manera los bacilos acidorresistentes con suavidad.

Preparación del reactivo: Preparación de la solución de Sputofluor™ 15 %

Para preparar aprox. 100 ml de solución se añaden juntos:

Sputofluor™	15 ml
Agua destilada	85 ml

Preparación de muestra en tubo de centrifuga:	
Muestra	1 parte (mínimo 2 ml)
Solución de Sputofluor™ (al 15 % en agua destilada)	3 partes
Agitar vigorosamente	10 minutos
Centrifugar a 3000 - 4800 R/min	20 minutos
Decantar el líquido excedente Extender el sedimento Secar al aire	

Líquidos extraídos por punción, lavados, sedimentos

Extender las muestras en el portaobjetos después de pasos convenientes de enriquecimiento, y dejarlas secar al aire.

Fijación de preparados de frotis

La fijación se realiza sobre la llama del mechero de Bunsen (2 a 3 veces, evitando una acción excesiva del calor).

El material también puede ser fijado durante 20 minutos a una temperatura de 100 a 110 °C en un armario de secado o encima de una placa calefactora.

Si se aplican temperaturas más elevadas o un calentamiento más prolongado, deberá esperarse un empeoramiento de la capacidad de tinción.

Preparación del reactivo

Los reactivos del AFB-Color modificado - Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente utilizados están listos para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria.

Técnica

Tinción en el banco de tinción

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

Portaobjetos con frotis fijado		
Reactivo 1 (Fucsina fenicada en solución según Ziehl-Neelsen)	cubrir completamente, calentar 3 veces con cuidado por abajo sirviéndose del mechero de Bunsen hasta que se produzca vapor ¡La solución de tinción no debe hervir!	teñir durante 5 minutos en total
Agua corriente	enjuagar hasta que ya no se desprendan nubes de color	

Reactivo 2 (ácido clorhídrico- alcohol)	cubrir completamente y dejar actuar	15 - 30 segundos*
Agua corriente	enjuagar inmediatamente	
Reactivo 3 (azul de metileno en solución según Löffler)	contratinción, cubrir completamente y dejar actuar	30 segundos**
Agua corriente	enjuagar cuidadosamente	
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

* en dependencia del espesor del material
** o 1 minuto con reactivo 3 diluido (solución de azul de metileno)
(dilución: 1:10 (1+9) con agua destilada)

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™, DPX nuevo o Entellan™ Nuevo) y cubreobjetos. Para ello, los preparados han de ser secados con gran esmero.

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

Resultado

Bacilos acidorresistentes	rojo
Fondo	azul

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

Fijación de preparados de frotis

Es importante realizar una termofijación suficiente por medio de un meche-ro Bunsen o en un armario de calor para eliminar el potencial infeccioso de los preparados y evitar que las bacterias sigan creciendo.

Ninguna tinción de bacilos acidorresistentes

El paso crítico en esta tinción es el paso de descoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis. Por lo demás, una solución fresca 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.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico. Si se utilizan 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

“AFB-Color modificado - Kit de tinción” 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, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción. La participación satisfactoria en análisis interlaboratorios internacionales periódicos proporciona una confirmación adicional e independiente de la especificidad y repetibilidad analítica.

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 de Ziehl-Neelsen				
Bacilos acidorresistentes	17/17	17/17	6/6	6/6
Fondo	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Además, el rendimiento clínico de este producto se ha demostrado en múltiples publicaciones científicas.

El AFB-Color modificado - Kit de tinción se ha usado con éxito en el ámbito clínico durante décadas en un gran número de aplicaciones.

El rendimiento clínico del AFB-Color modificado - Kit de tinción en particular se determinó estableciendo su sensibilidad y especificidad en un estudio interno:

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

Sensibilidad: 15 muestras de 15: 100 %
Especificidad: 15 muestras de 15: 100 %

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 para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el AFB-Color modificado - Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El AFB-Color modificado - Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente se puede utilizar 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 hasta 250 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. 1.00327	Ácido clorhídrico-alcohol para microscopía	1 l, 5 l
Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml

Art. 1.01287	Azul de metileno en solución según Löffler para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.01597	AFB-Fluor exento de fenol kit de tinción para examen de bacilos acidorresistentes por microscopía de fluorescencia (tinción con auramina-rodamina)	1 set
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía medio de montaje rápido 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. 1.08000	Sputofluor™ para microscopía	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. 1.09215	Fucsina fenicada en solución según Ziehl-Neelsen para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color kit de tinción para examen microscópico de bacilos acidorresistentes por tinción en frío	1 set

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.00497.0001
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. 1.00497.0001
Reactivo 1 o art. 1.09215
C.I. 42520 o C.I. 42510 6,3 g/l*
C₆H₅OH 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 C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reactivo 3 o art. 1.01287
C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Líquido y vapores muy inflamables.
H290: Puede ser corrosivo para los metales.
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.

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.

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/ los oídos.
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.

Reactivo 3:
H226: Líquidos y vapores inflamables.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jun-03	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-Jun-03

1.00497.0001



Microscopia

AFB-Color modificato

Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo

Solo per uso professionale



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Scopo previsto

Il presente "AFB-Color modificato - Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo" è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame batteriologico 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 (batteri acido-resistenti (AFB)) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di colture batteriche arricchite.

Il kit di colorazione AFB-Color modificato si basa sul metodo di colorazione a caldo classico di Ziehl-Neelsen e può essere utilizzato per la colorazione con rastrello di colorazione.

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 devono essere eseguiti ulteriori test avvalendosi di metodi validi e riconosciuti.

Principio

A causa dell'elevata percentuale di cera e lipidi nella membrana cellulare, i batteri acido-resistenti assorbono i coloranti solo molto lentamente. Il metodo di colorazione più efficace risulta pertanto la colorazione a caldo secondo Ziehl-Neelsen. In questo tipo di colorazione una soluzione di carbolfucsina viene aggiunta al preparato e viene riscaldata fino ad emissione di vapori. Il riscaldamento accelera l'assorbimento della sostanza colorante fucsina e di conseguenza la formazione del complesso micolato-fucsina nella membrana cellulare.

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.

Nel presente kit di colorazione AFB-Color modificato, la controcolorazione viene eseguita con il blu di metilene.

Grazie al pretrattamento dei preparati con Sputofluor™, i batteri vengono isolati dall'espettorato denso e dal materiale cellulare.

Materiale d'esame

Strisci di materiale batteriologico essiccati all'aria, termofissati e pretrattati con Sputofluor™ quale espettorato, strisci ottenuti da agoaspirati (FNAB, Fine Needle Aspiration Biopsy = agobiopsia con ago sottile), lavaggi, im-
pronte, effusioni, pus, essudati, colture liquide e solide

Reattivi

Art. 1.00497.0001

AFB-Color modificato

Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo

Componenti della confezione:

Il kit di colorazione contiene

Reattivo 1: Ziehl-Neelsen carbolfucsina soluzione

500 ml

Reattivo 2: Acido cloridrico alcolico

2x 500 ml

Reattivo 3: Blu di metilene soluzione sec. Löffler

500 ml

Inoltre necessario:

Art. 1.08000 Sputofluor™
per microscopia

1 l

Singoli reattivi

Al posto del kit di colorazione 1.00497.0001 può essere utilizzata anche una combinazione dei seguenti reattivi:

Art. 1.09215	Ziehl-Neelsen carbolfucsina soluzione per microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.01287	Blu di metilene soluzione sec. Löffler per microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.00327	Acido cloridrico alcolico per microscopia	1 l, 5 l

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente. 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.

Espettorato

Al fine di liberare i batteri acido-resistenti dal muco e dai gruppi cellulari, si consiglia di pretrattare l'espettorato con Sputofluor™. Il principio attivo ipoclorito discioglie il materiale organico per ossidazione e libera i batteri acido-resistenti senza intaccarli.

Preparazione del reattivo: Preparazione della soluzione di Sputofluor™ 15 %
Per la preparazione di ca. 100 ml di soluzione si miscelano:

Sputofluor™	15 ml
Acqua distillata	85 ml

Preparazione del campione nella provetta da centrifuga:	
Campione	1 parte (minimo 2 ml)
Soluzione di Sputofluor™ (al 15 % con acqua distillata)	3 parti
Agitare fortemente	10 minuti
Centrifugare a 3000 - 4800 g/min	20 minuti
Decantare il liquido surnatante Strisciare il sedimento Lasciare asciugare all'aria	

Agoaspirati, lavaggi, sedimenti

Dopo opportuni passaggi di arricchimento, strisciare i campioni sui portaoggetti e lasciar asciugare all'aria.

Fissaggio degli strisci

Il fissaggio avviene con la fiamma del becco Bunsen (passare 2 - 3 volte evitando il forte calore).

Il materiale può anche essere fissato in un armadio di asciugatore o su una piastra di riscaldamento a 100 - 110 °C per 20 minuti.

Temperature più elevate o tempi di riscaldamento più lunghi compromettono necessariamente il risultato della colorazione.

Preparazione del reattivo

I reattivi di AFB-Color modificato - Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo utilizzati sono pronti all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni.

Esecuzione

Colorazione con rastrello di colorazione

Per ottenere un risultato ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con striscio fissato		
Reattivo 1 (Ziehl-Neelsen carbolfucsina soluzione)	coprire completamente, riscaldare con cautela facendo passare per 3 volte sotto la fiamma del becco Bunsen fino ad emissione di vapori Non far bollire la soluzione di colorazione!	colorare per 5 minuti in totale
Acqua di rubinetto	sciacquare fino a quando non compaiono più nuvolette di colore	
Reattivo 2 (acido cloridrico alcolico)	coprire completamente e lasciar agire	15 - 30 secondi*
Acqua di rubinetto	sciacquare immediatamente	

Reattivo 3 (blu di metilene soluzione sec. Löffler)	contro-colorazione, coprire comple- tamente e lasciar agire	30 secondi**
Acqua di rubinetto	sciogliere accuratamente	
Asciugare all’aria (ades. per una notte o a 50 °C nell’armadio di asciugatura)		

- * a seconda dello spessore del materiale
- ** o 1 min con reattivo 3 diluito (blu di metilene soluzione)
(diluizione: 1:10 (1+9) con acqua distillata)

Per stoccare i preparati batteriologici per diversi mesi, si raccomanda il montaggio con un mezzo di montaggio anidro (ades., Neo-Mount™, Entellan™, DPX Neo o Entellan™ Neo) e un vetrini coprioggetti. I preparati colorati devono essere ben essiccati. Per l’analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Risultato

Batteri acido-resistenti	rosso
Sfondo	blu

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

Fissaggio degli strisci

È importante eseguire un fissaggio adeguato con il becco Bunsen o in un essiccatore, in modo da prevenire le possibili infezioni dei preparati e l’ulteriore crescita batterica.

Nessuna colorazione dei batteri acido-resistenti

Il passo fondamentale di questa colorazione è la decolorazione che può essere influenzata dallo spessore dello striscio. La soluzione fresca di acido cloridrico alcolico 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.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico. In caso di colorazione automatizzata, attenersi alle istruzioni per l’uso del produttore dello strumento e del software. Eliminare l’olio di immersione in eccesso prima dell’archiviazione.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

„AFB-Color modificato - Kit di colorazione” 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, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.

Le prestazioni analitiche del prodotto sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione. La fruttuosa partecipazione a test interlaboratorio internazionali su base regolare fornisce una conferma aggiuntiva e indipendente della specificità e ripetibilità analitica.

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 di Ziehl-Neelsen				
Batteri acido-resistenti	17/17	17/17	6/6	6/6
Sfondo	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Inoltre, le prestazioni cliniche di questo prodotto sono state dimostrate con successo in molteplici pubblicazioni scientifiche.

Il AFB-Color modificato - Kit di colorazione è stato utilizzato con successo in ambito clinico per decenni in un elevato numero di applicazioni.

In particolare, le prestazioni cliniche del AFB-Color modificato - Kit di colorazione sono state determinate stabilendo la sua sensibilità e specificità in uno studio interno:

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

Sensibilità: 15 campioni su 15: 100 %
Specificità: 15 campioni su 15: 100 %

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 escludere possibili risultati errati.

Conservazione

Il AFB-Color modificato - Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo va conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Stabilità

Il AFB-Color modificato - Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo 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 un massimo de 250 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. 1.00327	Acido cloridrico alcolico per microscopia	1 l, 5 l
Art. 1.00579	DPX Neo mezzo di montaggio anidro per microscopia	500 ml
Art. 1.01287	Blu di metilene soluzione sec. Löffler per microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.01597	AFB-Fluor esente da fenolo Kit di colorazione per l'analisi microscopica di batteri acido-resistenti per microscopia di fluorescenza (colorazione con auramina-rodamina)	1 set
Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ mezzo di montaggio rapido per microscopia	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	Sputofluor™ per microscopia	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. 1.09215	Ziehl-Neelsen carbolfucsina soluzione per microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sostituto xilolo) per microscopia	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color Kit colorante per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (colorazione a freddo)	1 set

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reattivo 1 o art. 1.09215

C.I. 42520 o C.I. 42510 6,3 g/l*

C₆H₅OH 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 C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reattivo 3 o art. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l

C₂H₅OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H290: Può essere corrosivo per i metalli.

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.

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/ proteggere l'udito.

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.

Reattivo 3:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jun-03	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-Jun-03

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

1.00497.0001



Μικροσκοπία

Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color

για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης

Για επαγγελματική χρήση μόνο



In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Προβλεπόμενος σκοπός

Το «Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και εξυπηρετεί τον σκοπό της βακτηριολογικής 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 (οξεάντοχων βακτηρίων (AFB)) σε υλικά βακτηριολογικών δειγμάτων (π.χ. όπως επιχρίσματα εμπλουτισμένων βακτηριακών) αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς, μέσω μονιμοποίησης, χρώσης, αντιχρώσης και στερέωσης.

Το Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color χρησιμοποιεί την κλασσική διαδικασία θερμής χρώσης Ziehl-Neelsen και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για χρώση στο στατώ χρώσης. Οι άβαφες βακτηριακές δομές παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή αντίθεση και είναι εξαιρετικά δύσκολη η διάκρισή τους με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι ει-κόνες που δημιουργούνται χρησιμοποιώντας τα διαλύματα χρώσης βοηθούν τον εξουσιοδοτημένο και εξειδικευμένο ερευνητή να προσδιορίσει καλύτερα τον τύπο και το βακτήριο σε αυτές τις περιπτώσεις. Πρέπει να διενεργούνται επιπλέον εξετάσεις σύμφωνα με αναγνωρισμένες και έγκυρες μεθόδους για την πραγματοποίηση της οριστικής διάγνωσης.

Αρχή της μεθόδου

Το κυτταρικό τοίχωμα των οξεάντοχα βακτήρια έχει υψηλή αναλογία κεριού και λιπιδίων και επομένως απορροφά χρωστικές μόνο πολύ αργά. Η πιο αποτελεσματική μέθοδος χρώσης είναι η θερμή χρώση κατά Ziehl-Neelsen. Σε αυτή τη μέθοδο, το διάλυμα καρβοφουξίνης εφαρμόζεται στο δείγμα και θερμαίνεται. Αυτή η διαδικασία θέρμανσης επιταχύνει τον ρυθμό απορρόφησης της χρωστικής φουξίνης και επομένως του σχηματισμού του συμπλέγματος μυκολικού-φουξίνης στο κυτταρικό τοίχωμα.

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.

Αυτό το Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color χρησιμοποιεί μπλε του μεθυλενίου ως αντίχρωση. Η προεπεξεργασία των δειγμάτων με Sputofluor™ διαλύει τα βακτήρια από το περιβάλλον ιξώδες πτύελο και κυτταρικό υλικό.

Υλικό δείγματος

Επιχρίσματα βακτηριολογικού υλικού που έχουν υποβληθεί σε στέγνωμα στον αέρα, μονιμοποίηση με θερμότητα και προεπεξεργασία με Sputofluor™, όπως πτύελα, επιχρίσματα από βιοψία αναρρόφησης λεπτής βελόνας (FNAB), εκπλύσεις, αποτυπώματα, συλλογές, πύον, εξιδρώματα υγρές και στερεές καλλιέργειες.

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.00497.0001 Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης

Μέρη συσκευασίας:

Το κιτ χρώσης περιέχει

Αντιδραστήριο 1:	Διάλυμα καρβοφουξίνης Ziehl-Neelsen για μικροσκοπία	500 ml
Αντιδραστήριο 2:	Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη για μικροσκοπία	2x 500 ml
Αντιδραστήριο 3:	Διάλυμα κυανού του μεθυλενίου κατά Löffler	500 ml

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου 1.08000 Sputofluor™ για μικροσκοπία 1 l

Μεμονωμένα αντιδραστήρια

Αντί για το κιτ χρώσης 1.00497.0001, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο ακόλουθος συνδυασμός αντιδραστηρίων:

Αρ. καταλόγου 1.09215	Διάλυμα καρβοφουξίνης Ziehl-Neelsen για μικροσκοπία	1 l
Αρ. καταλόγου 1.01287	Διάλυμα κυανού του μεθυλενίου κατά Löffler για μικροσκοπία	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.00327	Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη για μικροσκοπία	1 l, 5 l

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.

Πτύελα

Τα οξεάντοχα βακτήρια θα πρέπει να υποβάλλονται σε προηγούμενη επεξεργασία με Sputofluor™ για τη διάλυσή τους από τους βλεννογόνους και από τις κυτταρικές δομές. Σε αυτή τη διαδικασία, το ενεργό συστατικό υποχλωριώδες διαλύει το οργανικό υλικό με οξειδωση και ελευθερώνει απαλά τα οξεάντοχα βακτήρια, έτσι ώστε να μπορούν να υποβληθούν σε περαιτέρω επεξεργασία.

Προετοιμασία αντιδραστηρίου: Προετοιμασία διαλύματος Sputofluor™ 15%
Για προετοιμασία περίπου 100 ml διαλύματος, αναμειγξτε:

Sputofluor™	15 ml
Απεσταγμένο νερό	85 ml

Προετοιμασία υλικού δείγματος σε σωληνάρια φυγόκεντρου:	
Δείγμα	1 μέρος (τουλάχισ. 2 ml)
Διάλυμα Sputofluor™ (15% σε απεσταγμένο νερό)	3 μέρη
Ανακινήστε ζωηρά	10 λεπτά
Φυγοκεντρήστε σε 3.000 - 4.800 rpm	20 λεπτά
Αδειάστε το υπερκείμενο Προετοιμάστε τα επιχρίσματα του ιζήματος Στεγνώστε στον αέρα.	

Σπικτά, πλύσεις, ιζήματα

Μετά από κατάλληλα μέτρα εμπλουτισμού, απλώστε υλικό δείγματος επί της πλάκας και αφήστε το να στεγνώσει στον αέρα.

Μονιμοποίηση δειγμάτων επιχρίσματος

Τα δείγματα μονιμοποιούνται πάνω από μια φλόγα καύσης Bunsen (2 - 3 φορές, φροντίζοντας να αποφεύγετε την υπερβολική θέρμανση). Τα δείγματα μπορούν επίσης να μονιμοποιηθούν με θέρμανση σε 100 - 110 °C σε θάλαμο στεγνώματος ή σε πλάκα θέρμανσης για 20 λεπτά. Ακραίες θερμοκρασίες ή παρατεταμένη θέρμανση μπορεί να συνεπάγονται επιδείνωση της απόδοσης της χρώσης.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια του Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης είναι έτοιμα για χρήση. Η αραίωση αυτών των διαλυμάτων δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς τους.

Διαδικασία

Χρώση στον δειγματοφορέα χρώσης

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

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα

Αντιδραστήριο 1 (διάλυμα καρβοφουξίνης Ziehl-Neelsen)	Καλύψτε πλήρως, θερμάνετε προσεκτικά τρεις φορές από κάτω με τον καυστήρα Bunsen έως τη δημιουργία ατμού Μην αφήνετε το διάλυμα χρώσης να βράσει!	Χρώση για 5 λεπτά συνολικά
Νερό βρύσης	Εκπλύνετε έως ότου δεν παράγονται άλλα νέφη χρωστικής	
Αντιδραστήριο 2 (γδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη)	καλύψτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	15 - 30 δευτ.*
Νερό βρύσης	Εκπλύνετε αμέσως	
Αντιδραστήριο 3 (διάλυμα κυανού του μεθυλενίου κατά Löffler	Αντιχρώση, καλύψτε πλήρως και αφήστε να δράσει	30 δευτ.**
Νερό βρύσης	εκπλύνετε προσεκτικά	
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. όλη τη νύχτα (8 ώρες)] ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]		

- * ανάλογα με το πάχος του δείγματος
- ** ή 1 λεπτό με αραιωμένο αντιδραστήριο 3 (διάλυμα κυανού του μεθυλενίου)
(Αραίωση: 1:10 (1+9) με απεσταγμένο νερό)

Η κάλυψη με μη υδατικά μέσα στερέωσης (π.χ. Neo-Mount™, Entellan™, DPX νέο ή Entellan™ νέο) και μια καλυπτήριδα συνιστώνται για τη φύλαξη των βακτηριολογικών δειγμάτων για αρκετούς μήνες. Για τον σκοπό αυτό, τα χρωσθέντα δείγματα πρέπει να στεγνώνονται πολύ καλά.

