

1.10630.0500 **REF****Microscopy****AFB-Color malachite green (oxalate) solution**

for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)

For professional use only

In Vitro Diagnostic Medical Device

**Intended purpose**

This "AFB-Color malachite green (oxalate) solution - for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)" 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 solution that when used together with other in vitro diagnostic products from our portfolio makes 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.

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

Acid-fast bacteria are difficult to stain because of the high proportion of lipid and wax in their cell walls. In order to accelerate the absorption of the fuchsin dye and thus the formation of the mycolate-fuchsin complex in the cell wall, the carbol fuchsin solution applied to the preparation is normally heated until it forms steam. In this case, a modification of the AFB-Color carbol fuchsin solution renders heating unnecessary (Kinyoun method, cold staining).

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. In this instruction for use malachite green is used for counterstaining. Pretreatment of the specimens with Sputofluor™ dissolves the bacteria from the surrounding viscous 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. 1.10630.0500
AFB-Color malachite green (oxalate) solution 1 l, 5 l
for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)

Also required:

Cat. No. 1.00327 Hydrochloric acid in ethanol 1 l, 5 l
for microscopy
Cat. No. 1.08000 Sputofluor™ 1 l
for microscopy
Cat. No. 1.08512 AFB-Color carbol fuchsin solution 500 ml, 2.5 l
for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)

Alternatively:

Instead of the combination of single reagents, the staining kit 1.16450.0001 can be used:

Cat. No. 1.16450.0001
AFB-Color staining kit 1 set
for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)

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 AFB-Color malachite green (oxalate) solution - for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining) used for staining is ready-to-use, dilution of the solution is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and the stability.

Procedure for staining of smear specimens

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

Staining on the staining rack

Slide with fixed smear		
AFB-Color carbol fuchsin solution	cover completely and stain	20 min
Running tap water	rinse until no further clouds of dye are produced	
Hydrochloric acid in ethanol	cover completely and leave to react	15 - 30 sec*
Running tap water	rinse immediately	
AFB-Color malachite green (oxalate) solution	cover completely and leave to react	1 min
Running tap water	rinse carefully	
Air-dry (e.g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

* depending on thickness of specimen

Staining in the staining cell

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

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining

steps as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.		EN		
Slide with fixed smear				
AFB-Color carbol fuchsin solution	20 min			
Running tap water	45 sec			
Hydrochloric acid in ethanol	15 - 30 sec*			
Running tap water	15 sec			
AFB-Color malachite green (oxalate) solution	5 min			
Wash with tap water	10 sec			
Mount with Aquatex® and cover glass.				

* depending on thickness of specimen

Staining in the automatic stainer

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

Reagent	Time	Station
Slide with fixed smear		
AFB-Color carbol fuchsin solution*	20 min	1
Wash with tap water	45 sec	5
Hydrochloric acid in ethanol	15 sec	2
Wash with tap water	15 sec	5
AFB-Color malachite green (oxalate) solution	60 sec	3
Wash with tap water	10 sec	5
Air-dry (e.g. 3 min in station 6 or over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

* Change reagent at station 1 after 10 - 15 cycles or as required.

Covering with non-aqueous mounting media (e.g. Neo-Mount™, Entellan™ new, or DPX 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.

Result

Acid-fast bacteria	red
Background	light green

Evaluation

A positive result means “acid-fast bacteria detected” and a negative result “acid-fast bacteria not detected”. A positive result does not mean that a taxonomic classification by microscopy is possible. If acid-fast bacteria are detected, further analyses must be performed in specially equipped laboratories.
The vitality (active, inactive) of the bacteria can also not be determined.

Trouble-shooting

Fixation of smear samples

A sufficient degree of heat-fixing using a Bunsen burner or in a heating cabinet is essential to prevent the infectious potential of the specimens and further proliferation of the bacteria.

No staining of acid-fast bacteria

The critical step of this staining process is the decolorizing step, which can be influenced by the thickness of the specimen smear.
In addition, a fresh solution of hydrochloric acid in ethanol is highly reactive, meaning that the result should be evaluated with caution. The incubation times stated in this protocol should be kept accurately in the decolorizing step, since otherwise false-negative results may ensue.

Technical notes

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

Analytical performance characteristics

“AFB-Color malachite green (oxalate) solution” stains and thereby visualizes biological structures, as described in the “Result” chapter of this IFU. The use of the product is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, decisions regarding suitable controls and more.

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

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

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
AFB staining				
Acid-fast bacteria	11/11	11/11	8/8	8/8
Background	11/11	11/11	8/8	8/8

Analytical performance results

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

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

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used.
This method can be supplementarily used in human diagnostics. Further tests must be selected and implemented according to recognized methods.

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

Storage

Store the AFB-Color malachite green (oxalate) solution - for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining) at +15 °C to +25 °C.

Shelf-life

The AFB-Color malachite green (oxalate) solution - for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining) can be used until the stated expiry date.

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

The bottles must be kept tightly closed at all times.

Capacity

approx. 250 stainings / 500 ml

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only.
National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.
If necessary use a standard centrifuge suitable for medical diagnostic laboratory.

Protection against infection

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

Instructions for disposal

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

Auxiliary reagents

Cat. No.	1.00327	Hydrochloric acid in ethanol for microscopy	1 l, 5 l
Cat. No.	1.00497	AFB-Color modified Staining kit for the detection of acid-fast bacteria (AFB) by hot staining method	1 set
Cat. No.	1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00869	Entellan™ new for cover slipper for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.01287	Löffler’s methylene blue solution for microscopy	100 ml, 500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.01597	AFB-Fluor phenol-free Staining kit for the examination of acid-fast bacteria with fluorescence microscopy (Auramin-Rhodamine staining)	1 set
Cat. No.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Control Slides with reference tissue for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue	25 tests
Cat. No.	1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No.	1.07961	Entellan™ new	100 ml, 500 ml,

	rapid mounting medium for microscopy	1 l
Cat. No. 1.08000	Sputofluo TM for microscopy	1 l
Cat. No. 1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No. 1.08512	AFB-Color carbol fuchsin solution for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.08562	Aquatex [®] (aqueous mounting agent) for microscopy	50-ml dropping bottle
Cat. No. 1.09016	Neo-Mount TM anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml drop- ping bottle, 500 ml
Cat. No. 1.09843	Neo-Clear TM (xylene substitute) for microscopy	5 l
Cat. No. 1.16450	AFB-Color staining kit for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)	1 set

Hazard classification

Cat. No. 1.10630.0500

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

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

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

Main components of the product

Cat. No. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1.00 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

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-01	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Jul-01

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

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



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

MERCK

1.10630.0500

REF

Mikroskopie

AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung

für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung

Nur für professionelle Anwendung

IVD

In Vitro Diagnostikum

CE

Zweckbestimmung

Die vorliegende „AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung“ für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der bakteriologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um eine gebrauchsfertige Färbelösung, welche zusammen mit anderen In Vitro Diagnostika aus unserem Portfolio Zielstrukturen (säurefeste Stäbchenbakterien (AFB)) mittels Fixieren, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken in bakteriologischem Untersuchungsgut, wie z.B. Ausstrichen von Anreicherungs-Bakterienkulturen, für die Diagnostik auswertbar macht.

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. Um die Aufnahme des Fuchsin-Farbstoffs und damit die Bildung des Mykolat-Fuchsin-Komplexes in der Zellwand zu beschleunigen, wird die auf das Präparat aufgetragene Karbolfuchsinlösung normalerweise bis zur Dampfbildung erhitzt. Hier ist das Erhitzen durch eine Modifikation der AFB-Color Karbolfuchsinlösung nicht notwendig (Kinyoun Methode). Haben die säurefesten Stäbchenbakterien den Fuchsin-Farbstoff aufgenommen, ist ein Entfärben auch bei intensiver Behandlung mit Entfärbelösung, wie z.B. Salzsäure-Alkohol, praktisch unmöglich. Säurefeste Stäbchenbakterien werden deshalb als färberisch säure- und alkoholfest bezeichnet und erscheinen im mikroskopischen Präparat rot gefärbt. Alle nicht-säurefesten Mikroorganismen, werden entsprechend des Farbstoffs der Gegenfärbung angefärbt. In der vorliegenden Gebrauchsanweisung wird entsprechend mit Malachitgrün 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. 1.10630.0500
AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung 500 ml
für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung

Zusätzlich erforderlich:

Art. 1.00327 Salzsäure-Alkohol 1 l, 5 l
für die Mikroskopie
Art. 1.08000 Sputofluor™ für 1 l
die Mikroskopie
Art. 1.08512 AFB-Color Karbolfuchsinlösung 500 ml, 2,5 l
für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung

Alternativ:

Anstatt der Kombination von Einzelreagenzien kann das Färbeset 1.16450.0001 verwendet werden:

Art. 1.16450.0001
AFB-Color Färbeset 1 set
für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung

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 säurefeste 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 säurefeste Stäbchenbakterien schonend frei.

Reagenz Vorbereitung: 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 Färbleistung gerechnet werden.

Reagenz Vorbereitung

Die zur Färbung verwendete AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung - für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung ist gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösung ist nicht notwendig, mindert das Färbergebnis und die Haltbarkeit.

Durchführung für die Färbung von Ausstrichpräparaten

Für ein optimales Färbergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Färbung auf der Färbekbank

Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
AFB-Color Karbolfuchsinlösung	vollständig bedecken und färben	20 min
Fließendes Leitungswasser	spülen bis keine Farbwolken mehr abgehen	
Salzsäure-Alkohol	vollständig bedecken und einwirken lassen	15 - 30 sec*
Fließendes Leitungswasser	unverzüglich spülen	
AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Fließendes Leitungswasser	sorgfältig spülen	
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)		

* in Abhängigkeit von der Dicke des Materials

Färbung in der Färbeküvette

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

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

Objektträger mit fixiertem Ausstrich	
AFB-Color Karbolfuchsinlösung	20 min
Fließendes Leitungswasser	45 sec
Salzsäure-Alkohol	15 - 30 sec*
Fließendes Leitungswasser	15 sec
AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung	5 min
Waschen mit Leitungswasser	10 sec
Eindecken mit Aquatex® und Deckglas.	

* in Abhängigkeit von der Dicke des Materials

Färbung im Färbeautomaten

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

Reagenz	Zeit	Station
Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
AFB-Color Karbolfuchsinlösung*	20 min	1
Waschen mit Leitungswasser	45 sec	5
Salzsäure-Alkohol	15 sec	2
Waschen mit Leitungswasser	15 sec	5
AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung	60 sec	3
Waschen mit Leitungswasser	10 sec	5
Lufttrocknen (z.B. 3 min in Station 6 oder über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)		

* Lösung in der Station 1 nach 10 - 15 Durchgängen oder bei Bedarf wechseln.

Für die Lagerung von bakteriologischen Präparaten über mehrere Monate, wird das Eindecken mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. Neo-Mount™, Entellan™ Neu oder DPX 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	hellgrün

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 Hitze-fixierung 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

Die vorliegende „AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung“ 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 Reagenzvorbereitung, Probenbehandlung, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr.
Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt.
Für die folgenden Färbungen wurden die analytische Leistung in Form von Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit des Produkts mit einer Rate von 100 % bestätigt:

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
AFB-Färbung				
säurefeste Stäbchenbakterien	11/11	11/11	3/3	3/3
Hintergrund	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Diagnostik

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

Lagerung

AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung - für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Haltbarkeit

Die AFB-Color Malachitgrün (Oxalat)-Lösung - für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung 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

etwa 250 Färbungen / 500 ml

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.	1.00497	AFB-Color modifiziert Färbekit für den Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Heißfärbung	1 set
Art.	1.00579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art.	1.00869	Entellan™ Neu für Eideckautomaten 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.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrollpräparate mit Referenzgewebe zum Nachweis von säurefesten Stäbchenbakterien im	25 tests

	histologischen Gewebe	
Art. 1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	Sputofluol™ für die Mikroskopie	1 l
Art. 1.08298	Xylol (Isomerengemisch) für die Histologie	4 l
Art. 1.08512	AFB-Color Karbolfuchsinlösung für die mikroskopische Untersuchung von säurefesten Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.08562	Aquatex® (wässriges Eindeckmittel) für die Mikroskopie	50-ml-Tropf- flasche
Art. 1.09016	Neo-Mount™ wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (Xylol-Ersatz) für die Mikroskopie	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color Färbeset für die mikroskopische Untersuchung von säurefeste Stäbchenbakterien (AFB) mittels Kaltfärbung	1 set

Gefahrstoffeinstufung

Art. 1.10630.0500
Die Gefahrstoffeinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheits-
datenblatt sind zu beachten.
Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.
ACHTUNG! Enthält CMR-Substanzen. Bitte entsprechende Sicherheitshin-
weise im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Hauptbestandteile des Produkts

Art. 1.10630.0500
C.I. 42000 2 g/l
 $(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$
1 l = 1,00 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

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-01	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie



Gebrauchsanweisung
beachten



Hersteller



Katalognummer



Chargen-
code



Achtung, Begleitdoku-
mentation beachten



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT



Temperatur-
begrenzung

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500 **REF****Microscopie****AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution de coloration**

pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid

Réservé à une utilisation professionnelle

Dispositif médical de diagnostic in vitro

**Objectif prévu**

La présente « AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution de coloration - pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid » est utilisée pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen bactériologique d'échantillons d'origine humaine. C'est une solution de coloration prête à l'emploi qui est utilisée conjointement avec d'autres diagnostics in vitro de notre portefeuille pour rendre des structures 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.

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

La richesse en cire et en lipides de l'enveloppe cellulaire est responsable de la très lente absorption des colorants par les bactéries acido-résistantes. Habituellement, la solution de carbolfuchisine appliquée sur la préparation est chauffée jusqu'à vaporisation, ce procédé permettant d'accélérer l'absorption du colorant à la fuchisine et la formation du complexe myco-fuchisine dans l'enveloppe cellulaire. Ici, le chauffage n'est plus nécessaire grâce à une modification de la AFB-Color solution de carbolfuchisine (méthode Kinyoun).

Une fois que les bactéries acido-résistantes ont absorbé le colorant, elles le conservent et n'en rendent qu'une infime quantité, même lors d'un traitement avec des solutions de décoloration comme par ex. de l'éthanol contenant de l'acide chlorhydrique. On dit alors des bactéries acido-résistantes qu'elles présentent une acido-alcool-résistance tinctoriale. Elles prennent une coloration rouge dans la préparation microscopique tandis que tous les micro-organismes non acido-résistants prennent la coloration contraire. Dans le présent consigne d'utilisation la contre-coloration est effectuée au vert malachite.

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. 1.10630.0500 AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution de coloration pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid 500 ml

Nécessaire en plus :

Art. 1.00327 Acide chlorhydrique alcoolique pour la microscopie 1 l, 5 l
Art. 1.08000 Sputofluor™ pour la microscopie 1 l
Art. 1.08512 AFB-Color solution de carbolfuchisine pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid 500 ml, 2,5 l

En alternative :

Le kit de coloration 1.164540.0001 peut être utilisé à la place de la combinaison des réactifs individuelles :

Art. 1.16450.0001 AFB-Color Coffret de coloration pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid 1 set

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

AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution de coloration - pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid est prête à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer la solution étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Mode opératoire pour la coloration des préparations à frottis

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

Coloration sur le banc de coloration

Porte-objet avec frottis fixé		
AFB-Color solution de carbolfuchisine	recouvrir complètement et colorer	20 minutes
Eau du robinet courante	rincer jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur	
Acide chlorhydrique alcoolique	recouvrir complètement et laisser agir	15 - 30 secondes*
Eau du robinet courante	rincer immédiatement	
AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau du robinet courante	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

Coloration dans la cuve de coloration

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

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures

	microscopie de fluorescence des bactéries acido-résistantes (coloration Auramine-Rhodamine)	
Art. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	Sputofluo ™ pour la microscopie	1 l
Art. 1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art. 1.08512	AFB-Color solution de carbofuchsine pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid	500 ml, 2,5 l
Art. 1.08562	Aquatex® (produit de montage aqueux) pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 50 ml
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color Coffret de coloration pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid	1 set

Classification des matières dangereuses

Art. 1.10630.0500

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 du produit

Art. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

(C₂₃H₂₅N₂)₂C₂H₄(C₂H₂O₄)₂

1 l = 1,00 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 Kiernan, J.A). Bios, 2002

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-01	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions



Respectez les consignes d'utilisation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la documentation complémentaire



Utilisable jusqu'au AAAA-MM-JJ



Limitation de température

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500 **REF****Microscopía****AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución**

para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)

Solamente para uso profesional

Producto sanitario para diagnóstico in vitro

**Finalidad prevista**

El presente "AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución - para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen bacteriológico de muestras de origen humano. Se trata de una solución de tinción lista 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.

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 absorben los colorantes sólo muy lentamente debido a la elevada proporción de ceras y lípidos en la pared celular. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micolatofucsina en la pared celular, se calienta la solución de carbolfucsina aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. Aquí no es necesario el calentamiento gracias a una modificación de la AFB-Color carbolfucsina en solución (método de Kinyoun).

Una vez los bacilos acidorresistentes han absorbido el colorante, a penas lo ceden de nuevo a pesar de tratamiento intensivo con solución decolorante, como p. ej. ácido clorhídrico-alcohol. Los bacilos acidorresistentes son por ello denominados como de tinción sólida frente ácidos y alcohol y aparecen en el preparado microscópico teñidos de rojo, mientras que todos los microorganismos no resistentes a los ácidos se tiñen de acuerdo con la contratinción. En el presente instrucción de empleo se contratiñe de la forma correspondiente con verde de malaquita.

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. 1.10630.0500 AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución 500 ml
para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)

Necesario además:

Art. 1.00327 Ácido clorhídrico-alcohol 1 l, 5 l
para microscopía
Art. 1.08000 Sputofluor™ 1 l
para microscopía
Art. 1.08512 AFB-Color carbolfucsina en solución 500 ml, 2,5 l
para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)

Alternativamente:

En lugar de la combinación de los reactivos sueltos puede utilizarse también el kit de tinción 1.16450.0001:

Art. 1.16450.0001 AFB-Color Kit de tinción 1 set
para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)

Preparación de 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.

Esputo

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 parti
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

El AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución - para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío) está listo para el uso, la dilución de la solución no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Técnica para la tinción de preparados de frotis

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

Tinción en el banco de tinción

Portaobjetos con frotis fijado		
AFB-Color carbolfucsina en solución	cubrir completamente y teñir	20 minutos
Agua corriente del grifo	enjuagar hasta que ya no se desprendan nubes de color	
Ácido clorhídrico-alcohol	cubrir completamente y dejar actuar	15 - 30 segundos*
Agua corriente del grifo	enjuagar inmediatamente	
AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua corriente del grifo	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

Tinción en la cubeta de tinción

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

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los

diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Portaobjetos con frotis fijado	
AFB-Color carbolfucsina en solución	20 minutos
Agua corriente del grifo	45 segundos
Ácido clorhídrico-alcohol	15 - 30 segundos*
Agua corriente del grifo	15 segundos
AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución	5 minutos
Lavar con agua corriente del grifo	10 segundos
Montar con Aquatex® y cubreobjetos.	

* en dependencia del espesor del material

Tinción en el aparato automático de tinción

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

Reactivo	Tiempo	Estación
Portaobjetos con frotis fijado		
AFB-Color carbolfucsina en solu- ción*	20 minutos	1
Lavar con agua del grifo	45 segundos	5
Ácido clorhídrico-alcohol	15 segundos	2
Lavar con agua del grifo	15 segundos	5
AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución	60 segundos	3
Lavar con agua del grifo	10 segundos	5
Secar al aire (p.ej. 3 minutos en la estación 6, o durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

* Cambiar la solución en la estación 1 después de 10 a 15 pasadas, o cuando se haga necesario.

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™ Nuevo o DPX 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	verde claro

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 mechero 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 decoloración, 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 decoloración, 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 verde malaquita (oxalate) en solución” 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.

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 %:

	Especifici- dad inter- ensayos	Especifici- dad inter- ensayos	Especi- ficidad intraensa- yos	Especi- ficidad intraensa- yos
Tinción de AFB				
Bacilos acidorre- sistentes	11/11	11/11	3/3	3/3
Fondo	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Diagnóstico

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

Almacenamiento

Guardar el AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución - para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío) de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución - para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío) 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

aprox. 250 tinciones / 500 ml

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.	1.00497	AFB-Color modificado Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente	1 set
Art.	1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art.	1.00869	Entellan™ nuevo para montadores de cubreobjetos para microscopía	500 ml
Art.	1.01287	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. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Preparados de control con tejido de referencia para la detección de bacilos acidorresistentes en tejido histológico	25 tests
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	SputofluoI™ para microscopía	1 l
Art. 1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 1.08512	AFB-Color carbofucsina en solución para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)	500 ml, 2,5 l
Art. 1.08562	Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía	frasco gotero de 50 ml
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color kit de tinción para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) por tinción en frío	1 set

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.10630.0500

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 del producto

Art. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

(C₂₃H₂₅N₂)₂C₂H₄(C₂H₂O₄)₂

1 l = 1,00 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

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-01	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones



Observe las instrucciones de uso



Fabricante



Número de catálogo



Código del lote



Atención, observar la documentación pertinente



Utilizable hasta
AAAA-MM-DD



Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500 **REF****Microscopie****AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione**

per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)

Solo per uso professionale

Dispositivo medico-diagnostico in vitro

**Scopo previsto**

La presente „AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione - per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)“ è utilizzata per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame batteriologico di campioni di origine umana. È una soluzione di colorazione pronta all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici in vitro del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio (batteri acido-resistenti (AFB)) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di colture batteriche arricchite.

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 parete cellulare, i batteri acido-resistenti assorbono i coloranti solo molto lentamente. Per accelerare il processo di assorbimento della sostanza colorante fucsina e di conseguenza la formazione del complesso acidi micologici-fucsina nella parete cellulare, la soluzione carbolfucsina impiegata nel preparato viene generalmente riscaldata fino ad emissioni di vapori. Grazie a una modificazione della AFB-Color carbolfucsina soluzione, qui non è necessario procedere al riscaldamento (metodo di Kinyoun).

Una volta che i batteri acido-resistenti hanno assorbito il colorante, lo cedono molto difficilmente, anche se sottoposti a trattamenti intensivi con soluzioni decoloranti come ad esempio l'acido cloridrico alcoolico. I batteri acido-resistenti sono dunque caratterizzati da resistenza all'acido e all'alcool e assumono una colorazione rossa nel preparato per l'analisi al microscopio, mentre i microrganismi non resistenti all'acido si colorano secondo la controcolorazione. Nel presente istruzione per l'uso, la controcolorazione viene eseguita con il verde malachite.