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

Αποτέλεσμα

οξεάντοχα βακτήρια	κόκκινο
Υπόβαθρο	κυανούν

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 προσ-διοριστεί.

Αντιμετώπιση προβλημάτων
Μονιμοποίηση δειγμάτων επιχρίσματος

Επαρκής βαθμός μονιμοποίησης με θερμότητα με λύχνο Bunsen ή σε θάλαμο θέρμανσης είναι βασικής σημασίας για την αποφυγή πιθανότητας μόλυνσης των δειγμάτων και περαιτέρω πολλαπλασιασμού των βακτηρίων.

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.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου. Όταν χρησιμοποιούνται 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 τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color» χρωματίζει και κατ’ αυτόν τον τρόπο απεικονίζει βιολογικές δομές, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Αποτέλεσμα» αυτών των οδηγιών χρήσης. Το προϊόν πρέπει να χρησιμο-ποιείται μόνο από εξουσιοδοτημένα και εξειδικευμένα άτομα και η χρήση του περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρί-ων, τον χειρισμό δειγμάτων, τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους κατάλλη-

λους μάρτυρες και άλλα.

Η αναλυτική απόδοση του προϊόντος επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο κάθε παρτίδας παραγωγής. Η επιτυχής συμμετοχή σε διεθνείς διεργαστηριακές δο-κιμές σε τακτική βάση παρέχει επιπρόσθετη και ανεξάρτητη επιβεβαίωση της αναλυτικής ειδικότητας και επαναληψιμότητας.

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

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορι-σμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορι-σμών	Ειδικότητα του προσδιορι-σμού	Ευαισθησία του προσδιορι-σμού
χρώση Ziehl-Neelsen				
οξεάντοχων βα-κτηρίων	17/17	17/17	6/6	6/6
Υπόβαθρο	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Επιπλέον, η κλινική απόδοση αυτού του προϊόντος έχει αποδειχθεί με επιτυ-χία σε πολλές επιστημονικές δημοσιεύσεις.

Το Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color χρησιμοποιείται με επιτυχία στο κλινικό περιβάλλον εδώ και δεκαετίες σε μεγάλο αριθμό εφαρμογών.

Η κλινική απόδοση του Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color προσ-διορίστηκε συγκεκριμένα με τον καθορισμό της ευαισθησίας και ειδικότητάς του σε μια εσωτερική μελέτη:

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

Ευαισθησία: 15 στα 15 δείγματα: 100%

Ειδικότητα: 15 στα 15 δείγματα: 100%

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 επαγγελ-ματίες, 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 θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος.

Φύλαξη

Αποθηκεύστε το Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color - για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C.

Διάρκεια ζωής

Το Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color - για την ανίχνευση οξεάντο-χων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποι-ηθεί 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 έως και 250 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.
Εάν απαιτείται χρησιμοποιήστε μια πρότυπη φυγόκεντρο κατάλληλη για ιατρικό διαγνωστικό εργαστήριο.

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 1.00327	Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη για μικροσκοπία	1 l, 5 l
Αρ. καταλόγου 1.00579	DPX νέο μη υδατικό μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.01287	Διάλυμα κυανού του μεθυλενίου κατά Löffler για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.01597	AFB-Fluor χωρίς φαινόλη Σετ χρώσης για την εξέταση οξεάντοχων βακτηρίων με μικροσκοπία φθορισμού (χρώση σουραμίνης - ροδαμίνης)	1 set
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμπάτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.08000	Sputofluor™ για μικροσκοπία	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 1.09215	Διάλυμα καρβοφουξίνης Ziehl-Neelsen για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09843	Neo-Clear™ (υποκατάστατο ξυλενίου) για μικροσκοπία	5 l
Αρ. καταλόγου 1.16450	AFB-Color Σετ χρώσης για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) μέσω ψυχρής χρώσης	1 set

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.00497.0001
Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της ετικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφαλείας.
Το φύλλο δεδομένων ασφαλείας 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 1.00497.0001
Αντιδραστήριο 1 ή αρ. καταλόγου 1.09215
C.I. 42520 ή C.I. 42510 6,3 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 ή αρ. καταλόγου 1.01287
C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 kg

Γενική παρατήρηση

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

Δογοτεχνία

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.
H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.
H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
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/ το πρόσωπο/ τα αυτιά.
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.

Αντιδραστήριο 3:
H226: Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jun-03	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-Jun-03

1.00497.0001



Mikroskopi

AFB-Color modifierat

färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning

Endast för yrkesmässig användning



Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik



Avsett syfte

Denna "AFB-Color modifierat" - färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning används till humanmedicinsk celldiagnostik för bakteriologisk 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 (syrefasta bakterier (AFB)) genom fixering, färgning, motfärgning och montering i bakteriologiska provmaterial, t.ex. utstryk av berikade bakterieodlingar.

Den AFB-Color modifierat färgningssatsen använder den klassiska Ziehl-Neelsen- varmfärgningsproceduren och kan användas till färgning på färgningsställ.

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 tester måste utföras enligt erkända, validerade metoder för att ställa en slutlig diagnos.

Princip

Syrefasta bakterier cellvägg har en hög andel vax och lipider, och absorberar därför färgämnen mycket långsamt. Den mest effektiva färgningsmetoden är varmfärgning enligt Ziehl-Neelsen. Enligt den här metoden appliceras karbolfuksinlösningen på provet och värms upp. Uppvärmningsprocessen gör att hastigheten med vilken fuchsinfärgämnet absorberas accelereras, vilket därmed även bildandet av mykolat-fuksin-komplexet i cellväggen gör.

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. AFB-Color modifierat färgningssatsen använder metylenblått som motfärg. Förbehandling av prover med Sputofluor™ löser upp bakterierna från omgivande klabbigt slem och cellmaterial.

Provmaterial

Utstryk av bakteriologiskt material som har lufttorkats, värmefixerats och förbehandlats med Sputofluor™, t.ex. sputum, utstryk från finnålsaspirationsbiopsier (FNAB), sköljningar, imprint, effusioner, pus, exsudat och flytande samt fasta odlingar

Reagens

Kat.nr 1.00497.0001 AFB-Color modifierat färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning

Paketinnehåll:

Färgningssatsen innehåller

Reagens 1:	Ziehl-Neelsen karbolfuksinlösning	500 ml
Reagens 2:	Saltsyra i etanol	2x 500 ml
Reagens 3:	Löfflers metylenblåttlösning	500 ml

Dessutom behövs:

Kat.nr 1.08000	Sputofluor™ för mikroskopi	1 l
----------------	----------------------------	-----

Enskilda reagens

I stället för färgningssatsen 1.00497.0001 kan följande kombination av reagens användas:

Kat.nr 1.09215	Ziehl-Neelsen karbolfuksinlösning för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.01287	Löfflers metylenblåttlösning för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.00327	Saltsyra i etanol för mikroskopi	1 l, 5 l

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 hjälpmedel måste respektive bruksanvisningar följas.

Sputum

Syrefasta bakterier ska förbehandlas med Sputofluor™ för att lösas upp från slem och cellulära strukturer. Under processen löser den aktiva ingrediensen hypoklorit upp det organiska materialet genom oxidation och frisätter försiktigt syrefasta bakterier så att de kan bearbetas ytterligare.

Reagensberedning: Beredning av Sputofluor™-lösning 15 %

För beredning av ca 100 ml lösning blandas:

Sputofluor™	15 ml
Destillerat vatten	85 ml

Bereda provmaterial i centrifugrör:	
Prov	1 del (min. 2 ml)
Sputofluor™-lösning (15 % i destillerat vatten)	3 delar
skaka den kraftigt	10 min.
Centrifugera vid 3 000–4 800 rpm	20 min
Dekantera supernatanten Bered utstryk av sedimentet Lufttorka	

Punktat, sköljningar, sediment

Efter lämpliga anrikningsåtgärder smetar du ut provmaterialet på objektglaset och låter det lufttorka.

Fixering av utstryksprover

Proverna fixeras över lågan på en Bunsenbrännare (2–3 gånger, undvik överhettning).

Proverna kan även fixeras genom upphettning vid 100–110 °C i ett torkskåp eller på en värmeplatta i 20 minuter.

Alltför höga temperaturer eller långvarig uppvärmning kan försämra färgningsprestandan.

Reagensberedning

Reagensen i AFB-Color modifierat - färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning är bruksfärdiga. Spädning av lösningarna är inte nödvändigt – det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrad färgningsstabilitet.

Förfarande

Färgning på färgningsställ

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

Objektglas med fixerat utstryk		
Reagens 1 (Ziehl-Neelsen karbolfuksinlösning)	täck helt, värm försiktigt tre gånger underifrån med Bunsenbrännaren tills ånga bildas Färgningslösningen får inte koka!	färga i sammanlagt 5 min.
Kranvatten	skölj tills det inte längre bildas några moln av färgämne	
Reagens 2 (saltsyra i etanol)	täck fullständigt och låt reagera	15 - 30 s*
Kranvatten	skölj omedelbart	
Reagens 3 (Löfflers metylenblåttlösning)	motfärgning, täck fullständigt och låt reagera	30 s**
Kranvatten	skölj noggrant	

Lufttorka (t.ex. över natten eller vid 50 °C i torkskåp)

- * beroende på provets tjocklek
- ** eller 1 min. med spädd reagens 3 (metylenblåttlösning) (spädning: 1:10 (1 + 9) med destillerat vatten)

Det rekommenderas att täcka med icke-vattenhaltiga monteringsmedier (t.ex. Neo-Mount™, Entellan™, DPX ny eller Entellan™ ny) och täckglas om de bakteriologiska proverna ska förvaras i flera månader. De infärgade proverna måste också torkas mycket ordentligt om så är fallet. Det rekommenderas att immersionsolja används för analys av infärgade objektglas med en mikroskopisk förstoring på >40 x.

Resultat

Syrefasta bakterier	röda
Bakgrund	blå

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

Fixering av utstryksprover

Tillräcklig värmefixering med en Bunsenbrännare eller ett värmeskåp är viktigt för att förebygga provernas infektiösa potential såväl som ytterligare bakteriell proliferation.

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.

Tekniska anmärkningar

Mikroskopet som används ska uppfylla kraven för ett laboratorium för medicinsk diagnostik. Om ett automatiskt färgningssystem används ska du följa bruksanvisningen från leverantören av systemet och programvaran. Ta bort överskott av immersionsolja före inmatningen.

Analytiska prestandaegenskaper

”AFB-Color modifierat - färgningskit” 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, val av lämpliga kontroller med mera.

Produktens analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktionssats testas. Regelbundet och framgångsrikt deltagande i internationella jämförande laboratorietester ger ytterligare och opartisk verifiering av analytisk specificitet och repeterbarhet.

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
Ziehl-Neelsen-färgning				
syrefasta bakterier	17/17	17/17	6/6	6/6
Bakgrund	17/17	17/17	6/6	6/6

Analytiska prestandaresultat

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

Kliniska prestandaegenskaper

Dessutom har produktens kliniska prestanda bevisats framgångsrikt i flera vetenskapliga publikationer.

AFB-Color modifierat - färgningskit har använts med lyckat resultat i klinisk miljö i flera decennier inom många olika användningsområden.

I synnerhet har klinisk prestanda för AFB-Color modifierat - färgningskit bestämts genom att fastställa känslighet och specificitet i en intern studie:

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

Känslighet: 15 prover av 15: 100 %
Specificitet: 15 prover av 15: 100 %

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 ska genomföras med varje applicering för att undvika ett felaktigt resultat.

Förvaring

Förvara AFB-Color modifierat - färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning vid +15 °C till +25 °C.

Hållbarhetstid

AFB-Color modifierat - färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning 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 upp till 250 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. Använd om nödvändigt en standardcentrifug som är lämplig i laboratorier för medicinsk diagnostik.

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 1.00327	Saltsyra i etanol för mikroskopi	1 l, 5 l
Kat.nr 1.00579	DPX ny vattenfritt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr 1.01287	Löfflers metylenblåttlösning för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.01597	AFB-Fluor fenolfritt färgningskit för undersökning av syrefasta bakterier med fluorescensmikroskop (auramin-rodamin-färgning)	1 set
Kat.nr 1.04699	Immersionsolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml
Kat.nr 1.07960	Entellan™ snabbt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr 1.07961	Entellan™ ny snabbt monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr 1.08000	Sputofluo™ för mikroskopi	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 1.09215	Ziehl-Neelsen karbolfuksinlösning för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l

Kat.nr 1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitut) för mikroskopi	5 l
Kat. nr 1.16450	AFB-Color färgningskit för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning	1 set

Faroklassificering

Kat.nr 1.00497.0001
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

Kat.nr 1.00497.0001
Reagens 1 eller kat.nr 1.09215
Färgindex 42520 eller Färgindex 42510 6,3 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 1.00327
HCl 0,75 %
innehåller C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reagens 3 eller kat.nr Art. 1.01287
Färgindex 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- 3. Conn’s Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kieran, J.A). Bios, 2002
- 4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.
H290: Kan vara korrosivt för metaller.
H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon.
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.

Reagens 3:
H226: Brandfarlig vätska och ånga.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jun-03	Första version med införande av revisionshistorik

Se bruksanvisningen

Tillverkare

Katalognummer

Satskod

Försiktighet, se medföljande dokument

Används före ÅÅÅÅ-MM-DD

Temperaturbegränsning

Status 2024-Jun-03

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



1.00497.0001 **REF****Mikroskopie****AFB-Color modifikovaná**

barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení

Pouze pro profesionální použitíZdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro***Zamýšlený účel**

Tato „AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k bakteriologickému 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 (acidorezistentní bakterie (AFB)) prostřednictvím fixace, barvení, dobarvení, montování v materiálech bakteriologických vzorků, například v nátěrech z pomnožených bakteriálních kultur, pro diagnostické účely.

Souprava pro barvení AFB-Color modifikovaná používá klasický Ziehl-Neelsenův postup barvení za horka a lze ji použít k barvení na barvicím stojanu. 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 snímky získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy je třeba provést další testy podle uznávaných platných metod.

Princip

Buněčná stěna acidorezistentní bakterie sestává z velké části z vosku a tuků a proto vstřebává barviva pouze velice pomalu. Nejúčinnější metodou barvení je horké barvení dle Ziehl-Neelsena. V této metodě se na vzorek nanese roztok karbolfuchsinu a následně se provede zahřátí. Tento proces zahřívání urychluje vstřebávání fuchsinového barviva a tím i vznik komplexu mykolát-fuchsin v buněčné stěně.

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.

Jako kontrastbarvivo se u této soupravy pro barvení AFB-Color modifikovaná používá methylenová modř.

Předběžné ošetření vzorků roztokem Sputofluol™ oddělí bakterie od okolního vazkého sputa a buněčného materiálu.

Materiál vzorku

Volně zaschlé a teplem fixované nátěry bakteriologických materiálů předem ošetřené přípravkem Sputofluol™, jako jsou sputum, nátěry z aspirátu získaného biopsií tenkou jehlou (FNAB), výplachy, otisky, efuze, hnis, exudáty, tekuté nebo pevné kultury.

Činidla

Kat.nr 1.00497.0001 AFB-Color modifikovaná barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení

Složky balení:

Barvicí souprava obsahuje

Činidlo 1: Roztok karbolfuchsinu podle Ziehl-Neelsena 500 ml
 Činidlo 2: Kyselina chlorovodíková v ethanolu 2 x 500 ml
 Činidlo 3: Roztok methylenové modři podle Löfflera 500 ml

Další potřebné materiály:

Kat. č. 1.08000 Sputofluol™ pro mikroskopii 1 l

Jednotlivá činidla

Namísto barvicí soupravy 1.00497.0001 lze použít následující kombinaci činidel:

Kat. č. 1.09215	Roztok karbolfuchsinu podle Ziehl-Neelsena pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.01287	Roztok methylenové modři podle Löfflera pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.00327	Kyselina chlorovodíková v ethanolu pro mikroskopii	1 l, 5 l

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.

Sputum

Acidorezistentní bakterie je třeba předem ošetřit přípravkem Sputofluol™ a oddělit je tak od hlenu a buněčných struktur. V tomto procesu aktivní složka, chlornan, rozpustí organický materiál oxidací a jemně uvolní acidorezistentní bakterie, aby je bylo možné dále zpracovat.

Příprava činidla: Příprava roztoku Sputofluol™ 15 %

Na přípravu přibližně 100 ml roztoku smíchejte:

Sputofluol™	15 ml
Destilovaná voda	85 ml

Příprava materiálu vzorku v centrifugačních zkumavkách:	
Vzorek	1 díl (min. 2 ml)
Roztok Sputofluol™ (15% v destilované vodě)	3 díly
Řádné protřepejte	10 min
Centrifugujte při 3 000–4 800 ot./min	20 min
Slijte supernatant Připravte nátěry sedimentu Sušení na vzduchu	

Punktáty, laváže a sedimenty

Po příslušném obohacení naneste materiál vzorku na sklíčko a ponechte volně zaschnout.

Fixace nátěrů vzorků

Vzorky se fixují nad plamenem Bunsenova kahanu (2–3krát; dávejte pozor, abyste vzorky nezahřáli příliš).

Vzorky lze také fixovat zahřátím na 100–110 °C v sušárně nebo na zahřívací desce po dobu 20 minut.

Nadměrné teploty nebo příliš dlouhé zahřívání mohou vést ke zhoršení výsledku barvení.

Příprava činidla

Činidla AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení jsou určena k přímému použití, ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného barvení a jeho stability.

Postup**Barvení v barvicím stojánu**

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

Sklíčko s fixovaným nátěrem		
Činidlo 1 (roztok karbolfuchsinu podle Ziehl-Neelsena)	zakryjte zcela, pečlivě 3krát zahřejte zespodu Bunsenovým kahanem, dokud se nezačne tvořit pára Barvicí roztok se nesmí přivádět do varu!	barvěte celkem 5 minut
Vodovodní voda	oplachujte tak dlouho, dokud se nepřestanou uvolňovat další obláčky barviva	

Činidlo 2 (kyselina chlorovodíková v ethanolu)	úplně pokryjte a nechtejte reagovat	15–30 sekundy*
Vodovodní voda	ihned opláchněte	
Činidlo 3 (roztok methylenové modři podle Löfflera	dobarvení, zcela zakryjte a nechte reagovat	30 sekundy**
Vodovodní voda	pečlivě opláchněte	
Ponechtejte volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)		

* v závislosti na tloušťce vzorku

**nebo 1 min při použití zředěného činidlo 3 (roztok methylenové modři) (ředění: 1 : 10 (1+9) s destilovanou vodou)

V případě skladování bakteriologických vzorků po několik měsíců se doporučuje překrytí nevodným montovacím médiem (např. Neo-Mount™, Entellan™, DPX nový nebo Entellan™ nový) a použití krycího sklíčka. Pro tyto účely musejí být barvené vzorky velmi dobře vysušené. Při analýze obarvených nátěrů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

Výsledek

Acidorezistentní bakterie	červené
Pozadí	modré

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

Fixace nátěrů vzorků

Pro prevenci infekčního potenciálu vzorků a další proliferace bakterií je nezbytný dostatečný stupeň tepelné fixace pomocí Bunsenova kahanu nebo v horké komoře.

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.

Technické poznámky

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

Analytické výkonnostní parametry

„AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava“ 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, rozhodnutí o vhodných kontrolách a další.

Analytické parametry výrobku jsou validovány testováním každé výrobní šarže. Další nezávislé potvrzení analytické specifčnosti a opakovatelnosti poskytuje pravidelná úspěšná účast v mezinárodních testech mezi laboratořemi.

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

	Specifičnost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifčnost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Ziehlovo–Neelsenovo barvení				
Acidorezistentní bakterie	17/17	17/17	6/6	6/6
Pozadí	17/17	17/17	6/6	6/6

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 struk-

tur v poměru k počtu provedených testů.

Klinické výkonnostní parametry

Klinická účinnost tohoto výrobku byla také prokázána v mnoha odborných publikacích.

AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava se už desítky let úspěšně používá v klinickém prostředí ve velkém počtu aplikací.

Klinická účinnost AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava byla stanovena zejména stanovením její senzitivity a specificity v interní studii:

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

Senzitivita: 15 vzorků z 15: 100 %

Specifičnost: 15 vzorků z 15: 100 %

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 uznaných metod. Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly.

Skladování

AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení skladujte při teplotě +15 °C až +25 °C.

Doba použitelnosti

AFB-Color modifikovaná - barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení lze používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti.

Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 °C až +25 °C.

Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

Kapacita

Obsah balení stačí pro až 250 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. V případě potřeby použijte standardní centrifugu vhodnou pro lékařskou diagnostickou laboratoř.

Ochrana před infekcí

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

Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrniciemi týkajícími se likvidace. Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrniciemi. 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. 1.00327	Kyselina chlorovodíková v ethanolu pro mikroskopii	1 l, 5 l
Kat. č. 1.00579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.01287	Roztok methylenové modři podle Löfflera pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.01597	AFB-Fluor bez obsahu fenolu Barvicí souprava pro stanovení acidorezistentních bakterií pomocí fluorescenční mikroskopie (barvení směsí auramin-rhodamin)	1 set

Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 1.07960	Entellan™ rychlé zalévací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.08000	Sputofluo™ pro mikroskopii	1 l
Kat. č. 1.08298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.09215	Roztok karbolfuchsinu podle Ziehl- Neelsena pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.09843	Neo-Clear™ (náhražka xyleny) pro mikroskopii	5 l
Kat. č. 1.16450	AFB-Color barvicí souprava pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)	1 set

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Činidlo 1 nebo kat. č. 1.09215

C.I. 42520 nebo C.I. 42510 6,3 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

* K přípravě roztoku lze použít obě barviva, citlivost a specifčnost výsledného barvení budou stejné.

Činidlo 2 nebo kat. č. 1.00327

HCl 0,75 %
obsahuje C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Činidlo 3 nebo kat. č. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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.

Literatura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.

H290: Může být korozivní pro kovy.

H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození 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/ chrániče sluchu.

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.

Činidlo 3:

H226: Hořlavá kapalina a páry.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jun-03	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-Jun-03

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

1.00497.0001



Microscopie

AFB-Color modificat

kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald

Exclusiv pentru uz profesional



Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*



Scopul preconizat

Acest „AFB-Color modificat” - kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald” este utilizat pentru diagnosticul medical al celulelor umane și servește scopului de investigație bacteriologică 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 (bacterii rezistente la acizi (AFB)) prin fixare, colorare, contracolorare, montare din eșantioanele de testat bacteriologice, de exemplu frotiuri din culturi bacteriene îmbogățite. În cazul setului de colorare AFB-color modificat se utilizează procedura de colorare la cald Ziehl-Neelsen clasică și poate fi utilizat pentru colorare pe stativul de colorare.

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. Testele suplimentare trebuie efectuate în conformitate cu metodele valide, recunoscute, pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Principiu de funcționare

Peretele celular al bacterii rezistente la acizi are un procent ridicat de ceară și lipide și, din acest motiv, absoarbe coloranții foarte lent. Cea mai eficientă metodă de colorare este colorarea la cald conform metodei Ziehl-Neelsen. În această metodă, soluția de carbol-fucsină este aplicată specimenului și încălzită. Acest proces de încălzire accelerează rata la care colorantul de fucsină este absorbit și, prin urmare, și rata de formare a complexului acid micolic - fucsină în peretele celular. 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. Cu setului de colorare AFB-color modificat, sunt contracolorate cu albastru de metilen. Pretratarea specimenelor cu Sputofluor™ dizolvă bacteriile din sputa vâscoasă și materialul celular din jur.

Eșantion de probă

Frotiuri de probe bacteriologice care au fost uscate la aer, fixate la căldură și pretratate cu Sputofluor™, de exemplu sputa, frotiurile din biopsii aspirative cu ac fin (FNAB), spălături, imprimări, scurgeri, puroi, exsudate, culturi lichide și solide

Reactivi

Cat. nr.	AFB-Color modificat
1.00497.0001	kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald

Componentele pachetului:

Kitul de colorare conține

Reactiv 1:	Soluție Ziehl-Neelsen de carbol-fucsină	500 ml
Reactiv 2:	Acid clorhidric în etanol	2 x 500 ml
Reactiv 3:	Albastru de metilen - soluție Löffler	500 ml

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. 1.08000	Sputofluor™ pentru microscopie	1 l
------------------	--------------------------------	-----

Reactivi individuali

În locul kitului de colorare 1.00497.0001, poate fi utilizată următoarea combinație de reactivi:

Cat. nr. 1.09215	Soluție Ziehl-Neelsen de carbol-fucsină pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.01287	Albastru de metilen - soluție Löffler pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.00327	Acid clorhidric în etanol, pentru microscopie	1 l, 5 l

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.

Sputa

Bacterii rezistente la acizi trebuie pretatate cu Sputofluor™ pentru a le dizolva din mucus și din structurile celulare. În acest proces, ingredientul activ hipoclorit dizolvă materialul organic prin oxidare și eliberează ușor bacterii rezistente la acizi, astfel încât acestea să poată fi procesate în continuare.

Prepararea reactivului: Pregătirea soluției de Sputofluor™ 15%

Pentru prepararea a aprox. 100 ml soluție, amestecați:

Sputofluor™	15 ml
Apă distilată	85 ml

Pregătirea eșantionului de probă în tuburi centrifuge:	
Probă	1 parte (min. 2 ml)
Soluție de Sputofluor™ (15% în apă distilată)	3 părți
Agitați puternic	10 min
Centrifugați la 3000 - 4800 rpm	20 min
Decantați supernatantul Preparați frotiuri din sediment Uscare la aer	

Puncții, spălături, sedimente

După măsurile adecvate de îmbogățire, aplicați eșantionul de probă pe lamă și lăsați să se usuce la aer.

Fixarea probelor de frotii

Specimenele sunt fixate deasupra unui arzător Bunsen (de 2 - 3 ori, având grijă să evitați încălzirea excesivă).

Specimenele pot fi fixate și prin încălzirea la 100 - 110 °C într-o cameră de uscare sau pe o placă de încălzire timp de 20 de min.

Temperaturile excesive sau încălzirea prelungită pot cauza o deteriorare a performanței de colorare.

Prepararea reactivului

Reactivii din AFB-Color modificat - kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald sunt gata de utilizare, diluarea soluțiilor nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Procedură

Colorarea pe suportul de colorare

Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu frotiu fixat		
Reactiv 1 (soluție Ziehl-Neelsen de carbol-fucsină)	acoperiți complet, încălziți cu atenție de trei ori de dedesubt cu arzătorul Bunsen până când se formează aburi Nu lăsați soluția de colorare să fiarbă!	colorați timp de 5 min în total
Apă de la robinet	clătiți până când nu se mai produc efecte noi de culoare	
Reactiv 2 (acid clorhidric în etanol)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	15 - 30 sec.*
Apă de la robinet	clătiți imediat	
Reactiv 3 (albastru de metilen - soluție Löffler)	contracolorare, acoperiți complet și lăsați să reacționeze	30 sec.**

Apă de la robinet	clătiți cu atenție	
Uscați la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)		

* în funcție de grosimea specimenului
**sau 1 min. cu reactiv 3 (albastru de metilen - soluție) diluată (diluție: 1:10 (1+9) cu apă distilată)

Acoperirea cu medii de montare ne-apoase (de ex. Neo-Mount™, Entellan™, DPX nou sau Entellan™ nou) este recomandată pentru depozitarea specimenelor bacteriologice pentru o perioadă de câteva luni. În acest scop, speciemenele colorate trebuie uscate foarte bine.

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

Rezultat

Bacterii rezistente la acizi	roșu
Fundal	albastru

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

Fixarea probelor de frotiu

Un grad suficient de fixare la căldură, folosind arzătorul Bunsen sau într-o cameră de încălzire, este esențial pentru a preveni potențialul infecțios al specimenelor și proliferarea ulterioară a bacteriilor.

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.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical. Atunci când folosiți 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

„AFB-Color modificat - kit de colorare” 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, deciziile privind controalele adecvate și multe altele.

Performanța analitică a produsului este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție. Participarea cu succes la testele interlaboratoare internaționale în mod regulat oferă o confirmare suplimentară și neafiliată a specificității analitice și repetabilității.

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

	Specificitate inter-test	Sensitivitate inter-test	Specificitate intra-test	Sensitivitate intra-test
Colorarea Ziehl-Neelsen				
Bacterii rezistente la acizi	17/17	17/17	6/6	6/6
Fundal	17/17	17/17	6/6	6/6

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

În plus, performanța clinică a acestui produs a fost dovedită cu succes în mai multe publicații științifice.

AFB-Color modificat - kit de colorare a fost utilizat cu succes în contextul clinic de zeci de ani într-un număr mare de aplicații.

Performanța clinică a AFB-Color modificat - kit de colorare, în special, a fost determinată prin stabilirea sensibilității și specificității acesteia într-un studiu intern:

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

Sensibilitate: 15 mostre din 15: 100%
Specificitate: 15 mostre din 15: 100%

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. Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte.

Depozitarea

Depozitați AFB-Color modificat - kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald la +15 °C până la +25 °C.

Durata de depozitare

AFB-Color modificat - kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald 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 până la 250 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. Dacă este necesar, utilizați o centrifugă standard adecvată pentru laboratorul pentru diagnostic medical.

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. 1.00327	Acid clorhidric în etanol, pentru microscopie	1 l, 5 l
Cat. nr. 1.00579	DPX nou mediu de montare neapos pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.01287	Albastru de metilen - soluție Löffler pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.01597	AFB-Fluor fără fenol Kit de colorare pentru examinarea bacteriilor rezistente la acizi cu microscopie fluorescentă (colorarea cu auramină - rodamină)	1 set
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml

Cat. nr. 1.07960	Entellan™ de montare rapid montare pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.08000	Sputofluo™ pentru microscopie	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. 1.09215	Soluție Ziehl-Neelsen de carbol-fucsină pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.09843	Neo-Clear™ (substituit de xilen) pentru microscopie	5 l
Cat. nr. 1.16450	AFB-Color - kit de colorare pentru investigare microscopica bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	1 set

Categoria de risc

Cat. nr. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reactiv 1 sau Cat. nr. 1.09215

C.I. 42520 sau C.I. 42510 6,3 g/l*

C₆H₅OH 40 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

HCl 0,75 %

conține C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reactiv 3 sau Cat. nr. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l

C₂H₅OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.

H290: Poate fi corosiv pentru metale.

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.

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/ protecție a auzului.

P303 + P361 + P353: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Scoateți imediat toată îmbrăcăminte 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.

Reactiv 3:

H226: Lichid și vapori inflamabili.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jun-03	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-Jun-03

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 surse disponibile public.



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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.00497.0001 **REF**

Mikroskopi

AFB-Color modificeret

kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning)

Kun til professionel brug



Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose



Beregnet formål

Dette "AFB-Color modificeret" - kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning) anvendes til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til bakteriologisk 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 (syrefaste bakterier (AFB)) ved fiksering, farvning, kontrastfarvning, montering i bakteriologiske prøvematerialer, eksempelvis i udstrygninger af berigede bakteriekulturer, der kan evalueres til diagnoseformål.

AFB-Color-modificeret farvnings sæt benytter den klassiske Ziehl-Neelsen varmfarvningsprocedure og kan anvendes til farvning på farvningsstativet. 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. Der skal udføres yderligere tests iht. anerkendte og gyldige metoder for at fastlægge en definitiv diagnose.

Princip

Syrefaste bakterier cellevæg har en høj andel voks og lipider og absorberer derfor farvestoffer meget langsomt. Den mest effektive farvningsmetode er varm farvning i henhold til Ziehl-Neelsen. I forbindelse med denne metode påføres prøven karbolfuchsinopløsning og opvarmes. Denne opvarmning øger hastigheden af absorberingen af fuchsinfarvestoffet og dermed også af dannelsen af mycolat-fuchsin-komplekset i cellevæggen. 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. Dette AFB-Color-modificeret farvnings sæt udføres kontrastfarvningen med methylenblåt. Ved forbehandling af prøverne med Sputofluor™ opløses bakterierne fra det klæbrige spyt og cellemateriale, der omgiver dem.

Prøvemateriale

Udstrygninger af bakteriologisk materiale, som er blevet lufttørret og forbehandlet med Sputofluor™ såsom sputum, udstrygninger fra finåls-aspirations-biopsi (FNAB), skylninger, aftryk, effusioner, pus, eksudater, flydende og faste kulturer

Reagenser

Varenr. 1.00497.0001 AFB-Color modificeret kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning)

Pakkens komponenter:

Farvesættet indeholder

Reagens 1:	Ziehl-Neelsens karbolfuchsinopløsning	500 ml
Reagens 2:	Saltsyre i ethanol	2 x 500 ml
Reagens 3:	Löfflers methylenblåopløsning	500 ml

Også påkrævet:

Varenr. 1.08000 Sputofluor™ til mikroskopi 1 l

Individuelle reagenser

Følgende kombination af reagenser kan anvendes i stedet for farvesættet 1.00497.0001:

Varenr. 1.09215	Ziehl-Neelsens karbolfuchsinopløsning til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.01287	Löfflers methylenblåopløsning til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.00327	Saltsyre i ethanol til mikroskopi	1 l, 5 l

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.

Sputum

Disse syrefaste bakterier bør forbehandles med Sputofluor™ for at opløse dem fra mucus og cellestrukturer. I forbindelse med denne proces opløser det aktive indholdsstof hypoklorit det organiske materiale ved oxidering og frigiver forsigtigt syrefaste bakterier med henblik på videre behandling.

Forberedelse af reagenserne: Fremstilling af Sputofluor™-opløsning 15 %

Til fremstilling af ca. 100 ml opløsningsblanding:

Sputofluor™	15 ml
Destilleret vand	85 ml

Forberedelse af prøvemateriale i centrifugeglas:	
Prøve	1 del (min. 2 ml)
Sputofluor™-opløsning (15 % i destilleret vand)	3 dele
Rystes grundigt	10 min.
Centrifugeres ved 3000 - 4800 omdr./min.	20 min.
Dekanter supernatanten Forbered udstrygninger af bundfaldet Lufttørres	

Punktater, udskylning, bundfald

Efter der er truffet passende berigelsesforanstaltninger, udstryges prøvematerialet på objektglasset og lufttørres.

Fiksering af smear-prøver

Prøverne fikseres over en bunsenbrænder (2 - 3 gange, undgå at opvarme dem for meget).

Prøverne kan også fikseres ved opvarmning på 100 - 110 °C i et tørreskab eller på en varmeplade i 20 min.

For høje temperaturer eller for lang tids opvarmning kan resultere i forringelse af farveresultatet.

Forberedelse af reagenserne

Reagenserne i AFB-Color modificeret - kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning) er klar til brug. Fortynding af opløsningerne er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningernes stabilitet.

Procedure

Farvning på farveracket

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

Objektglas med fikseret udstrygning		
Reagens 1 (Ziehl-Neelsens karbolfuchsinopløsning)	dækkes helt, opvarmes forsigtigt tre gange nedefra med en bunsenbrænder indtil der dannes damp Farveopløsningen må ikke koge!	farves i 5 min. i alt
Postevand	skyl indtil der ikke dannes flere farveskyer	
Reagens 2 (Saltsyre i ethanol)	skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	15 - 30 sek.*
Postevand	skyl omgående	
Reagens 3 (Löfflers methylenblåopløsning)	kontrastfarvning, skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	30 sek.**

Postevand	skyl omhyggeligt	
Skal lufttørre (f.eks. natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)		

- * Afhængigt af prøvens tykkelse
- ** Eller 1 min. med fortyndet reagens 3 (methylenblåt-opløsning) (fortyndelsesforhold: 1:10 (1+9) med destilleret vand)

Tildækning med ikke-vandige monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™, DPX ny eller Entellan™) og et dækglas anbefales med henblik på opbevaring af bakteriologiske prøver i flere måneder. Til dette formål skal de farvede prøver tørres meget omhyggeligt. Brugen af immersionsolie anbefales til analyse af farvede objektglas med en mikroskopforstørrelse på >40x.

Resultat

Syrefaste bakterier	rød
Baggrund	blå

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

Fiksering af smear-prøver

Tilstrækkelig varmefiksering ved hjælp af en bunsenbrænder eller i et varmeskab er vigtigt med henblik på at forhindre prøvernes infektionspotentialer og yderligere spredning af bakterierne.

Ingen farvning af syrefaste bakterier

Det kritiske trin i denne farvningsproces er affarvningstrinet, som kan påvirkes af prøveudstrykningens 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.

Tekniske bemærkninger

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

Analytiske ydeevnekarakteristika

”AFB-Color modificeret - farvningskit” 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, afgørelser angående egnede kontroller med mere.

Produktets analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktionsparti. Den vellykkede regelmæssige deltagelse i internationale interlaboratorieundersøgelser giver en ekstra og uafhængig bekræftelse af den analytiske specificitet og repeterbarhed.

For de følgende farver blev den analytiske ydeevne bekræftet med henblik på specificitet, sensitivitet og repeterbarhed for produktet med en rate på 100 %:

	Inter-un- dersøgelse specificitet	Inter-un- dersøgelse sensitivitet	Intra-un- dersøgelse specificitet	Intra-un- dersøgelse sensitivitet
Ziehl-Neel- sen-farvning				
Syrefaste bakterier	17/17	17/17	6/6	6/6
Baggrund	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Desuden er den kliniske ydeevne for dette produkt blevet dokumenteret i flere videnskabelige publikationer.

AFB-Color modificeret - farvningskit er blevet anvendt med vellykket resultat i kliniske miljøer i årtier med et højt antal anvendelser.

Den kliniske ydeevne for AFB-Color modificeret - farvningskit er isæt blevet konstateret ved at fastlægge dets følsomhed og specificitet i en intern undersøgelse:

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

Sensitivitet: 15 prøver ud af 15: 100 %
Specificitet: 15 prøver ud af 15: 100 %

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. Der skal udføres egnede kontroller ved hver anvendelse for at undgå forkerte resultater.

Opbevaring

AFB-Color modificeret - kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning) skal opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhed

AFB-Color modificeret - kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning) 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 forsvaret lukkede.

Kapacitet

Pakken er tilstrækkelig til op til 250 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. Brug om nødvendigt en standardcentrifuge, der egner sig til brug på et laboratorium i forbindelse med medicinsk diagnostik.

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. 1.00327	Saltsyre i ethanol til mikroskopi	1 l, 5 l
Varenr. 1.00579	DPX ny vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.01287	Löfflers methylenblåopløsning til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.01597	AFB-Fluor phenolfri farvningskit til undersøgelse af syrefaste bakterier med fluorescensmikroskopi (auramin-rhodaminfarvning)	1 set
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.07960	Entellan™ hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.08000	Sputofluo™ til mikroskopi	1 l
Varenr. 1.08298	Xylen (isomerisk blanding) til histologi	4 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfri indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 500 ml

Varenr. 1.09215	Ziehl-Neelsens karbolfuchsinopløsning til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylenerstatning) til mikroskopi	5 l
Varenr. 1.16450	AFB-Color farvningskit til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (kold farvning)	1 set

Reagens 2:

H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H290: Kan ætse metaller.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

Reagens 3:

H226: Brandfarlig væske og damp.

Fareklassificering

Varenr. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reagens 1 eller varenr. 1.09215

Farvenideks 42520 eller Farvenideks 42510 6,3 g/l*

 C_6H_5OH 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_2H_5OH

1 l = 0,90 kg

Reagens 3 eller Art. 1.01287

Farvenideks 52015 4,2 g/l

 C_2H_5OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 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

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H290: Kan ætse metaller.

H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

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/ høreværn.

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

P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: 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.

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.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jun-03	Første version med introduktion af revisionshistorik



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation

Skal bruges inden
ÅÅÅÅ-MM-DDTilladt
temperatur

Status 2024-Jun-03



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

www.sigmaaldrich.com**MERCK**

1.00497.0001

REF

Mikroskopiju

AFB-Color modificirani

komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja

Samo za profesionalnu uporabu

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod

CE

Namjena

Ovaj „AFB-Color modificirani – komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja“ koristi se za dijagnozu ljudskih stanica te služi u bakteriološkim 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 (acidorezistentne bakterije (AFB)) i to fiksiranjem, bojenjem, protuboženjem, poklapanjem u materijalima bakterioloških uzoraka, primjerice razmaze obogaćenih bakterijskih kultura, procjenjive u dijagnostičke svrhe.

Komplet za bojenje AFB-Color modificirani primjenjuje se uz klasičan postupak toplog bojenja po Ziehl i Neelsenu te se može upotrijebiti za bojenje na stalku za bojenje.

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. Daljnja ispitivanja moraju se provesti prema priznatim, valjanim metodama da bi se postavila konačna dijagnoza.

Princip

Stanična stijenka acidorezistentne bakterije ima visok udio voska i lipida te stoga boje apsorbira jedino vrlo polako. Najučinkovitija je metoda bojenja vruće bojenje prema Ziehl-Neelsenu. Ovom se metodom otopina karbol fuksina primjenjuje na uzorak i zagrijava. Taj proces zagrijavanja ubrzava stopu apsorbaranja boje fuksin, a time i formiranja mikolat-fuksin kompleksa u staničnoj stijenci.

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.

Ovaj Komplet za bojenje AFB-Color modificirani, protubojaju se u skladu s metilen plavom.

Predobradom uzoraka proizvodom Sputofluor™ otapaju se bakterije iz okolnog viscidnog sputuma i staničnog materijala.