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, impronte, effusioni, pus, essudati, colture liquide e solide

Reattivi

Art. 1.10630.0500 AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione 500 ml per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)

Inoltre necessario:

Art. 1.00327 Acido cloridrico alcoolico 1 l, 5 l

per microscopia

Art. 1.08000 Sputofluor™ 1 l per microscopia

Art. 1.08512 AFB-Color carbolfucsina soluzione 500 ml, 2,5 l per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)

In alternativa:

Al posto della combinazione dei reattivi singole può essere utilizzato anche il kit di colorazione 1.16450.0001:

Art. 1.16450.0001 AFB-Color Kit colorante 1 set per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)

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 aliquota (minimo 2 ml)
Soluzione di Sputofluor™ (al 15 % con acqua distillata)	3 aliquote
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

La AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione - per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo) utilizzata per la colorazione è pronta all'uso, non è richiesta la diluizione della soluzione, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Esecuzione per la colorazione a freddo di preparati di strisci

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

Colorazione con rastrello di colorazione

Portaoggetti con striscio fissato		
AFB-Color carbolfucsina soluzione	coprire completamente e colorare	20 minuti
Acqua di rubinetto corrente	sciacquare fino a quando non compaiono più nuvolette di colore	
Acido cloridrico alcoolico	coprire completamente e lasciar agire	15 - 30 secondi*
Acqua di rubinetto corrente	sciacquare immediatamente	
AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua di rubinetto corrente	sciacquare accuratamente	
Asciugare all'aria (ades. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)		

* a seconda dello spessore del materiale

Colorazione nella cuvetta di colorazione

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

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

Portaoggetti con striscio fissato	
AFB-Color carbolfucsina soluzione	20 minuti
Acqua di rubinetto corrente	45 secondi
Acido cloridrico alcolico	15 - 30 secondi*
Acqua di rubinetto corrente	15 secondi
AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione	5 minuti
Lavare con acqua di rubinetto	10 secondi
Montare con Aquatex® e coprioggetto.	

* a seconda dello spessore del materiale

Colorazione nel strumento automatico colorazione

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

Reattivo	Tempo	Stazione
Portaoggetti con striscio fissato		
AFB-Color carbolfucsina soluzione*	20 minuti	1
Lavare con acqua di rubinetto	45 secondi	5
Acido cloridrico alcolico	15 secondi	2
Lavare con acqua di rubinetto	15 secondi	5
AFB-Color verde malachite (ossala-to) soluzione	60 secondi	3
Lavare con acqua di rubinetto	10 secondi	5
Asciugare all’aria (ades. 3 minuti nella stazione 6 oppure per una notte o a 50 °C nell’armadio di asciugatora)		

* Cambiare la soluzione nella stazione 1 dopo 10 - 15 passaggi oppure secondo le necessità.

Per stoccare i preparati batteriologici per diversi mesi, si raccomanda il montaggio con un mezzo di montaggio anidro (ades., Neo-Mount™, Entellan™ Neo o DPX 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	verde chiaro

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 verde malachite (ossalato) soluzione” 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.
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 AFB				
Batteri acido-resistenti	11/11	11/11	3/3	3/3
Sfondo	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Diagnostica

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

Conservazione

La AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione - per l’esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo) va conservata ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Stabilità

La AFB-Color verde malachite (ossalato) soluzione - per l’esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo) può essere utilizzata 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

circa 250 colorazioni / 500 ml

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.	1.00497	AFB-Color modificato Kit di colorazione per la rilevazione di batteri acido-resistenti (AFB) mediante colorazione a caldo	1 set
Art.	1.00579	DPX Neo mezzo di montaggio anidro per microscopia	500 ml
Art.	1.00869	Entellan™ Nuovo montante per vetrini per microscopia	500 ml
Art.	1.01287	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.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Preparati di controllo con tessuto di riferimento per il rilevamento di batteri acido-resistenti nei tessuto sottoposti a esame istologico	25 tests

Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08000	Sputofluor™ per microscopia	1 l
Art. 1.08298	Xilene (miscela di isomeri) per istologia	4 l
Art. 1.08512	AFB-Color carbofucsina soluzione per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)	500 ml, 2,5 l
Art. 1.08562	Aquatex® (mezzo di montaggio acquoso) per microscopia	flacone contagocce di 50 ml
Art. 1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sostituto xilolo) per microscopia	5 l
Art. 1.16450	AFB-Color Kit colorante per l'esame microscopico dei batteri acido-resistenti (AFB) (colorazione a freddo)	1 set

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.10630.0500
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 del prodotto

Art. 1.10630.0500
C.I. 42000 2 g/l
 $(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$
1 l = 1,00 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

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-01	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni



Attenersi alle istruzioni per l'uso



Fabbricante



N. di catalogo



Codice del lotto



Attenzione, consultare la documentazione di accompagnamento



Data di scadenza
AAAA-MM-GG



Limiti di temperatura

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500 REF

Μικροσκοπία**Διάλυμα AFB-Color πράσινου του Μαλαχίτη (οξαλικό)**

για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης)

Για επαγγελματική χρήση μόνο

In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

**Προβλεπόμενος σκοπός**

Το «Διάλυμα AFB-Color πράσινο του μαλαχίτη (οξαλικό)» - για μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης)» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και εξυπηρετεί τον σκοπό της βακτηριολογικής διερεύνησης υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για ένα έτοιμο για χρήση διάλυμα χρώσης που, όταν χρησιμοποιείται μαζί με άλλα in vitro διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τις δομές στόχους (π.χ. οξεάντοχα βακτήρια (AFB)) σε υλικά βακτηριολογικών δειγμάτων, όπως επιχρίσματα εμπλουτισμένων βακτηριακών καλλιιεργειών, αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς, μέσω μονιμοποίησης, χρώσης, αντιχρώσης και στερέωσης.

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

Τα οξεάντοχα βακτήρια είναι δύσκολα στη χρώση λόγω του υψηλού ποσοστού λιπιδίων και κεριού στα κυτταρικά τους τοιχώματα. Προκειμένου να επιταχυνθεί η απορρόφηση της χρωστικής φουξίνης και έτσι ο σχηματισμός του συμπλόκου μυκολικού-φουξίνης στο κυτταρικό τοίχωμα, το διάλυμα καρμπολ φουξίνης που εφαρμόζεται στο παρασκεύασμα θερμαίνεται κανονικά έως ότου σχηματιστεί ατμός. Σε αυτή την περίπτωση, μια τροποποίηση του διαλύματος AFB-Color καρβολικής φουξίνης καθιστά απαραίτητη τη θέρμανση (μέθοδος Kinyoun, ψυχρή χρώση). Μόλις τα οξεάντοχα βακτήρια απορροφήσουν τη χρωστική φουξίνης, 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 χρώνυνται κόκκινα στη μικροσκοπική απεικόνιση. Αντιστοίχως, όλοι οι μη οξεάντοχοι μικροοργανισμοί αντιχρώννυνται με κατάλληλη χρωστική. Σε αυτές τις οδηγίες χρήσης, το πράσινο του μαλαχίτη χρησιμοποιείται για αντιχρώση. 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 1.10630.0500 Διάλυμα AFB-Color πράσινο του μαλαχίτη (οξαλικό) για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης) 500 ml

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου 1.00327 Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη για μικροσκοπία 1 l, 5 l
Αρ. καταλόγου 1.08000 Sputofluor™ για μικροσκοπία 1 l
Αρ. καταλόγου 1.08512 Διάλυμα AFB-Color καρβολικής φουξίνης για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης) 500 ml, 2,5 l

Εναλλακτικά:

Αντί για τον συνδυασμό μονών αντιδραστηρίων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το kit χρώσης 1.16450.0001:

Αρ. καταλόγου 1.16450.0001 AFB-Color Σετ χρώσης για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης) 1 set

Προετοιμασία δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό.

Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγ-μένης 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 οξείδωση 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, αναμείξτε:

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 συνενάγονται επιδείνωση της απόδοσης της χρώσης.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το Διάλυμα AFB-Color πράσινο του μαλαχίτη (οξαλικό) - για μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης) που χρησιμοποιείται για χρώση είναι έτοιμο για χρήση. Η αραιώση αυτού του διαλύματος δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς του.

Διαδικασία χρώσης δειγμάτων επιχρίσματος

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

Χρώση στον δειγματοφορέα χρώσης

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα		
Διάλυμα AFB-Color καρβολικής φουξίνης	καλύπτε εντελώς και κάντε χρώση	20 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	Εκπλύνετε έως ότου δεν παράγονται άλλα νέφη χρωστικής	
Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	15 - 30 δευτ.*
Τρεχούμενο νερό βρύσης	Εκπλύνετε αμέσως	
Διάλυμα AFB-Color πράσινου του Μαλαχίτη (οξαλικό)	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτό
Τρεχούμενο νερό βρύσης	εκπλύνετε προσεκτικά	
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. όλη τη νύχτα ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]		

* ανάλογα με το πάχος του δείγματος

Χρώση στο κύτταρο χρώσης

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

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

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα	
Διάλυμα AFB-Color καρβολικής φουξίνης	20 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	45 δευτ.
Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη	15 - 30 δευτ.*
Τρεχούμενο νερό βρύσης	15 δευτ.
Διάλυμα AFB-Color πράσινου του Μαλαχίτη (οξαλικό)	5 λεπτά
Πλύνετε με νερό βρύσης	10 δευτ.
Στερεώστε με Aquatex® και καλυπτρίδα.	

* ανάλογα με το πάχος του δείγματος

Χρώση στο αυτοματοποιημένο σύστημα χρώσης

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

Αντιδραστήριο	Χρόνος	Σταθμός
Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα		
Διάλυμα AFB-Color καρβολικής φουξίνης*	20 λεπτά	1
Πλύνετε με νερό βρύσης	45 δευτ.	5
Υδροχλωρικό οξύ σε αιθανόλη	15 δευτ.	2
Πλύνετε με νερό βρύσης	15 δευτ.	5
Διάλυμα AFB-Color πράσινου του Μαλαχίτη (οξαλικό)	60 δευτ.	3
Πλύνετε με νερό βρύσης	10 δευτ.	5
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. 3 λεπτά στον σταθμό 6 ή όλη τη νύχτα ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]		

* Αλλάξτε αντιδραστήριο στον σταθμό 1 μετά από 10 - 15 κύκλους ή όπως απαιτείται.

Η κάλυψη με μη υδατικά μέσα στερέωσης (π.χ. Neo-Mount™, Entellan™ νέο ή DPX νέο) και μια καλυπτρίδα συνιστάται 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 ερυθρό
Υπόβαθρο ανοιχτό πράσινο

Αξιολόγηση

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

Αντιμετώπιση προβλημάτων

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

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

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

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορι-σμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορι-σμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορι-σμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορι-σμού
Χρώση AFB				
Οξεάντοχα βακτήρια	11/11	11/11	3/3	3/3
Υπόβαθρο	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Διάγνωση

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

Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.

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

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

Φύλαξη

Αποθηκεύστε το Διάλυμα AFB-Color πράσινο του μαλαχίτη (οξαλικό) - για μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης) σε +15 °C έως +25 °C.

Διάρκεια ζωής

Το Διάλυμα AFB-Color πράσινο του μαλαχίτη (οξαλικό) - για μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης) μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

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

Οι φιάλες πρέπει να διατηρούνται ερμητικά κλειστές συνεχώς.

Ικανότητα

περίπου 250 χρώσεις / 500 ml

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 1.00497	Κιτ τροποποιημένης χρώσης κατά AFB-Color για την ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) με μέθοδο θερμής χρώσης	1 set
Αρ. καταλόγου 1.00579	DPX νέο μη υδατικό μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.00869	Entellan™ νέο για καλυπτρίδα για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.01287	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 1.02560	Πλάκες ελέγχου AFB ISOSLIDE™ με ιστό αναφοράς για ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων στο ιστολογικό υλικό	25 δοκιμασίες
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμβάπτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.08000	Sputofluol™ για μικροσκοπία	1 l
Αρ. καταλόγου 1.08298	Ξυλένιο (ισομερές μείγμα) για ιστολογία	4 l
Αρ. καταλόγου 1.08512	Διάλυμα AFB-Color καρβολικής φουξίνης για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) (μέσω ψυχρής χρώσης)	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.08562	Aquatex® (υδατικό μέσο στερέωσης) για μικροσκοπία	Σταγονομετρή φιάλη 50 ml
Αρ. καταλόγου 1.09016	Neo-Mount™ άνυδρο μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09843	Neo-Clear™ (υποκατάστατο ξυλενίου) για μικροσκοπία	5 l
Αρ. καταλόγου 1.16450	AFB-Color Σετ χρώσης για τη μικροσκοπική ανίχνευση οξεάντοχων βακτηρίων (AFB) μέσω ψυχρής χρώσης	1 set

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.10630.0500
Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της επικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφάλειας.
Το φύλλο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

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

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

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 1.10630.0500
C.I. 42000 2 g/l
(C₂₃H₂₅N₂)₂C₂H₄(C₂H₅O₄)₂
1 l = 1,00 kg

Γενική παρατήρηση

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

Δογοτεχνία

- 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

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-01	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως ΕΕΕΕ-ΜΜ-ΗΗ



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500

REF

Mikroskopi

AFB-Color malakitgrönt(oxalat) lösning

för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning

Endast för yrkesmässig användning

IVD

Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik



Avsett syfte

Denna "AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning - för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning" används till humanmedicinsk celldiagnostik vid bakteriologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. Det är en bruksfärdig färgningslösning som, när den används tillsammans med andra in vitro-diagnostiska produkter från vårt sortiment, möjliggör en diagnostisk utvärdering av målstrukturer (t.ex. syrefasta bakterier (AFB)) genom fixering, färgning, motfärgning och montering i bakteriologiska provmaterial, t.ex. utstryk av berikade bakterieodlingar.

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 är svåra att färga, eftersom cellväggarna innehåller en stor andel lipider och vax. För att påskynda absorptionen av fuchsinfärgämnet och därmed bildandet av mykolate-fuchsin-komplexet i cellväggen upphettas normalt karbolfuchsinlösningen som appliceras på beredningen tills den bildar ånga. I det här fallet behövs ingen uppvärmning tack vare en modifiering av AFB-Color karbolfuchsinlösning (Kinyounmetoden, kallfärgning).

När syrefasta bakterier har absorberat fuchsinfärgämnet är det nästan omöjligt att avfärga dem igen, även om de intensivbehandlas med en avfärgande lösning som saltsyra i etanol. Följaktligen betecknas syrefasta bakterier som syra- och alkoholfasta när det gäller färgning, och färgas röda i den mikroskopiska visualiseringen. På motsvarande sätt avfärgas alla icke-syrefasta mikroorganismer med ett lämpligt färgämne. I denna bruksanvisning används malakitgrönt för motfärgning. 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 1.10630.0500	AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning	500 ml
------------------------	--	--------

Dessutom behövs:

Kat.nr 1.00327	Saltsyra i etanol för mikroskopi	1 l, 5 l
Kat.nr 1.08000	Sputofluor™ för mikroskopi	1 l
Kat.nr 1.08512	AFB-Color karbolfuchsinlösning för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning	500 ml, 2,5 l

Alternativt:

I stället för en kombination av enstaka reagens kan färgningssatsen 1.16450.0001 användas:

Kat.nr 1.16450.0001	AFB-Color färgningskit för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning	1 set
------------------------	---	-------

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal.

Alla prover måste bearbetas med modern teknik.

Alla prover måste märkas tydligt.

Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning. Följ tillverkarens instruktioner för applicering/användning.

Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas.

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

AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning - för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning är bruksfärdig. Spädning av lösningen är inte nödvändig – det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrad färgningsstabilitet.

Förfarande för att färga in utstryksprover

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

Färgning på färgningsställ

Objektglas med fixerat utstryk		
AFB-Color karbolfuchsinlösning	täck helt och färga	20 min.
Rinnande kranvatten	skölj tills det inte längre bildas några moln av färgämne	
Saltsyra i etanol	täck fullständigt och låt reagera	15 - 30 s*
Rinnande kranvatten	skölj omedelbart	
AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Rinnande kranvatten	skölj noggrant	
Lufttorka (t.ex. över natten eller vid 50 °C i torkskåp)		

* beroende på provets tjocklek

Färgning i färgkyvett

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

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

Objektglas med fixerat utstryk	
AFB-Color karbolfuchsinlösning	20 min.
Rinnande kranvatten	45 s
Saltsyra i etanol	15 - 30 s*
Rinnande kranvatten	15 s
AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning	5 min.
Tvätta med kranvatten	10 s
Montera med Aquatex® och täckglas	

* beroende på provets tjocklek

Färgning i färgningsautomat

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

Reagens	Tid	Station
Objektglas med fixerat utstryk		
AFB-Color karbolfuchsinlösning*	20 min.	1
Tvätta med kranvatten	45 s	5
Saltsyra i etanol	15 s	2
Tvätta med kranvatten	15 s	5
AFB-Color malakitgrönt(oxalat) lösning	60 s	3
Tvätta med kranvatten	10 s	5
Lufttorka (t.ex. 3 min. vid station 6 eller över natten eller vid 50 °C i torkskåp)		

* Byt reagens vid station 1 efter 10-15 cykler eller efter behov

Vi rekommenderar att du täcker med ett icke-vattenhaltigt monteringsmedium (t.ex. Neo-Mount™, Entellan™ ny eller DPX ny) och ett 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	ljusgrön

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 malakitgrönt(oxalat)lösning” infärgar och visualiserar 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.

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
AFB-färgning				
Syrefasta bakterier	11/11	11/11	3/3	3/3
Bakgrund	11/11	11/11	3/3	3/3

Analytiska prestandaresultat

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

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

Diagnostik

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

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

Förvaring

Förvara AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning - för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning vid +15 °C till +25 °C.

Hållbarhetstid

AFB-Color malakitgrönt(oxalat)lösning - för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning 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

ungefär 250 färgningar/500 ml

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 1.00497	AFB-Color modifierat färgningskit för detektion av syrefasta bakterier (AFB) genom varmfärgning	1 set
Kat.nr 1.00579	DPX ny vattenfritt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr 1.00869	Entellan™ ny täckglas för mikroskopi	500 ml

Kat.nr 1.01287	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 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrollglas med referensvävnad för detektion av syrefasta bakterier i histologisk vävnad	25 test
Kat.nr 1.04699	Immersionsolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml
Kat.nr 1.07961	Entellan™ ny snabbt monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr 1.08000	Sputofluo™ för mikroskopi	1 l
Kat.nr 1.08298	Xylen (isomerblandning) för histologi	4 l
Kat.nr 1.08512	AFB-Color karbolfuchsinlösning för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.08562	Aquatex® (vattenbaserat monteringsmedel) för mikroskopi	50 ml droppflaska
Kat.nr 1.09016	Neo-Mount™ vattenfritt monteringsmedel för mikroskopi	100 ml droppflaska, 500 ml
Kat.nr 1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitut) för mikroskopi	5 l
Kat. nr 1.16450	AFB-Color färgningskit för mikroskopiundersökning av syrefasta bakterier (AFB) genom kallfärgning	1 set

Faroklassificering

Kat.nr 1.10630.0500

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 1.10630.0500

Färgindex 4200 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 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 Kiernan, J.A). Bios, 2002

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-01	Första version med införande av revisionshistorik



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperaturbegränsning

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500 **REF****Mikroskopie****AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat)**

pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)

Pouze pro profesionální použití

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro

**Zamýšlený účel**

Tento „AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat) – pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k účelům bakteriologického vyšetření materiálů ve vzorcích lidského původu. Jedná se o barvicí roztok k přímému použití, který v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku in vitro z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové struktury (např. acidorezistentní bakterie (AFB)) prostřednictvím fixace, barvení, dobarvení, montování v materiálech bakteriologických vzorků, například v náterech z pomnožených bakteriálních kultur, pro diagnostické účely.

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

Barvení acidorezistentní bakterie je náročné vzhledem k vysokému obsahu lipidů a vosku v jejich buněčných stěnách. Aby se urychlila absorpce fuchsinového barviva a tím tvorba komplexu mykolát-fuchsin v buněčné stěně, roztok karbolfuchsinu aplikovaný na přípravek se normálně zahřívá, dokud nevytvoří páru. V tomto případě není nutné díky modifikaci karbolfuchsinového roztoku AFB-Color provádět zahřívání (Kinyounova metoda, barvení za studena).

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

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

Materiál vzorku

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

Činidla

Kat. č. 1.10630.0500	AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat) pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)	500 ml
-------------------------	--	--------

Další potřebné materiály:

Kat. č. 1.00327	Kyselina chlorovodíková v ethanolu pro mikroskopii	1 l, 5 l
Kat. č. 1.08000	Sputofluo™ pro mikroskopii	1 l
Kat. č. 1.08512	AFB-Color roztok karbolfuchsinu pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)	500 ml, 2,5 l

Alternativně:

Namísto kombinace samostatných činidel lze použít barvicí soupravu 1.16450.0001:

Kat. č. 1.16450.0001	AFB-Color barvicí souprava pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)	1 set
-------------------------	---	-------

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 Sputofluo™ a oddělit je tak od hleny 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 Sputofluo™ 15 %

Na přípravu přibližně 100 ml roztoku smíchejte:

Sputofluo™	15 ml
Destilovaná voda	85 ml

Příprava materiálu vzorku v centrifugačních zkumavkách:	
Vzorek	1 díl (min. 2 ml)
Roztok Sputofluo™ (15% v destilované vodě)	3 dílů
Řádně 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

AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat) – pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena) je určen k přímému použití; roztoky není nutné ředit, ředění by mohlo vést ke zhoršení výsledku barvení a stability.

Postup barvení nátěrů

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

Barvení v barvicím stojánku

Sklíčko s fixovaným nátěrem		
AFB-Color roztok karbolfuchsinu	Zcela pokryjte a nechte obarvit	20 min
Tekoucí vodovodní voda	oplachujte tak dlouho, dokud se nepřestanou uvolňovat další obláčky barviva	
Kyselina chlorovodíková v ethanolu	úplně pokryjte a nechte reagovat	15–30 s*
Tekoucí vodovodní voda	ihned opláchněte	
AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat)	úplně pokryjte a nechte reagovat	1 min
Tekoucí vodovodní voda	pečlivě opláchněte	
Ponechteje volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)		

* v závislosti na tloušťce vzorku

Barvení v barvicí komůrce

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

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

Sklička s fixovaným nátěrem	
AFB-Color roztok karbolfuchsinu	20 min
Tekoucí vodovodní voda	45 sekundy
Kyselina chlorovodíková v ethanolu	15–30 s*
Tekoucí vodovodní voda	15 sekundy
AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat)	5 min
Omyjte vodou z vodovodu	10 s
Namontujte pomocí přípravku Aquatex® a zakryjte skličkem.	

* v závislosti na tloušťce vzorku

Barvení v barvicím automatu

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

Činidlo	Čas	Stanice
Sklička s fixovaným nátěrem		
AFB-Color roztok karbolfuchsinu*	20 min	1
Omyjte vodou z vodovodu	45 s	5
Kyselina chlorovodíková v ethanolu	15 s	2
Omyjte vodou z vodovodu	15 s	5
AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat)	60 sekundy	3
Omyjte vodou z vodovodu	10 s	5
Ponechejte volně uschnout (např. 3 min ve stanici 6 nebo přes noc nebo v sušárně při 50 °C)		

* Po 10 až 15 cyklech nebo dle potřeby vyměňte činidlo ve stanici 1.