Uzorak

Razmazi bakterioloških materijala koji su osušeni zrakom i fiksirani toplinom te prethodno tretirani proizvodom Sputofluor™, poput sputuma, razmaza iz aspiracijskih biopsija tankom iglom (FNAB), ispiranja, otisaka, efuzija, gnoja, eksudata i kultura u tekućem i krutom stanju

Reagensi

Kat. br. 1.00497.0001 AFB-Color modificirani komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja

Komponente pakiranja:

Komplet za bojenje sadrži

Reagens 1:	Ziehl-Neelsenova otopina karbol fuksina	500 ml
Reagens 2:	Kloridna kiselina u etanolu	2 x 500 ml
Reagens 3:	Löfflerova metilensko plava otopina	500 ml

Također potrebno:

Kat. br. 1.08000 Sputofluor™ za mikroskopiju 1 l

Pojedini reagensi

Umjesto kompleta za bojenje 1.00497.0001 može se upotrijebiti sljedeća kombinacija reagensa:

Kat. br. 1.09215	Ziehl-Neelsenova otopina karbol fuksina za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.01287	Löfflerova metilensko plava otopina za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.00327	Kloridna kiselina u etanolu za mikroskopiju	1 l, 5 l

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. Sljedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

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

Sputum

Acidorezistentne bakterije treba prethodno tretirati proizvodom Sputofluor™ da bi se razdvojile od sluzi i staničnih struktura. U ovom postupku aktivni sastojak hipoklorit otapa organske tvari oksidacijom i lagano otpušta acidorezistentne bakterije tako da se mogu dalje obrađivati.

Priprema reagensa: Priprema Sputofluor™ otopine, 15 %

Za pripremu pribl. 100 ml otopine:

Sputofluor™	15 ml
Destilirana voda	85 ml

Priprema uzorka u epruvetama za centrifugiranje:	
Uzorak	1 dio (min. 2 ml)
Sputofluor™ otopina (15 % u destiliranoj vodi)	3 dijelova
Snažno protresti	10 min
Centrifugirati pri 3000 – 4800 o/min	20 min
Dekantirati supernatant Pripremiti razmaze sedimenta Osušiti na zraku	

Punktati, ispiranja, sedimenti

Nakon poduzimanja odgovarajućih mjera obogaćivanja, razmažite uzorak na stakalce i ostavite ga da se osuši na zraku.

Fiksacija uzoraka razmaka

Uzorci se fiksiraju iznad plamena Bunsenova plamenika (2 – 3 puta, vodeći računa da se izbjegne prekomjerno zagrijavanje).

Uzorci se mogu fiksirati zagrijavanjem na 100 – 110 °C u komori za sušenje ili na grijaćoj ploči u trajanju od 20 min.

Previsoke temperature ili duže zagrijavanje mogu dovesti do pogoršanja učinkovitosti bojenja.

Priprema reagensa

Reagensi AFB-Color modificirani – komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja spremni su za uporabu, a razrjeđivanje otopina nije potrebno i samo pogoršava rezultate bojenja i njihovu stabilnost.

Postupak

Bojenje na podlozi za bojenje

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce s fiksiranim razmazom		
Reagens 1 (Ziehl-Neelsenova otopina karbol fuksina)	u potpunosti pokrijte i pažljivo zagrijavajte tri puta odozdo Bunsenovim plamenikom dok se ne stvori para Nemojte dopustiti da otopina za bojenje zakuha!	bojite ukupno 5 min
Voda iz slavine	ispirite dok se više ne proizvode oblaci boje	
Reagens 2 (klorovodična kiselina u etanolu)	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	15-30 s*
Voda iz slavine	odmah isperite	

HR

Reagens 3 (Löfflerova metilensko plava otopina plavog)	protubojenje, u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	30 s**
Voda iz slavine	oprezno isperite	
Sušenje zrakom (npr. preko noći pri 50 °C u komori za sušenje)		

- * ovisno o debljini uzorka
- **ili 1 min s razrijeđenom reagens 3 (metilensko plavom otopinom) (razrjeđivanje: 1:10 (1+9) s destiliranom vodom)

Pokrivanje s medijem za poklapanje bez vode (npr. Neo-Mount™, Entellan™, Novi DPX ili Novi Entellan™) i stakleni pokrov preporučuju se za pohranu bakterioloških uzoraka na nekoliko mjeseci. Obojani uzorci moraju se u tu svrhu vrlo dobro osušiti.

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

Rezultat

Acidorezistentne bakterije	crveno
Pozadina	plava

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).

Otklanjanje poteškoća

Fiksacija uzoraka razmaka

Neophodna je određena razina fiksiranja toplinom s pomoću Bunsenova plamenika da bi se spriječio zarazni potencijal uzorka i daljnje širenje bakterija.

Ne dolazi do bojenja acidorezistentne bakterije

Ključan korak tog postupka bojenja jest korak dekolorizacije, na koji može utjecati debljina razmaza uzorka.

Uz to, svježja 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.

Tehničke napomene

Upotrebljavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Prilikom upotrebe automatske opreme za bojenje slijedite upute za uporabu dobavljača sustava i softvera.

Prije punjenja uklonite suvišno imerzijsko ulje.

Značajke analitičke učinkovitosti

„AFB-Color modificirani - komplet za bojenje“ 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 ostaloga, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd.

Analitička učinkovitost ovog proizvoda potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije. Uspješno redovito sudjelovanje u međunarodnim među-laboratorijskim ispitivanjima pruža dodatnu i nezavisnu potvrdu analitičke specifičnosti i ponovljivosti.

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
Ziehl-Neelsen bojenje				
Acidorezistentne bakterije	17/17	17/17	6/6	6/6
Pozadina	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Klinička učinkovitost ovog proizvoda također je uspješno dokazana u nekoliko znanstvenih radova.

AFB-Color modificirani - komplet za bojenje desetljećima se uspješno upotrebljava u kliničkom okruženju za velik broj primjena.

Klinička učinkovitost AFB-Color modificirani - komplet za bojenje posebno je određena utvrđivanjem njegove osjetljivosti i specifičnosti internoj studiji:

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

Osjetljivost: 15 uzoraka od 15: 100 %
Specifičnost: 15 uzoraka od 15: 100 %

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

Međutim, kvalificirani i ovlaštteni 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 prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati.

Skладиštenje

Pohranite AFB-Color modificirani - komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja na +15 °C do +25 °C.

Rok uporabe

AFB-Color modificirani - komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja može se upotrebljavati do navedenog datuma trajanja.

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 do 250 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. Ako je to potrebno, upotrebljavajte standardnu centrifugu prikladnu za medicinski dijagnostički laboratorij.

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 odlaganju 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. 1.00327	Kloridna kiselina u etanolu za mikroskopiju	1 l, 5 l
Kat. br. 1.00579	Novi DPX nevođeni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.01287	Löfflerova metilensko plava otopina za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.01597	AFB-Fluor bez fenola Komplet za bojenje za pregled acidorezistentnih bakterija fluorescentne mikroskopije (Auramine-Rhodamine bojenje)	1 set
Kat. br. 1.04699	Imerziona ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.07960	Entellan™ medij za brzo uklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklapanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l

Kat. br. 1.08000	Sputofluo TM za mikroskopiju	1 l
Kat. br. 1.08298	Ksilen (izomerna smjesa) za histologiju	4 l
Kat. br. 1.09016	Neo-Mount TM bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.09215	Ziehl-Neelsenova otopina karbol fukšina za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.09843	Neo-Clear TM (zamjena za ksilen) za mikroskopiju	5 l
Kat. br. 1.16450	AFB-Color set za bojenje za mikroskopsko istraživanje acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)	1 set

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reagens 1 ili kat. br. 1.09215

C.I. 42520 ili C.I. 42510 6,3 g/l*
C₆H₅OH 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 C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reagens 3 ili Art. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Lako zapaljiva tekućina i para.

H290: Može nagrizati metale.

H314: Uzrokuje teške opekline kože i ozljede 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/ zaštitu sluha.

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.

Reagens 3:

H226: Zapaljiva tekućina i para.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jun-03	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-Jun-03

Działalność w segmencie Life Science firmy Merck odbywa się pod marką MilliporeSigma w USA i Kanadzie.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/lub jej spółki stowarzyszone. Wszelkie prawa zastrzeżone. Merck i Sigma-Aldrich to znaki towarowe firmy Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Wszystkie inne znaki towarowe należą do ich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych są dostępne w publicznie dostępnych zasobach.



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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.00497.0001



Mikroskopia

AFB-Color zmodyfikowany

zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco

Wyłącznie do użytku przez specjalistów



Urządzenia medyczne do diagnostyki *in vitro*



Przeznaczenie

„AFB-Color zmodyfikowany - zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco” jest stosowany w cytologicznej diagnostyce klinicznej do badania bakteriologicznego materiału pobieranego od pacjentów. Ten zestaw do barwienia, w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki *in vitro* z naszej oferty, umożliwia ocenę diagnostyczną bakteryjne i grzybicze struktur docelowych (bakterii kwasoopornych (AFB) poprzez utrwalanie, barwienie, barwienie kontrastowe, zamykanie) preparatów bakteriologicznych przygotowanych z materiału pobranego od pacjentów, na przykład rozmazach materiału z hodowli prowadzonych na podłożach wzbogacających różnicujących.

Zestaw do barwienia AFB-Color zmodyfikowany wykorzystuje klasyczną procedurę barwienia na gorąco Ziehla-Neelsena i może być stosowany do barwienia na statywie do barwienia.

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnić i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Aby postawić ostateczną diagnozę, należy wykonać dalsze badania, stosując uznane i sprawdzone metody.

Zasada działania

Ściany komórkowe bakterii kwasoopornych zawierają dużą ilość wosków i lipidów, wskutek czego bardzo powoli wchłaniają barwniki. Najefektywniejszą metodą barwienia jest barwienie na gorąco metodą Ziehla-Neelsena. Metoda ta polega na pokryciu preparatu roztworem fuksyny karbolowej i ogrzaniu. Proces ogrzewania przyspiesza wchłanianie fuksyny i, co za tym idzie, powstawanie kompleksów mykolo-fuksynowych w ścianie komórki.

Gdy bakterii kwasoopornych wchłoną 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 alkohooloporne dla celów barwienia, a pod mikroskopem przybierają one czerwone zabarwienie. Wszystkie drobnoustroje niekwasooporne należy natomiast poddać barwieniu kontrastowemu odpowiednim barwnikiem.

Ten zestaw do barwienia AFB-Color zmodyfikowany zakłada barwienie kontrastujące z użyciem błękitu metylenowego. Oczyszczenie próbek roztworem Sputofluor™ powoduje uwolnienie bakterii z otaczającej gęstej płwociny i materiału komórkowego.

Materiał próbek

Wysuszone na powietrzu, utrwalone przez podgrzewanie i poddane działaniu preparatu Sputofluor™ rozmazy materiału bakteriologicznego takiego jak płwocina, rozmazy z biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, popłuczyny, odciski, wysięki, płyn przesiękowy, ropa i hodowle płynne lub stałe

Odczynniki

Nr kat. 1.00497.0001 AFB-Color zmodyfikowany zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera

Odczynnik 1:	Fuksyna karbolowa Ziehla-Neelsena, roztwór	500 ml
Odczynnik 2:	Kwas solny, roztwór etanolowy	2 x 500 ml
Odczynnik 3:	Błękit metylenowy Löfflera, roztwór	500 ml

Również wymagane:

Nr kat. 1.08000 Sputofluor™ do mikroskopii 1 l

Poszczególne odczynniki

Zamiast zestawu do barwienia 1.00497.0001 można użyć poniższej kombinacji odczynników:

Nr kat. 1.09215	Fuksyna karbolowa Ziehla-Neelsena, roztwór do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.01287	Błękit metylenowy Löfflera, roztwór do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.00327	Kwas solny, roztwór etanolowy do mikroskopii	1 l, 5 l

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.

Płwocina

Bakterii kwasoopornych należy wstępnie poddać działaniu preparatu Sputofluor™, aby uwolnić je ze śluzu i struktur komórkowych. W tym procesie składnik czynny – podchloryn – rozpuszcza materiał organiczny utleniając go i delikatnie uwalnia bakterii kwasoopornych, umożliwiając ich dalsze barwienie.

Przygotowywanie odczynnika: Przygotowywanie Sputofluor™, roztwór 15% W celu przygotowania ok. 100 ml roztworu, należy zmieszać:

Sputofluor™	15 ml
Woda destylowana	85 ml

Przygotowywanie próbek w probówkach wirowniczych.	
Próbka	1 część (min. 2 ml)
Sputofluor™ (roztwór 15% w wodzie destylowanej)	3 części
Energicznie wstrząsając.	10 min.
Odwirować przy 3000 - 4800 obr./min.	20 min.
Zdekantować supernatant. Przygotować rozmazy osadu. Wysuszyć na powietrzu	

Materiał z punkcji, popłuczyny, osady

Po odpowiednim wzbogaceniu należy wykonać rozmaz materiału na szkiełku podstawowym i pozostawić do wyschnięcia na powietrzu.

Utrwalanie próbek rozmazu

Próbki są utrwalane nad płomieniem palnika Bunsena (2-3 razy – należy uważać, aby nie dopuścić do nadmiernego ogrzania).

Próbki można także utrwalić, ogrzewając je w temp. 100 - 110°C w suszarce lub na płytce grzejnej przez 20 minut.

Zbyt wysoka temperatura lub zbyt długie ogrzewanie może doprowadzić do pogorszenia wyników barwienia.

Przygotowywanie odczynników

Odczynniki wchodzące w skład AFB-Color zmodyfikowany - zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco są gotowe do użycia, ich rozcieńczanie nie jest wymagane i prowadzi do pogorszenia wyników barwienia i jego stabilności.

Procedura

Barwienie na statywie do barwienia

W celu zagwarantowania optymalnych rezultatów barwienia należy stosować się do zalecanych czasów.

Szkiełko z utrwalonym rozmazem		
Odczynnik 1 (fuksyna karbolowa Ziehla-Neelsena, roztwór)	Dokładnie przykryć, ostrożnie trzykrotnie ogrzać od spodu na palniku Bunsena aż do powstania pary. Nie dopuścić do zagotowania się roztworu do barwienia!	barwić łącznie przez 5 min.
Woda z kranu	splukiwać aż do ustania powstawania obłoków barwnika.	
Odczynnik 2 (kwas solny w etanolu)	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	15 - 30 sek.*
Woda z kranu	natychmiast splukać.	
Odczynnik 3 (błękit metylenowy Löfflera, roztwór)	counterstaining, dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	30 sek.**
Woda z kranu	ostrożnie splukać	
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)		

* w zależności od grubości skrawka
**lub 1 min z użyciem rozcieńczonego odczynnik3 (roztworu błękitu metylenowego) (rozcieńczenie: 1:10 (1+9) z wodą destylowaną)

Na potrzeby przechowywania preparatów bakteriologicznych przez kilka miesięcy zalecane jest użycie bezwodnego odczynnika do zamykania preparatów (np. Neo-Mount™, Entellan™, DPX nowy lub nowego Entellan™ nowy) i szkiełka nakrywkowego. W tym celu należy bardzo dokładnie osuszyć barwione preparaty. Użycie olejku immersyjnego jest zalecane na potrzeby analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopowym >40x.

Wynik

Bakterii kwasooporne	czerwony
Tłło	niebieski

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

Utrwalanie próbek rozmazu

Odpowiedni stopień utrwalenia preparatów za pomocą palnika Bunsena lub suszarki ma zasadnicze znaczenie dla zapobiegania infekcjom i dalszemu namnażaniu się bakterii.

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.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi laboratorium diagnostyki medycznej. Podczas korzystania z automatycznych systemów barwiących należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta systemu i oprogramowania. Przed przystąpieniem do przechowywania należy usunąć nadmiar olejku immersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

„AFB-Color zmodyfikowany - zestaw do barwienia” 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, decyzji dotyczących odpowiednich kontroli i innych.
Wydajność analityczna produktu jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej. Regularny udział w międzynarodowych badaniach międzylaboratoryjnych stanowi dodatkowe, niezależne potwierdzenie swoistości i powtarzalności analizy.
Dla poniższych barwników, w zakresie paramterów analitycznych wymienionych poniżej, potwierdzono, że wskaźnik swoistości, czułości i powtarzalności produktu wynosi 100%:

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz-seryjna	Czułość wewnątrz-seryjna
Barwienie metodą Ziehl-Neelsen				
Bakterii kwasooporne	17/17	17/17	6/6	6/6
Tłło	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Ponadto wydajność kliniczna tego produktu została z powodzeniem potwierdzona w wielu publikacjach naukowych.
AFB-Color zmodyfikowany - zestaw do barwienia jest z powodzeniem wykorzystywany w wielu zastosowaniach w warunkach klinicznych od kiludziesięciu lat.
Wydajność kliniczna AFB-Color zmodyfikowany - zestaw do barwienia w szczególności została określona poprzez ustalenie jego czułości i swoistości w badaniu wewnątrzrym:

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

Czułość: 15 z 15 próbek: 100%
Swoistość: 15 z 15 próbek: 100%

Wyniki niniejszej Oceny Wydajności potwierdzają, że produkt jest odpowiedni 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 odpowiednich kontroli oraz dodatkowych badań diagnostycznych, jeśli jest to wskazane. 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.
Należy wyznaczyć i przeprowadzić dalsze badania zgodnie z uznanymi metodami.
Podczas każdego zastosowania należy korzystać z materiałów kontrolnych w celu zweryfikowania wyników.

Przechowywanie

AFB-Color zmodyfikowany - zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco należy przechowywać w temperaturze od +15°C do +25°C.

Okres przydatności do użycia

AFB-Color zmodyfikowany - zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco nie należy używać po upływie wskazanego terminu przydatności do użycia.
Po otwarciu butelki po raz pierwszy zawartość nadaje się do użycia do wskazanego terminu przydatności do użycia, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze od +15°C do +25°C.
Podczas przechowywania butelki powinny zawsze pozostawać szczelnie zamknięte.

Wielkość opakowania

Opakowanie wystarcza na maksymalnie 250 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 obowiązującym normom.
W razie potrzeby należy użyć standardowej wirówki spełniającej wymagania pracowni diagnostyki medycznej.

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 dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 1.00327	Kwas solny, roztwór etanolowy do mikroskopii	1 l, 5 l
Nr kat. 1.00579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.01287	Błękit metylenowy Löfflera, roztwór do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.01597	AFB-Fluor, niezawierający fenolu zestaw do barwienia do badania bakterii kwasoopornych metodą mikroskopii fluorescencyjnej (barwienie auraminą i rodaminą)	1 set
Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.07960	Entellan™ środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	500 ml
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.08000	SputoFluor™ do mikroskopii	1 l
Nr kat. 1.08298	Ksylene (mieszanina izomerów) do histologii	4 l
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 1.09215	Roztwór Ziehla-Neelsena: fuksyna, karbolowa, roztwór do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.09843	Neo-Clear™ (zamiennik ksylenu) do mikroskopii	5 l
Nr kat. 1.16450	AFB-Color zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno)	1 set

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Odczynnik 1 lub Nr kat. 1.09215

C.I. 42520 lub C.I. 42510

6,3 g/l*

C₆H₅OH

40 g/l

1 l = 0,99 kg

* Do przygotowania roztworu można użyć obu barwników, wyniki barwienia charakteryzują 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 lub Art. 1.01287

C.I. 52015

4,2 g/l

C₂H₅OH

190 g/l

pH

8,0 - 8,6

1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H290: Może powodować korozję metali.

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.

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/ ochronę słuchu.

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.

Odczynnik 3:
H226: Łatwopalna ciecz i pary.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jun-03	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-Jun-03

1.00497.0001 **REF****Microscopia****AFB-Color Modificado**

kit de coloração para detecção de bactérias ácidosresistentes por método de coloração a quente

Apenas para utilização profissional

IVDDispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro***Finalidade prevista**

O presente "AFB-Color Modificado - kit de coloração para detecção de bactérias ácidosresistentes por método de coloração a quente" é utilizado para diagnóstico médico de célula humana e serve para investigação bacteriológica 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, coloração, contracoloração, montagem, em material de amostras bacteriológicas, por exemplo, esfregaços de culturas bacterianas enriquecidas, avaliáveis para fins de diagnóstico.

O kit de coloração AFB-Color Modificado baseia-se no procedimento clássico de coloração a quente segundo Ziehl-Neelsen e pode ser utilizado para coloração no suporte de coloração.

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. Têm de ser efetuados testes adicionais, de acordo com métodos válidos reconhecidos, para se obter 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. 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. Neste kit de coloração AFB-Color modificado, a contracoloração é efetuada em azul-de-metileno.

As bactérias são separadas do esputo espesso e do material celular através de um pré-tratamento das amostras com Sputofluor™.

Material da amostra

Esfregaços de material bacteriológico que tenham sido secos ao ar e fixados a quente pré-tratados com Sputofluor™, como esputo, esfregaços de biópsias de aspiração por agulha fina (FNAB), enxaguamentos, impressões, efusões, pus, exsudados, culturas líquidas e sólidas

Reagentes

Cat. n.º 1.00497.0001

AFB-Color Modificado

kit de coloração para detecção de bactérias ácidosresistentes por método de coloração a quente

Componentes da embalagem:

O kit de coloração contém

Reagente 1: Solução de carbol fucsina de Ziehl-Neelsen 500 ml
Reagente 2: Ácido clorídrico em etanol 2 x 500 ml
Reagente 3: Solução de azul de metileno de Löffler 500 ml

Também necessário:

Cat. n.º 1.08000 Sputofluor™ 1 l
para microscopia

Reagentes individuais

Em vez do kit de coloração 1.00497.0001, pode ser utilizada a seguinte combinação de reagentes:

Cat. n.º	1.09215	Solução de carbol fucsina de Ziehl-Neelsen para microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.01287	Solução de azul de metileno de Löffler para microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.00327	Ácido clorídrico em etanol para microscopia	1 l, 5 l

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.