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

Výsledek

Acidorezistentní bakterie	červená
Pozadí	světle zelené

Hodnocení

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

Odstraňování potíží

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 roztok malachitové zeleně (oxalat)“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitole „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek smějí 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.

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

	Specifičnost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifičnost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Barvení AFB				
Acidorezistentní bakterie	11/11	11/11	3/3	3/3
Pozadí	11/11	11/11	3/3	3/3

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

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

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

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál. Je nutné používat platné nomenklatury. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí. Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznanych metod.

Při každé aplikaci použijte vhodné kontroly (např. ISOSLIDE™ AFB, kat. č. 1.02560.0001), předejdete tak nesprávným výsledkům.

Skladování

AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat) – pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena) skladujte při teplotě +15 až +25 °C.

Doba použitelnosti

AFB-Color roztok malachitové zeleně (oxalat) – pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena) lze používat až do uvedeného data použitelnosti.

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

Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

Kapacita

cca. 250 barvení / 500 ml

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 směrnici.

Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrnici týkajícími se likvidace. Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnici. 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. 1.00497	AFB-Color modifikovaná barvicí souprava pro detekci acidorezistentních bakterie (AFB) metodou horkého barvení	1 set
Kat. č. 1.00579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.00869	Entellan™ nový pro coverslipper pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.01287	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. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci acidorezistentních bakterie v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.08000	Sputofluo™ pro mikroskopii	1 l
Kat. č. 1.08298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l
Kat. č. 1.08512	AFB-Color roztok karbolfuchsinu pro mikroskopické vyšetření acidorezistentních bakterie (AFB) (barvení za studena)	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.08562	Aquatex® (vodné montovací médium) pro mikroskopii	kapací lahvička 50 ml
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.09843	Neo-Clear™ (náhražka xylenu) 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. 1.10630.0500

Řídte 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. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Obecná poznámka

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

Literaturu

1. 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

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-01	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si
připojené dokumenty



Spotřebujte do
RRRR-MM-DD



Teplotní
omezení

Status: 2024-Jul-01

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

1.10630.0500 **REF****Microscopie****Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat)**

pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)

Exclusiv pentru uz profesional

Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro

**Scopul preconizat**

Această „Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat) - pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)” este utilizată pentru diagnosticul medical al celulelor umane și servește scopului de investigație bacteriologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Aceasta este o soluție de colorare gata de utilizare care, atunci când este utilizată împreună cu alte produse pentru diagnostic in vitro din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă (ex. bacterii rezistente la acizi (AFB)) prin fixare, colorare, contracolorare, montare din eșantioanele de testat bacteriologice, de ex. frotiuri din culturi bacteriene îmbogățite.

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

Bacterii rezistente la acizi sunt dificil de colorat din cauza proporției mari de lipide și cerumen din pereții celulelor lor. Pentru a accelera absorbția colorantului fucsina și, astfel, formarea complexului micolat-fucsina în pereții celulari, soluția de carbol-fucsina aplicată preparatului este încălzită în mod normal până când formează abur. În acest caz, o modificare a soluției AFB-Color carbol fucsina face ca încălzirea să nu fie necesară (metoda Kinyoun, colorare la rece).

După ce bacterii rezistente la acizi au absorbit colorantul fucsina, 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. În aceste instrucțiuni de utilizare, este utilizat verdele malachit pentru contracolorare.

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. 1.10630.0500	Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat) pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	500 ml
--------------------------	---	--------

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. 1.00327	Acid clorhidric în etanol, pentru microscopie	1 l, 5 l
Cat. nr. 1.08000	Sputofluor™ pentru microscopie	1 l
Cat. nr. 1.08512	Soluție AFB-Color carbol fucsina pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	500 ml, 2,5 l

Alternativ:

În locul combinării reactivilor unici, poate fi folosit kitul de colorare 1.16450.0001:

Cat. nr. 1.16450.0001	AFB-Color - kit de colorare pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	1 set
--------------------------	--	-------

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 pretratate 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 frotiu

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

Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat) - pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece) utilizată pentru colorare este gata de utilizare, diluarea soluției nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Procedură de colorare specimenelor pe frotiu

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

Colorarea pe suportul de colorare

Lamă cu frotiu fixat		
Soluție AFB-Color carbol fucsina	acoperiți complet și colorați	20 min
Jet de apă de la robinet	clătiți până când nu se mai produc efecte noi de culoare	
Acid clorhidric în etanol	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	15 - 30 sec.*
Jet de apă de la robinet	clătiți imediat	
Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Jet de apă de la robinet	clătiți cu atenție	
Uscare la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)		

* în funcție de grosimea specimenului

Colorarea în celula de colorare

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

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăsate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.

Lamă cu frotiu fixat	
Soluție AFB-Color carbol fucsină	20 min
Jet de apă de la robinet	45 sec.
Acid clorhidric in etanol	15 - 30 sec.*
Jet de apă de la robinet	15 sec.
Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat)	5 min
Spălați cu apă de la robinet	10 sec.
Montați cu Aquatex® și capac de sticlă.	

* în funcție de grosimea specimenului

Colorarea în automatul de colorare

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăsate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.

Reactiv	Timp	Stație
Lamă cu frotiu fixat		
Soluție AFB-Color carbol fucsină*	20 min	1
Spălați cu apă de la robinet	45 sec.	5
Acid clorhidric in etanol	15 sec.	2
Spălați cu apă de la robinet	15 sec.	5
Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat)	60 sec.	3
Spălați cu apă de la robinet	10 sec.	5
Uscați la aer (de ex. 3 minute în stația 6 sau peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)		

* Schimbați reactivul la stația 1 după 10 - 15 cicluri sau după cum este necesar.

Acoperirea cu medii de montare ne-apoase (de ex. Neo-Mount™, Entellan™ nou sau DPX nou) și capac de sticlă este recomandată pentru depozitarea specimenelor hematologice 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	verde deschis

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

„Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat)” 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.

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 AFB				
Bacterii rezistente la acizi	11/11	11/11	3/3	3/3
Fundal	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare. Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman. Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute.

Seruri de control adecvate (ex. ISOSLIDE™ AFB, Cat. nr. 1.02560.0001) trebuie efectuate la fiecare aplicație, pentru a se evita rezultate incorecte.

Depozitarea

Depozitați Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat) - pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece) la temperaturi cuprinse între +15 °C și +25 °C.

Durata de depozitare

Soluție AFB-Color de verde malachit (oxalat) - pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece) 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

aprox. 250 de colorări/500 ml

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 in etanol, pentru microscopie	1 l, 5 l
Cat. nr. 1.00497	AFB-Color modificat kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald	1 set
Cat. nr. 1.00579	DPX nou mediu de montare neapos pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.00869	Entellan™ nou mediu de montare pentru lamelă pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.01287	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. 1.02560	Lame de control ISOSLIDE™ AFB cu țesut de referință pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic	25 teste
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.08000	SputofluoI™ pentru microscopie	1 l
Cat. nr. 1.08298	Xilen (amestec de izomeri) pentru histologie	4 l
Cat. nr. 1.08512	Soluție AFB-Color carbol fucsină pentru investigare microscopică a bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.08562	Aquatex® (mediu de montare apos) pentru microscopie	flacon de picurare de 50 ml
Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.09843	Neo-Clear™ (substitut de xilen) pentru microscopie	5 l
Cat. nr. 1.16450	AFB-Color - kit de colorare pentru investigare microscopică bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	1 set

Categoria de risc

Cat. nr. 1.10630.0500

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. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 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

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-01	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



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



Temperatura
limită

Status: 2024-Jul-01

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

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



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

MERCK

1.10630.0500 **REF****Mikroskopi****AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning**

til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (koldfarvning)

Kun til professionel brugMedicinske anordning til *in vitro*-diagnose**Beregnet formål**

Denne "AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning - til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (kold farvning)" anvendes til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til bakteriologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. Det er en klar-til-brug farveopløsning, som når den bruges til *in vitro*-diagnose sammen med andre produkter fra vores sortiment laver målstrukturer (f.eks. syrefaste bakterier (AFB)) ved fiksering, farvning, kontrastfarvning, montering i bakteriologiske prøvematerialer, eksempelvis udstrygninger af berigede bakteriekulturer, der kan evalueres til diagnoseformål.

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 er vanskelige at farve på grund af den høje lipid- og voksandel i deres cellevægge. For at fremskynde absorptionen af fuchsinfarvestoffet og dermed dannelsen af mycolat-fuchsin-komplekset i cellevæggen opvarmes karbolfuchsinopløsningen, der påføres præparatet, normalt, indtil den danner damp. I denne sammenhæng gør en modificering af AFB-Color karbolfuchsinopløsning opvarmning unødvendigt (Kinyoun-metoden, kold farvning).

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

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, ekssudater, flydende og faste kulturer

Reagenser

Varenr. 1.10630.0500	AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (koldfarvning)	500 ml
-------------------------	---	--------

Også påkrævet:

Varenr. 1.00327	Saltsyre i ethanol til mikroskopi	1 l, 5 l
Varenr. 1.08000	Sputofluor™ til mikroskopi	1 l
Varenr. 1.08512	AFB-Color karbolfuchsinopløsning til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (koldfarvning)	500 ml, 2,5 l

Alternativ:

Farvesættet 1.16450.0001 kan bruges i stedet for kombinationen af enkelte reagenser:

Varenr. 1.16450.0001	AFB-Color farvningskit til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (koldfarvning)	1 set
-------------------------	--	-------

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

AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning - til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (kold farvning) er klar til brug. Fortynding af opløsningen er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningens stabilitet.

Procedure til farvning af udstrygningsprøver

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

Farvning på farveracket

Objektglas med fikseret udstrygning		
AFB-Color karbolfuchsinopløsning	dækkes helt og farves	20 min.
Rindende postevand	skyl indtil der ikke dannes flere farveskyer	
Saltsyre i ethanol	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	15 - 30 sek.*
Rindende postevand	skyl omgående	
AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Rindende postevand	skyl omhyggeligt	
Skal lufttørre (f.eks. natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)		

* afhængigt af prøvens tykkelse

Farvning i farvningkuvetten

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

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

Objektglas med fikseret udstrygning	
AFB-Color karbolfuchsinopløsning	20 min.
Rindende postevand	45 sek.
Saltsyre i ethanol	15 - 30 sek.*
Rindende postevand	15 sek.
AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning	5 min.
Vaskes med postevand	10 sek.
Monteres med Aquatex® og et dækglas.	

* afhængigt af prøvens tykkelse

Farvning i automatisk farvesystem

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

Reagens	Tid	Station
Objektglas med fikseret udstrygning		
AFB-Color karbolfuchsinopløsning*	20 min.	1
Vaskes med postevand	45 sek.	5
Saltsyre i ethanol	15 sek.	2
Vaskes med postevand	15 sek.	5
AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning	60 sek.	3
Vaskes med postevand	10 sek.	5
Skal lufttørre (f.eks. 3 minutter i station 6 eller natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)		

* Udskift reagenset ved station 1 efter 10 - 15 cyklusser eller efter behov

Tildækning med ikke-vandige monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™ ny eller DPX ny) 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	lysegrøn

Evaluerig

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 infektionspotentiale og yderligere spredning af bakterierne.

Ingen farvning af syrefaste bakterier

Det kritiske trin i denne farvningsproces er affarvningstrinet, som kan påvirkes af prøveudstrygningens tykkelse. Derudover har en frisk opløsning af saltsyre i ethanol meget reaktiv, hvilket betyder, at resultatet skal evalueres med omhu. De inkuberingstider, der er anført i denne protokol, skal overholdes nøje under affarvningstrinnet, da det i modsat fald kan medføre falske negative resultater.

Tekniske bemærkninger

Det anvendte mikroskop skal leve op til kravene på et laboratorie 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 malachitgrøn-(oxalat)-opløsning" 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.

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
DA				
AFB-farvning				
Syrefaste bakterier	11/11	11/11	3/3	3/3
Baggrund	11/11	11/11	3/3	3/3

Analytiske ydeevneresultater

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

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

Diagnostik

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

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

Opbevaring

AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning - til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (kold farvning) skal opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhed

AFB-Color malachitgrøn-(oxalat)-opløsning - til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (kold 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 forsvarligt lukkede.

Kapacitet

ca. 250 farvninger/500 ml

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 laboratorie 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. 1.00497	AFB-Color modificeret kit til mikroskopiundersøgelse af syrefaste bakterier, AFB (varm farvning)	1 set
Varenr. 1.00579	DPX ny vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.00869	Entellan™ ny til coverslipper 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. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolglas med referencevæv til påvisning af syrefaste bakterier i histologisk væv	25 test
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette- flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.08000	Sputofluo™ til mikroskopi	1 l
Varenr. 1.08298	Xylen (isomerisk blanding) til histologi	4 l
Varenr. 1.08512	AFB-Color karbolfuchsinopløsning til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (koldfarvning)	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.08562	Aquatex® (vandigt indstøbningsmiddel) til mikroskopi	50-ml pipette- flaske
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette- flaske, 500 ml
Varenr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylenerstatning) til mikroskopi	5 l
Varenr. 1.16450	AFB-Color farvningskit til mikroskopisk undersøgelse af syrefaste bakterier (AFB) (kold farvning)	1 set

Fareklassificering

Varenr. 1.10630.0500

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. 1.10630.0500

Farvenideks 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_3O_4)_2$

1 l = 1,00 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

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-01	Første version med introduktion af revisionshistorik



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation



Skal bruges inden
ÅÅÅÅ-MM-DD



Tilladt
temperatur

Status: 2024-Jul-01

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

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



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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.10630.0500 **REF****Mikroskopiju****AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina**

za mikroskopsko istraživanje acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)

Samo za profesionalnu uporabu**IVD**

In vitro dijagnostički medicinski proizvod

**Namjena**

Ova "AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina - za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)" koristi se za dijagnozu ljudskih medicinskih stanica i služi u svrhu bakterioloških pretraga materijala uzorka ljudskog podrijetla. To je otopina za bojenje spremna za uporabu zahvaljujući kojoj je, kada se upotrebljava s drugim in vitro dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće procijeniti ciljne strukture (npr. acidorezistentne bakterije (AFB)) i to fiksiranjem, bojenjem, protuboženjem, poklapanjem u bakteriološkim uzorcima, primjerice razmazu obogaćenih bakterijskih kultura, u dijagnostičke svrhe.

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

Acidorezistentne bakterije su teške za bojenje zbog visokog udjela lipida i voska u svojim staničnim stjenkama. Kako bi se ubrzala apsorpcija fuksin boje i time nastao kompleks mikolat-fuksin u staničnoj stijenci, otopina karbol fuksina koja se nanosi na pripravak normalno se zagrijava dok ne stvara paru. U tom slučaju izmjena AFB-Color karbol fuksin otopine čini grijanje neporebnim (Kinyounova metoda, hladno bojenje). Nakon što acidorezistentne bakterije apsorbiraju boju fuksin, gotovo je nemoguće da opet izgube boju, čak i kad se intenzivno tretiraju otopinom za uklanjanje boje kao što je npr. klorovodična kiselina u etanolu. Dakle, acidorezistentne bakterije se nazivaju otpornima na kiseline i alkohol kod bojenja te poprimaju crvenu boju kod mikroskopske vizualizacije. Prema tome, svi mikroorganizmi koji nisu otporni na kiseline protubojaju se odgovarajućom bojom. U ovim uputama za uporabu malahit zeleno se koristi za protuboženje. 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.	AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat)	500 ml
1.10630.0500	otopina za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)	

Također potrebno:

Kat. br.	Kloridna kiselina u etanolu za mikroskopiju	1 l, 5 l
1.00327		
Kat. br.	Sputofluor™ za mikroskopiju	1 l
1.08000		
Kat. br.	AFB-Color karbol fuksin otopina za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)	500 ml, 2,5 l
1.08512		

Alternativno:

Umjesto kombinacije jednog reagensa može se upotrebljavati komplet za bojenje 1.16450.0001:

Kat. br.	AFB-Color set za bojenje za mikroskopsko istraživanje acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)	1 set
1.16450.0001		

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje.

Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom.

Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

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

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 razmazu 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

AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina - za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje) koja se koristi za bojanje je spreman za uporabu, znači razrjeđivanje otopine nije potrebno te samo daje pogoršanje rezultata bojanja i narušava njihovu stabilnost.

Postupak za bojenje uzoraka razmaza

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Bojenje na podlozi za bojenje

Stakalce s fiksiranim razmazom		
AFB-Color karbol fuksin otopina	u potpunosti pokrijte i bojite	20 min
Voda iz slavine	ispirite dok se više ne proizvede oblaci boje	
Kloridna kiselina u etanolu	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	15-30 s*
Voda iz slavine	odmah isperite	
AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Voda iz slavine	oprezno isperite	
Sušenje zrakom (npr. preko noći pri 50 °C u komori za sušenje)		

* ovisno o debljini uzorka

Bojenje u stanicama za bojenje

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

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

HR

Stakalce s fiksiranim razmazom				
AFB-Color karbol fuksin otopina		20 min		
Voda iz slavine		45 s		
Kloridna kiselina u etanolu		15-30 s*		
Voda iz slavine		15 s		
AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina		5 min		
Operite vodom iz slavine		10 s		
Poklopite s Aquatex® i staklenim pokrovom.				

* ovisno o debljini uzorka

Bojenje u automatima za bojenje

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

Reagens	Vrijeme	Stanica
Stakalce s fiksiranim razmazom		
AFB-Color karbol fuksin otopina*	20 min	1
Operite vodom iz slavine	45 s	5
Kloridna kiselina u etanolu	15 s	2
Operite vodom iz slavine	15 s	5
AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina	60 s	3
Operite vodom iz slavine	10 s	5
Osušiti na zraku (npr. 3 min na položaju 6 ili preko noći ili na 50 °C u ormaricu za sušenje)		

* Promijeniti reagens na stanici 1 nakon 10 - 15 ciklusa ili prema potrebi.

Pokriivanje s nevođenim medijima za poklapanje (npr. Neo-Mount™, Novi Entellan™ ili Novi DPX) 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	svijetlo zelena

Procjena

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

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, svježa otopina klorovodične kiseline u etanolu vrlo je reaktivna, zbog čega se rezultat mora pažljivo procijeniti. U koraku uklanjanja boje treba se precizno pridržavati vremena inkubacije navedenih u ovom protokolu jer inače mogu uslijediti lažno negativni rezultati.

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 malahitno-zeleno (oksalat) otopina“ 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.

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
AFB bojenje				
Acidorezistentne bakterije	11/11	11/11	3/3	3/3
Pozadina	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Dijagnostika

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

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

Skladištenje

Čuvajte AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina - za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje) na temperaturi od +15 °C to +25 °C.

Rok uporabe

AFB-Color malahitno-zeleno (oksalat) otopina - za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje) može se koristiti do navedenog datuma isteka roka valjanosti.

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

Boce moraju biti čvrsto zatvorene u svakom trenutku.

Kapacitet

oko 250 bojenja / 500 ml

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 odlaganje mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutačno primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označavanju 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. 1.00497	AFB-Color modificirani komplet za detekciju acidorezistentnih bakterije (AFB) vrućom metodom bojenja	1 set
Kat. br. 1.00579	Novi DPX nevođeni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.00869	Novi Entellan™ za uređaj za pokrivanje preparata 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. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju acidorezistentnih bakterije u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 1.04699	Imerzijsko ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklapanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br. 1.08000	Sputofluo™ za mikroskopiju	1 l
Kat. br. 1.08298	Ksilen (izomerna smjesa) za histologiju	4 l
Kat. br. 1.08512	AFB-Color karbol fuksin otopina za mikroskopska istraživanja acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.08562	Aquatex® (vodeni agens za poklapanje preparata) za mikroskopiju	Boca kapaljka od 50 ml
Kat. br. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.09843	Neo-Clear™ (zamjena za ksilen) za mikroskopiju	5 l
Kat. br. 1.16450	AFB-Color set za bojenje za mikroskopsko istraživanje acidorezistentnih bakterije (AFB) (hladno bojenje)	1 set

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.10630.0500

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. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

(C₂₃H₂₅N₂)₂C₂H₄(C₂H₂O₄)₂

1 l = 1,00 kg

Opća napomena

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

Književnost

1. 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

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-01	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2024-Jul-01

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

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



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

MERCK

1.10630.0500

REF

Mikroskopia**Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color**

do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno)

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

Urządzenia medyczne do diagnostyki in vitro

**Przeznaczenie**

Barwnik „Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color - do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno)” jest stosowany w cytologicznej diagnostyce klinicznej do badania bakteriologicznego materiału pobieranego od pacjentów. Jest to gotowy do użycia roztwór barwiący, który, wraz z innymi produktami do diagnostyki in vitro z naszej oferty, umożliwia ocenę diagnostyczną struktur docelowych (np. bakterii kwasoopornych (AFB)) poprzez utrwalanie, barwienie, barwienie kontrastowe, zamykanie) w preparatach bakteriologicznych, na przykład rozmazach materiału z hodowli prowadzonych na podłożach wzbogacająco-różnicujących.

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 duże ilości wosków i lipidów, wskutek czego bardzo powoli absorbują barwniki. W celu przyspieszenia wchłaniania barwnika fuksyny, a tym samym tworzenia kompleksu mykolan-fuksyna w ścianie komórkowej, roztwór fuksyny karbolowej nakładany na preparat jest zwykle podgrzewany do momentu utworzenia pary. W tym wypadku, modyfikacja składu roztworu fuksyny karbolowej AFB-Color sprawia, że podgrzewanie staje się zbędne (metoda Kinyouna, barwienie na zimno).

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 alkoholoporne dla celów barwienia, a pod mikroskopem przybierają one czerwone zabarwienie. Wszystkie drobnoustroje niekwasooporne należy natomiast poddać barwieniu kontrastowemu odpowiednim barwnikiem. W tej instrukcji użycia, zieleń malachitowa jest używana do barwienia kontrastowego.

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. 1.10630.0500 Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno) 500 ml

Również wymagane:

Nr kat. 1.00327 Kwas solny, roztwór etanolowy do mikroskopii 1 l, 5 l

Nr kat. 1.08000 Sputofluor™ do mikroskopii 1 l

Nr kat. 1.08512 Roztwór fuksyny karbolowej AFB-Color do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno) 500 ml, 2,5 l

Rozwiązanie alternatywne:

Zamiast łączenia pojedynczych odczynników, można użyć zestawu do barwienia 1.16450.0001:

Nr kat. 1.16450.0001 AFB-Color zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno)

1 set

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.
Odwierować 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

Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color - do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno) jest gotowy do użycia, jego rozcieńczanie nie jest wymagane i prowadzi do pogorszenia wyników barwienia i jego stabilności.

Procedura barwienia rozmazów

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

Barwienie na statywie do barwienia

Szkiełko podstawowe z utrwalonym rozmazem		
Roztwór fuksyny karbolowej AFB-Color	pokryć dokładnie i barwić	20 min.
Bieżąca woda wodociągowa	spłukiwać aż do ustania powstawania obłoków barwnika.	
Kwas solny, roztwór etanolowy	dokładnie pokryć i pozostawić, aby zaszła reakcja	15 - 30 s*
Bieżąca woda wodociągowa	natychmiast spłukać.	
Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color	dokładnie pokryć i pozostawić, aby zaszła reakcja	1 min.
Bieżąca woda wodociągowa	ostrożnie spłukać	
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)		

* w zależności od grubości skrawka

Barwienie w komorze

Szkiełka należy zanurzyć i obmyć roztworem. Samo zanurzenie nie wystarczy do uzyskania odpowiedniego wyniku barwienia. Po każdym z etapów barwienia preparaty należy pozostawić do obcieknięcia, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.