Esputo

Para a libertação de bactérias ácidosresistentes de muco e de estruturas celulares, o esputo deve ser pré-tratado com Sputofluor™. A substância ativa hipoclorito dissolve o material orgânico por via oxidativa e liberta suavemente os bactérias ácidosresistentes.

Preparação dos reagentes: Preparação de Sputofluor™ Solução a 15%

Para a preparação de cerca de 100 ml de solução deve misturar-se:

Sputofluor™	15 ml
Água destilada	85 ml

Conjunto de amostras no tubo da centrífuga:	
Amostra	1 parte (mín. 2 ml)
Sputofluor™ Solução (a 15% em água destilada)	3 partes
Agitar vigorosamente	10 min.
Centrifugar a 3000 - 4800 U/min	20 min.
Decantar o sobrenadante Espalhar o sedimento Secar ao ar	

Aspirados, lavados, sedimentos

Após as etapas de enriquecimento adequadas, espalhar as amostras na lâmina e deixar secar ao ar.

Fixação das amostras de esfregaço

A fixação é efetuada sobre a chama do bico de Bunsen (2 - 3 vezes evitando uma grande exposição ao calor).

O material também pode ser fixado durante 20 min a 100–110 °C numa câmara de secagem ou numa placa de aquecimento.

No caso de temperaturas mais elevadas ou um aquecimento mais prolongado, deve contar-se com uma deterioração do desempenho de coloração.

Preparação do reagente

Os reagentes utilizados para a coloração do AFB-Color Modificado - kit de coloração para detecção de bactérias ácidosresistentes por método de coloração a quente estão prontas a usar; não é necessária diluição das soluções.

Procedimento**Coloração no rack de coloração**

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

Lâmina com esfregaço fixo		
Reagente 1 (solução de carbol fucsina de Ziehl-Neelsen)	cobrir na totalidade, aquecer com um bico de Bunsen 3 x por baixo até à formação de vapor A solução de coloração não pode ferver!	corar durante 5 min. no total
Água de torneira	enxaguar até não libertar mais cor	
Reagente 2 (ácido clorídrico em etanol)	cobrir na totalidade e deixar atuar	15 - 30 seg.*
Água de torneira	enxaguar imediatamente	

Reagente 3 (solução de azul de metileno de Löffler)	contracoloração, cobrir na totalidade e deixar atuar	30 seg.**
Água de torneira	enxaguar minuciosamente	
Secar ao ar (p.ex., durante a noite ou a 50°C na estufa de secagem)		

* independentemente da espessura do material
** ou 1 minuto com o reagente 3 (solução de azul-de-metileno) diluído (diluição: 1:10 (1+9) com água destilada)

Recomenda-se a cobertura com meios de montagem não-aquosos (p.ex., Neo-Mount™, Entellan™, DPX novo ou Entellan™ Novo) e com um vidro de cobertura, para armazenar amostras bacteriológicas durante vários meses. Para esse efeito, as amostras coloridas têm de ser muito bem secas. A utilização de óleo de imersão é recomendada para análise de lâminas coloridas com ampliação microscópica de >40x.

Resultado

Bactérias ácidorresistentes	vermelho
Fundo	azul

Avaliação

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

Resolução de anomalias

Fixação de amostras em esfregaço

É essencial um determinado grau de termofixação com um bico de Bunsen ou numa estufa de calor, a fim de evitar o potencial infeccioso das amostras e demais proliferação das bactérias.

Sem coloração das bactérias ácidorresistentes

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.

Notas técnicas

O microscópio usado deverá cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico. Ao utilizar 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

“AFB-Color Modificado - kit de coloração” 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, decisões relativamente a controlos adequados e mais.

O desempenho analítico do produto é confirmado através da testagem de todos os lotes de produção. A participação bem-sucedida em testes interlaboratoriais internacionais a intervalos regulares proporciona uma confirmação adicional e independente da especificidade analítica e da repetibilidade.

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 de Ziehl-Neelsen				
Bactérias ácidorresistentes	17/17	17/17	6/6	6/6
Fundo	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Além disso, o desempenho clínico deste produto foi comprovado com êxito em diversas publicações científicas. O AFB-Color Modificado - kit de coloração foi utilizada durante décadas com sucesso em ambiente clínico num número elevado de aplicações.

O desempenho clínico do AFB-Color Modificado - kit de coloração em particular foi determinado através do estabelecimento da sua sensibilidade e especificidade num estudo interno:

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

Sensibilidade: 100 amostras em 15: 100 %
Especificidade: 15 amostras em 15: 100 %

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 a cada aplicação, a fim de evitar resultados incorretos.

Armazenamento

Armazene o AFB-Color Modificado - kit de coloração para detecção de bactérias ácidorresistentes por método de coloração a quente entre +15°C e +25°C.

Durabilidade

O AFB-Color Modificado - kit de coloração para detecção de bactérias ácidorresistentes por método de coloração a quente 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 aprox.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. Se necessário, utilize uma centrífugadora padrão adequada a laboratórios de diagnóstico médico.

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	1.00327	Ácido clorídrico em etanol para microscopia	1 l, 5 l
Cat. n.º	1.00579	DPX novo meio de montagem não aquoso para uso em microscopia	500 ml
Cat. n.º	1.01287	Solução de azul de metileno de Löffler para microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.01597	AFB-Fluor isento de fenol Kit de coloração para o exame de bactérias ácidorresistentes com microscopia de fluorescência (coloração com auramina-rodamina)	1 set
Cat. n.º	1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco de instalação de 100 ml, 100 ml, 500 ml

Cat. n.º	1.07960	Entellan™ Meio de montagem rápido, para a microscopia	500 ml
Cat. n.º	1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. n.º	1.08000	Sputofluo™ para microscopia	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	1.09215	Solução de carbol fucsina de Ziehl-Neelsen para microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.09843	Neo-Clear™ (substituto do xileno) para microscopia	5 l
Cat. n.º	1.16450	AFB-Color kit de coloração para análise de bactérias ácido-resistentes (AFB) por microscopia, coloração a frio	1 set

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.00497.0001

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 1.00497.0001	
Reagente 1 ou Cat. n.º 1.09215	
C.I. 42520 ou C.I. 42510	6,3 g/l*
C ₆ H ₅ OH	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 ou Cat. n.º 1.01287	
C.I. 52015	4,2 g/l
C ₂ H ₅ OH	190 g/l
pH	8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.

H290: Pode ser corrosivo para os metais.

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.

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.

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.

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.

Reagente 3:

H226: Líquido e vapores inflamáveis.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jun-03	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-Jun-03

1.00497.0001



Микроскопия

AFB-Color модифициран

Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване

Само за професионална употреба



Медицинско изделие за *in vitro* диагностика



Предназначение

Този „AFB-Color модифициран - Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване“ се използва за клетъчна диагностика в хуманната медицина и служи за бактериологично 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 оценими за диагностични цели (киселиноустойчиви бактерии (AFB) чрез фиксиране, оцветяване, контраоцветяване, поставяне върху предметно стъкло) в материал от бактериологични проби, например натривки от обогатени бактериални култури.

AFB-Color модифициран набор за оцветяване използва класическа процедура за горещо оцветяване по Ziehl-Neelsen и може да се използва за оцветяване върху стойката за оцветяване.

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. Трябва да се извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати, валидни методи, за да се достигне до дефинитивна диагноза.

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 карболфуксин разтвор и се загрева. Този процес на загряване ускорява бързината, с която фуксиновото багрило се абсорбира и следователно тази на образуване комплекса миколат-фуксин в клетъчната стена.

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.

This AFB-Color modified staining kit uses methylene blue as counterstain. Предварителното третиране на пробите със Sputofluor™ разтваря бактериите от заобикалящия вискозен материал от хрчка и клетки.

Материал на пробите

Натривки от бактериологичен материал, които са били изсушени на въздух и фиксирани чрез загряване и са предварително третирани със Sputofluor™, като хрчка, натривки от тънкоиглени аспирационни биопсии (FNAB), лаважи, отливки, изливи, гной, ексудати, течни и твърди култури

Реагенти

Кат. № 1.00497.0001

AFB-Color модифициран

Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване

Компоненти в опаковката:

Китът за оцветяване съдържа

Реагент 1: Карбол-фуксин разтвор на Цил-Нилсен	500 ml
Реагент 2: Солна киселина в етанол	2 x 500 ml
Реагент 3: Метиленово синьо разтвор по Льофлер	500 ml

Необходими са също:

Кат. № 1.08000 Sputofluor™ за микроскопия	1 l
---	-----

Единични реагенти

Вместо кита за оцветяване 1.00497.0001 може да се използва следната комбинация от реагенти:

Кат. № 1.09215	Карбол-фуксин разтвор на Цил-Нилсен за микроскопия	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Кат. № 1.01287	Метиленово синьо разтвор по Льофлер за микроскопия	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Кат. № 1.00327	Солна киселина в етанол за микроскопия	1 l, 5 l

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.

Хрчка

Киселиноустойчивите бактерии трябва да се третират предварително със Sputofluor™, за да се разтворят от слузта и клетъчните структури. В този процес активната съставка хипохлорит разтваря органичния материал чрез окисляване и нежно освобождава киселиноустойчивите бактерии, така че да могат да се обработят допълнително.

Подготовка на реагента: Подготовка на разтвор Sputofluor™ 15 %

За приготвяне на прилб. 100 ml разтвор смесете:

Sputofluor™	15 ml
Дестилирана вода	85 ml

Подготовка на материала от пробата в центрофужни епруветки:	
Проба	1 част (мин. 2 ml)
разтвор Sputofluor™ (15 % в дестилирана вода)	3 части
Разклатете енергично	10 мин.
Центрофугирайте при 3000 - 4800 rpm	20 мин.
Декантирайте супернатантата Подгответе натривки от седимента Изсушете на въздух	

Пунктати, лаважи, седименти

След подходящи мерки за обогатяване, направете натривка от материала на пробата върху предметното стъкло и оставете да изсъхне на въздух.

Фиксиране на натривките от проби

Пробите се фиксират над горелка Bunsen (2 - 3 пъти, като се избягва излишно загряване).

Пробите могат да се фиксират и чрез загряване при 100 - 110 °C в шкаф за изсушаване или върху загряваща плоча за 20 мин.

Прекомерни температури или продължително загряване могат да причинят влошаване на характеристиките на оцветяването.

Подготовка на реагентите

Реагенти на кита за AFB-Color модифициран - Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване са готови за употреба, не се налага разредяване на разтворите.

Процедура

Оцветяване на стойката за оцветяване

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

Предметно стъкло с фиксирана натривка		
Реагент 1 (карбол-фуксин разтвор на Цил-Нилсен)	покрийте напълно, загрейте внимателно три пъти отдолу с горелката Bunsen до образуване на пара Не оставайте разтвора за оцветяване да заври!	оцветявайте в продължение на общо 5 мин.
Чешмяна вода	изплаквайте, докато спрат да се образуват облачета багрило	
Реагент 2 (солна киселина в етанол)	покрийте напълно и оставете да протече реакция	15 - 30 сек.*
Чешмяна вода	изплакнете веднага	

Реагент 3 (метилено-во синьо разтвор по Льофлер)	контраоцветяване, покрийте напълно и оставете да протече реакция	30 сек.**
Чешмяна вода	изплакнете внимателно	
Изсушете на въздух (напр. за денонощие или при 50 °C в шкафа за изсушаване)		

* според дебелината на пробата
** или 1 мин. с разреден реагент 3 (разтвор на метиленово синьо) (разреждане: 1:10 (1+9) с дестилирана вода)

За съхранение на бактериологични проби за няколко месеца се препоръчва покриване с неводна среда за поставяне върху предметното стъкло (напр. Neo-Mount™, Entellan™, DPX Ново одер Entellan™ new) и с покривно стъкло. За тази цел оцветените проби трябва да се изсушат много добре.
Препоръчва се използване на имерсионно масло за анализ на оцветени предметни стъкла с микроскопско увеличение >40x.

Резултат

Киселинноустойчиви бактерии	червено
Фон	синьо

Оценка

Положителен резултат означава „открити са киселинноустойчиви бактерии“, а отрицателен резултат - „не са открити киселинноустойчиви бактерии“. Положителен резултат не означава, че е възможна таксономична класификация чрез микроскопия. Ако са открити киселинноустойчиви 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
Фиксиране на натривките от проби

Достатъчното фиксиране чрез загравяне с помощта на горелка Bunsen или в загравящ шкаф е от основно значение за предотвратяване на инфекциозния потенциал на пробите и последващата пролиферация на бактериите.

Липса на оцветяване на киселинноустойчиви 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.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на изискванията на медицинска диагностична лаборатория.
Когато се използват автоматични системи за оцветяване, моля, следвайте инструкциите за употреба, предоставени от доставчика на системата и софтуера.
Преди напълване отстранете излишното имерсионно масло.

Аналитични работни характеристики

„AFB-Color модифициран - набор за оцветяване“ 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, решения по отношение на подходящите контроли и други.
Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида. Успешното редовно участие в международни междулабораторни тестове осигурява допълнително и независимо потвърждение на аналитичните специфичност и повторямост.
Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повторямост на продукта на ниво 100 %:

	Специ- фичност между тестовите	Чувстви- телност между тестовите	Специ- фичност в рамките на теста	Чувстви- телност в рамките на теста
Оцветяване по Ziehl-Neelsen				
Киселинноустойчиви бактерии	17/17	17/17	6/6	6/6
Фон	17/17	17/17	6/6	6/6

Аналитични работни резултати

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

Клинични работни характеристики

Освен това клиничните работни характеристики на този продукт са доказани успешно в многобройни научни публикации.
AFB-Color модифициран - набор за оцветяване е използван успешно в клинична среда в продължение на десетилетия при голям брой приложения.
Клиничните характеристики на AFB-Color модифициран - набор за оцветяване по-специално са определени чрез установяване на чувствителността и специфичността му в собствено проучване:

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

Чувствителност: 15 от 15 проби: 100 %
Специфичност: 15 от 15 проби: 100 %

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, за да се избегне неправилен резултат.

Съхранение

Съхранявайте AFB-Color модифициран - Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване при +15 °C до +25 °C.

Срок на годност

Разтвор по AFB-Color модифициран - Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване 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 припл. 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.
Ако е необходимо, използвайте стандартна центрофуга, подходяща за медицинска диагностична лаборатория.

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. №	1.00327	Солна киселина в етанол за микроскопия	1 l, 5 l
Кат. №	1.00579	DPX Ново неводна среда за заливка при микроскопия	500 ml

Кат. №	1.01287	Метиленово синьо разтвор по Льофлер за микроскопия	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.01597	AFB-Fluor несъдържащ фенол Набор за оцветяване при изследване на киселиноустойчиви бактерии чрез флуоресцентна микроскопия (оцветяване с аурамин-родамин)	1 set
Кат. №	1.04699	Имерсионно масло за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 100 ml, 500 ml
Кат. №	1.07960	Entellan™ бърз среда за заливка за микроскопия	500 ml
Кат. №	1.07961	Entellan™ new бърз среда за заливка за микроскопия	100 ml, 500 ml, 1 l
Кат. №	1.08000	SputoFluoI™ за микроскопия	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. №	1.09215	Карбол-фуксин разтвор на Цил-Нилсен за микроскопия	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.09843	Neo-Clear™ (заместител на ксилол) за микроскопия	5 l
Кат. №	1.16450	AFB-Color Набор за оцветяване за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване)	1 set

Класификация на рисковете

Кат. № 1.00497.0001

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. № 1.00497.0001

Реагент 1 или Кат. № 1.09215

C.I. 42520 или C.I. 42510	6,3 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 ₆ H ₅ OH	
1 l = 0,90 kg	

Реагент 3 или Кат. № 1.01287

C.I. 52015	4,2 g/l
C ₆ H ₅ OH	190 g/l
pH	8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Силно запалими течност и пари.

H290: Може да бъде корозивно за металите.

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.

P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък и други източници на запалване. Тютюнопушенето е 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.

Реагент 3:

H226: Запалими течност и пари.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jun-03	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите



Направете справка в инструкциите за употреба



Производител



Каталожен номер



Код на партида



Внимание, направете справка в придружаващите документи



Срок на годност ГГГГ-ММ-ДД



Ограничение за температура

Status 2024-Jun-03

Лифе Сциенце подразделение на Merck функционира като MilliporeSigma в САЩ и Канада.

© 2024 Merck KGaA, Дармшат, Германия и/или техните филиали. Всички права запазени. Merck и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Дармшат, Германия. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки може да се намери в публично достъпните източници.



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

MERCK

1.00497.0001



Mikroszkópia

AFB-Color módosított

Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával

Csak professzionális használatra



In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz



Rendeltetés

Ez az "AFB-Color módosított - Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával" embergyógyászati sejt-diagnózisra használatos és célja humán eredetű mintaanyag bakteriológiai vizsgálata. Ez használatra kész színező készlet, amely termékkinálunk más *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva diagnosztikai célokra értékelhetővé teszi a bakteriális célstruktúrákat (pl. saválló baktériumok (AFB), rögzítés, színezés, kontraszt-színezés, bakteriális mintaanyagokba (pl. dúsított baktériumkultúrák keneteibe) berakás útján).

Az AFB-Color módosított festő kit a klasszikus Ziehl-Neelsen meleg színezési eljárást használja, és használható színezésre a színezőállványon.

Nem színezett struktúrák viszonylag alacsony kontrasztúak és fénymikroszkópban rendkívül nehezen megkülönböztethetőek. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálót az alak és a struktúrák jobb meghatározásában. További vizsgálatokat kell végezni elismert, érvényes módszerek szerint, definitív diagnózis felállítása céljából.

Elv

A saválló baktériumok sejtfaala 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 sejtfaalbeli képződését is.

Ha a saválló baktériumok már abszorbeálták a fukszin festéket, virtuálisan lehetetlen azokat újra színteleníteni, még színtelenítő 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 kontraszt-színezett.

Ez az AFB-Color módosított színező készlet metilénkéket használ kontraszt-növelőként.

A minták előkezelése Sputofluor™ szerrel leoldja a baktériumokat a környező ragadós köpetről és a sejtanyagról.

Mintaanyag

Levegőn szárított és hővel rögzített és Sputofluor™ anyaggal előkezelt bakteriológiai anyag (pl. köpet, finom tűvel leszívott biopsziák (FNAB), öblítések, lenyomatok, effúziók, genny, váladékok, folyékony és szilárd kultúrák) kenetei

Reagens

Kat. sz. 1.00497.0001

AFB-Color módosított
Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával

A csomag összetevői:

A színező készlet az alábbiakat tartalmazza

Reagens 1: Ziehl-Neelsen karbolfukszin oldat	500 ml
Reagens 2: Sósav, etanolban oldva	2 x 500 ml
Reagens 3: Löffler-féle metilénkék oldat	500 ml

Szintén szükséges:

Kat. sz. 1.08000 Sputofluor™ mikroszkópiához	1 l
--	-----

Egyedi reagens

Az 1.00497.0001 sz. színező készlet helyett a reagens alábbi kombinációja használható:

Kat. sz. 1.09215	Ziehl-Neelsen karbolfukszin oldat mikroszkópiai célra	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. sz. 1.01287	Löffler-féle metilénkék oldat mikroszkópiai célra	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. sz. 1.00327	Sósav, etanolban oldva mikroszkópiai célra	1 l, 5 l

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 reagens használatkor be kell tartani a megfelelő utasításokat.

Köpet

A saválló baktériumokat elő kell kezelni Sputofluor™ anyaggal, a köpetről, nyálkáról és sejtsztruktúrákról való leoldás céljából. Ebben a folyamatban a hipoklorit aktív összetevő leoldja a szerves anyagot oxidálással, és óvatosan kiszabadítja a saválló baktériumokat további feldolgozásra.

Reagens elkészítése: 15 %-os Sputofluor™ oldat készítése

Kb. 100 ml oldat elkészítéséhez keverje össze az alábbiakat:

Sputofluor™	15 ml
Distile su	85 ml

Mintaanyag elkészítése centrifugacsövekben:

Minta	1 rész (min. 2 ml)
Sputofluor™ oldat (15 % desztillált vízben)	3 rész
Rázza erősen	10 dk
Centrifugálja 3000 - 4800 rpm sebességgel	20 dk
Töltse át a felülúszót Készítsen kenetet az üledékből Szárítsa levegőn	

Punctatumok, mosatok, üledékek

Megfelelő dúsítási intézkedések után kenje a mintaanyagot a tárgylemezre és hagyja levegőn megszáradni.