Szkiełko podstawowe z utrwalonym rozmazem	
Roztwór fuksyny karbolowej AFB-Color	20 min.
Bieżąca woda wodociągowa	45 s
Kwas solny, roztwór etanolowy	15 - 30 s*
Bieżąca woda wodociągowa	15 s
Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color	5 min.
Opłukać wodą wodociągową	10 s
Zamknąć środkiem Aquatex® i szkiełkiem nakrywkowym.	

* w zależności od grubości skrawka

Barwienie w automatycznym systemie barwiącym

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

Odczynnik	Czas	Stanowisko
Szkiełko podstawowe z utrwalonym rozmazem		
Roztwór fuksyny karbolowej AFB-Color*	20 min.	1
Opłukać wodą wodociągową	45 s	5
Kwas solny, roztwór etanolowy	15 s	2
Opłukać wodą wodociągową	15 s	5
Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color	60 s	3
Opłukać wodą wodociągową	10 s	5
Osuszyć na powietrzu (np. przez 3 min. na stanowisku 6 lub przez nc w temperaturze 50°C w suszarce).		

* Odczynnik w stanowisku 1 należy zmienić po 10 - 15 cyklach lub gdy będzie to konieczne

Do przechowywania preparatów bakteriologicznych przez czas kilku miesięcy zaleca się pokrywanie preparatu bezwodnym środkiem zamykającym (np. Neo-Mount™, Entellan™ nowy lub DPX nowy) i szkiełkiem nakrywkowym. W tym celu należy bardzo dokładnie osuszyć barwione preparaty. Do analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopu >40x zaleca się stosować olejek immersyjny.

Wynik

Bakterii kwasooporne	czerwone
Tło	jasnozielone

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 próbkii. 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 pracowni diagnostyki medycznej. Korzystając z automatycznych systemów barwiących, należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta urządzeń i oprogramowania. Przed archiwizacją preparatu, należy usunąć nadmiar olejku immersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

„Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color” 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.

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 AFB				
Bakterii kwaso-oporne	11/11	11/11	3/3	3/3
Tło	11/11	11/11	3/3	3/3

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.

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

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel. Należy stosować obowiązujące nazewnictwo. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej. Dalsze badania należy planować i prowadzić zgodnie z uznaną metodologią.

Każdorazowe stosowanie odpowiednich kontroli (np. ISOSLIDE™ AFB, Nr kat. 1.02560.0001) pozwala unikać niepoprawnych wyników.

Przechowywanie

Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color - do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno) należy przechowywać w temperaturze między +15°C a +25°C.

Okres przydatności do użycia

Produktu Roztwór zieleni malachitowej (szczawian) AFB-Color - do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno) nie należy używać po upływie wskazanego terminu przydatności do użycia.

Po pierwszym otwarciu butelki, zawartość nadaje się do użycia przed upływem wskazanego terminu przydatności, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze między +15°C a +25°C.

Butelki należy przechowywać zawsze szczelnie zamknięte.

Wielkość opakowania

ok. 250 barwień/500 ml

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. 1.00497	AFB-Color zmodyfikowany zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) metodą barwienia na gorąco	1 set
Nr kat. 1.00579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.00869	Entellan™ nowy środek do nakrywarek do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.01287	Barwnik Löfflera: błękit metylenowy, 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. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB preparaty porównawcze z tkanką referencyjną do wykrywania bakterii kwasoopornych w materiale histologicznym	25 badań
Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakrapla- czem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.08000	Sputofluol™ do mikroskopii	1 l
Nr kat. 1.08298	Ksylan (mieszanina izomerów) do histologii	4 l
Nr kat. 1.08512	Roztwór fuksyny karbolowej AFB-Color do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno)	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.08562	Aquatex® (wodny środek do zamykania preparatów) do mikroskopii	Butelka z zakrapla- czem 50 ml
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml – butelka z zakrapla- czem, 500 ml
Nr kat. 1.09843	Neo-Clear™ (zamiennik ksylenu) do mikroskopii	5 l
Nr kat. 1.16450	AFB-Color zestaw barwników do mikroskopowego badania bakterii kwasoopornych (AFB) (barwienie na zimno)	1 set

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.10630.0500

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 wskazań bezpieczeństwa podanych w karcie charakterystyki.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 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

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-01	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian



Zapoznać się z instrukcją użytkowania



Producent



Numer katalogowy



Kod partii



Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.



Termin przydatności do użycia: RRRR-MM-DD



Ograniczenia termiczne

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500 **REF****Microscopia****AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução**

para exame microscópico de bactérias acid-fast (AFB) (coloração a frio)

Apenas para uso profissionalDispositivo médico para diagnóstico *in vitro***Finalidade prevista**

Esta "AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução - para exame microscópico de bactérias acid-fast (AFB) (coloração a frio)" é utilizada para o diagnóstico médico de células humanas e serve para a investigação bacteriológica de material de amostra de origem humana. Trata-se de uma solução de coloração pronta a usar que, quando utilizada em conjunto com outros produtos de diagnóstico *in vitro* do nosso portefólio, torna as estruturas alvo avaliáveis para fins de diagnóstico [bactérias ácido-resistentes (AFB)] através de fixação, coloração, contracoloração, montagem) em materiais de amostra bacteriológicos, por exemplo, esfregaços de culturas bacterianas enriquecidas.

As estruturas não coradas têm um contraste relativamente baixo e são extremamente difíceis de distinguir sob microscopia ótica. As imagens criadas utilizando as soluções de coloração ajudam o investigador autorizado e qualificado a definir melhor a forma e a estrutura nesses casos. Devem ser realizados testes adicionais, de acordo com métodos válidos e reconhecidos, para alcançar um diagnóstico definitivo.

Princípio

As bactérias ácido-resistentes são difíceis de corar devido à elevada proporção de lípidos e cera nas paredes celulares. Para acelerar a absorção do corante fucsina e, assim, a formação do complexo de micolato-fucsina na parede celular, a solução de carbolfucsina aplicada à preparação é normalmente aquecida até formar vapor. Neste caso, uma modificação da solução de carbolfucsina AFB-Color torna desnecessário o aquecimento (método Kinyoun, coloração a frio).

Após as bactérias ácido-resistentes absorverem o corante fucsina, é praticamente impossível descolorá-las novamente, mesmo quando são intensivamente tratadas com uma solução descolorante como, por exemplo, ácido clorídrico em etanol. Por conseguinte, as bactérias ácido-resistentes são denominadas como resistentes a ácido e álcool para coloração e são coradas a vermelho na visualização microscópica. Consequentemente, todos os microrganismos não resistentes a ácidos são contracolorados com um corante adequado. Nestas instruções de utilização, é utilizado o verde malaquite para contracoloração. O pré-tratamento das amostras com Sputofluor™ dissolve as bactérias da expetoração viscosa circundante e do material celular.

Material da amostra

Esfregaços de material bacteriológico que tenham sido secos ao ar, fixados por calor e pré-tratados com Sputofluor™, tipo expetoração, esfregaços de biopsias por aspiração com agulha fina (FNAB), lavagens, impressões, efusões, pus, exsudatos, culturas líquidas e sólidas.

Reagentes

N.º de cat. 1.10630.0500
AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução 1 l, 5 l
para exame microscópico de bactérias acid-fast (AFB) (coloração a frio)

Também necessário:

N.º de cat. 1.00327 Ácido clorídrico em etanol para microscopia 1 l, 5 l
N.º de cat. 1.08000 Sputofluor™ para microscopia 1 l
N.º de cat. 1.08512 AFB-Color solução de carbol-fucsina para a investigação microscópica de bactérias ácidorresistentes (AFB) (coloração a frio) 500 ml, 2,5 l

Em alternativa:

Em vez da combinação de reagentes individuais, pode ser utilizado o kit de coloração 1.16450.0001:

N.º de cat. 1.16450.0001
AFB-Color kit de coloração para análise de bactérias ácidorresistentes (AFB) por microscopia, coloração a frio 1 conjunto

Preparação de amostras

A amostragem deve ser efetuada por pessoal qualificado.

Todas as amostras devem ser tratadas utilizando tecnologia de ponta.

Todas as amostras devem ser claramente rotuladas.

Devem ser utilizados instrumentos adequados para a colheita de amostras e a respetiva preparação. Seguir as instruções do fabricante para a aplicação/utilização.

Ao utilizar os reagentes auxiliares correspondentes, devem ser respeitadas as instruções de utilização correspondentes.

Expetoração

As bactérias ácido-resistentes devem ser pré-tratadas com Sputofluor™ para as dissolver do muco e das estruturas celulares. Neste processo, o ingrediente ativo hipoclorito dissolve o material orgânico por oxidação e liberta suavemente as bactérias ácido-resistentes para que possam continuar a ser processadas.

Preparação de reagentes: Preparação da solução Sputofluor™ a 15%
Para a preparação de aproximadamente 100 ml de mistura de solução:

Sputofluor™	15 ml
Água destilada	85 ml

Preparação do material da amostra em tubos de centrífuga:	
Amostra	1 parte (mín. 2 ml)
Solução de Sputofluor™ (15% em água destilada)	3 partes
Agitar vigorosamente	10 min
Centrifugar a 3000 - 4800 rpm	20 min
Sobrenadante decantado Preparar esfregaços do sedimento Secar ao ar	

Punções, lavagens, sedimentos

Após as medidas de enriquecimento adequadas, espalhe material de amostra na lâmina e deixe secar ao ar.

Fixação de amostras de esfregaço

As amostras são fixadas sobre uma chama de bico de Bunsen (2 - 3 vezes, tendo o cuidado de evitar aquecimento excessivo).

As amostras também podem ser fixadas aquecendo a 100 - 110 °C numa cabina de secagem ou numa placa de aquecimento durante 20 minutos. Temperaturas excessivas ou um aquecimento prolongado podem envolver uma deterioração do desempenho da coloração.

Preparação de reagentes

A AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução - para exame microscópico de bactérias acid-fast (AFB) (coloração a frio) utilizada para a coloração está pronta a ser utilizada, a diluição da solução não é necessária e apenas produz uma deterioração do resultado da coloração e da estabilidade.

Procedimento de coloração de amostras de esfregaço

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

Coloração no suporte de coloração

Lâmina com esfregaço fixo		
Solução de carbolfucsina AFB-Color	cobrir completamente e corar	20 min
Água da torneira corrente	enxaguar até deixarem de ser produzidas nuvens de corante	
Ácido clorídrico em etanol	cobrir completamente e deixar reagir	15 - 30 s*
Água da torneira corrente	enxaguar imediatamente	
AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução	cobrir completamente e deixar reagir	1 min

PT

Água da torneira corrente	enxaguar cuidadosamente	
Secar ao ar (por exemplo, durante a noite ou a 50 °C na cabina de secagem)		

* dependendo da espessura da amostra

Coloração na célula de coloração

As lâminas têm de ser imersas e movimentadas nas soluções. A imersão simples produz resultados de coloração inadequados. As lâminas devem escorrer bem após as etapas de coloração individuais, como medida para evitar qualquer contaminação cruzada desnecessária de soluções.

Lâmina com esfregaço fixo	
Solução de carbolfucsina AFB-Color	20 min
Água da torneira corrente	45 seg
Ácido clorídrico em etanol	15 - 30 s*
Água da torneira corrente	15 seg
AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução	5 min
Lavar com água da torneira	10 seg
Montar com Aquatex® e vidro de cobertura.	

* dependendo da espessura da amostra

Coloração no dispositivo de coloração automático

As lâminas devem escorrer bem após as etapas de coloração individuais, como medida para evitar qualquer contaminação cruzada desnecessária de soluções.

Reagente	Tempo	Estação
Lâmina com esfregaço fixo		
Solução de carbolfucsina AFB-Color*	20 min	1
Lavar com água da torneira	45 seg	5
Ácido clorídrico em etanol	15 seg	2
Lavar com água da torneira	15 seg	5
AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução	60 seg	3
Lavar com água da torneira	10 seg	5
Secagem ao ar (por exemplo, 3 min na estação 6, ou durante a noite, ou a 50 °C na cabina de secagem)		

* Mude o reagente na estação 1 após 10 - 15 ciclos ou conforme necessário.

A cobertura com meios de montagem não aquosos (por exemplo, Neo-Mount™, Entellan™ new ou DPX new) e um vidro de cobertura é recomendada para o armazenamento de amostras bacteriológicas durante vários meses. Para este efeito, as amostras coradas têm de ser muito bem secas. Recomenda-se a utilização de óleo de imersão para a análise de lâminas coradas com ampliação microscópica > 40×.

Resultado

Bactérias ácido-resistentes	vermelho
Fundo	verde claro

Avaliação

Um resultado positivo significa "bactérias ácido-resistentes detetadas" e um resultado negativo "bactérias ácido-resistentes não detetadas". Um resultado positivo não significa que seja possível uma classificação taxonómica por microscopia. Se forem detetadas bactérias ácido-resistentes, devem ser realizadas análises adicionais em laboratórios especialmente equipados. A vitalidade (ativa, inativa) das bactérias também não pode ser determinada.

Resolução de problemas

Fixação de amostras de esfregaço

Um grau suficiente de fixação térmica utilizando um bico de Bunsen ou uma cabina de aquecimento é essencial para evitar o potencial infecioso das amostras e a proliferação adicional das bactérias.

Sem coloração de bactérias ácido-resistentes

A etapa crítica deste processo de coloração é a etapa de descoloração, que pode ser influenciada pela espessura do esfregaço da amostra. Além disso, uma solução fresca de ácido clorídrico em etanol é altamente reativa, isto significa que o resultado deve ser avaliado com precaução. Os tempos de incubação indicados neste protocolo devem ser respeitados com exatidão na etapa de descoloração, caso contrário podem ocorrer resultados falsos negativos.

Notas técnicas

O microscópio utilizado deve cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico. Ao utilizar sistemas de coloração automática, siga as instruções de utilização fornecidas pelo fornecedor do sistema e do software. Remova o óleo de imersão em excesso antes de limar.

Características de desempenho analítico

A "AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução " colora e, assim, visualiza estruturas biológicas, conforme descrito no capítulo "Resultado" destas instruções de utilização. A utilização do produto só deve ser efetuada por pessoas autorizadas e qualificadas, o que inclui, entre outras tarefas, preparação de amostras e reagentes, manuseamento de amostras, decisões relativas a controlos adequados, entre outros.

O desempenho analítico do produto é confirmado testando cada lote de produção.

Para as seguintes colorações, o desempenho analítico foi confirmado em termos de especificidade, sensibilidade e repetibilidade do produto com uma taxa de 100%:

	Especi- ficidade interen- saio	Sensi- bilidade interen- saio	Especi- ficidade intraen- saio	Sensi- bilidade intraen- saio
Coloração AFB				
Bactérias ácido-resistentes	11/11	11/11	8/8	8/8
Histórico	11/11	11/11	8/8	8/8

Resultados de desempenho analítico

Os dados intraensaio (realizados no mesmo lote) e interensaio (realizados em lotes diferentes) indicam o número de estruturas coradas corretamente em relação ao número de ensaios realizados.

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

Diagnóstico

Os diagnósticos devem ser efetuados apenas por pessoal autorizado e qualificado. Têm de ser utilizadas nomenclaturas válidas. Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico humano. Devem ser selecionados e implementados testes adicionais de acordo com métodos reconhecidos. Devem ser efetuados controlos adequados (por exemplo, ISOSLIDE™ AFB, N.º de cat. 1.02560.0001) em cada aplicação, de forma a evitar um resultado incorreto.

Armazenamento

Conservar a AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução para exame microscópico de bactérias acid-fast (AFB) (coloração a frio) entre +15 °C e +25 °C.

Durabilidade

A AFB-Color verde malaquite (oxalato) solução para exame microscópico de bactérias ácido-resistentes (AFB) (coloração a frio) pode ser utilizada até à data de validade indicada. Após a primeira abertura do frasco, o conteúdo pode ser utilizado até à data de validade indicada, quando conservado entre +15 °C e +25 °C. Os frascos devem ser sempre mantidos bem fechados.

Capacidade

aprox. 250 colorações/500 ml

Instruções adicionais

Apenas para uso profissional.

Para evitar erros, a aplicação deve ser efetuada apenas por pessoal qualificado. Devem ser seguidas as diretrizes nacionais para a segurança no trabalho e a garantia da qualidade. Devem ser utilizados microscópios equipados de acordo com a norma. Se necessário, utilize uma centrífugadora padrão adequada para um laboratório de diagnóstico médico.

Proteção contra infeções

Devem ser tomadas medidas eficazes para proteger contra infeções, em conformidade com as diretrizes laboratoriais.

Instruções para eliminação

A embalagem deve ser eliminada de acordo com as diretrizes de eliminação atuais. As soluções usadas e as soluções cuja durabilidade tenha expirado devem ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais. As informações sobre a eliminação podem ser obtidas através da ligação rápida "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Sugestões para a eliminação de produtos de microscopia) em www.microscopy-products.com. Na UE, é aplicável o REGULAMENTO (CE) n.º 1272/2008 relativo à 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

N.º de cat. 1.00327	Ácido clorídrico em etanol para microscopia	1 l, 5 l
N.º de cat. 1.00497	AFB-Color Modificado kit de coloração para detecção de bactérias ácidorresistentes por método de coloração a quente	1 conjunto
N.º de cat. 1.00579	DPX novo meio de montagem não aquoso para uso em microscopia	500 ml
N.º de cat. 1.00869	Entellan™ novo para montagem de lâminas para microscopia	500 ml
N.º de cat. 1.01287	Solução de azul de metileno de Löffler para microscopia	100 ml, 500 ml, 2,5 l
N.º de cat. 1.01597	AFB-Fluor isento de fenol Kit de coloração para o exame de bactérias ácidorresistentes com microscopia de fluorescência (coloração auramina-rodamina)	1 conjunto
N.º de cat. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Lâminas de controlo com tecido de referência para deteção de bactérias ácidorresistentes em tecido histológico	25 testes
N.º de cat. 1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco conta-gotas de 100 ml, 100 ml, 500 ml
N.º de cat. 1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
N.º de cat. 1.08000	Sputofluol™ para microscopia	1 l
N.º de cat. 1.08298	Xileno (mistura de isómeros) para histologia	4 l
N.º de cat. 1.08512	AFB-Color solução de carbol-fucsina para a investigação microscópica de bactérias ácidorresistentes (AFB) (coloração a frio)	500 ml, 2,5 l
N.º de cat. 1.08562	Aquatex® (Produto aquoso de cobertura) para a microscopia	Frasco conta-gotas de 50 ml
N.º de cat. 1.09016	Neo-Mount™ meio de montagem anidro para microscopia	Frasco conta-gotas de 100 ml, 500 ml
N.º de cat. 1.09843	Neo-Clear™ (substituto do xileno) para microscopia	5 l
N.º de cat. 1.16450	AFB-Color kit de coloração para análise de bactérias ácidorresistentes (AFB) por microscopia, coloração a frio	1 conjunto

Classificação de perigo

N.º de cat. 1.10630.0500

Respeite a classificação de perigo impressa no rótulo e as informações fornecidas na ficha de dados de segurança.

A ficha de dados de segurança está disponível no website e mediante pedido.

ATENÇÃO! Contém substâncias CMR. Respeite as instruções de segurança correspondentes fornecidas na ficha de dados de segurança.

Componentes principais do produto

N.º de cat. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Observação geral

Se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da utilização do mesmo, tiver ocorrido um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Bibliografia

- 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

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-01	Versão inicial com a introdução do histórico de revisões



Consultar as instruções de utilização



Fabricante



Número de Catálogo



Código de lote



Atenção, consultar os documentos anexos.



Utilizar até AAAA-MM-DD



Limites de temperatura

Status: 2024-Jul-01

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

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



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



1.10630.0500 REF

Microscopy

AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор

за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване)

Само за професионална употреба

Медицинско изделие за *in vitro* диагностика

Предназначение

AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване) се използва за медицинска диагностика на човешки клетки с цел бактериологични изследвания на материал за проби от човешки произход. Този готов за употреба оцветяващ разтвор, заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашето портфолио, позволява оценката на прицелни структури с диагностична цел (киселиноустойчиви бактерии (AFB)) чрез фиксиране, оцветяване, контраоцветяване, включване) в бактериологични материали за проби, например намазки от обогатени бактериални култури.

Неоцветените структури са с относително нисък контраст и са изключително трудни за разграничаване под светлинен микроскоп. Изображенията, създадени с помощта на разтворите за оцветяване, служат на оторизирани и квалифицирани патолози като помощно средство за по-добро дефиниране на формата и структурата в такива случаи. За поставяне на окончателната диагноза е необходимо да се проведат допълнителни изследвания в съответствие с признатите валидни методи.

Принцип

Киселиноустойчивите бактерии са трудни за оцветяване поради високата дял на липиди и восък в техните клетъчни стени. За да се ускори абсорбцията на фуксиновото багрило и по този начин образуването на комплекса миколат-фуксин в клетъчната стена, разтворът на карбол фуксин, приложен към препарата, обикновено се нагрява, докато образува пара. В този случай модификация на разтвора на AFB-Color карбол фуксин прави нагряването ненужно (метод на Kinyoun, студено оцветяване).

След като киселиноустойчивите бактерии са абсорбирали багрилото фуксин, практически е невъзможно да ги обезцветите отново, дори когато са интензивно третирани с обезцветяващ разтвор като напр. солна киселина в етанол. Следователно киселиноустойчивите бактерии се наричат киселино- и алкохолно-устойчиви за оцветяване и се оцветяват в червено при микроскопска визуализация. Съответно всички некислиноустойчиви микроорганизми се оцветяват с подходящо багрило. В тази инструкция за употреба малахитовото зелено се използва за контраоцветяване. Предварителна обработка на пробите със Sputofluor™ разтвора бактериите от заобикалящия висциден секрет и клетъчен материал.

Материал за проби

Намазки от бактериологичен материал, който е изсушен на въздух, топлинно фиксиран и предварително обработен със Sputofluor™ като хрчка, намазки от тънкоиглена аспирационна биопсия (FNAB), изплаквания, отпечатъци, изливи, гной, ексудати, течни и твърди култури.

Реактиви

Кат. № 1.10630.0500

AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор 1 l, 5 l
за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване)

Също така е необходимо следното:

Кат. № 1.00327 Солна киселина в етанол 1 l, 5 l
за микроскопия

Кат. № 1.08000 Sputofluor™ 1 l
за микроскопия

Кат. № 1.08512 AFB-Color Карбол-фуксин разтвор 500 ml, 2,5 l
за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) (студено оцветяване)

Като алтернатива:

Вместо комбинация от единични реактиви може да се използва наборът за оцветяване 1.16450.0001:

Кат. № 1.16450.0001

AFB-Color Набор за оцветяване за изследване под микроскоп 1 набор
на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване)

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал. Всички проби трябва да се обработват с помощта на най-съвременна технология.

Всички проби трябва да обозначат ясно посредством етикети. За вземането и подготовката на пробите трябва да се използват подходящи апарати. Следвайте инструкциите на производителя по отношение на приложението / употребата.

При използване на съответните помощни реактиви трябва да се спазват съответстващите им инструкции за употреба.

Хрчка

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

Подготовка на реактивите: Подготовка на Sputofluor™ разтвор 15%
За подготовката на приблиз. 100 ml смес на разтвора:

Sputofluor™	15 ml
Дестилирана вода	85 ml

Подготовка на материала за проби в центрофужни епруветки:	
Проба	1 част (мин. 2 ml)
Sputofluor™ разтвор (15% в дестилирана вода)	3 части
Разклатете енергично	10 min
Центрофугирайте при 3 000-4 800 rpm	20 min
Декантирайте супернатанта Пригответе намазки от седимента Изсушете на въздух	

Пунктати, лаважи, седименти

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

Фиксиране на проби намазки

Пробите се фиксират с помощта на горелка Bunsen (2-3 пъти, като се внимава да се избегне прекомерно нагряване). Пробите могат също така да се фиксират чрез нагряване при 100-110 °C в сушилня шкаф или върху нагревателна плоча за 20 min. Прекомерните температури или продължителното нагряване могат да доведат до влошаване на характеристиките на оцветяване.

Подготовка на реактивите

AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване), използван за оцветяване, е готов за употреба и не е необходимо разреждане на разтвора, което само би довело до влошаване на резултата от оцветяването и на стабилността.

Процедура за оцветяване на намазки

За да се гарантира оптималният резултат от оцветяването, е необходимо да се спазва посоченото време.

Оцветяване на в статива за оцветяване

Предметно стъкло с фиксирана намазка		
AFB-Color карбол фуксин разтвор	покрийте цялостно и оцветете	20 min
Течаща чешмяна вода	изплакнете, докато вече не се образуват облаци от багрилото	
Солна киселина в етанол	покрийте цялостно и оставете да реагира	15-30 sec*
Течаща чешмяна вода	изплакнете веднага	
AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор	покрийте цялостно и оставете да реагира	1 min
Течаща чешмяна вода	изплакнете внимателно	
Изушете на въздух (напр. през нощта или при 50 °C в сушилния шкаф)		

* в зависимост от дебелината на пробата

Оцветяване в оцветителната клетка

Предметните стъкла трябва да се потопят и раздвижат в разтворите. Ако бъдат само потопени, без раздвижване, може да се получат неадекватни резултати от оцветяването.

Предметните стъкла трябва да се оставят да се отцедят добре след отделните етапи на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите.

Предметно стъкло с фиксирана намазка	
AFB-Color карбол фуксин разтвор	20 min
Течаща чешмяна вода	45 sec
Солна киселина в етанол	15-30 sec*
Течаща чешмяна вода	15 sec
AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор	5 min
Измийте с чешмяна вода	10 sec
Включете в Aquatex® и покривно стъкло.	

* в зависимост от дебелината на пробата

Оцветяване в автоматичния апарат

Предметните стъкла трябва да се оставят да се отцедят добре след отделните етапи на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите.

Реактив	Време	Станция
Предметно стъкло с фиксирана намазка		
AFB-Color карбол фуксин разтвор*	20 min	1
Измийте с чешмяна вода	45 sec	5
Солна киселина в етанол	15 sec	2
Измийте с чешмяна вода	15 sec	5
AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор	60 sec	3
Измийте с чешмяна вода	10 sec	5
Изушете на въздух (напр. 3 min в станция 6 или през нощта или при 50 °C в сушилния шкаф)		

* Сменете реактива в станция 1 след 10-15 цикъла или според изискванията.

За съхранение на бактериологични проби в продължение на няколко месеца се препоръчва покриването им в безводна включваща среда (напр. Neo-Mount™, Entellan™ new или DPX new) и покривно стъкло. За целта оцветените проби трябва да се изсушат много добре.

За анализ на оцветените предметни стъкла се препоръчва употребата на имерсионно масло с микроскопско увеличение > 40x.

Резултат

Киселиноустойчиви бактерии	червено
Фон	светлозелено

Оценка

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

Жизнеността (активна, неактивна) на бактериите също не може да се определи.

Отстраняване на проблеми

Фиксиране на проби намазки

За предотвратяване на инфекциозния потенциал на пробите и по-ната-тъшното разпространение на бактериите е съществено важно да бъдат топлинно фиксирани в достатъчна степен с помощта на горелка Bunsen или в нагревателен шкаф.

Без оцветяване на киселиноустойчиви бактерии

Етапът, който е от съществено важно значение за този процес на оцветяване е стъпката на обезцветяване, която може да бъде повлияна от дебелината на намазката на пробата.

Освен това пресният разтвор на солна киселина в етанол е силно реактивен, което означава, че резултатът трябва да се оценява внимателно. Инкубационните времена, посочени в този протокол, трябва да се спазват точно в етапа на обезцветяване, тъй като в противен случай може да се получат фалшиво отрицателни резултати.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на медико-диагностичните лабораторни изисквания.

При използване на автоматични системи за оцветяване трябва да се следват инструкциите за употреба, предоставени от доставчика на системата и софтуера.

Отстранете излишното имерсионно масло преди напълване.

Работни характеристики на анализа

AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор оцветява и по този начин визуализира биологични структури, както е описано в раздел „Резултат“ на тези инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица по отношение на, но без да се изключват и други неща, подготовката на пробите и реактивите, обработката на пробите, вземането на решения относно подходящите контроли и др.

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

Аналитичните характеристики за следните петна бяха потвърдени по отношение на специфичност, чувствителност и повторямост на продукта със степен 100%:

	Специ- фичност между анализите	Чувстви- телност между анализите	Специ- фичност в рамките на ана- лиза	Чувстви- телност в рамките на ана- лиза
AFB оцветяване				
Киселиноустой- чиви бактерии	11/11	11/11	8/8	8/8
Фон	11/11	11/11	8/8	8/8

Резултати от аналитичните характеристики

Данните в рамките на анализа (извършено с една и съща партида) и между анализите (извършени с различни партии) посочват броя на правилно оцветените структури във връзка с броя на извършените анализи.

Резултатите от тази оценка на работните характеристики потвърждават, че продуктът е годен за предназначението и работи надеждно.

Диагностика

Диагнозите трябва да се поставят само от оторизирани и квалифицирани специалисти.

Необходимо е да се използват валидни номенклатури.

Този метод може да се използва допълнително при диагностика на хора.

Необходимо е да се изберат и приложат допълнителни изследвания в съответствие с признатите методи.

За да се избегнат неправилни резултати, е необходимо с всяко приложение да се извършва подходящ контрол (напр. ISOSLIDE™ AFB, кат. № 1.02560.0001).

Съхранение

Съхранявайте AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване) при температура от +15 °C до +25 °C.

Срок на съхранение

AFB-Color малахитово зелено (оксалат) разтвор за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (AFB) (студено оцветяване) може да се използва до посочения срок на годност.

След първо отваряне на шишето, съдържанието може да се използва до посочения срок на годност, ако се съхранява при температура от +15 °C до +25 °C.

Шишетата трябва винаги да се съхраняват плътно затворени.

Капацитет

прибл. 250 оцветявания / 500 ml

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба.

За да се избегнат грешки, приложението трябва да се извършва само от квалифицирани специалисти.

Необходимо е да се спазват националните насоки за безопасност при

работа, както и за осигуряване на качеството. Използваните микроскопи трябва да бъдат оборудвани в съответствие със стандарта. Ако е необходимо, използвайте стандартна центрофуга, подходяща за медицинска диагностична лаборатория.

Защита от инфекции

Необходимо е да се предприемат ефективни мерки за защита от инфекции съгласно указанията на лабораторията.

Указания за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърля съгласно актуалните указания за изхвърляне. Използваните разтвори и разтворите, чийто срок на съхранение е изтекъл, трябва да се изхвърлят като специален отпадък съгласно местните указания. Информация относно изхвърлянето може да се намери на бързата връзка „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия) на адрес www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС понастоящем важи приложимият Регламент (ЕО) № 1272/2008 относно класифицирането, етикетирането и опаковането на вещества и смеси, за изменение и за отмяна на Директиви 67/548/ЕО и 1999/45/ЕО и за изменение на Регламент (ЕО) № 1907/2006.

Помощни реактиви

Кат. № 1.00327	Солна киселина в етанол за микроскопия	1 l, 5 l
Кат. № 1.00497	AFB-Color модифициран Набор за оцветяване за детекция на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) по метода на топло оцветяване	1 набор
Кат. № 1.00579	DPX Ново неводна среда за заливка при микроскопия	500 ml
Кат. № 1.00869	Entellan™ new за покривне на микроскопски препарати за 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 набор
Кат. № 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Контролни слайдове с референтна тъкан за детекция на киселиноустойчиви бактерии в хисто	25 теста
Кат. № 1.04699	Имерсионно масло за микроскопия	100 ml шише с капкомер, 100 ml, 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. № 1.08512	AFB-Color Карбол-фуксин разтвор за изследване под микроскоп на киселиноустойчиви бактерии (acid-fast bacteria, AFB) (студено оцветяване)	500 ml, 2,5 l
Кат. № 1.08562	Aquatex® (среда на водна основа) за микроскопия	50 ml шише с капкомер
Кат. № 1.09016	Neo-Mount™ безводна среда за микроскопия	100 ml шише с капкомер, 500 ml
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 набор

Класификация на опасностите

Кат. № 1.10630.0500
Моля, съблюдавайте класификацията на опасностите, отпечатана на етикета, както и информацията, дадена в информационния лист за безопасност. Информационният лист за безопасност е наличен на уебсайта, както и при поискване. **ВНИМАНИЕ!** Съдържа CMR субстанции. Моля, съблюдавайте съответните инструкции за безопасност, дадени в информационния лист за безопас-

ност.

Основни компоненти на продукта

Кат. № 1.10630.0500
C.I. 42 000 2 g/l
 $(C_{23}H_{25}N_{2/2}C_2H_4(C_2H_2O_4)_2)$
1 l = 1,00 kg

Общи бележки

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Използвана литература

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

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-01	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите



Вижте инструкциите за употреба



Производител



Каталожен номер



Код на партидата



Внимание! Вижте придружаващата документация



Използвайте до ГГГГ-ММ-ДД



Температурно ограничение

Status: 2024-Jul-01

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



1.10630.0500

REF

Mikroszkópia

AFB-Color malachite green (oxalát) oldat

savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés)

Kizárólag szakember általi használatra

IVD

In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz

CE

Rendeltetése

Ezt az „AFB-Color malachite green (oxalát) oldat savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés)” humán eredetű mintaanyag bakteriológiai vizsgálatára szolgál a humányógyászati sejtdiagnosztikában. Ez egy felhasználásra kész festékolat, amely a portfóliónk egyéb *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva lehetővé teszi a célstruktúrák diagnosztikai célú értékelését (saválló baktériumok (AFB)) fixálással, festéssel, kontrasztfestéssel, lefedéssel) bakteriológiai mintaanyagokban, például dúsított baktériumtenyészetek keneteiben.

A meg nem festett struktúrák viszonylag kevésbé kontrasztosak, így nagyon nehéz felismerni őket a fénymikroszkóp alatt. A festési megoldások felhasználásával készített képek segítik a tevékenység végzésére jogosult és képzett vizsgálokat abban, hogy az ilyen esetekben hatékonyabban meghatározassák a formákat és struktúrákat. A végső diagnózis felállításához bevett és validált módszerekkel további vizsgálatokat kell végezni.

Elv

A saválló baktériumokat nehéz megfesteni, mert sejtfalukban magas a lipidek és viaszok aránya. A fukszin festék abszorpciójának és így a sejtfalban a mikolát-fukszin komplex kialakulásának felgyorsítása érdekében a preparátumon alkalmazott karbol-fukszin-oldatot általában gőzképződésig melegítik. Ebben az esetben az AFB-színezék karbol-fukszin-oldat módosítása feleslegessé teszi a melegítést (Kinyoun módszer, hidegfestés). Amint a saválló baktériumok abszorbeálták a fukszin festéket, már szinte lehetetlen ezeket újra színteleníteni, még abban az esetben is, ha intenzíven kezelik színtelenítőoldattal, például etanolban oldott sósavval. Ezt figyelembe véve a saválló baktériumok a festés során mutatott sav- és alkoholállóságról kapták a nevüket, és piros színre festődnek a mikroszkópos vizsgálatához. Ennek megfelelően, minden nem saválló mikroorganizmus a megfelelő festéssel kap kontrasztfestést. Ebben a használati útmutatóban malachitzöldet használnak kontrasztfestésként. A minták előkezelése Sputofluor™-oldattal feloldja a baktériumokat körülvevő viszkózus köpetet és sejttanyagokat.

Mintaanyag

A bakteriológiai vizsgálatra levett anyag, például köpet, vékonytű-aspirációs biopsziás (fine needle aspiration biopsy – FNAB) minta kenetei, mosófolyadék, lenyomatok, folyadékgyülemek, genny, váladékok, folyékony és szilárd baktériumtenyészetek keneteit levegőn megszárították, hővel fixálták és előkezelték Sputofluor™-oldattal.

Reagensek

Kat. sz. 1.10630.0500

AFB-Color malachite green (oxalát) oldat 1 l, 5 l
savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés)

Szintén szükséges:

Kat. sz. 1.00327 Sósav, etanolban oldva, mikroszkópiai célra 1 l, 5 l

Kat. sz. 1.08000 Sputofluor™ mikroszkópiához 1 l

Kat. sz. 1.08512 AFB-Color carbol fuksin oldat 500 ml, 2,5 l
savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés)

Alternatívaként:

A külön reagensek kombinálása helyett az 1.16450.0001 festőkészlet is használható:

Kat. sz. 1.16450.0001 AFB-Color festőkészlet 1 készlet
savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés)

Mintaelőkészítés

A mintavételt szakembernek kell elvégeznie.

Minden mintát a legkorszerűbb technikával kell kezelni.

Minden mintát egyértelműen kell felcímkézni.

A mintavételezéshez és a minták előkészítéséhez megfelelő eszközöket kell használni. Az alkalmazással/használatl kapcsolatban kövesse a gyártó utasításait.

A megfelelő segédreagensek használatakor a hozzájuk tartozó használati útmutatót kell követni.

Köpet

A saválló baktériumokat Sputofluor™-oldattal kell előkezelní, hogy kioldja azokat a nyálkából és a sejtes struktúrákból. Ebben az eljárásban a hipoklorit hatóanyag oxidációval oldja fel a szerves anyagokat, és szabadítja ki kíméletesen a saválló baktériumokat, hogy aztán ezek további feldolgozásra kerüljenek.

Reagens-előkészítés: 15%-os Sputofluor™-oldat elkészítése

Körülbelül 100 ml oldat elkészítéséhez keverje össze a következőket:

Sputofluor™	15 ml
Desztillált víz	85 ml

A mintaanyag előkészítése centrifugacsövekben:

Minta	1 rész (min. 2 ml)
Sputofluor™-oldat (15%-os desztillált vízben)	3 rész
Alaposan rázza össze	10 perc
Centrifugálja 3000–4800 rpm-en	20 perc
Öntse le a felülúszót Az üledékből készítsen kenetet Levegőn szárítsa meg	

Punkciók, lavázsok, üledékek

A megfelelő dúsítási eljárás elvégzése után kenje ki a mintaanyagot a tárgylemezre és hagyja levegőn megszáradni.

Kenetminta fixálása

A mintákat Bunsen-égő lángja fölött fixálják (2–3-szor, elkerülve a túlzott melegítést).

A minták 100–110 °C-on történő melegítéssel is fixálhatók

szárítószekrényben vagy fűtőlapon 20 percig.

A túl magas hőmérséklet vagy a hosszan tartó melegítés a festési minőség romlásával járhat.

Reagens-előkészítés

A festésre használt AFB-Color malachite green (oxalát) oldat savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés) használatra kész, az oldatot nem kell hígítani, mert az csak rontaná a festés minőségét és a stabilitást.

Kenetminták festési eljárása

Az optimális festési eredmény érdekében be kell tartani az előírt időtartamokat.

Festés a festőállványon

Tárgylemez a fixált kenettel		
AFB-színezék, karbol-fukszin-oldat	teljesen fedje el és fesse	20 perc
Folyó csapvíz	öblítse addig, amíg a festék elszínezi a vizet	
Sósav, etanolban oldva	teljesen fedje el és hagyja, hogy reakcióba lépjen	15–30 másodperc*
Folyó csapvíz	öblítse le azonnal	
AFB-Color malachite green (oxalát) oldat	teljesen fedje el és hagyja, hogy reakcióba lépjen	1 perc
Folyó csapvíz	öblítse le alaposan	
Levegőn szárítsa meg (például egész éjszaka 50 °C-on szárítószekrényben)		

* a minta vastagságától függően

Festés tárgylemeztartó üvegdobozban

A tárgylemezeket alá kell méríteni és mozgatni kell az oldatokban, mert az egyszerű bemerítés önmagában nem ad megfelelő festési eredményt.

A tárgylemezeket az egyes festési lépéseket követően hagyni kell alaposan lecsepegni, hogy megelőzhető legyen az oldatok felesleges keresztzennyeződése.

Tárgylemez a fixált kenettel	
AFB-színezék, karbol-fukszin-oldat	20 perc
Folyó csapvíz	45 mp
Sósav, etanolban oldva	15–30 másodperc*
Folyó csapvíz	15 mp
AFB-Color malachite green (oxalát) oldat	5 perc
Mossa le csapvízzel	10 mp
Fedje le Aquatex®-szel és fedőlemezzel.	

* a minta vastagságától függően

Festőautomatában végzett festés

A tárgylemezeket az egyes festési lépéseket követően hagyni kell alaposan lecsepegni, hogy megelőzhető legyen az oldatok felesleges keresztzennyeződése.

Reagens	Idő	Állomás
Tárgylemez a fixált kenettel		
AFB-színezék, karbol-fukszin-oldat*	20 perc	1
Mossa le csapvízzel	45 mp	5
Sósav, etanolban oldva	15 mp	2
Mossa le csapvízzel	15 mp	5
AFB-Color malachite green (oxalát) oldat	60 mp	3
Mossa le csapvízzel	10 mp	5
Levegőn szárítsa meg (pl. 3 percig a 6-os állomáson vagy egy éjszakán át vagy 50 °C-on a szárítószekrényben)		

* Cserélje le a reagenst az 1. állomáson 10–15 ciklus után vagy igény szerint.

A nem-vizes fedőanyaggal (például Neo-Mount™, Entellan™ new vagy DPX new) és tárgylemezzel történő lefedés ajánlott, hogy a bakteriológiai mintákat hónapokig tárolhassa. Ennek érdekében minden festett mintát alaposan meg kell szárítani.

A megfestett tárgylemezek >40-szeres mikroszkópos nagyításhoz immerziós olaj használata ajánlott.

Eredmény

Saválló baktériumok	vörös
Háttér	világoszöld

Értékelés

A pozitív eredmény azt jelenti, hogy „saválló baktériumokat mutattak ki”, míg a negatív eredmény azt, hogy „saválló baktériumokat nem mutattak ki”. A pozitív eredmény nem azt jelenti, hogy a mikroszkópos taxonómiai besorolás lehetséges. Ha saválló baktériumokat mutattak ki, akkor a további elemzéseket speciálisan felszerelt laboratóriumokban kell elvégezni. A baktériumok életképessége (aktív, inaktív) sem határozható meg.

Hibaelhárítás

Kenetminta fixálása

A Bunsen-égővel vagy sütőben történő minták megfelelő mértékű hővel történő fixálása szükséges ahhoz, hogy a minták ne legyenek fertőzőképesek, és a baktériumok ne tudjanak tovább szaporodni.

Nem festődő saválló baktériumok

A festési eljárás kritikus lépése a szintelenítési lépés, amit befolyásolhat a kenetminta vastagsága. Emellett a friss sósav, etanolban oldva nagyon reakcióképes, vagyis a reakciót folyamatosan figyelemmel kell kísérni. Az ebben a protokollban megállapított inkubációs időt pontosan be kell tartani, mivel máskülönben hamis negatív eredményeket kaphat.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkópnak meg kell felelnie az orvosi diagnosztikai laboratóriumok előírásainak. Automatikus festőrendszerek használatakor be kell tartani a rendszer és a szoftver forgalmazójától kapott használati útmutató utasításait. Tárolás előtt távolítsa el a felesleges immerziós olajat.

Az analitikai teljesítmény jellemzői

Az „AFB-Color malachite green (oxalát) oldat ” festi, ezzel láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, ahogy az a jelen használati útmutató „Eredmény” fejezetében olvasható. A terméket csak az arra jogosult, szakképzett személyek használhatják, ami – többek közt – magába foglalja a minta és a reagensek előkészítését, a minták kezelését, a megfelelő kontrollokkal kapcsolatos döntéseket stb.

A termék analitikai teljesítménye minden gyártási tétel esetében igazolt. Az alábbi festékek esetében az analitikai teljesítményt a specificitás, az érzékenység és a megismételhetőség tekintetében 100%-os arányban igazolták:

	Mérések közötti specificitás	Mérések közötti érzékenység	Mérésen belüli specificitás	Mérésen belüli érzékenység
AFB festődés				
Saválló baktériumok	11/11	11/11	8/8	8/8
Háttér	11/11	11/11	8/8	8/8

Az analitikai teljesítményeredmények

A mérésen belüli (ugyanannál a gyártási tételnél elvégzett) és a mérések közötti (különböző gyártási tételeken elvégzett) adatok tükrözik a helyesen festődő struktúrák elvégzett vizsgálatokhoz viszonyított számát.

Jelen teljesítményértékelés eredményei megerősítik, hogy a termék megfelel a rendeltetésszerű használat céljaira és megfelelően működik.

Diagnosztika

A diagnosztizálást csak arra jogosult, szakképzett személy végezheti el. Az érvényes nomenklatúrát kell használni. Ez a módszer csak kiegészítésként használható a humán diagnosztikában. A további vizsgálatokat az elismert módszerek alapján kell kiválasztani és végrehajtani.

A megfelelő kontrollokat (például ISOSLIDE™ AFB, kat. sz. 1.02560.0001) minden alkalmazásnál használni kell a téves eredmények elkerülése érdekében.

Tárolás

Az AFB-Color malachite green (oxalát) oldat savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés) +15 °C és +25 °C között tárolandó.

Eltarthatóság

Az AFB-Color malachite green (oxalát) oldat savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópos vizsgálatához (hideg festés) a feltüntetett lejáratí időíg használható fel.

A palack tartalma az első felnyitást követően – +15 °C és +25 °C közötti tárolás esetén – a feltüntetett lejáratí időíg használható fel.

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani.

Kapacitás

körülbelül 250 festés / 500 ml

További utasítások

Kizárólag szakember által használható.

A hibák elkerülése érdekében csak szakképzett személyek használhatják. Be kell tartani a nemzeti munkavédelmi és minőségbiztosítási előírásokat. Az előírások szerint felszerelt mikroszkópokat kell használni. Szükség szerint használjon az orvosi diagnosztikai laboratóriumok számára megfelelő szabványos centrifugát.