Kenetminták rögzítése

A minták rögzítése Bunsen-égő lángja felett történik (2-3-szor, túlzott hevítés kerülendő).

A minták rögzíthetők szárítószekrényben is 100 - 110 °C-ra hevítéssel, vagy fűtőlapon 20 percig.

Túl magas hőmérsékletek vagy tartós hevítés a színezési teljesítmény romlását vonhatja maga után.

Reagens-előkészítés

A AFB-Color módosított - Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával reagensi használatra kész, az oldatok hígítása nem szükséges.

Eljárás

Színezés a színező állványon

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

Tárgylemez rögzített kenettel		
Reagens 1 (Ziehl-Neelsen karbolfukszin oldat)	teljesen fedje le, óvatosan hevítse alulról háromszor Bunsen-égővel, amíg gőz nem képződik Ne engedje a színező oldatot felforrni!	színezzé összesen 5 percig
Csapvízzel	öblítse, amíg nem keletkezik további színezékfelhő	
Reagens 2 (sósav, etanolban oldva)	fedje le teljesen és hagyja reagálni	15 - 30 sec*
Csapvízzel	öblítse azonnal	
Reagens 3 (Löffler-féle metilénkék oldat)	kontraszt-színezés, fedje le teljesen és hagyja reagálni	30 sec**
Csapvízzel	öblítse gondosan	
Levegőn szárítás (pl. egy éjszakán át vagy 50°C-on szárítószekrényben)		

* a minta vastagságától függően

** vagy 1 perc hígított 3. sz. reagenssel (metilénkék oldat) (hígítás: 1:10 (1+9) desztillált vízzel)

Bakteriológiai minták több hónapos tárolása esetén ajánlott a lefedés nem vízalapú felrakó közeggel (pl. Neo-Mount™, Entellan™, DPX új vagy Entellan™ new) és fedő üveglappal. Ennek céljából a színezett mintákat nagyon jól meg kell szárítani.

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

Eredmény

Saválló baktériumok	piros
Háttér	kék

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

Kenetminták rögzítése

Megfelelő mértékű hőrögzítés (Bunsen-égő használatával vagy fűtőszekrényben) szükséges a minták fertőző potenciáljának és baktériumok szaporodásának megelőzéséhez.

Saválló baktériumok nincsenek színezve

A színezési eljárás kritikus szakasza a színtelenítési lépés, amit befolyásolhat a kenet vastagsága. Ráadásul a sósav friss oldata etanolban erősen reakcióképes, tehát az eredményt óvatosan kell értékelni. A színtelenítési lépés alatt a felhasználók be kell tartásuk a protokollban leírt inkubációs időket, egyébként hamis negatív eredményeket kaphatnak.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkóp meg kell feleljen az orvosi diagnosztikai laboratórium követelményeinek. Kérjük, automatikus színezési rendszerek használata esetén kövesse a rendszer és a szoftver gyártójának utasításait. Feltöltés előtt távolítsa el a többlet immerziós olajat.

Analitikai teljesítményjellemzők

"AFB-Color módosított - festőkészlet" színei és ezáltal láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, amint ismertjük ezen Használati utasítás "Eredmény" c. fejezetében. Csak engedélyezett és kiképzett személyek hajthatják végre a termék használatát, többek között a minta- és reagens-előkészítést, a mintafeldolgozást, és hozhatnak a megfelelő kontrollokra vonatkozó döntéseket és még sok más.

A termék analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden termékfűrdő ellenőrzésével. A rendszeres, sikeres részvétel nemzetközi laboratóriumok közötti tesztekben az analitikai specifitás és reprodukálhatóság további és független megerősítést adja.

Az alábbi színezésekre 100%-os arányban megerősítést nyert a termék anaitikai teljesítménye a specifitás, érzékenység és reprodukálhatóság vonatkozásában:

	Inter-assay specifitás	Inter-assay érzékenység	Intra-assay specifitás	Intra-assay érzékenység
Ziehl-Neelsen színezés				
Saválló baktériumok	17/17	17/17	6/6	6/6
Háttér	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Továbbá, ezen termék klinikai teljesítményét sikeresen bizonyította sok tudományos publikáció. A AFB-Color módosított - festőkészlet évtizedek óta sikeresen használják klinikai környezetben nagyszámú alkalmazásban. Különösképpen a AFB-Color módosított - festőkészlet vonatkozóan egy házon belüli vizsgálatban megállapították az érzékenységet és a specifitást a klinikai teljesítmény meghatározásához:

	Ziehl-Neelsen színezés
Érzékenység	15/15
Specifitás	15/15

Érzékenység: 15 minta 15 közül: 100 %

Specifitás: 15 minta 15 közül: 100 %

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 anamnézisé, 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 kell végeznie minden alkalmazásnál, a helytelen eredmény elkerülése végett.

Tárolás

Tárolja a AFB-Color módosított - Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával +15 °C - +25 °C-on.

Élettartam

A AFB-Color módosított - Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával 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 kb. 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. Ha szükséges, használjon orvosi diagnosztikai laboratóriumban alkalmazható, szokásos centrifugát.

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.

Kiegészítő reagensek

Kat. sz.	1.00327	Sósav, etanolban oldva mikroszkópiai célra	1 l, 5 l
Kat. sz.	1.00579	DPX új nem-vizes rögzítőszers mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.01287	Löffler-féle metilénkék oldat mikroszkópiai célra	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.01597	AFB-Fluor fenolmentes Festőkészlet savgyors baktériumok fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatához (Auramin-Rhodamine festés)	1 set
Kat. sz.	1.04699	Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 100 ml, 500 ml
Kat. sz.	1.07960	Entellan™ gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	500 ml
Kat. sz.	1.07961	Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz.	1.08000	Sputofluo™ mikroszkópiához	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.	1.09215	Ziehl-Neelsen karbolfukszin oldat mikroszkópiai célra	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.09843	Neo-Clear™ (xilolhelyettesítő) mikroszkópiai célra	5 l
Kat. sz.	1.16450	AFB-Color festőkészlet savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés)	1 set

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.00497.0001

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 adatlap megadott, megfelelő biztonsági utasításokat.

A termékek fő összetevői

Kat. sz. 1.00497.0001

Reagens 1 vagy Kat. sz. 1.09215

C.I. 42520 vagy C.I. 42510 6,3 g/l*

C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

*Mindkét festék használható oldat előállítására, a színezés eredményének azonos az érzékenysége és specifitása.

Reagens 2 vagy Kat. sz. 1.00327

HCl 0,75 %

C₂H₅OH-t tartalmaz

1 l = 0,90 kg

Reagens 3 vagy Kat. sz. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l

C₂H₅OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 kg

Általános megjegyzés

Ha ezen eszköz használata során vagy használata eredményeképpen súlyos incidens történt, kérjük, jelentse a gyártónak és/vagy jóváhagyott képviselőnek, illetve az országos hatóságnak.

Irodalom

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H290: Fémekre korrozív hatású lehet.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást 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.

Reagens 3:

H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jun-03	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Nézze meg a
használati utasítást



Gyártó



Katalógus szám



Tételn kód



Vigyázat, olvassa el a mel-
lékelt dokumentumokat



Lejáratí idő:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsék-
lethatár

Status 2024-Jun-03

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

1.00497.0001

REF

Mikroskopija

AFB-Color modificētais

krāsošanas komplekts acidorezistento baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce



Paredzētais pielietojums

Šo "AFB-Color modificētais - krāsošanas komplekts acidorezistento baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi" izmanto cilvēka šūnu diagnostikā, lai veiktu cilvēka izcelsmes parauga materiāla bakterioloģisko izmeklēšanu. Tas ir lietošanai gatavs krāsošanas komplekts, kas kopā ar citiem mūsu piedāvātajiem *in vitro* diagnostikas izstrādājumiem nodrošina baktēriju mērķa struktūru izvērtēšanu diagnostiskos nolūkos (acidorezistentas baktērijas (AFB)), veicot fiksāciju, krāsošanu, kontrastkrāsošanu, nostiprināšanu bakterioloģiskā parauga materiālam, piemēram, no bagātīnātām bakteriālajām barotnēm iegūtām iztriepēm.

Modificētais ARB krāsošanas komplektā tiek izmantota klasiskā Čila-Nilsena karstās krāsošanas procedūra, un to var izmantot krāsošanai uz krāsošanas statīva.

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, jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas un validētas metodes.

Princips

Acidorezistento 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.

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.

Šajā AFB-Color modificētais krāsošanas komplektā kā kontrastkrāsa tiek izmantots metilēnzilais.

Paraugu iepriekšēja apstrāde ar Sputofluol™ atbrīvo baktērijas no apkārtesošajām viskozajām krēpām un šūnu materiāla.

Parauga materiāls

Bakterioloģiskā materiāla iztriepes, kas nožāvētas ar gaisu un fiksētas ar karstumu un iepriekš apstrādātas ar Sputofluol™, piemēram, krēpas, iztriepes no tievās adatas aspirācijas biopsijām (TAAB), noskalojumi, nospiedumi, izsvīdumi, strutas, eksudāti, šķidrās un cietās barotnes

Reaģenti

Kat. nr. 1.00497.0001

AFB-Color modificētais

krāsošanas komplekts acidorezistento baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi

Iepakojuma sastāvdaļas:

Krāsošanas komplektā iekļauts

Reaģents 1: Čila-Nilsena karbolfuksīna šķīdums 500 ml

Reaģents 2: Sālskābe etilspirtā 2 x 500 ml

Reaģents 3: Löffler metilēnzilā šķīdums 500 ml

Papildus nepieciešams:

Kat. nr. 1.08000 Sputofluol™ 1 l
mikroskopiskai izmeklēšanai

Atsevišķi reaģenti

Krāsošanas komplekta 1.00497.0001 vietā var izmantot šādu reaģentu kombināciju:

Kat. nr. 1.09215 Čila-Nilsena karbolfuksīna šķīdums 100 ml, 500 ml,
mikroskopiskai izmeklēšanai 2,5 l

Kat. nr. 1.01287 Löffler metilēnzilā šķīdums 100 ml, 500 ml,
mikroskopiskai izmeklēšanai 2,5 l

Kat. nr. 1.00327 Sālskābe etilspirtā 1 l, 5 l
mikroskopiskai izmeklēšanai

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.

Krēpas

Acidorezistentās baktērijas iepriekš jāapstrādā ar Sputofluol™, lai tās atbrīvotu no gļotām un šūnu struktūrām. Šī procesa laikā aktīvā sastāvdaļa hipohlorīts ar oksidācijas palīdzību izšķīdina organisko materiālu un uzmanīgi atbrīvo acidorezistentās baktērijas, lai varētu turpināt to apstrādi.

Reaģentu sagatavošana: 15% Sputofluol™ šķīduma sagatavošana

Lai sagatavotu apm. 100 ml šķīduma, samaisiet šādas sastāvdaļas:

Sputofluol™	15 ml
Destilēts ūdens	85 ml

Parauga materiāla sagatavošana centrifūgas stobriņos:

Paraugi	1 daļa (min. 2 ml)
Sputofluol™ šķīdums (15% destilētā ūdenī)	3 daļas
Enerģiski sakratiet	10 min.
Centrifugējiet ar ātrumu 3000 – 4800 rpm	20 min.
Nolejiet supernatantu Sagatavojiet no sedimenta iztriepes Nožāvējiet gaisā	

Punktāti, skalojumi, sedimenti

Pēc atbilstošiem bagātināšanas pasākumiem sagatavojiet no parauga materiāla iztriepi uz priekšmetstiklīņa un ļaujiet tai gaisā nožūt.

Iztriepes paraugu fiksācija

Paraugu fiksāciju veic, karsējot virs Bunsena degļa (2 – 3 reizes, izvairoties no pārmērīgas karsēšanas).

Paraugus var fiksēt arī, 20 minūtes karsējot žāvēšanas skapī vai uz karsēšanas plates 100 – 110°C temperatūrā.

Pārmērīgi augsta temperatūra vai ilgstoša karsēšana var pasliktināt krāsošanas rezultātu.

Reaģentu sagatavošana

Krāsošanai izmantotā AFB-Color modificētais - krāsošanas komplekts acidorezistento baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi reaģenti ir gatavi lietošanai, šķīdumu atšķaidīšana nav nepieciešama.

Procedūra

Krāsošana uz krāsošanas statīv

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstiklīņš ar fiksētu iztriepi		
Reaģents 1 (Čila-Nilsena karbolfuksīna šķīdums)	pilnībā pārklājiet, rūpīgi trīs reizes karsējiet no apakšas ar Bunsena degli, kamēr veidojas izgarojumi Neļaujiet krāsošanas šķīdumam vārties!	krāsojiet kopumā 5 minūtes
Krāna ūdens	skalojiet, kamēr krāsa vairs nenoskalojas	
Reaģents 2 (sālskābe etilspirtā)	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	15 - 30 sek.*
Krāna ūdens	nekavējoties noskalojiet	
Reaģents 3 (Löffler metilēnzilā šķīdums)	kontrastkrāsošana, pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	30 sek.**
Krāna ūdens	rūpīgi noskalojiet	
Nožāvējiet gaisā (piem., atstājot žāvēties uz nakti, vai žāvējiet 50°C temperatūrā žāvēšanas skapī)		

* atkarībā no iztriepes biezuma

** vai 1 min. ar atšķaidītu reaģentu 3 (metilēnzilā šķīdums) (atšķaidījums: 1:10 (1+9) ar destilētu ūdeni)

Lai bakterioloģiskos paraugus uzglabātu vairākus mēnešus, ieteicams tos pārklāt ar ūdeni nesaturu nostiprināšanas vidi (piem., Neo-Mount™, Entellan™, DPX new vai Entellan™ new) un segstiklīņu. Šim nolūkam nokrāsotie priekšmetstiklīņi ļoti labi jānožāvē.

Krāsoto priekšmetstiklīņu analīzei ar mikroskopa palielinājumu > 40 x ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Rezultāts

Acidorezistentās baktērijas	sarkanās
Fons	zils

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

Iztriepes paraugu fiksācija

Lai likvidētu paraugu infekciozitāti un novērstu turpmāku baktēriju vairošanos, ļoti svarīgi ir pietiekami ilgi fiksēt paraugu ar karstumu, izmantojot Bunsena degli vai karstuma skapi.

Acidorezistentu baktēriju niekrāsošanā

Krāsošanas pēc kritiskais posms ir atkrāsošana, kuru var ietekmēt iztriepes biežums. Turklāt svaigs sāļsskābes 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.

Tehniskas piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostiskās laboratorijas prasībām. Ja izmantojat automātiskās krāsošanas ierīces, ievērojiet iekārtu un programmatūru piegādātāja lietošanas instrukcijas. Pirms uzpildīšanas notīriet imersijas eļļas atliekas.

Analītiskās veikspējas raksturojums

”AFB-Color modificētais - krāsošanas komplekts” 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, lēmumu pieņemšanu par piemērotu kontroļu uzmantošanu u.c.

Izstrādājuma analītiskā veikspēja ir apstiprināta, pārbaudot katru izstrādājuma sēriju. Veiksmīga un regulāra piedalīšanās starptautiskos starplaboratoriju testos nodrošina papildu un neatkarīgu analītiskā specifiskuma un atkārtojamības apstiprinājumu.

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
Krāsošana pēc Ziehl-Neelsen metodes				
Acidorezistentās baktērijas	17/17	17/17	6/6	6/6
Fons	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Turklāt šī izstrādājuma klīniskā veikspēja ir veiksmīgi pierādīta daudzās zinātniskajās publikācijās.

AFB-Color modificētais - krāsošanas komplekts ir vairākas desmitgades veiksmīgi un ļoti bieži izmantots klīniskajā vidē.

AFB-Color modificētais - krāsošanas komplekts klīniskā veikspēja tika izvērtēta, nosakot analīzes jutīgumu un specifiskumu uzņēmuma iekšējā pētījumā:

	Krāsošana pēc Ziehl-Neelsen metodes
Jutīgums	15/15
Specifiskums	15/15

Jutīgums: 15 paraugi no 15: 100%

Specifiskums: 15 paraugi no 15: 100%

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 kontroļu 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, lai izvairītos no nepareiza rezultāta iegūšanas.

Uzglabāšana

AFB-Color modificētais - rāsošanas komplekts acidorezistentu baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi uzglabājiet no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Derīguma termiņš

AFB-Color modificētais - rāsošanas komplekts acidorezistentu baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi 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 apm. 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. Ja nepieciešams, izmantojiet standarta centrifūgu, kas piemērota medicīniskām diagnostiskām laboratorijām.

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 timekļa 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 atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Papildu reaģenti

Kat. nr.	1.00327	Sāļsskābe etilspirtā mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l, 5 l
Kat. nr.	1.00579	DPX new ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.01287	Löffler metilēnzilā šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.01597	AFB-Fluor fenolu nesaturošs krāsošanas komplekts acidorezistentu baktēriju izmeklēšanai ar fluorescences mikroskopu (krāsošana ar auramīnu-rodamīnu)	1 set
Kat. nr.	1.04699	Imersijas eļļa mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 100 ml, 500 ml
Kat. nr.	1.07960	Entellan™ ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.07961	Entellan™ new ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. nr.	1.08000	SputofluoI™ mikroskopiskai izmeklēšanai	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.	1.09215	Cīla-Nilsena karbolfuksīna šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksilēna aizvietotājs) mikroskopiskai izmeklēšanai	5 l
Kat. nr.	1.16450	AFB-Color krāsošanas komplekts acidorezistentu baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)	1 set

Bīstamības klasifikācija

Kat. nr. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reaģents 1 vai Kat. nr. 1.09215

C.I. 42520 vai C.I. 42510 6,3 g/l*
C₆H₅OH 40 g/l
1 l = 0,99 kg

*Abas krāsvielas var izmantot šķīduma pagatavošanai, krāsošanas rezultātam ir identiska jutība un specifiskums.

Reaģents 2 vai Kat. nr. 1.00327

HCl 0,75%
satur C₂H₅OH
1 l = 0,90 kg

Reaģents 3 vai Kat. nr. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H290: Var kodīgi iedarboties uz metāliem.

H314: Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.

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 SAINĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ ārstu.

P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskalo ar ūdeni vairākas minūtes. Izņem 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.

Reaģents 3:

H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jun-03	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-Jun-03



1.00497.0001 **REF****Mikroskopija****AFB-Color modifikuotas**

dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu

Tik profesionaliam naudojimui**IVD***In vitro* diagnostikos medicinos priemonė**Numatytoji paskirtis**

Šis „AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu“ naudojamas žmogaus ir medicinių ląstelių diagnostikai ir skirtas bakteriologiniam 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 (rūgštims atsparios bakterijos (AFB)) gali būti vertinamos diagnostikos tikslais fiksuojant, dažant, kontrastuojant, dengiant bakteriologinių mėginių medžiagose, pavyzdžiui, praturtintų bakterijų kultūrų tepinėliuose.

AFB-Color modified dažymo rinkinyje naudojama klasikinė Ziehl-Neelsen karšto dažymo procedūra ir jį galima naudoti dažymui ant dažymo stovo. 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. Tam, kad būtų nustatyta galutinė diagnozė, reikia atlikti papildomus tyrimus taikant pripažintus ir galiojančius metodus.

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.

Kai rūgštims atsparios bakterijos absorbuoja fukso dažiklį, jų spalvos panaikinti praktiškai neįmanoma, net jei jos intensyviai apdorojamos spalvos naikimo 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.

Siame AFB-Color modified dažymo rinkinyje kontrastavimui naudojamas metileno mėlis.

Pirminis mėginių apdorojimas Sputofluol™ ištirpina bakterijas iš jas supančios klampių skreplių ir ląstelių medžiagos.

Mėginių medžiaga

Bakteriologinės medžiagos tepinėliai, išdžiovinoti ore ir termiškai fiksuoti ir iš anksto apdoroti Sputofluol™, pavyzdžiui, skrepliai, plonos adatos aspiracinės biopsijos (FNAB) tepinėliai, plovimai, įspaudai, efuzijos, pūliai, eksudatai, skystos ir kietos kultūros

Reagentai

Kat. Nr. 1.00497.0001
AFB-Color modifikuotas
dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu

Pakuotės komponentai:

Dažymo rinkinio sudėtis

Reagentas 1: Ziehl-Neelsen karbolfuksino tirpalas 500 ml
Reagentas 2: Druskos rūgštis etanolyje 2 x 500 ml
Reagentas 3: Löffler metileno mėlio tirpalas 500 ml

Taip pat reikalinga:

Kat. Nr. 1.08000 Sputofluol™ 1 l
mikroskopijai

Atskiri reagentai

Vietoj dažymo rinkinio 1.00497.0001 galima naudoti šį reagentų derinį:

Kat. Nr. 1.09215 Ziehl-Neelsen karbolfuksino tirpalas 100 ml, 500 ml, mikroskopijai 2,5 l

Kat. Nr. 1.01287 Löffler metileno mėlio tirpalas 100 ml, 500 ml, mikroskopijai 2,5 l

Kat. Nr. 1.00327 Druskos rūgštis etanolyje 1 l, 5 l mikroskopijai

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.