A fertőzések elleni védelem

A fertőzések megelőzése érdekében a laboratóriumi előírásoknak megfelelő, hatékony intézkedéseket kell alkalmazni.

Ártalmatlanítással kapcsolatos utasítások

A csomagolást az aktuális ártalmatlanítási útmutatók szerint kell ártalmatlanítani. A felhasznált, illetve lejárt felhasználhatósági idejű oldatokat a speciális hulladékokra vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani. Az ártalmatlanítással kapcsolatos tájékoztatás megtalálható a „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Mikroszkópiás vizsgálatokkal kapcsolatos termékek ártalmatlanítására vonatkozó tippek) gyorshivatkozás címen a www.microscopy-products.com weboldalon. Az EU-n belül a vonatkozó hatályos alkalmazandó rendelet a 67/548/EGK és az 1999/45/EK rendeleteket módosító és hatályon kívül helyező, valamint az (EK) 1907/2006 rendeletet módosító, a vegyi anyagok és keverékek osztályba sorolására, csomagolására és címkézésére vonatkozó (EK) 1272/2008 sz. RENDELET.

Segédreagens

Kat. sz.	1.00327	Sósav, etanolban oldva, mikroszkópiai célra	1 l, 5 l
Kat. sz.	1.00497	AFB-Color módosított Festő kit savgyors baktériumok (AFB) mikroszkópiás vizsgálatához melegen festődő metodikával	1 készlet
Kat. sz.	1.00579	DPX új nem-vizes rögzítőszer mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.00869	Entellan™ new fedőlemezekhez mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.01287	Löffler-féle metilénkék oldat mikroszkópiai célra	100 ml, 500 ml, 2,5l
Kat. sz.	1.01597	AFB-Fluor fenolmentes festőkészlet savgyors baktériumok fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatához (Auramin-Rhodamine festés)	1 készlet
Kat. sz.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontroll lemezek referenciaszövettel savgyors baktériumok szövettani kimutatásához	25 teszt

Kat. sz. 1.04699	Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es cse- pettetőpalack, 100 ml, 500 ml
Kat. sz. 1.07961	Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz. 1.08000	SputofluoI™ mikroszkópiához	1 l
Kat. sz. 1.08298	Xylene (izometrikus elegy) szövetteni célokra	4 l
Kat. sz. 1.08512	AFB-Color carbol fuksin oldat savgyors baktériumok (AFB) mikroszkó- pos vizsgálatához (hideg festés)	500 ml, 2,5 l
Kat. sz. 1.08562	Aquatex® (vizes fedőanyag) mikroszkópiai célra	50 ml-es cse- pettetőpalack
Kat. sz. 1.09016	Neo-Mount™ vízmentes fedőanyag mikroszkópiai célra	100 ml-es cse- pettetőpalack, 500 ml
Kat. sz. 1.09843	Neo-Clear™ (xilolhelyettesítő) mikroszkópiai célra	5 l
Kat. sz. 1.16450	AFB-Color festőkészlet savgyors baktériumok (AFB) mikroszkó- pos vizsgálatához (hideg festés)	1 készlet

Veszélyességi osztályok

Kat. sz. 1.10630.0500

Tanulmányozza át a címkén látható veszélyességi osztályokat és a biztonsági adatlapon található tájékoztatást.
A biztonsági adatlap a weboldalon érhető el, és kérésre is elküldjük.
VIGYÁZAT! CMR anyagokat tartalmaz. Tanulmányozza át a biztonsági adatlapon látható megfelelő biztonsági utasításokat.

A termék fő alkotóelemei

Kat. sz. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Általános megjegyzés

Ha jelen eszköz használata során vagy annak eredményeképp súlyos baleset következne be, akkor azt jelentse a gyártónak és/vagy a hivatalos képviselőének, illetve az adott ország hatóságának.

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

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-01	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Lásd a használati utasítást



Gyártó



Katalógusszám



Tételkód



Figyelem, olvassa el a mellékelt dokumentumokat



Felhasználható:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsékleti
határértékek

Status: 2024-Jul-01

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

1.10630.0500

REF

Mikroskopija

AFB-Color malahītzaļā (oksalāts)

šķīdums acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)

Drīkst lietot tikai speciālisti

IVD

In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce

CE

Paredzētā lietošana

"AFB-Color malahītzaļā (oksalāts) šķīdums acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)" izmanto cilvēka medicīnisko šūnu diagnostikai un tas kalpo cilvēka izcelsmes parauga materiāla bakterioloģiskai izmeklēšanai. Tas ir lietošanai gatavs iekrāsošanas šķīdums, kas, izmantojot kopā ar citiem *in vitro* diagnostikas produktiem no mūsu piedāvājumu klāsta, ļauj novērtēt mērķa struktūras diagnostikas vajadzībām (skābjnoturīgās baktērijas (AFB)), fiksējot, iekrāsojot, pretkrāsojot, montējot bakterioloģiskos paraugus, piemēram, bagātinātu baktēriju kultūru uztriepes.

Nekrāsotas struktūras ir salīdzinoši zema kontrasta, un tās ir ļoti grūti atšķirt gaismas mikroskopā. Attēli, kas izveidoti, izmantojot iekrāsošanas šķīdumus, palīdz pilnvarotam un kvalificētam pētniekam šādos gadījumos labāk noteikt formu un struktūru. Lai noteiktu galīgo diagnozi, ir jāveic papildu testi saskaņā ar atzītām, derīgām metodēm.

Princips

Skābjnoturīgas baktērijas ir grūti iekrāsot, jo to šūnu sienā ir liels lipīdu un vaska īpatsvars. Lai paātrinātu fuksīna krāsvielas absorbciju un tādējādi paātrinātu mikolāta-fuksīna kompleksa veidošanos šūnas sienā, preparātam pievienoto karbolfuksīna šķīdumu parasti karsē, līdz tas veido tvaiku. Šajā gadījumā AFB-Color karbola fuksīna šķīduma modifikācija padara karsēšanu nevajadzīgu (Kinyoun metode, aukstā krāsošana). Tiklīdz skābjnoturīgās baktērijas ir absorbējušas fuksīna krāsvielu, tās praktiski nav iespējams atkal atkrāsot, pat ja tās intensīvi apstrādā ar atkrāsošanas šķīdumu, piemēram, sālsskābi etanolā. Attiecīgi skābjnoturīgās baktērijas tiek apzīmētas kā skābi un spirtu izturīgas baktērijas, un mikroskopiskajā vizualizācijā tās tiek iekrāsotas sarkanā krāsā. Attiecīgi visus mikroorganismus, kas nav skābjnoturīgi, iekrāso ar atbilstošu krāsvielu. Šajā lietošanas instrukcijā pretkrāsošanai izmantots malahītzaļais. Iepriekšēja paraugu apstrāde ar Sputofluol™ izšķīdina baktērijas no apkārtējām viscīdajām krēpām un šūnu materiāla.

Parauga materiāls

Bakterioloģiskā materiāla uztriepes, kas ir žāvētas gaisā, termiski fiksētas un iepriekš apstrādātas ar Sputofluol™, piemēram, krēpas, smalkas adatas aspirācijas biopsijas (FNAB) uztriepes, izskalojumi, nospiedumi, izsvīdumi, strutas, eksudāti, šķidrās un cietās kultūras.

Reaģenti

Atsauces Nr. 1.10630.0500

AFB-Color malahītzaļā (oksalāts) 1 l, 5 l
šķīdums acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)

Nepieciešams arī:

Atsauces Nr. 1.00327 Sālsskābe etilspirtā 1 l, 5 l
mikroskopiskai izmeklēšanai

Atsauces Nr. 1.08000 Sputofluol™ 1 l
mikroskopiskai izmeklēšanai

Atsauces Nr. 1.08512 AFB-Color karbolfuksīna šķīdums 500 ml, 2,5 l
acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)

Alternatīvi:

Atsevišķu reaģentu kombinācijas vietā var izmantot krāsošanas komplektu 1.16450.0001:

Atsauces Nr. 1.16450.0001

AFB-Color krāsošanas komplekts 1 komplekts
acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)

Parauga sagatavošana:

Paraugu ņemšana jāveic kvalificētam personālam.

Visi paraugi jāapstrādā, izmantojot modernākās tehnoloģijas.

Visiem paraugiem jābūt skaidri marķētiem.

Paraugu ņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Sekoiet ražotāja norādījumiem par uzklāšanu / lietošanu.

Lietojot attiecīgos palīgreaģentus, jāievēro attiecīgās lietošanas instrukcijas.

Krēpas

Skābjnoturīgas baktērijas iepriekš jāapstrādā ar Sputofluol™, lai tās izšķīdinātu no gļotām un šūnu struktūrām. Šajā procesā aktīvā viela hipohlorīts oksidējoties izšķīdina organisko materiālu un viegli atbrīvo skābjnoturīgas baktērijas, lai tās varētu pārstrādāt tālāk.

Reaģentu sagatavošana Sputofluol™ 15% šķīduma pagatavošana

Lai pagatavotu aptuveni 100 ml šķīduma maisījuma:

Sputofluol™	15 ml
Destilēts ūdens	85 ml

Parauga materiāla sagatavošana centrifūgas mēģenēs:	
Paraugi	1 daļa (min. 2 ml)
Sputofluol™ šķīdums (15% destilētā ūdenī)	3 daļas
Spēcīgi sakratiet	10 min
Centrifugēšana ar 3 000-4 800 apgriezieniem minūtē	20 min
Dekantējiet supernatantu Sagatavojiet nogulšņu uztriepes Žāvējiet gaisā	

Punktāti, uztriepes, nosēdumi

Pēc atbilstoši bagātināšanas pasākumiem parauga materiālu uzklāj uz priekšmetstikliņa un ļauj nožūt gaisā.

Uztriepju paraugu fiksācija

Paraugus fiksē virs Bunsena degļa liesmas (2 – 3 reizes, lai nepārkarsētu). Paraugus var arī fiksēt, karsējot 100-110 °C temperatūrā žāvēšanas skapī vai uz karsēšanas plātes 20 min. Pārmērīga temperatūra vai ilgstoša karsēšana var pasliktināt krāsošanas īpašības.

Reaģentu sagatavošana

AFB-Color malahītzaļā (oksalāts) šķīdums acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana), kuru izmanto iekrāsošanai ir lietošanai gatavs, šķīduma atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina iekrāsošanas rezultātu un stabilitāti.

Paraugu uztriepju krāsošanas procedūra

Lai garantētu optimālu iekrāsošanas rezultātu, ir jāievēro norādītie laiki.

Iekrāsošana uz krāsošanas statīva

Priekšmetstikliņš ar fiksētu, gaisā žāvētu uztriepi		
AFB-Color karbolfuksīna šķīdums	pilnībā pārklāj un iekrāso	20 min
Tekoškrāna ūdens	skalo, līdz vairs neveidojas krāsvielu mākoņi.	
Sālsskābe etanolā	pilnībā pārklāj un atstāj reaģēt	15-30 sekundes*
Tekoškrāna ūdens	nekavējoties izskalojiet	
AFB-Color malahītzaļā (oksalāts)	pilnībā pārklāj un atstāj reaģēt	1 min
Tekoškrāna ūdens	skalojiet uzmanīgi	
Žāvēšana gaisā (piemēram, pa nakti vai 50 °C temperatūrā žāvēšanas skapī).		

* atkarībā no parauga biezuma

Iekrāsošana krāsošanas traukā

Priekšmetstikliņi ir jāiegremdē un jāpārviesto šķīdumos, vienkārša iegremdēšana vien dod nepietiekamus krāsošanas rezultātus.

Lai izvairītos no nevajadzīgas šķīdumu savstarpējas piesārņošanas, pēc atsevišķiem iekrāsošanas posmiem priekšmetstikliņi ir labi jānoslauka.

Priekšmetstiklīņš ar fiksētu, gaisā žāvētu uztriepi	
AFB-Color karbolfuksīna šķīdums	20 min
Tekošskrāna ūdens	45 sec
Sālsskābe etanolā	15-30 sekundes*
Tekošskrāna ūdens	15 sec
AFB-Color malahītajā (oksalāts)	5 min
Nomazgāt tekošā ūdenī	10 sec
Nostiprināt ar Aquatex® un segstiklu	

* atkarībā no parauga biezuma

</

Krāsošana automātiskajā krāsošanas iekārtā

Lai izvairītos no nevajadzīgas šķīdumu savstarpējas piesārņošanas, pēc atsevišķiem iekrāsošanas posmiem priekšmetstiklīņi ir labi jānoslauka.

Reaģents	Laiks	Nodaļa
Priekšmetstiklīņš ar fiksētu, gaisā žāvētu uztriepi		
AFB-Color karbolfuksīna šķīdums*	20 min	1
Nomazgāt tekošā ūdenī	45 sec	5
Sālsskābe etanolā	15 sec	2
Nomazgāt tekošā ūdenī	15 sec	5
AFB-Color malahītajā (oksalāts)	60 sec	3
Nomazgāt tekošā ūdenī	10 sec	5
Žāvēt gaisā (piemēram, 3 min. 6. stacijā vai pa nakti, vai 50 °C temperatūrā žāvēšanas skapī)		

* Nomainiet reaģentu 1. stacijā pēc 10 - 15 cikliem vai pēc vajadzības.

Bakterioloģisko paraugu uzglabāšanai vairākus mēnešus ieteicams izmantot bezūdens nostiprināšanas līdzekli (piemēram, Neo-Mount™, Entellan™ new vai DPX new) un pārklājamo stiklu. Šim nolūkam iekrāsotie paraugi ir ļoti labi jāizžāvē.

Analizējot iekrāsotus priekšmetstiklīņus ar mikroskopisko palielinājumu > 40×, ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Rezultāts

Skābjnoturīgas baktērijas	sarkanā krāsā
Pamatinformācija	gaiši zaļā krāsā

Vērtējums

Positīvs rezultāts nozīmē "konstatētasskābjnoturīgas baktērijas", bet negatīvs rezultāts – "skābjnoturīgas baktērijas nav konstatētas". Positīvs rezultāts nenozīmē, ka ir iespējama taksonomiska klasifikācija, izmantojot mikroskopiju. Ja tiek konstatētas skābjnoturīgu baktēriju klātbūtne, turpmākas analīzes jāveic īpaši aprīkotās laboratorijās. Nav iespējams noteikt arī baktēriju dzīvotspēju (aktīva, neaktīva).

Problēmu novēršana
Uztriepju paraugu fiksācija

Lai novērstu paraugu infekciozitāti un baktēriju tālāku vairošanos, ir nepieciešama pietiekama karstuma fiksācija, izmantojot Bunsena degli vai sildīšanas skapi.

Nav skābjnoturīgu baktēriju iekrāsošanās

Šī iekrāsošanas procesa kritiskais posms ir atkrāsošanas posms, ko var ietekmēt parauga uztriepes biezums. Turklāt svaigs sālsskābes šķīdums etanolā ir ļoti reaktīvs, kas nozīmē, ka rezultāts jāvērtē piesardzīgi. Šajā protokolā norādītais inkubācijas laiks ir precīzi jāievēro atkrāsošanas posmā, jo pretējā gadījumā var rasties kļūdaini negatīvi rezultāti.

Tehniskās piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostikas laboratorijas prasībām. Lietojot automātiskās krāsošanas sistēmas, ievērojiet sistēmas un programmatūras piegādātāja sniegtos lietošanas norādījumus. Pirms reģistrēšanas nogemiet iegremdēšanas eļļas pārpalikumu.

Analītiskās veikspējas raksturlielumi

"AFB-Color malahīta zaļais (oksalāts)" iekrāso un tādējādi vizualizē bioloģiskās struktūras, kā aprakstīts šīs LI nodaļā "Rezultāts". Produktu drīkst lietot tikai pilnvarotas un kvalificētas personas, tas cita starpā attiecas uz paraugu un reaģentu sagatavošanu, paraugu apstrādi, lēmumu pieņemšanu par piemērotām kontrolēm un citiem jautājumiem. Produkta analītiskās īpašības apstiprina, testējot katru ražošanas partiju. Attiecībā uz turpmāk minētajām uztriepēm analītiskā veikspēja tika apstiprināta attiecībā uz produkta specifiskumu, jutīgumu un atkārtojamību ar 100% rādītāju:

	Starpanalīzu specifiskums	Starpanalīzu jutība	Anaīļu specifiskums analīzes laikā	Anaīļu jutība analīzes laikā
AFB iekrāsošana				
Skābjnoturīgas baktērijas	11/11	11/11	8/8	8/8
Pamatinformācija	11/11	11/11	8/8	8/8

Analītiskās darbības rezultāti

Iekšējo (veikts ar vienu un to pašu partiju) un starppartiju (veikts ar dažādām partijām) datu sarakstā ir norādīts pareizi iekrāsoto struktūru skaits attiecībā pret veikto testu skaitu.

Šī veikspējas novērtējuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājums ir piemērots paredzētajam lietojumam un darbojas droši.

Diagnostika

Diagnozi drīkst veikt tikai pilnvarots un kvalificēts personāls. Jāizmanto derīgas nomenklatūras. Šo metodi var papildus izmantot cilvēku diagnostikā. Turpmākie testi jāizvēlas un jāveic saskaņā ar atzītām metodēm. Lai izvairītos no nepareiza rezultāta, katru reizi jāveic atbilstošas pārbaudes (piemēram, ISOSLIDE™ AFB, Atsauces Nr. 1.02560.0001).

Glabāšana

AFB-Color malahītajā (oksalāts) šķīdums acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana) +15 °C līdz +25 °C temperatūrā.

Glabāšanas laiks

AFB-Color malahītajā (oksalāta) šķīdumu šķīdums acidorezistento baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana) var lietot līdz norādītajam derīguma termiņam. Pēc pudeles pirmās atvēršanas saturu var lietot līdz norādītajam derīguma termiņam, ja to uzglabā +15 °C līdz +25 °C temperatūrā. Pudeles vienmēr jāglabā cieši aizvērtas.

Ietilpība

aptuveni 250 iekrāsojumu / 500 ml

Papildu norādījumi

Tikai izpētes mērķiem. Lai izvairītos no kļūdām, lietošanu drīkst veikt tikai kvalificēts personāls. Jāievēro valsts darba drošības un kvalitātes nodrošināšanas vadlīnijas. Jāizmanto atbilstoši standartam aprīkoti mikroskopi. Ja nepieciešams, izmantojiet standarta centrifūgu, kas piemērota medicīniskās diagnostikas laboratorijai.

Pamata aizsardzība pret infekcijām

Jāveic efektīvi pasākumi aizsardzībai pret infekciju saskaņā ar laboratorijas vadlīnijām.

Likvidēšanas norādījumi

Iepakojums jāiznīcina saskaņā ar spēkā esošajiem likvidēšanas norādījumiem. Izlietotie šķīdumi un šķīdumi, kuru derīguma termiņš ir beidzies, jālikvidē kā īpaši atkritumi saskaņā ar vietējiem norādījumiem. Informāciju par likvidēšanu var iegūt ātrās saites sadaļā "Padomi mikroskopijas produktu likvidēšanai" vietnē www.microscopy-products.com. ES ir spēkā pašlaik piemērojamā REGULA (EK) Nr. 1272/2008 par vielu un maisījumu klasificēšanu, marķēšanu un iepakojšanu, ar ko groza un atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Paligreaģenti

Atsauces Nr. 1.00327	Sālsskābe etilspirtā mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l, 5 l
Atsauces Nr. 1.00497	AFB-Color modificētais krāsošanas komplekts acidorezistento baktēriju (AFB) noteikšanai ar karstās krāsošanas metodi	1 komplekts
Atsauces Nr. 1.00579	DPX new ūdenī nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Atsauces Nr. 1.00869	Entellan™ new segstiklīņiem mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Atsauces Nr. 1.01287	Löffler metilēnzilā šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 2.5 l
Atsauces Nr. 1.01597	AFB-Fluor fenolu nesaturošs krāsošanas komplekts acidorezistento baktēriju izmeklēšanai ar fluorescences mikroskopu (krāsošana ar auramīnu-rodamīnu)	1 komplekts

Atsauces Nr. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontroles priekšmetstiklīpus ar atsaucē audiem acidorezistentu baktēriju noteikšanai histoloģiskajos paraugos	25 testi
Atsauces Nr. 1.04699	Imersijas eļļa mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināmā pudele, 100 ml, 500 ml
Atsauces Nr. 1.07961	Entellan™ new ātras nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 1 l
Atsauces Nr. 1.08000	Sputofluo™ mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l
Atsauces Nr. 1.08298	Ksilēns (izomēru maisījums) histoloģiskai izmeklēšanai	4 l
Atsauces Nr. 1.08512	AFB-Color karbolfuksīna šķīdums acidorezistentu baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)	500 ml, 2,5 l
Atsauces Nr. 1.08562	Aquatex® (ūdeni saturošs nostiprināšanas līdzeklis) mikroskopiskai izmeklēšanai	50 ml pilināmā pudele
Atsauces Nr. 1.09016	Neo-Mount™ ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināmā pudele, 500 ml
Atsauces Nr. 1.09843	Neo-Clear™ (ksilēna aizvietotājs) mikroskopiskai izmeklēšanai	5 l
Atsauces Nr. 1.16450	AFB-Color krāsošanas komplekts acidorezistentu baktēriju (AFB) mikroskopiskai izmeklēšanai (aukstā krāsošana)	1 komplekts

Bīstamības klasifikācija

Atsauces Nr. 1.10630.0500

Ievērojiet uz etiķetes norādīto bīstamības klasifikāciju un drošības datu lapā sniegto informāciju.

Drošības datu lapa ir pieejama tīmekļa vietnē un pēc pieprasījuma.

UZMANĪBU! Satur CMR vielas. Ievērojiet drošības datu lapā sniegtos drošības norādījumus.

Produkta galvenās sastāvdaļas

Atsauces Nr. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Vispārīgas piezīmes

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns negadījums, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim un savas valsts 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

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-01	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu



Izlasiet lietošanas noteikumus



Ražotājs



Kataloga numurs



Sērijas kods



Uzmanību, skatiet pavaddokumentus



Izmantot līdz DD.MM.GGGG.



Temperatūras ierobežojumi

Status: 2024-Jul-01

1.10630.0500

REF

Mikroskopija

AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas

rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas)

Tik profesionaliam naudojimui

IVD

Diagnostikos *in vitro* medicinos priemonė

Numatytoji paskirtis

Šis AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas) naudojamas žmogaus ir medicininių ląstelių diagnostikai ir skirtas žmogaus kilmės mėginio medžiagos bakteriologiniam tyrimui. Tai yra paruoštas naudoti dažymo tirpalas, naudojamas su kitais diagnostikai „*in vitro*“ skirtais mūsų asortimento produktais, kai diagnostikos tikslais (fiksuojuose, dažytoje, kontrastingai dažytoje, padengtoje) bakteriologinių mėginių medžiagoje, pavyzdžiui, gausių bakterinių kultūrų preparatuose, reikia įvertinti tikslines struktūras (rūgštims atsparias bakterijas (AFB)).