Skrepliai

Rūgštims atsparias bakterijas reikia iš pradžių apdoroti Sputofluol™, kad jos ištirtų iš gleivių ir ląstelių struktūrų. Šio proceso metu veiklioji medžiaga hipochloritas oksidacijos būdu ištirpina organinę medžiagą ir iš lėto išlaisvina rūgštims atsparias bakterijas, kad jas būtų galima toliau apdoroti.

Reagento paruošimas: Sputofluol™ 15 % tirpalo paruošimas

Norėdami paruošti apie 100 ml tirpalo, sumaišykite:

Sputofluol™	15 ml
Distiliuotas vanduo	85 ml

Mėginio medžiagos paruošimas centrifugavimo mėgintuvėliuose:	
Mėginys	1 dalis (min. 2 ml)
Sputofluol™ tirpalas (15 % distiliuotame vandenyje)	3 dalys
Stipriai suplakite	10 min
Centrifuguokite 3000 - 4800 sūk./min	20 min
Dekantuokite supernatantą Paruoškite nuosėdų tepinėlius Džiovininkite ore	

Punktatai, lavažai, nuosėdos

Panaudoję atitinkamas sodrinimo priemones, užtepkite mėginio medžiagą ant stiklo ir leiskite išdžiūti ore.

Tepinėlių mėginių fiksavimas

Ėminiai fiksuojami virš Bunseno degiklio liepsnos (2–3 kartus, stengiantis išvengti per didelio kaitinimo).

Ėminius taip pat galima fiksuoti 20 min kaitinant džiovinimo spintoje arba ant kaitinimo plokštelės 100–110 °C temperatūroje.

Dėl per aukštos temperatūros arba ilgo kaitinimo gali pablogėti dažymo savybės.

Tepinėlių mėginių fiksavimas

Ėminiai fiksuojami virš Bunseno degiklio liepsnos (2–3 kartus, stengiantis išvengti per didelio kaitinimo).

Ėminius taip pat galima fiksuoti 20 min kaitinant džiovinimo spintoje arba ant kaitinimo plokštelės 100–110 °C temperatūroje.

Dėl per aukštos temperatūros arba ilgo kaitinimo gali pablogėti dažymo savybės.

Reagentų paruošimas

Dažymo reagentai iš AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu, yra paruošti naudoti, tirpalų skiesti nereikia.

Procedūra**Dažymas ant dažymo stovo**

Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

Stiklis su fiksuotu tepinėliu		
Reagentas 1 (Ziehl-Neelsen karbolfuksino tirpalas)	visiškai uždenkite, tris kartus atsargiai pašildykite iš apačios Bunseno degikliu, kol susidarys garai. Neleiskite dažymo tirpalui užvirti!	dažykite iš viso 5 min
Vanduo iš čiaupo	skalaukite, kol nebeliks dažų debesėlių	
Reagentas 2 (druskos rūgštis etanolyje)	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	15 - 30 sek*
Vanduo iš čiaupo	skalaukite iš karto	
Reagentas 3 (Löffler metileno mėlio tirpalas)	kontrastavimas, visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	30 sek**
Vanduo iš čiaupo	atidžiai skalaukite	
Džiovininkite ore (pvz., per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo spintoje)		

* priklausomai nuo mėginio storio

** arba 1 min su atskiestu 3 reagentu (metileno mėlio tirpalu) (skiedimas: 1:10 (1+9) dist. vandeniu)

Bakteriologinius ėminius rekomenduojama uždengti ne vandenine dengimo terpe (pvz., Neo-Mount™, Entellan™, DPX new arba Entellan™ new) ir uždengti dengiamuoju stiklu, jei norite juos laikyti kelis mėnesius. Jei ketinate tai daryti, nudažytus ėminius reikia labai gerai išdžiovinti.

Analizuojant dažytus stiklelius, kurių mikroskopinis didinimas >40x, rekomenduojama naudoti imersinę alyvą.

Rezultatas

Rūgštims atsparios bakterijos	raudona
Fonas	mėlyna

Vertinimas

Teigiamas rezultatas reiškia „rūgštims atsparių bakterijų aptikta“, o neigiamas – „rūgštims atsparių bakterijų neaptikta“. Teigiamas rezultatas ne-reiškia, 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
Tepinėlių mėginių fiksavimas

Norint išvengti ėminių infekcinio potencialo ir tolesnio bakterijų dauginimo, būtina juos pakankamai termiškai fiksuoti naudojant Bunseno degiklį arba kaitinimo spintoje.

Rūgštims atsparios bakterijos nenusidazo

Dažymo procedūros etapas yra spalvos šalinimo etapas, kuriam įtakos gali turėti tepinėlio 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.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininės diagnostikos laboratorijos reikalavimus. Naudodami automatines dažymo sistemas, laikykitės sistemos ir programinės įrangos tiekėjo pateiktų naudojimo instrukcijų. Prieš pildami pašalinkite imersinės alyvos perteklių.

Analitinio veiksmingumo savybės

„AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys“ nudažo ir taip vizualizuoja biologines struktūras, kaip aprašyta šios naudojimo instrukcijos skyriuje „Rezultatai“. Gaminį gali naudoti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys, įskaitant, be kita ko, mėginių ir reagentų ruošimą, mėginių tvarkymą, sprendimus dėl tinkamų kontrolės priemonių ir kt.

Gaminio analitinis veiksmingumas patvirtinamas tiriant kiekvieną pagamin-tą partiją. Sėkmingas nuolatinis dalyvavimas tarptautiniuose tarplaborato-riniuose tyrimuose yra papildomas ir nešališkas analitinio specifiškumo ir pakartojamumo patvirtinimas.

Toliau išvardytiems dažymo atvejams gaminio specifiškumo, jautrumo ir pakartojamumo analitinis veiksmingumas buvo patvirtintas 100 %:

	Tyrimų tarpusavio specifišku-mas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifišku-mas	Tyrimo vidinis jau-trumas
Ziehl-Neelsen dažymas				
Rūgštims atsparios bakterijos	17/17	17/17	6/6	6/6
Fonas	17/17	17/17	6/6	6/6

Analitinio veiksmingumo rezultatai

Duomenys apie teisingai nudažytų struktūrų skaičių, palyginti su atliktų ty-rimų skaičiumi, pateikiami tyrimo viduje (su ta pačia partija) ir tarp tyrimų (su skirtingomis partijomis).

Klinikinio veiksmingumo savybės

Be to, šio gaminio klinikinis veiksmingumas sėkmingai įrodytas daugelyje mokslinių publikacijų.

AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys ištisus dešimtmečius sėkmingai ir įvairiai naudojamas klinikinėje praktikoje.

Klinikinis AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys veiksmingumas buvo nustatytas atlikus vidinį tyrimą ir nustačius jo jautrumą ir specifiškumą:

	Ziehl-Neelsen dažymas
Jautrumas	15/15
Specifiškumas	15/15

Jautrumas: 15 mėginių iš 15: 100 %
Specifiškumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Šio veiksmingumo vertinimo rezultatai patvirtina, kad gaminy s yra tinka-mas naudoti pagal paskirtį ir veikia patikimai.

Tačiau diagnostinę dažymo rezultatų interpretaciją turi atlikti kvalifikuoti ir įgalioti specialistai, atsižvelgdami į paciento anamnezę, morfologiją, tinka-mą 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 meto-dus. Kad būtų išvengta neteisingų rezultatų, kiekvieno naudojimo metu turėtų būti taikomi tinkami kontrolės metodai.

Laikymas

Laikykite AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje.

Tinkamumo laikas

AFB-Color modifikuotas - dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos.

Pirmą kartą atidarius buteliuką, laikant nuo +15 °C iki +25 °C temperatūro-je, turinį galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos. Buteliukai visada turi būti sandariai uždaryti.

Išėja

Pakuotės užtenka apytiksliai. 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. Jei reikia, naudokite standartinę centrifugą, tinkamą medicinos diagnostikos laboratorijai.

Apsauga nuo infekcijos

Reikia imtis veiksmingų priemonių apsisaugoti nuo infekcijos pagal labora-torijos 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. Informa-cijos 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 che-minių 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.	1.00327	Druskos rūgštis etanolyje mikroskopijai	1 l, 5 l
Kat. Nr.	1.00579	DPX new nevandeninė dengimo terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.01287	Löffler metileno mėlio tirpalas mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.01597	AFB-Fluor dažymo rinkinys be fenolio, skirtas tirti rūgštims atsparias bakterijas fluorescenciniu mikroskopu (Auramin-Rhodamine dažymas)	1 set
Kat. Nr.	1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 100 ml, 500 ml
Kat. Nr.	1.07960	Entellan™ greito dengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.07961	Entellan™ new greito dengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.08000	SputofluoI™ mikroskopijai	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.	1.09215	Ziehl-Neelsen karbolfuksino tirpalas mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksileno pakaitalas) mikroskopijai	5 l
Kat. Nr.	1.16450	AFB-Color dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas)	1 set

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.00497.0001
Laikykites etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duo-menų 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. 1.00497.0001

Reagentas 1 arba Kat. Nr. 1.09215

C.I. 42520 arba C.I. 42510 6,3 g/l*

C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

*Tirpalui ruošti galima naudoti abu dažus, o dažymo rezultatai pasižymi vienuodu jautrumu ir specifiškumu.

Reagentas 2 arba Kat. Nr. 1.00327

HCl 0,75 %

sudėtyje yra C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reagentas 3 arba Kat. Nr. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l

C₂H₅OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 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

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Labai degūs skystis ir garai.

H290: Gali ėsdinti metalus.

H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.

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.

Reagentas 3:

H226: Degūs skystis ir garai.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jun-03	Pradinė versija su peržiūrų istorijos žanga



Žiūrėkite naudojimo instrukciją



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Perspėjimas, susipažinkite su pridėtais dokumentais



Naudoti iki MMM-MM-DD



Temperatūros apribojimas

Status 2024-Jun-03

„Merck“ Life Science verslas JAV ir Kanadoje veikia pavadinimu „MilliporeSigma“.

© 2024 „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija ir (arba) jos filialai. Visos teisės saugomos. „Merck“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija, prekių ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamios informacijos apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose šaltiniuose.



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

MERCK

1.00497.0001 **REF**

Mikroskopi

AFB-Color modifisert

Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode

Kun til profesjonell bruk

Medisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk

Tiltenkt formål

Denne "AFB-Color modifisert – Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode" brukes til medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og bidrar til bakteriologisk 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 (syrefaste bakterier (AFB)) ved hjelp av fiksering, farging, kontrastfarging, montering i bakteriologiske og histologiske prøvematerialer, for eksempel utstryk av anrikede bakteriekulturer.

AFB-Color modifisert fargingssett bruker den klassiske Ziehl-Neelsen-fargingsprosedyren med varme og kan brukes til farging på fargestativet.

Ufargede strukturer har relativt lav kontrast og er ekstremt vanskelige å skjelve under lysmikroskopet. Bildene som opprettes ved bruk av fargings-løsningene hjelper den autoriserte og kvalifiserte forskeren med bedre å definere formen og strukturen i slike tilfeller. Ytterligere tester må utføres i samsvar med anerkjente, gyldige metoder 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.

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.

Dette AFB-Color modifisert fargingssettet bruker metylenblått som kontrastfarge.

Forbehandling av prøvene med Sputofluo™ løser opp bakteriene fra det omgivende tykke sputum og cellematerialet.

Prøvemateriale

Utstryk av bakteriologisk materiale som er lufttørket og varmefiksert og forbehandles med Sputofluo™ som sputum, utstryk fra biopsi med finål-spirasjon (FNAB), skyllinger, avtrykk, effusjoner, puss, sårveske, væske og solide kulturer

Reagenser

Kat.nr. 1.00497.0001

AFB-Color modifisert

Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode

Komponenter i pakningen:

Fargingssettet inneholder

Reagens 1: Ziehl-Neelsen karbol-fuksin løsning	500 ml
Reagens 2: Saltsyre i etanol	2 x 500 ml
Reagens 3: LØFFLERS metylenblå løsning	500 ml

Også påkrevd:

Kat.nr. 1.08000 Sputofluo™ for mikroskopi	1 l
---	-----

Enkeltreagenser

I stedet for fargingssettet 1.00497.0001 kan følgende kombinasjon av reagenser brukes:

Kat.nr. 1.09215 Ziehl-Neelsen karbol-fuksin løsning for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.01287 LØFFLERS metylenblå løsning for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.00327 Saltsyre i etanol for mikroskopi	1 l, 5 l

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.

Sputum

De syrefaste bakteriene skal forbehandles med Sputofluo™ for å løse dem opp fra slim og cellestrukturer. I denne prosessen løser virkestoffet hypokloritt opp det organiske materialet ved hjelp av oksidering og frigjør varsomt de syrefaste bakteriene slik at de kan behandles ytterligere.

Tilberedning av reagens: Tilberedning av Sputofluo™-løsning 15 %

For tilberedning av ca. 100 ml løsningsblanding:

Sputofluo™	15 ml
Destillert vann	85 ml

Tilberedning av prøvemateriale i sentrifugerør:	
Prøve	1 del (min. 2 ml)
Sputofluo™-løsning (15 % i destillert vann)	3 deler
Rist kraftig	10 minutter
Sentrifuger ved 3000–4800 rpm	20 minutter
Hell av supernatant Tilbered utstryk av sedimentet Lufttørk	

Punktater, skyllinger, sedimenter

Etter egnede anrikningstiltak stryker du ut prøvematerialet på objektglasset og lar det lufttørke.

Fiksering av utstryksprøver

Prøver fikseres over en bunsenbrennerflamme (2–3 ganger, sørg for å unngå overoppheting).

Prøvene kan også fikseres ved oppvarming ved 100–110 °C i et tørkeskap eller på en varmeplate i 20 minutter.

Høye temperaturer eller langvarig oppvarming kan medføre nedsatt fargingsytelse.

Tilberedning av reagens

Reagens i AFB-Color modifisert – Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode brukt til farging er bruksklare.

Fortynning av løsningene er ikke nødvendig.

Prosedyre

Farging på fargingsstativet

De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargingsresultat.

Objektglass med fiksert utstryk		
Reagens 1 (Ziehl-Neelsen karbol-fuksin løsning)	dekk helt, varm opp forsiktig tre ganger nedenfra med bunsenbrenneren til det dannes damp Pass på at fargingsløsningen ikke koker!	farg i totalt 5 minutter
Vann fra springen	Skyll til det ikke dannes flere skyer med fargesetoff	
Reagens 2 (saltsyre i etanol)	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	15 - 30 sekunder*
Vann fra springen	skyll umiddelbart	
Reagens 3 (LØFFLERS metylenblå løsning)	kontrastfarging, dekk helt og la reaksjonen inntreffe	30 sekunder**
Vann fra springen	skyll grundig	
Lufttørk (f.eks. over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)		

* avhengig av prøvens tykkelse

** eller 1 minutt med fortynnet reagens 3 (metylenblå løsning) (fortynning: 1:10 (1+9) med destillert vann)

Dekking med ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™, DPX ny eller Entellan™ ny) og et dekkglass er anbefalt for lagring av bakteriologiske prøver i flere måneder. Til dette formålet må de fargede prøvene tørkes svært godt.

Bruk av bløtleggingsolje er anbefalt for analysering av fargede objektglass med en mikroskopforstørrelse på > 40x.

Resultat

Syrefaste bakterier	rød
Bakgrunn	blå

Evaluering

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. Bakterienes vitalitet (aktiv, inaktiv) kan heller ikke bestemmes.

Feilsøking

Fiksering av utstryksprøver

En tilstrekkelig grad av varmemfiksering ved bruk av en bunsenbrenner eller i et varmeskap er avgjørende for å forhindre infeksjonspotensiale i prøvene og ytterligere spredning av bakterier.

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.

Tekniske merknader

Det anvendte mikroskopet skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium. Ved bruk av automatiske fargingssystemer må du følge bruksanvisningen fra leverandøren av systemet og programvaren. Fjern overflødig bløtleggingsolje før fylling.

Analytiske ytelsesegenskaper

”AFB-Color modifisert – fargesett” farger og synliggjør dermed biologiske strukturer, som beskrevet i kapitlet ”Resultat” i denne bruksanvisningen. Produktet skal kun brukes av autoriserte og kvalifiserte personer, inkludert bl.a. tilberedning av prøver og reagenser, prøvehåndtering, beslutninger om egnede kontroller osv.

Den analytiske ytelsen av produktet bekreftes ved å teste hvert produktionsparti. Vellykket deltakelse i jevnlig internasjonale tester mellom ulike laboratorier gir en ekstra og objektiv bekreftelse av analytisk spesifisitet og repeterbarhet.

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
Ziehl-Neelsen-farging				
Syrefaste bakterier	17/17	17/17	6/6	6/6
Bakgrunn	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Videre er den kliniske ytelsen til dette produktet dokumentert i flere vitenskapelige publikasjoner.

Det AFB-Color modifisert – fargesett har blitt brukt med suksess i det kliniske miljøet i flere tiår i mange ulike bruksområder.

Den kliniske ytelsen til det AFB-Color modifisert – fargesett i særdeleshet ble bestemt ved å fastslå dens sensitivitet og spesifisitet i en intern studie:

	Ziehl-Neelsen-farging
Sensitivitet	15/15
Spesifisitet	15/15

Sensitivitet: 15 av 15 prøver: 100 %

Spesifisitet: 15 av 15 prøver: 100 %

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 menneske.

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 skal utføres med hver applisering for å unngå et feilaktig resultat.

Oppbevaring

Oppbevar AFB-Color modifisert – Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhet

AFB-Color modifisert – Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode 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 ca.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. Ved behov må du bruke en standard sentrifuge som er egnet for et medisinsk diagnostisk laboratorium.

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.	1.00327	Saltsyre i etanol for mikroskopi	1 l, 5 l
Kat.nr.	1.00579	DPX ny vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.01287	LØFFLERS metylenblå løsning for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.01597	AFB-Fluor fenolfri Farging kit for undersøkelse av syre-rask bakterier med fluorescens mikroskopi (Auramin-Rhodamine farging)	1 set
Kat.nr.	1.04699	Immerjonsolje for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Kat.nr.	1.07960	Entellan™ hurtig monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr.	1.08000	Sputofluo™ for mikrobiologi og mikroskopi	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.	1.09215	Ziehl-Neelsen karbol-fuksin løsning for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitutt) for mikroskopi	5 l
Kat.nr.	1.16450	AFB-Color farging kit for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging)	1 set

Fareklassifikasjon

Kat.nr. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reagens 1 eller Kat.nr. 1.09215

C.I. 42520 eller C.I. 42510 6,3 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 %

inneholder C₆H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reagens 3 eller Kat.nr. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l

C₆H₅OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H290: Kan være etsende for metaller.

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.

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 øyeyritasjon.

Reagens 3:

H226: Brannfarlig væske og damp.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jun-03	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



Se bruksanvisningen



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen DD.MM.ÅÅÅÅ



Temperaturbegrensning

Status 2024-Jun-03

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

1.00497.0001 **REF****Mikroskopia****AFB-Color, modifikovaný**farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle
baktérie (AFB) metódou farbenia za tepla**Iba na profesionálne použitie****IVD**Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro***Určený účel**

Tento „AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle baktérie (AFB) metódou farbenia za tepla“ je určený na humánno-medicínsku bunkovú diagnostiku a slúži na bakteriologické 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 (acidorezistentné baktérie (AFB)) fixáciou, farbením, kontrastným farbením, uchytaním v bakteriologických vzorkách, napríklad v steroch obohatených bakteriálnych kultúr.

AFB-Color, modifikovaný farbiaca súprava využíva klasický Ziehl-Neelsenov postup farbenia za tepla a môže sa použiť na farbenie na farbiacom stojane. 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 stanovenie konečnej diagnózy je potrebné vykonať ďalšie testy podľa uznaných a platných metód.

Princíp

V bunkovej stene acidorezistentných baktérií je vysoký podiel vosku a lipidov, preto len veľmi pomaly absorbuje farbivá. Najúčinnjšou metódou farbenia je Ziehl-Neelsenova metóda farbenia za tepla. Pri použití tejto metódy sa na vzorku nanesie 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. Po tom, čo acidorezistentné baktérie absorbujú fuchsinové farbivo, je takmer nemožné ich znovu odfarbiť, a to ani po intenzívnom ošetrovaní použitím dekolorizačného 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 červeno. Zodpovedajúcim spôsobom sa všetky mikroorganizmy, ktoré nie sú kyselinovzdorné, kontrastne zafarbia vhodným farbivom. Táto AFB-Color, modifikovaný farbiaca súprava používa ako kontrastné farbivo metylénovú modrú. Predbežná úprava vzoriek pomocou produktu Sputofluor™ rozpustí baktérie z obklopujúceho viskózneho spúta a bunkového materiálu.