Nedažytų struktūrų kontrastas santykinai prastas ir apžiūrint šviesiniu mikroskopu jas yra ypač sunku atskirti. Tokiais atvejais naudojant dažymo tirpalus gauti vaizdai igaliojami ir kvalifikuotam tyrėjui padeda geriau apibrėžti formą ir struktūrą. Kad būtų nustatyta galutinė diagnozė, vadovaujantis pripažintais, patikrintais metodais būtina atlikti daugiau tyrimų.

Principas

Rūgštims atsparios bakterijos sunkiai dažosi, nes jų ląstelių sienelėse yra didelis lipidų ir vaško kiekis. Siekiant pagreitinti fuksono dažų absorbciją ir taip pagreitinti mikolato-fuksono komplekso susidarymą ląstelės sienelėje, preparatui naudojamas karbolio fuksono tirpalas paprastai kaitinamas, kol susidaro garai. Šiuo atveju „AFB-Color“ karbol-fuksono tirpalo modifikacija leidžia išvengti kaitinimo (Kinjono metodas, šaltasis dažymas).

Kai rūgštims atsparios bakterijos absorbuoja fuksono dažus, jų išblukinti beveik neįmanoma, net jei jos intensyviai apdorojamos blukinimo tirpalu, pvz., druskos rūgštimi etanolyje. Atitinkamai rūgštims atsparios bakterijos vadinamos atspariomis dažymui rūgštimis ir alkoholiu ir apžiūrint mikroskopu yra nusidažiusios raudonai. Taigi, rūgštims neatsparūs mikroorganizmai dažomi atitinkamais kontrastiniais dažais. Šiose instrukcijose kontrastiniam dažymui naudojamas malachito žaliasis. Mėginius iš anksto apdorojus su „Sputofluor™“ aplinkiniuose klampiuose skrepliuose ir ląstelinėje medžiagoje suskaidomos bakterijos.

Mėginio medžiaga

Ore išdžiovinti, karščiu fiksuoti ir iš anksto „Sputofluor™“ apdoroti bakteriologinės medžiagos preparatai, pavyzdžiui, skreplių, biopsijos aspiruojant plona adata (FNAB), nuoplovų, atspaudų, efininio skysčio, pūlių, eksudato, skystųjų ir standžiųjų kultūrų preparatai.

Reagentai

Kat. Nr. 1.10630.0500

AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalo rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas) 1 l, 5 l

Taip pat reikia:

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

Kat. Nr. 1.08000 Sputofluor™ mikroskopijai 1 l

Kat. Nr. 1.08512 AFB-Color karbol-fuksono tirpalas rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas) 500 ml, 2,5 l

Alternatyvus pasirinkimas:

Vietoj atskirų reagentų derinio galima naudoti dažymo rinkinį 1.16450.0001:

Kat. Nr. 1.16450.0001

AFB-Color dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas) 1 rinkinys

Mėginio paruošimas

Mėginį turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Visus mėginius reikia apdoroti naudojant pažangiausias technologijas. Visi mėginiai turi būti aiškiai paženklinėti.

Mėginiams paimti ir jiems paruošti būtina naudoti tinkamus instrumentus. Vadovaukitės gamintojo pateiktomis taikymo ir naudojimo instrukcijomis.

Naudojant atitinkamus pagalbinus reagentus būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Skrepliai

Rūgštims atsparias bakterijas reikia iš anksto apdoroti su „Sputofluor™“, kad jos būtų pašalintos iš gleivių ir ląstelių struktūrų. Šiame procese veikioji medžiaga hipochloritas vykstant oksidacijai išsiterpdo organinę medžiagą ir švelniai atpalaiduoja rūgštims atsparias bakterijas, kad jas būtų galima apdoroti vėliau.

Reagento paruošimas: „Sputofluor™“ 15 % tirpalo paruošimas
Maždaug 100 ml tirpalo paruošti sumaišykite:

„Sputofluor™“	15 ml
Distiliuotas vanduo	85 ml

Mėginio paruošimas centrifugavimo mėgintuvėliuose:	
Mėginys	1 dalis (min. 2 ml)
„Sputofluor™“ tirpalas (15 % distiliuotame vandenyje)	3 dalys
Intensyviai purtyti	10 min.
Centrifuguoti 3 000–4 800 aps./min. greičiu	20 min.
Dekantuoti supernatantą Paruošti nuosėdų preparatą Išdžiovinti ore	

Punktatai, lavažai, nuosėdos

Atlikę atitinkamas gausinimo priemones, užtepkite mėginio medžiagą ant preparato ir leiskite išdžiūti ore.

Mėginio preparatų fiksavimas

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

Mėginiai taip pat gali būti fiksuojami 20 min. kaitinant 100–110 °C temperatūroje džiovinimo kameroje arba ant kaitinimo plokštės. Dėl pernelyg aukštos temperatūros arba ilgo kaitinimo gali pablogėti dažymo savybės.

Reagento paruošimas

Dažymui naudojamas AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas mikroskopiniam rūgščiai atsparių bakterijų (AFB) tyrimui (šaltasis dažymas) yra paruoštas naudoti, tirpalo skiesti nereikia, dėl to tik pablogėja dažymo rezultatas ir stabilumas.

Preparato mėginių dažymo procedūra

Norint gauti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto dažymo laiko.

Dažymas dažymo stovelyje

Objektynis stiklėlis su fiksuotu preparatu		
AFB-Color karbolio fuksono tirpalas	Visiškai padengti ir dažyti	20 min.
Tekantis vandentiekio vanduo	Skalauti, kol neatsiras dažų pėdsakų	
Druskos rūgštis etanolyje	Visiškai padengti ir palikti, kad vyktų reakcija	15–30 sek.*
Tekantis vandentiekio vanduo	Nedelsiant nuplauti	
AFB-Color malachito žaliojo (oksalato) tirpalas	Visiškai padengti ir palikti, kad vyktų reakcija	1 min.
Tekantis vandentiekio vanduo	Atsargiai nuplauti	
Išdžiovinti ore (pvz., per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo kameroje)		

* atsižvelgiant į mėginio storį

Dažymas dažymo kameroje

Preparatai turi būti panardinami ir judinami tirpaluose, vien tik panardinus juos į tirpalus, dažymo rezultatai būna netinkami.

Siekiant išvengti nereikalingos tirpalų kryžminės taršos, preparatus po kiekvieno dažymo etapo reikia gerai nuvarvinti.

Objektynis stiklėlis su fiksuotu preparatu	
AFB-Color karbolio fuksono tirpalas	20 min.

Tekantis vandentiekio vanduo	45 sek.
Druskos rūgštis etanolyje	15–30 sek.*
Tekantis vandentiekio vanduo	15 sek.
AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas	5 min.
Nuplauti vandentiekio vandeniu	10 sek.
Padenkite „Aquatex®“ ir uždenkite stikleliu.	

* atsižvelgiant į mėginio storį

Dažymas automatinėje dažyklėje

Siekiant išvengti nereikalingos tirpalų kryžminės taršos, preparatus po kiekvieno dažymo etapo reikia gerai nuvarvinti.

Reagentas	Laikas	Stotelė
Objektinis stiklis su fiksuotu preparatu		
AFB-Color karbolio fuksino tirpalas*	20 min.	1
Nuplauti vandentiekio vandeniu	45 sek.	5
Druskos rūgštis etanolyje	15 sek.	2
Nuplauti vandentiekio vandeniu	15 sek.	5
AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas	60 sek.	3
Nuplauti vandentiekio vandeniu	10 sek.	5
Išdžiovinti ore (pvz., 3 min. 6 stotyje arba per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo kameroje)		

* Pakeiskite reagentą 1 stotyje po 10–15 ciklų arba pagal poreikį.

Kelis mėnesius saugomus bakteriologinius mėginius rekomenduojama padengti nevandenine dengiamąja terpe (pvz., „Neo-Mount™“, „Entellan™ new“ arba DPX new) ir uždengti stikleliu. Šiam tikslui nudažytus preparatus reikia labai gerai išdžiovinti. Mikroskopuojant dažytus preparatus mikroskopu, kuris priartina daugiau nei 40 kartų, rekomenduojama naudoti imersinį aliejų.

Rezultatas

Rūgštims atsparios bakterijos raudona
Fonas šviesiai žalias

Vertinimas

Teigiamas rezultatas reiškia „aptikta rūgštims atsparių bakterijų“, neigiamas rezultatas – „rūgštims atsparių bakterijų neaptikta“. Teigiamas rezultatas nereiškia, kad mikroskopuojant galimas taksonominis klasifikavimas. Jei aptikta rūgštims atsparių bakterijų, reikia atlikti papildomų tyrimų specialiai įrengtose laboratorijose. Taip pat negalima nustatyti bakterijų gyvybingumo (aktyvios, neaktyvios).

Trikdžių šalinimas

Mėginio preparatų fiksavimas

Naudojant Bunseno degiklį arba kaitinant kaitinimo kameroje būtinas pakankamas fiksavimo kaitinant lygis, siekiant išvengti galimo mėginių infekciškumo ir tolesnio bakterijų dauginimosi.

Rūgštims atsparios bakterijos nenusidažė

Blukinimo etapas yra labai svarbus šio dažymo proceso etapas; jam įtakos gali turėti mėginio preparato storis. Be to, šviežias druskos rūgšties etanolyje tirpalas yra labai reaktyvus, todėl rezultatą reikia vertinti apdairiai. Reikia tiksliai laikytis šiame protokole nurodytos blukinimo etapo trukmės, priešingu atveju galimi klaidingai neigiami rezultatai.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininei diagnostikos laboratorijai keliamus reikalavimus. Naudodami automatinės dažymo sistemas, vadovaukitės sistemos ir programinės įrangos tiekėjo pateiktomis instrukcijomis. Prieš užpildydami pašalinkite imersinio aliejaus perteklių.

Analitinės eksploatacinės savybės

AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas nudažo ir taip rodo biologines struktūras, kaip aprašyta šių naudojimo instrukcijų skyriuje „Rezultatas“. Procedūras naudojant produktą, įskaitant, be kita ko, mėginio ir reagento paruošimą, mėginio tvarkymą, sprendimus dėl tinkamų kontrolių ir kt., turėtų atlikti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys. Produkto analitinės eksploatacinės savybės patvirtino kiekvienos produkto serijos tyrimai. Įvertinus toliau nurodytų dažų analitinės eksploatacinės savybės buvo patvirtintas 100 % specifiskumas, jautrumas ir atkartojamumas.

	Specifiškumas tarp testų	Jautrumas tarp testų	Testo specifiskumas	Testo jautrumas
AFB dažai				
Rūgštims atsparios bakterijos	11/11	11/11	8/8	8/8
Fonas	11/11	11/11	8/8	8/8

Analitinių eksploatacinių savybių rezultatai

Testo (tos pačios serijos) ir palyginimo tarp testų (skirtingų serijų) duomenys nurodo tinkamai nudažytų struktūrų skaičių atsižvelgiant į atliktų testų skaičių.

Šio eksploatacinių savybių vertinimo rezultatai patvirtina, kad produktas patikimas ir tinkamas naudoti numatytajai paskirčiai.

Diagnostika

Diagnozes gali nustatyti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai. Būtina naudoti galiojančias nomenklatūras. Šį metodą žmonių diagnostikai galima naudoti kaip papildomą priemonę. Laikantis pripažintų metodų būtina pasirinkti ir atlikti kitus tyrimus. Siekiant išvengti klaidingų rezultatų, kiekvieną kartą naudojant produktą reikia imtis tinkamų kontrolės priemonių (pvz., ISOSLIDE™ AFB, kat. Nr. 1.02560.0001).

Laikymas

Laikykite AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalą rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas) 15–25 °C temperatūroje.

Tinkamumo naudoti laikas

AFB-Color malachito žalumos (oksalato) tirpalas rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas) gali būti naudojamas iki nurodytos tinkamumo naudoti datos.

Pirmą kartą atidarius buteliuką, jo turinį galima naudoti iki nurodytos tinkamumo naudoti datos, jei jis laikomas 15–25 °C temperatūroje.

Buteliukus visą laiką būtina laikyti sandariai uždarytus.

Talpa

Maždaug 250 dažymo procedūrų / 500 ml

Papildomi nurodymai

Tik profesionaliam naudojimui. Siekiant išvengti klaidų, produktą turi naudoti tik kvalifikuoti darbuotojai. Būtina laikytis šalyje taikomų darbo saugos ir kokybės užtikrinimo rekomendacijų. Būtina naudoti standartų reikalavimus atitinkančius mikroskopus. Jei reikia, naudokite medicininei laboratorijai tinkamą standartinę centrifugą.

Apsauga nuo infekcijos

Laikantis laboratorijos rekomendacijų būtina taikyti efektyvias apsaugos nuo infekcijų priemones.

Atliekų šalinimo nurodymai

Pakuotę reikia šalinti laikantis galiojančių šalinimo rekomendacijų. Panaudotus tirpalus ir tirpalus, kurių tinkamumo naudoti laikas baigėsi, reikia šalinti kaip specialiąsias atliekas laikantis vietos rekomendacijų. Informacijos apie šalinimą galima rasti svetainėje www.microscopy-products.com, paspaudus sparčiąją nuorodą „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Patarimai dėl mikroskopijai naudotų produktų šalinimo). Europos Sąjungoje šiuo metu taikomas Reglamentas (EB) Nr. 1272/2008 dėl cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimo, ženklinimo ir pakavimo, iš dalies keičiantis ir panaikinantis direktyvas 67/548/EEB bei 1999/45/EB ir iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006.

Pagalbiniai reagentai

Kat. Nr. 1.00327	Druskos rūgštis etanolyje mikroskopijai	1 l, 5 l
Kat. Nr. 1.00497	AFB-Color modifikuotas dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) aptikimui karšto dažymo metodu	1 rinkinys
Kat. Nr. 1.00579	DPX new nevandeninė dengimo terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr. 1.00869	Entellan™ new dangteliui, skirta mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr. 1.01287	Löffler metileno mėlio tirpalas mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 2,5l
Kat. Nr. 1.01597	AFB-Fluor dažymo rinkinys be fenolio skirtas tirti rūgštims atsparias bakterijas fluorescenciniu mikroskopu (Auramin-Rhodamine dažymas)	1 rinkinys
Kat. Nr. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolinių stiklelių su etaloniniu audiniu nustatant rūgštims atsparias bakterijas histologiniame audinyje	25 testai
Kat. Nr. 1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml buteliukas su lašintuvu, 100 ml, 500 ml
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. 1.08512	AFB-Color karbolifuksino tirpalas rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mikroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas)	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr. 1.08562	Aquatex® (vandeninė dengimo medžiaga) mikroskopijai	50 ml buteliukas su lašintuvu

Kat. Nr. 1.09016	Neo-Mount™ bevandenė dengimo terpė mikroskopijai	100 ml buteliukas su lašintuvu, 500 ml
Kat. Nr. 1.09843	Neo-Clear™ ksileno pakaitalas mikroskopijai	5 l
Kat. Nr. 1.16450	AFB-Color dažymo rinkinys rūgštims atsparių bakterijų (AFB) mi- kroskopiniam tyrimui (šaltasis dažymas)	1 rinkinys

Pavojaus klasifikavimas

Kat. Nr. 1.10630.0500

Vadovaukitės etiketėje nurodytu pavojaus klasifikavimu bei saugos duomenų lape pateikta informacija.

Saugos duomenų lapas prieinamas interneto svetainėje ir pateikiamas paprašius.

ĮSPĖJIMAS! Sudėtyje yra kancerogeninių, mutageninių, toksiškų reprodukcijai medžiagų (CMR). Laikykitės saugos duomenų lape pateiktų atitinkamų saugos nurodymų.

Pagrindiniai produkto komponentai

Kat. Nr. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Bendroji pastaba

Jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo šalies institucijai.

Literatūra

- 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

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-01	Pradinė versija su peržiūrų istorijos išanga



Skaityti naudojimo
instrukcijas



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Įspėjimas, skaityti
pridedamus dokumentus



Tinka iki:
MMMM-mm-dd



Temperatūros ribos

Status: 2024-Jul-01

„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

1.10630.0500 **REF****Mikroskopi****AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning**

for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging)

Kun til profesjonell bruk

In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr

**Tiltenkt formål**

AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning – for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging) brukes til humanmedisinsk cellediagnostikk og i bakteriologisk undersøkelse av prøvemateriale av human opprinnelse. Det er en bruksklar fargeløsning som gjør det mulig å evaluere målstrukturer for diagnostiske formål (syrefaste bakterier) ved fiksering, innstøpning, farging, motfarging, montering i bakteriologiske prøvematerialer, for eksempel utstryk av berikede bakteriekulturer, når den brukes sammen med andre *in vitro*-diagnostiske produkter fra porteføljen.

Ufargede strukturer er relativt lave i kontrast og er særdeles vanskelige å skille under lysmikroskopet. Bildene som er opprettet ved hjelp av fargeløsningene, hjelper den autoriserte og kvalifiserte utprøveren med å definere formen og strukturen bedre i slike tilfeller. Ytterligere tester må utføres i henhold til anerkjente, gyldige metoder for å kunne stille en endelig diagnose.

Prinsipp

Syrefaste bakterier er vanskelige å farge på grunn av den høye andelen av lipid og voks i celleveggene. For å akselerere absorpsjonen av fuksinfargestoffet og dermed dannelsen av mykolatefuksin-komplekset i celleveggen, blir karbolfuksinløsningen som påføres preparatet, varmet opp til den danner damp. En modifisering av AFB-Color-karbolfuksinløsningen gjør oppvarming unødvendig (Kinyoun-metoden, farging under nedkjøling) i dette tilfellet.

Når de syrefaste bakteriene har absorbert fuksinfargestoffet, er det praktisk talt umulig å avfarge dem igjen, selv når de blir intensivt behandlet med en avfargingsløsning, f.eks. saltsyre i etanol. Følgelig kalles syrefaste bakterier syre- og alkoholfast for farging og er farget røde i mikroskopisk visualisering. Tilsvarende er alle ikke-syrefaste mikroorganismer motfarget med et passende fargestoff. I denne bruksanvisningen brukes malakittgrønt til motfarging. Forbehandling av prøvene med Sputofluor™ løser opp bakteriene fra omkringliggende viskøst sputum- og cellemateriale.

Prøvemateriale

Utstryk av bakteriologisk materiale som er lufttørket, varmekisert og forbehandlet med Sputofluor™, som sputum, utstryk fra fin nålsaspirasjonsbiopsier (FNAB), skyllinger, imprint, effusjoner, puss, eksudater, flytende og faste kulturer.

Reagenser

Kat.nr. 1.10630.0500

AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning 1 l, 5 l
for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB)
(kald farging)

Også nødvendig:

Kat.nr. 1.00327	Saltsyre i etanol for mikroskopi	1 l, 5 l
Kat.nr. 1.08000	Sputofluor™ for mikrobiologi og mikroskopi	1 l
Kat.nr. 1.08512	AFB-Color karbol-fuksin løsning for mikroskopisk undersøkelse av syrerask bakterier (AFB) (kald farging)	500 ml, 2,5 l

Alternativt:

I stedet for kombinasjonen av enkeltreagenser kan fargesettet 1.16450.0001 brukes:

Kat.nr. 1.16450.0001	AFB-Color farging kit	1 sett
for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging)		

Klargjøring av prøver

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell.

Alle prøver skal behandles ved hjelp av toppmoderne teknologi.

Alle prøver skal være tydelig merket.

Egnede instrumenter skal brukes til prøvetaking og klargjøring. Følg produsentens instruksjoner for applikasjon/bruk.

Når du bruker de tilsvarende hjelpereagensene, må du følge den tilhørende bruksanvisningen.

Sputum

De syrefaste bakteriene bør forbehandles med Sputofluor™ for å løse dem opp fra slim- og cellestrukturer. I denne prosessen løser en aktive ingrediensen hypokloritt opp det organiske materialet ved oksidasjon og frigjør de syrefaste bakteriene forsiktig, slik at de kan bearbeides videre.

Klargjøring av reagens: Klargjøring av Sputofluor™-løsning 15 %

Slik klargjøres ca. 100 ml løsningsblanding:

Sputofluor™	15 ml
Destillert vann	85 ml

Klargjøring av prøvemateriale i sentrifugerør:	
Prøve	1 del (min. 2 ml)
Sputofluor™-løsning (15 % i destillert vann)	3 deler
Rist kraftig	10 min
Sentrifuger ved 3000–4800 o/min	20 min
Dekanter supernatanten Klargjør utstryk av sedimentet Lufttørk	

Punkteringer, utskyllinger, sedimenter

Etter egnede berikede tiltak skal prøvematerialet strykes ut på objektglassene og lufttørkes.

Fiksering av utstryksprøver

Prøver fikseres over flammen til en Bunsen-brenner (2–3 ganger, pass på å unngå overdreven oppvarming).

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

For høye temperaturer eller langvarig oppvarming kan medføre en forringelse av fargingsytelsen.

Klargjøring av reagens

AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging) er klar til bruk. Fortynning av løsningen er ikke nødvendig og medfører bare en forringelse av fargeresultatet og stabiliteten.

Prosedyrer for farging under avkjøling av prøvelegemer

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

Farge på fargestativet

Objektglass med fiksert utstryk		
AFB-Color-karbolfuksinløsning	Dekk helt og farg	20 min
Rennende springvann	Skyll til det ikke produseres ytterligere dunster av fargestoff	
Saltsyre i etanol	Dekk helt og la reagere	15–30 s*
Rennende springvann	Skyll umiddelbart	
AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning	Dekk helt og la reagere	1 min
Rennende springvann	Skyll forsiktig	
Lufttørk (f.eks. over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)		

* avhengig av tykkelsen på prøven

Farging i fargecellen

Objektglassene må senkes ned og flyttes rundt i løsningene. Nedsenkning alene gir ikke tilstrekkelige fargingsresultater.

Objektglassene skal dryppe godt av etter hvert fargetrinn som et tiltak for

å unngå unødvendig krysskontaminering av løsninger.

Objektglass med fiksert utstryk	
AFB-Color-karbolfuksinløsning	20 min
Rennende springvann	45 sek
Saltsyre i etanol	15–30 s*
Rennende springvann	15 sek
AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning	5 min
Vask med springvann	10 sek
Monter med Aquatex ® og dekkglass.	

* avhengig av tykkelsen på prøven

Farging i en automatisk farger

Objektglassene skal dryppe godt av etter hvert fargestrinn som et tiltak for å unngå unødvendig krysskontaminering av løsninger.

Reagens	Tid	Stasjon
Objektglass med fiksert utstryk		
AFB-Color-karbolfuksinløsning*	20 min	1
Vask med springvann	45 sek	5
Saltsyre i etanol	15 sek	2
Vask med springvann	15 sek	5
AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning	60 sek	3
Vask med springvann	10 sek	5
Lufttørk (f.eks. 3 min. i stasjon 6 over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)		

* Bytt reagens i stasjon 1 etter 10–15 sykluser eller ved behov.

Tildekking med vannfritt monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™ new eller DPX new) og et dekkglass anbefales for oppbevaring av bakteriologiske prøver i flere måneder. Til dette formål må de fargede prøvene tørkes veldig godt.

Det anbefales å bruke immersjonsolje til analyse av fargede objektglass med mikroskopisk forstørrelse > 40×.