Materiál vzorky

Stery z bakteriologického materiálu vysušeného na vzduchu a fixovaného teplom a vopred pripraveného použitím produktu Sputofluor™, ako napríklad spútum, stery z tenkoihlových aspiračných biopsií (FNAB), výplachy, odtlačky, výpotky, hnis, exsudáty, tekuté a pevné kultivačné média

Reagencie

Kat. č. 1.00497.0001
AFB-Color, modifikovaný
farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle baktérie (AFB) metódou farbenia za tepla

Komponenty balenia:

Obsah súpravy na farbenie

Reagencia 1: Ziehl-Neelsenov roztok karbol-fuchsinu 500 ml
Reagencia 2: Kyselina chlorovodíková v etanole 2 x 500 ml
Reagencia 3: Löfflerov roztok metylénovej modrej 500 ml

Tiež požadované:

Kat. č. 1.08000 Sputofluor™ 1 l
pre mikroskopiu

Jednotlivé reagencie

Namiesto farbiacej súpravy 1.00497.0001 možno použiť nasledujúcu kombináciu reagentov:

Kat. č. 1.09215 Ziehl-Neelsenov roztok karbol-fuchsinu 100 ml, 500 ml,
pre mikroskopiu 2,5 l

Kat. č. 1.01287 Löfflerov roztok metylénovej modrej 100 ml, 500 ml,
pre mikroskopiu 2,5 l

Kat. č. 1.00327 Kyselina chlorovodíková v etanole 1 l, 5 l
pre mikroskopiu

Príprava vzorky

Odber 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.

Spútum

Acidorezistentné baktérie je potrebné vopred pripraviť použitím produktu Sputofluor™, aby sa rozpustil hlien a bunkové štruktúry. V tomto procese účinná zložka chlórnanu rozpúšťa oxidáciou organický materiál a postupne uvoľňuje acidorezistentné baktérie, aby ich bolo možné naďalej spracovávať.

Príprava reagentov: Príprava roztoku Sputofluor™ 15 %

Na prípravu približne 100 ml zmesi roztoku:

Sputofluor™	15 ml
Destilovaná voda	85 ml

Príprava materiálu na odber vzoriek v centrifugačných skúmavkách:	
Vzorka	1 diel (min. 2 ml)
Roztok Sputofluor™ (15 % v destilovanej vode)	3 diely
Silno pretrepte	10 min
Odstreďujte pri 3000 - 4800 otáčkach za minútu	20 min
Dekantujte supernatant Pripravte stery zo sedimentu Sušte na vzduchu	

Punkcie, laváže, sedimenty

Po vykonaní príslušných opatrení na obohatenie rozotrite materiál vzorky na podložné sklíčko a nechajte ho vysušiť na vzduchu.

Fixácia vzoriek sterov

Vzorky sa fixujú nad plameňom Bunsenovho horáka (2 - 3-krát, pričom treba dbať na to, aby sa príliš nezahrievali).

Vzorky možno fixovať aj zahrievaním pri teplote 100 - 110 °C v sušiackej komore alebo na ohrievacej platni po dobu 20 minút.

Príliš vysoké teploty alebo dlhodobé zahrievanie môžu zhoršiť účinnosť farbenia.

Príprava reagentie

Reagencie farbiacej súpravy AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle baktérie (AFB) metódou farbenia za tepla používané na farbenie sú pripravené na použitie, nie je potrebné riedenie roztokov.

Postup**Farbenie na farbiacom stojane**

Uvedené časy je potrebné dodržať, aby bol zaručený optimálny výsledok sfarbenia.

Podložné sklíčko s fixovaným sterom		
Reagencia 1 (Ziehl-Neelsenov roztok karbol-fuchsinu)	úplne zakryte, opatrne trikrát zospodu zahrejte Bunsenovým horákom, kým sa nevytvorí para Nedovoľte, aby farbiaci roztok začal vriť!	farbite po dobu celkom 5 min
Voda z vodovodu	oplachujte, kým sa nebudú vytvárať ďalšie obláčiky farbiva	
Reagencia 2 (kyselina chlorovodíková v etanole)	úplne zakryte a nechajte reagovať	15 - 30 sek*
Voda z vodovodu	ihneď opláchnite	
Reagencia 3 (Löfflerov roztok metylénovej modrej)	kontrastné farbenie, úplne zakryte a nechajte reagovať	30 sek**
Voda z vodovodu	starostlivo opláchnite	
Sušte na vzduchu (napr. cez noc alebo pri teplote 50 °C v sušiackej komore)		

- * v závislosti od hrúbky vzorky
- **alebo 1 min so zriedenou reagensiou 3 (roztok metylénovej modrej) (riedenie v pomere 1:10 (1+9) s destilovanou vodou)

Pre skladovanie bakteriologických vzoriek na dobu niekoľkých mesiacov sa odporúča vzorky zakryť bezvodým fixačným médiom (napr. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new alebo Entellan™ new) a krycím sklíčkom. Pre tento účel je potrebné sfarbené vzorky dôkladne vysušiť. Pri analýze sfarbených podložných sklíčok s mikroskopickým zväčšením > 40x sa odporúča používať imerzný olej.

Výsledok	
Acidorezistentné baktérie	červené
Pozadie	modré

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. Vitalitu (aktívnu, neaktívnu) baktérií takisto nie je možné určiť.

Odstraňovanie problémov

Fixácia vzoriek sterov

Aby sa zabránilo infekčnému potenciálu vzoriek a ďalšiemu množeniu baktérií, je potrebný dostatočný stupeň tepelnej fixácie pomocou Bunsenovho horáka alebo v ohrievacej skrini.

Žiadne sfarbenie acidorezistentné baktérií

Kritickou fázou postupu farbenia je krok dekolorizácie, 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.

Technické poznámky

Použitý mikroskop musí spĺňať požiadavky lekárskeho diagnostického laboratória. Pri používaní automatických farbiacich systémov postupujte podľa návodu na používanie od dodávateľa systému a softvéru. Pred plnením odstráňte prebytočný imerzný olej.

Analytické výkonnostné charakteristiky

„AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava“ 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 reagen-cí, manipuláciu so vzorkami, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a podobne. Analytická výkonnosť produktu sa potvrdzuje testovaním každej výrobnéj šarže. Pravidelná aktívna účasť na medzinárodných medzilaboratórnych testoch poskytuje dodatočné a nezávislé potvrdenie analytickej špecificity a opakovateľnosti.

U nasledujúcich sfarbení sa potvrdila analytická výkonnosť z hľadiska špeci-ficity, citlivosti a opakovateľnosti produktu s percentuálnou hodnotou 100 %:

	Špecifi-ci-ta medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecificita v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
Farbenie Ziehl-Neelsen				
Acidorezistentné baktérie	17/17	17/17	6/6	6/6
Pozadie	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Klinická účinnosť tohto produktu bola okrem toho úspešne preukázaná vo viacerých vedeckých publikáciách. AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava sa už celé desaťročia s úspechom používa v klinickom prostredí pri veľkom počte aplikácií. Klinická účinnosť AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava sa určila najmä stanovením jeho citlivosti a špecificity štúdie v rámci vlastného pracoviska:

	Farbenie Ziehl-Neelsen
Citlivosť	15/15
Špecificita	15/15

Citlivosť: 15 vzoriek z 15: 100 %
Špecificita: 15 vzoriek z 15: 100 %

Výsledky tohto hodnotenia výkonnosti potvrdzujú, že produkt je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostickú interpretáciu výsledkov sfarbenia však majú vykonať kvalifiko-vaní 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, aby sa zamedzilo nesprávnemu výsledku.

Skladovanie

AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle bakté-rie (AFB) metódou farbenia za tepla skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C.

Doba použiteľnosti

AFB-Color, modifikovaný - farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle bak-térie (AFB) metódou farbenia za tepla 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 cca. 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. V prípade potreby použite štandardnú odstredivku určenú pre lekárske diagnostické laboratórium.

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. Informá-cie 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, označova-ní 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 reagensie

Kat. č.	1.00327	Kyselina chlorovodíková v etanole pre mikroskopiu	1 l, 5 l
Kat. č.	1.00579	DPX new nevodné fixačné médium pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.01287	Löfflerov roztok metylénovej modrej pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.01597	AFB-Fluor bez fenolu Súprava na vyšetrenie kyslo rýchlych baktérií s fluorescenčnou mikroskopiou (farbenie auramin-rhodamínom)	1 set
Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	fľaša na kvapka-nie s objemom 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.07960	Entellan™ médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.08000	SputofluoI™ pre mikroskopiu	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 kvapka-nie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.09215	Ziehl-Neelsenov roztok karbolfuchsínu pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.09843	Neo-Clear™ (náhrada xylénu) pre mikroskopiu	5 l

Kat. č. 1.16450 AFB-Color, farbiaca súprava 1 set
pre mikroskopické skúmanie kyseliny-
rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie)

Reagencia 3:
H226: Horľavá kvapalina a pary.

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reagent 1 alebo Kat. č. 1.09215

C.I. 42520 alebo C.I. 42510 6,3 g/l*

C₆H₅OH 40 g/l

1 l = 0,99 kg

*Na prípravu roztoku sa môžu použiť obe farbivá, pričom výsledok farbenia má rovnakú citlivosť a špecifickosť.

Reagent 2 alebo Kat. č. 1.00327

HCl 0,75 %

obsahuje C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Reagent 3 alebo Kat. č. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l

C₂H₅OH 190 g/l

pH 8,0 - 8,6

1 l = 0,97 kg

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažný incident, nahláste ho výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu vnútroštátnemu orgánu.

Literatúra

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Grob, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.

H290: Môže byť korozívna pre kovy.

H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie 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. Nefajčiť.

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 pohodlné dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ 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-Jun-03	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod
na používanie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód šarže



Pozor, pozrite si sprievod-
nú dokumentáciu



Použitie do
RRRR-MM-DD



Teplotné ob-
medzenia

Status 2024-Jun-03

Life Science spoločnosť Merckpôsobí 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

1.00497.0001

REF

Mikroskopi

AFB-Color modifiye

Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD

In vitro Tanısal Tıbbi Cihaz



Kullanım amacı

Bu "AFB-Color modifiye - Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti", insanlarda tıbbi hücre tanılmasında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin bakteriyolojik incelemesi amacıyla hizmet eder. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanısal ürünlerle birlikte kullanıldığında, örn. zenginleştirilmiş bakteri kültürü yaymalarında olduğu gibi fiksasyon, boyama, karşıt boyama, bakteriyolojik numune materyallerine montaj yoluyla, bakteriyel hedef yapıları tanısal amaçlar için (aside dirençli bakteriler (AFB)) değerlendirilebilir hale getiren, kullanıma hazır bir boyama kitidir.

AFB-Color modifiye boyama kiti, klasik Ziehl-Neelsen sıcak boyama prosedürünü kullanır ve boyama rafı üzerinde boyama için kullanılabilir.

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 tanıya ulaşmak için bilinen ve geçerli yöntemlere uygun şekilde ileri testler yapılmalıdır.

Prencip

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.

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 mikroskopik görselleştirmede kırmızıya boyanır. Bu nedenle aside dirençli olmayan tüm mikroorganizmalar uygun bir boya ile karşıt boyanır.

Bu AFB-Color modifiye boyama kiti, karşıt boya olarak metilen mavisi kullanılır.

Bu kullanım talimatlarında, karşıt boyama için metilen mavisi kullanılmıştır. Numunelerin Sputofluo™ ile ön işleme tabi tutulması bakterileri çevresindeki yapışkan sputum ve hücre materyalinden çözer.

Numune materyali

Havayla kurutulmuş ve ısıyla sabitlenmiş ve Sputofluo™ ile ön işlemden geçirilmiş bakteriyolojik materyal yaymaları; örn. balgam, ince iğne aspirasyonu biyopsilerinden (İİAB) yayma, yıkama, baskı, efüzyon, pus, eksüda, sıvı ve katı kültürler.

Reaktifler

Kat. No. 1.00497.0001

AFB-Color modifiye

Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti

Paket içeriği:

Boyama kiti şunları içerir

Reaktif 1: Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin çözeltisi 500 ml
Reaktif 2: Hidroklorik asit etanolde 2 x 500 ml
Reaktif 3: Löffler metilen mavisi çözeltisi 500 ml

Ayrıca gerekenler:

Kat. No. 1.08000 Sputofluo™ 1 l
mikroskopi için

Tekli reaktifler

1.00497.0001 boyama kitinin yerine aşağıdaki reaktif kombinasyonu kullanılabilir:

Kat. No. 1.09215 Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin çözeltisi 100 ml, 500 ml, mikroskopi için 2,5 l
Kat. No. 1.01287 Löffler metilen mavisi çözeltisi 100 ml, 500 ml, mikroskopi için 2,5 l
Kat. No. 1.00327 Hidroklorik asit etanolde 1 l, 5 l mikroskopi için

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.

Sputum

Aside dirençli bakteriler, mukus ve hücresel yapılardan çözümlerini sağlamak için Sputofluo™ ile ön işleme tabi tutulmalıdır. Bu proseste, aktif bileşen hipoklorit, organik materyali oksidasyon yoluyla çözer ve daha fazla işlenebilmeleri için aside dirençli bakterileri nazikçe serbest bırakır.

Reaktif hazırlama: Sputofluo™ %15 solüsyonunun hazırlanması

Yaklaşık 200 ml solüsyon karışımının hazırlanması için:

Sputofluo™	15 ml
Distile su	85 ml

Santrifüj tüplerinde numune materyali hazırlama:	
Numune	1 parça (en az 2 ml)
Sputofluo™ solüsyonu (distile suda %15)	3 parça
Kuvvetle çalkalayın	10 dk
3000-4800 rpm'de santrifüjleyin	20 dk
Süpernatantı aktarın Sedimentin yaymalarını hazırlayın Hava ile kurutun	

Punktatlar, lavajlar, sedimentler

Uygun zenginleştirme önlemlerinden sonra, numune materyalini lam üzerine yayın ve havayla kurumasını bekleyin.

Yayma numunelerinin fiksasyonu

Numuneler bir Bunsen brülörünün alevi üzerinde fiks edilir (2-3 kez, aşırı ısıtmadan kaçınmaya dikkat ederek).

Numuneler ayrıca 100-110 °C'de bir kurutma kabininde veya bir ısıtma plağında 20 dakika ısıtılarak da sabitlenebilir.

Aşırı sıcaklıklar veya uzun süreli ısıtma, boyama performansının bozulmasına neden olabilir.

Reaktifin hazırlanması

AFB-Color modifiye - Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti boyama için kullanılan reaktifleri kullanıma hazırdır, solüsyonların seyreltilmesi gereksizdir.

Prosedür

Boyama rafında boyama

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

Sabitlenmiş yaymalı lam		
Reaktif 1 (Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin çözeltisi)	tamamen kapatın, buhar oluşuncaya kadar Bunsen brülörü ile aşağıdan üç kez dikkatle ısıtın Boyama solüsyonunun kaynamasına izin vermeyin!	toplamda 5 dakika boyayın
Musluk suyu	daha fazla boya bulutu oluşmayıncaya kadar yıkayın	
Reaktif 2 (hidroklorik asit etanolde)	tümüyle kapatın ve tepkimeye bırakın	15 - 30 sn*
Musluk suyu	hemen yıkayın	
Reaktif 3 (Löffler metilen mavisi çözeltisi)	karşıt boyama, tümüyle kapatın ve tepkimeye bırakın	30 sn**
Musluk suyu	dikkatle yıkayın	
Hava ile kurutun (örn. gece boyunca veya kurutma kabininde 50°C'de)		

* numunenin kalınlığına bağlıdır

**veya seyreltilmiş reaktif 3 (metilen mavi çözeltisi) ile 1 dakika (seyreltme: dist. su ile 1:10 (1+9))

Bakteriyolojik numunelerin birkaç ay süreyle saklanması için susuz montaj ortamı (örn. Neo-Mount™, Entellan™, DPX yeni veya Entellan™ new) ve bir lamel ile kapatma önerilir. Bunun için boyanan numuneler çok iyi kurutulmalıdır.

Mikroskopik büyütmeye > 40x olan boyalı lamaların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Sonuç

Aside dirençli bakteriler	kırmızı
Arka plan	mavi

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

Yayma numunelerinin fiksasyonu

Numunelerin bulaşıcı potansiyelini ve bakterilerin daha fazla çoğalmasını önlemek için bir Bunsen brülörü veya bir ısıtma kabini kullanılarak yeterli derecede ısı fiksasyonu şarttır.

Aside dirençli bakterilerin boyanması yok

Boyama prosedürünün kritik aşaması, yaymanın kalınlığından etkilenebilecek olan renk giderme aşamasıdır.

Ek olarak etanol içindeki taze bir hidroklorik asit çözülümü yüksek düzeyde reaktif olduğundan sonucun dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Renk giderme adımı sırasında bu protokolde belirtilen inkübasyon sürelerine titizlikle uyulmalıdır, aksi takdirde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop, bir tıbbi tanı laboratuvarının gereksinimlerini karşılamalıdır.

Otomatik boyama sistemleri kullanırken lütfen sistem ve yazılım tedarikçisi tarafından verilen kullanım talimatlarına uyun. Doldurmadan önce fazla daldırma yağını çıkarın.

Analitik performans karakteristikleri

"AFB-Color modifiye - boyama kiti", bu Kullanma Kılavuzunun "Sonuç" bölümünde de açıklandığı gibi biyolojik yapıları boyar ve görselleştirir. Ürünün kullanımı sadece yetkili ve kalifiye kişiler tarafından gerçekleştirilmelidir ve buna numune ve reaktif hazırlama, numune elleçleme, uygun kontrollere ilişkin kararlar ve daha fazlası dahildir.

Ürünün analitik performansı, her bir üretim partisinin test edilmesiyle onaylanmıştır. Uluslararası laboratuvarlar arası testlere düzenli olarak başarılı katılım, analitik özgüllük ve tekrarlanabilirlik açısından ek ve bağımsız bir doğrulama sağlar.

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
Ziehl-Neelsen boyama				
Aside dirençli bakteriler	17/17	17/17	6/6	6/6
Arka plan	17/17	17/17	6/6	6/6

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

Ayrıca bu ürünün klinik performansı birçok bilimsel yayında başarıyla kanıtlanmıştır.

AFB-Color modifiye - boyama kiti klinik ortamlarda onlarca yıldır çok sayıda uygulamada başarıyla kullanılmaktadır.

Özellikle AFB-Color modifiye - boyama kiti klinik performansı, kurum içi bir çalışmada çözümünün duyarlılığı ve özgüllüğü ölçülerek belirlendi:

	Ziehl-Neelsen boyama
Duyarlılık	15/15
Özgüllük	15/15

Duyarlılık: 15 numuneden 15'ü: %100

Özgüllük: 15 numuneden 15'i: %100

Bu Performans Değerlendirmesinin sonuçları, ürünün amaçlanan kullanıma uygun olduğunu ve güvenilir şekilde çalıştığını doğrular.

Ancak boyama sonuçlarının tanısıl 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 uygulamaya birlikte uygun kontroller gerçekleştirilmelidir.

Saklama

AFB-Color modifiye - Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti +15 °C ile +25 °C'de saklayın.

Raf ömrü

AFB-Color modifiye - Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti, 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 yaklaşık 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.

Standarda uygun şekilde donatılmış mikroskoplar kullanılmalıdır.

Gerekirse tıbbi tanı laboratuvarına uygun standart bir santrifüj kullanın.

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 yönergelerle 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, maddelerin 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.	1.00327	Hidroklorik asit etanolde mikroskopi için	1 l, 5 l
Kat. No.	1.00579	DPX yeni susuz kapama ortamı mikroskopi için	500 ml
Kat. No.	1.01287	Löffler metilen mavisi çözeltisi mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. No.	1.01597	AFB-Fluor fenolsüz Aside dirençli bakterilerin floresan mikroskopuyla incelenmesi için boyama kiti (Auramin-Rodamin boyama)	1 set
Kat. No.	1.04699	İmmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 100 ml, 500 ml
Kat. No.	1.07960	Entellan™ hızlı destek besiyeri mikroskopi için	500 ml
Kat. No.	1.07961	Entellan™ new hızlı destek besiyeri mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. No.	1.08000	Sputofluo™ mikroskopi için	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.	1.09215	Ziehl-Neelsen carbol-fuchsin çözeltisi mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Kat. No.	1.09843	Neo-Clear™ (ksilen yedeği) mikroskopi için	5 l
Kat. No.	1.16450	AFB-Color boyama kiti aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için (soğuk boyama)	1 set

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.00497.0001

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. 1.00497.0001

Reaktif 1 veya Kat. No. 1.09215

C.I. 42520 veya C.I. 42510

6,3 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 özgülüğüne sahip olacaktır.

Reaktif 2 veya Kat. No. 1.00327

HCl %0,75
C₂H₅OH içerir
1 l = 0,90 kg

Reaktif 3 veya Kat. No. 1.01287

C.I. 52015 4,2 g/l
C₂H₅OH 190 g/l
pH 8,0 - 8,6
1 l = 0,97 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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme, 2009 2. Auflage



H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H290: Metalleri aşındırabilir.

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.

P210: Isıdan, sıcak 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.

Reaktif 3:

H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jun-03	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.



Kullanım talimatlarına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Parti kodu



Dikkat, beraberindeki belgelere bakın



Son kullanma tarihi: YYYY-AA-GG



Sıcaklık sınırlaması

Status 2024-Jun-03

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