Resultat

Syrefaste bakterier	rød
Bakgrunn	lysegrønn

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 ved mikroskopi er mulig. Dersom syrefaste bakterier påvises, må det foretas ytterligere analyser i spesialutstyrte laboratorier.

Bakterienes (aktiv, inaktiv) levedyktighet kan heller ikke fastsettes.

Feilsøking

Fiksering av utstryksprøver

En tilstrekkelig grad av varmekisering ved hjelp av en Bunsen-brenner eller i et varmeskap er avgjørende for å forhindre prøvenes infeksjøs potensial og videre proliferasjon av bakteriene.

Ingen farging av syrefaste bakterier

Det kritiske trinnet i denne fargeprosessen er avfargingstrinnet, som kan påvirkes av tykkelsen på utstryksprøven.

I tillegg er en forsk løsning av saltsyre i etanol svært reaktiv, noe som betyr at resultatet bør evalueres med forsiktighet. Inkubasjonstidene som er angitt i denne protokollen, skal holdes nøyaktig i avfargingstrinnet. Hvis ikke kan falske negative resultater være en følge.

Teknische notater

Mikroskopet som brukes, skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium.

Ved bruk av automatiske fargesystemer må du følge bruksanvisningen som leveres av leverandøren av systemet og programvaren.

Fiern overflødig immersionsolje før innlevering.

Analytiske ytelsesegenskaper

«AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning » farger og visualiserer dermed biologiske strukturer, som beskrevet i kapittelet «Resultat» i denne bruksanvisningen. Produktet skal bare brukes av autoriserte og kvalifiserte personer. Dette omfatter blant annet klargjøring av prøve og reagens, prøvehåndtering, beslutninger om egnede kontroller med mer.

Produktets analytiske ytelse bekreftes ved testing av hvert produksjonsparti. NO
For følgende farger ble den analytiske ytelsen bekreftet med hensyn til
produktets spesifisitet, sensitivitet og repeterbarhet med en hastighet på
100 %:

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innenfor samme analyse	Sensitivitet innenfor samme analyse
AFB-farging				
Syrefaste bakterier	11/11	11/11	8/8	8/8
Bakgrunn	11/11	11/11	8/8	8/8

Analytiske ytelsesresultater

Data innenfor samme analyse (utført på samme parti) og mellom analyser (utført på forskjellige partier) viser antall strukturer som er riktig farget, i forhold til antall utførte analyser.

Resultatene av denne ytelsesevalueringen bekrefter at produktet er egnet for tiltenkt bruk og har pålitelig ytelse.

Diagnostikk

Diagnoser skal kun stilles av autorisert og kvalifisert personell.
Det må brukes gyldige nomenklaturer.
Denne metoden kan brukes supplerende i human diagnostikk.
Ytterligere tester må velges og gjennomføres i henhold til anerkjente metoder.

Egnede kontroller (f.eks. ISOSLIDE™ AFB, kat.nr. 1.02560.0001) skal utføres med hver applikasjon for å unngå feil resultat.

Oppbevaring

Oppbevar AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning – for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging) ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhet

AFB-Color malakittgrønt (oksalat) løsning – for mikroskopisk undersøkelse av syre-rask bakterier (AFB) (kald farging) kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen.

Etter første åpning av flasken kan innholdet brukes frem til angitt utløpsdato ved oppbevaring fra +15 til +25 °C.

Flaskene må til enhver tid holdes tett lukket.

Kapasitet

ca. 250 farginger / 500 ml

Ytterligere instruksjoner

Kun til profesjonell bruk.

For å unngå feil må applikasjon kun utføres av kvalifisert personell. Nasjonale retningslinjer for arbeidssikkerhet og kvalitetssikring skal følges. Mikroskoper utstyrt i henhold til standarden skal brukes. Bruk om nødvendig en standard sentrifuge egnet for medisinsk diagnostisk laboratorium.

Beskyttelse mot infeksjon

Effektive tiltak må iverksettes for å beskytte mot infeksjon i tråd med laboratoriets retningslinjer.

Instruksjoner for avfallshåndtering

Pakken må kastes i henhold til gjeldende retningslinjer for avfallshåndtering.

Brukte løsninger og løsninger som er gått ut på dato, skal kastes som spesialavfall i henhold til lokale retningslinjer. Informasjon om avfallshåndtering kan fås under hurtiglenken «Hints for Disposal of Microscopy Products» på www.microscopy-products.com. I EU får gjeldende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassifisering, merking og emballering av stoffer og stoffblandinger, endring og oppheving av direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og endring av forordning (EF) nr. 1907/2006 anvendelse.

Hjelpereagenser

Kat.nr. 1.00327	Saltsyre i etanol for mikroskopi	1 l, 5 l
Kat.nr. 1.00497	AFB-Color modifisert Fargingssett for påvisning av syre-rask bakterier (AFB) ved hot staining-metode	1 sett
Kat.nr. 1.00579	DPX ny vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr. 1.00869	Entellan™ ny for cover slipper for mikroskopi	500 ml
Kat.nr. 1.01287	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 sett

Kat.nr. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrollobjektglass med referansevev for påvisning av syrerask bakterier i histologisk vev	25 tester
Kat.nr. 1.04699	Immersjonsolje for mikroskopi	100 ml dråpeteller, 100 ml, 500 ml
Kat.nr. 1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr. 1.08000	SputofluoI™ for mikrobiologi og mikroskopi	1 l
Kat.nr. 1.08298	Xylen (isomer blanding) for histologi	4 l
Kat.nr. 1.08512	AFB-Color karbol-fuksin løsning for mikroskopisk undersøkelse av syrerask bakterier (AFB) (kald farging)	500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.08562	Aquatex® (vanndig monteringsmiddel) for mikroskopi	50 ml dråpeteller
Kat.nr. 1.09016	Neo-Mount™ vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	100 ml dråpeflaske, 500 ml
Kat.nr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitutt) for mikroskopi	5 l
Kat.nr. 1.16450	AFB-Color farging kit for mikroskopisk undersøkelse av syrerask bakterier (AFB) (kald farging)	1 sett

Fareklassifisering

Kat.nr. 1.10630.0500

Vær oppmerksom på fareklassifiseringen som er trykt på etiketten, og informasjonen som er gitt i sikkerhetsdatabladet.

Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på forespørsel.

FORSIKTIG! Inneholder CMR-stoffer. Følg de tilsvarende sikkerhetsinstruksjonene i sikkerhetsdatabladet.

Hovedkomponentene i produktet

Kat.nr. 1.10630.0500

K.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Generell merknad

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret eller som følge av bruk, skal du rapportere det til produsenten og/eller den autoriserte representanten og til den nasjonale 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 Kiernan, J.A). Bios, 2002

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-01	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



Se bruksanvisning



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperaturbegrensning

Status: 2024-Jul-01

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

1.10630.0500 **REF****Mikroskopia****AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu)**

pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie)

Len na profesionálne použitie

Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro***Určený účel**

„AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu) – pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie)“ sa používa na zdravotnícku diagnostiku ľudských buniek a slúži na bakteriologické vyšetrenie materiálu vzoriek ľudského pôvodu. Ide o farbiaci roztok pripravený na použitie, ktorý pri použití spolu s ďalšími diagnostickými výrobkami *in vitro* z nášho portfólia umožňuje hodnotenie cieľových štruktúr na diagnostické účely [acidorezistentné baktérie (AFB)] prostredníctvom fixácie, farbenia, kontrastného farbenia, prikrytia materiálov bakteriologických vzoriek, ako napríklad náterov obohatených bakteriálnych kultúr.

Nezafarbené štruktúry sú relatívne málo kontrastné a pod svetelným mikroskopom sa veľmi ťažko rozlišujú. Obrazy vytvorené pomocou farbiacich roztokov pomáhajú v takýchto prípadoch autorizovanému a kvalifikovanému lekárovi lepšie definovať tvar a štruktúru. Na stanovenie definitívnej diagnózy sa musia vykonať ďalšie testy podľa uznávaných a platných metód.

Princíp

Acidorezistentné baktérie sa ťažko farbja, pretože majú vysoký obsah lipidov a voskov v bunkových stenách. Na urýchlenie absorpcie fuchsinového farbiva, a tým aj tvorby mykolát-fuchsinového komplexu v bunkovej stene, sa roztok karbolfuchsinu aplikovaný na prípravok normálne zahrieva, kým sa nevytvorí para. V tomto prípade je vďaka modifikácii roztoku karbolfuchsinu AFB-Color zahrievanie zbytočné (Kinyounova metóda, farbenie za studena).

Keď acidorezistentné baktérie absorbujú fuchsinové farbivo, je prakticky nemožné ich znovu odfarbiť, a to ani vtedy, keď sa intenzívne ošetrí od-farbovacím roztokom, ako je napr. kyselina chlorovodíková v etanole. Preto sa acidorezistentné baktérie označujú ako acidorezistentné a alkoholorezistentné na farbenie a pri mikroskopickom zobrazovaní sa farbja načerveno. Všetky mikroorganizmy, ktoré nie sú acidorezistentné, sa primerane kontrastne zafarbja vhodným farbivom. V tomto návode na použitie sa na kontrastné farbenie používa malachitová zeleň. Predbežná úprava vzoriek prípravkom Sputofluol™ rozpúšťa baktérie z okolitého viskózneho spúta a bunkového materiálu.

Materiál vzorky

Nátery bakteriologického materiálu, ktoré boli vysušené na vzduchu, fixované teplom a vopred upravené prípravkom Sputofluol™, ako je spútum, nátery z tenkoihlových aspiračných biopsií (FNAB), výplachy, odtlačky, výpotky, hnis, exsudáty, tekuté a pevné kultúry.

Reagencie

Kat. č. 1.10630.0500

AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu) 1 l, 5 l
pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB)
(studené farbenie)

Vyžadujú sa aj:

Kat. č. 1.00327 Kyselina chlorovodíková v etanole 1 l, 5 l
pre mikroskopiu
Kat. č. 1.08000 Sputofluol™ 1 l
pre mikroskopiu
Kat. č. 1.08512 AFB-Color carbol fuchsin riešenie 500 ml, 2,5 l
pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie)

Prípadne:

Namiesto kombinácie jednotlivých reagentov možno použiť farbiacu súpravu 1.16450.0001:

Kat. č. 1.16450.0001 1 sada
AFB-Color, farbiaca súprava
pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB)
(studené farbenie)

Príprava vzorky

Výber vzoriek musí vykonávať kvalifikovaný personál.

Všetky vzorky musia byť spracované pomocou najmodernejšej technológie.

Všetky vzorky musia byť jasne označené.

Na odber vzoriek a ich prípravu sa musia používať vhodné nástroje. Pri aplikácii/používaní postupujte podľa pokynov výrobcu.

Pri používaní príslušných pomocných reagentov je potrebné dodržiavať príslušné návody na použitie.

Spútum

Acidorezistentné baktérie treba vopred ošetriť prostriedkom Sputofluol™, aby sa uvoľnili z hlienu a bunkových štruktúr. Pri tomto procese aktívna zložka chlórnan rozpúšťa organický materiál oxidáciou a jemne uvoľňuje acidorezistentné baktérie, aby sa mohli ďalej spracovať.

Príprava reagentov: Príprava 15 % roztoku Sputofluol™

Na prípravu približne 100 ml namiešaného roztoku:

Sputofluol™	15 ml
Destilovaná voda	85 ml

Príprava materiálu vzorky v skúmavkách odstredivky:	
Vzorka	1 diel (min. 2 ml)
Roztok Sputofluol™ (15 % v destilovanej vode)	3 diely
Silno pretrepať	10 min
Odstrediť pri 3 000 - 4 800 otáčkach za minútu	20 min
Dekantovať supernatant Prípraviť nátery sedimentu Sušenie na vzduchu	

Bodkovanie, výplachy, sedimenty

Po vhodných opatreniach na obohatenie rozotrite materiál vzorky na podložné sklíčko a nechajte ho uschnúť na vzduchu.

Fixácia vzoriek náterov

Vzorky sa fixujú nad plameňom Bunsenovho horáka (2- – 3-krát, dávajte pozor, aby ste sa vyhli nadmernému zahrievaniu). Vzorky je možné fixovať aj zahrievaním na 100 – 110 °C v sušiackej komore alebo na zahrievacej platni po dobu 20 min. Nadmerné teploty alebo dlhodobé zahrievanie môže spôsobiť zhoršenie charakteristík farbenia.

Príprava reagentie

AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu) – pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie), ktorý sa používa na farbenie, je pripravený na použitie. Riedenie roztoku nie je potrebné a spôsobuje len zhoršenie výsledku farbenia a jeho stability.

Postup na farbenie vzoriek náterov

Uvedené časy treba dodržať, aby sa zaručil optimálny výsledok farbenia.

Farbenie na farbiacom stojane

Sklíčko s fixovaným náterom		
Roztok karbolfuchsinu AFB-Color	úplne pokryť farbiť	20 min
Tečúca voda z vodovodu	oplachovať, kým sa nevytvoria ďalšie obláčiky farbiva	
Kyselina chlorovodíková v etanole	úplne pokryť a nechať reagovať	15-30 s*
Tečúca voda z vodovodu	okamžite vypláchnuť	
AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu)	úplne pokryť a nechať reagovať	1 min
Tečúca voda z vodovodu	starostlivo vypláchnuť	
Sušenie na vzduchu (napr. cez noc alebo pri teplote 50 °C v sušiackej komore)		

* v závislosti od hrúbky vzorky

Farbenie vnútri bunky

Sklíčka je potrebné ponoriť a pohybovať nimi v roztokoch, nakoľko samotné ponorenie neposkytuje adekvátne výsledky farbenia.

Po jednotlivých krokoch farbenia sa musia sklíčka nechať dobre odkvapkať, aby sa zabránilo zbytočnej krížovej kontaminácii roztokov.

Skličko s fixovaným náterom	
Roztok karbolfuchsínu AFB-Color	20 min
Tečúca voda z vodovodu	45 s
Kyselina chlorovodíková v etanole	15-30 s*
Tečúca voda z vodovodu	15 s
AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu)	5 min
Umyte pod tečúcou vodou.	10 s
Zafixujte prostriedkom Aquatex® a krycím sklíčkom.	

* v závislosti od hrúbky vzorky

Farbenie v automatickom prístroji na farbenie

Po jednotlivých krokoch farbenia sa musia sklička nechať dobre odkvapkať, aby sa zabránilo zbytočnej križovej kontaminácii roztokov.

Reagencia	Čas	Stanica
Skličko s fixovaným náterom		
Roztok karbolfuchsínu AFB-Color*	20 min	1
Umyte pod tečúcou vodou.	45 s	5
Kyselina chlorovodíková v etanole	15 s	2
Umyte pod tečúcou vodou.	15 s	5
AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu)	60 s	3
Umyte pod tečúcou vodou.	10 s	5
Sušenie na vzduchu (napr. 3 min. v stanici 6 alebo cez noc alebo pri teplote 50 °C v sušiacej komore)		

* Zmeňte reagentiu v stanici 1 po 10 – 15 cykloch alebo podľa potreby.

Na skladovanie bakteriologických vzoriek počas niekoľkých mesiacov sa odporúča zakrytie nevodným krycím médiom (napr. Neo-Mount™, Entellan™ new alebo DPX new) a krycím sklíčkom. Na tento účel sa musia zafarbené vzorky veľmi dobre vysušiť.

Na analýzu zafarbených preparátov pri mikroskopickom zväčšení > 40 × sa odporúča použitie imerzný olej.

Výsledok

Acidorezistentné baktérie	červená
Pozadie	svetlozelené

Vyhodnotenie

Pozitívny výsledok znamená „zistili sa acidorezistentné baktérie“ a negatívny výsledok znamená „nezistili sa acidorezistentné baktérie“. Pozitívny výsledok neznamená, že je možná taxonomická klasifikácia pomocou mikroskopie. Ak sa zistia acidorezistentné baktérie, musia sa vykonať ďalšie analýzy v špeciálne vybavených laboratóriách. Ani vitality baktérií (aktívna, neaktívna) sa nedá určiť.

Riešenie problémov

Fixácia vzoriek náterov

Dostatočný stupeň tepelnej fixácie pomocou Bunsenovho horáka alebo vo vyhrievacej komore je nevyhnutný na zabránenie infekčného potenciálu vzoriek a ďalšieho množenia baktérií.

Žiadne farbenie acidorezistentných baktérií

Kritickým krokom tohto farbiaceho procesu je krok odfarbovania, ktorý môže byť ovplyvnený hrúbkou náteru vzorky. Okrem toho je čerstvý roztok kyseliny chlorovodíkovej v etanole vysoko reaktívny, čo znamená, že výsledok by sa mal hodnotiť opatrne. Inkubačné doby uvedené v tomto protokole treba presne dodržiavať v kroku odfarbovania, pretože inak môže dôjsť k falošne negatívnym výsledkom.

Technické poznámky

Použitý mikroskop má spĺňať požiadavky zdravotníckeho diagnostického laboratória. Pri používaní automatických farbiacich systémov postupujte podľa návodu na použitie, ktorý poskytol dodávateľ systému a softvéru. Pred naplnením odstráňte prebytočný imerzný olej.

Charakteristika analytických činností

„AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu)“ farbí a tým umožňuje vizualizáciu biologických štruktúr podľa opisu v kapitole „Výsledok“ tohto návodu na použitie. Len oprávnené a kvalifikované osoby môžu používať tento výrobok, čo okrem iného zahŕňa prípravu vzoriek a reagentií, manipuláciu so vzorkami, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a ďalšie. Analytické činnosti výrobku sa potvrdzujú pri testovaní každej výrobnéj šarže.

V prípade nasledujúcich farbení sa potvrdili analytické činnosti z hľadiska špecifickosti, citlivosti a opakovateľnosti výrobku s podielom 100 %:

	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
--	----------------------------	-------------------------	----------------------------	-------------------------

Farbenie AFB				SK
Acidorezistentné baktérie	11/11	11/11	8/8	8/8
Pozadie	11/11	11/11	8/8	8/8

Výsledky analytických činností

V údajoch v rámci testu (vykonanými na tej istej šarži) a medzi testami (vykonanými na rôznych šaržiach) sa uvádza počet správne zafarbených štruktúr v súvislosti s počtom vykonaných testov.

Výsledky tohto hodnotenia činností potvrdzujú, že výrobok je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostika

Diagnostiku smie vykonávať len oprávnený a kvalifikovaný personál. Musia sa používať platné nomenklatúry. Túto metódu možno dodatočne použiť v humánnej diagnostike. Ďalšie testy sa musia vybrať a vykonať podľa uznávaných metód. Pri každej aplikácii treba vykonať vhodné kontroly (napr. sklička ISOSLIDE™ AFB, kat. č. 1.02560.0001), aby sa predišlo nesprávnym výsledkom.

Skladovanie

AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu) – pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie) skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C.

Skladovateľnosť

AFB-Color, roztok malachitovej zelene (oxalátu) – pre mikroskopické skúmanie kyseliny-rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie) sa môže používať do uvedeného dátumu expirácie. Po prvom otvorení fľaše sa obsah môže používať do uvedeného dátumu expirácie, ak sa skladuje pri teplote +15 °C až +25 °C. Fľaše musia byť vždy tesne uzavreté.

Kapacita

pribl. 250 náterov/500 ml

Ďalšie pokyny

Len na profesionálne použitie. Aby sa predišlo chybám, aplikáciu smie vykonávať len kvalifikovaný personál. Musia sa dodržiavať štátne smernice pre bezpečnosť práce a zabezpečenie kvality. Musia sa používať mikroskopy vybavené podľa normy. V prípade potreby použite štandardnú odstredivku vhodnú pre zdravotnícke diagnostické laboratórium.

Ochrana pred infekciou

Musia sa prijať účinné opatrenia na ochranu pred infekciami, ktoré sú v súlade s laboratórnymi usmerneniami.

Pokyny na likvidáciu

Obal sa musí zlikvidovať v súlade s aktuálnymi pokynmi na likvidáciu. Použitý roztoky a roztoky, ktoré sú po dobe skladovateľnosti, sa musia zlikvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informácie o likvidácii nájdete v rýchlom prepojení „Rady pre likvidáciu výrobkov z oblasti mikroskopie“ na webovej lokalite www.microscopy-products.com. V rámci EÚ platí v súčasnosti platné NARIADENIE (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, ktorým sa menia a rušia smernice 67/548/EHS a 1999/45/ES, a ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 1907/2006.

Pomocné reagentie

Kat. č. 1.00327	Kyselina chlorovodíková v etanole pre mikroskopiu	1 l, 5 l
Kat. č. 1.00497	AFB-Color, modifikovaný farbiaca súprava na detekciu kyslo-rýchle baktérie (AFB) metódou farbenia za tepla	1 sada
Kat. č. 1.00579	DPX new nevodné fixačné médium pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č. 1.00869	Entellan™ new kvapalné krycie skličko 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 farbenie na vyšetrenie kyslo rýchlych baktérií s fluorescenčnou mikroskopiou (farbenie auramin-rhodamínom)	1 sada
Kat. č. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB kontrolné sklička s referenčným tkanivom na detekciu kyslo-rýchle baktérie v histologickom tkanive	25 testov
Kat. č. 1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	100 ml kvapkacia fľaštička, 100 ml, 500 ml

Kat. č. 1.07961	Entellan™ new médiu m pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.08000	SputofluoI™ pre mikroskopiu	1 l
Kat. č. 1.08298	Xylén (zmes izomérov) pre histológiu	4 l
Kat. č. 1.08512	AFB-Color carbol fuchsin riešenie pre mikroskopické skúmanie kyseliny- rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie)	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.08562	Aquatex® (vodné fixačné médiu m) pre mikroskopiu	50 ml kvap- kacia fľaštička
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médiu m pre mikroskopiu	100 ml kvap- kacia fľaštička, 500 ml
Kat. č. 1.09843	Neo-Clear™ (náhrada xylénu) pre mikroskopiu	5 l
Kat. č. 1.16450	AFB-Color, farbiaca súprava pre mikroskopické skúmanie kyseliny- rýchle baktérie (AFB) (studené farbenie)	1 sada

Klasifikácia nebezpečnosti

Kat. č. 1.10630.0500

Riadte sa klasifikáciou nebezpečnosti vytlačenou na etikete a informáciami uvedenými na karte bezpečnostných údajov.

Karta bezpečnostných údajov je k dispozícii na webovej lokalite a na požiadanie.

POZOR! Obsahuje látky CMR (karcinogénne, mutagénne a toxické pre reprodukciu). Dodržiavajte príslušné bezpečnostné pokyny uvedené na karte bezpečnostných údajov.

Hlavné zložky výrobku

Kat. č. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

(C₂₃H₂₅N₂)₂C₂H₄(C₂H₂O₄)₂

1 l = 1,00 kg

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu 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

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-01	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod
na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód dávky



Pozor, prečítajte si
sprievodné dokumenty



Použitie do
RRRR-MM-DD



Obmedzenie
teploty

Status: 2024-Jul-01

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



1.10630.0500

REF

Mikroskopi

AFB-Color malakit yeşili
(oksalat) çözeltiaside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik
incelemesi için (soğuk boyama)

Yalnızca profesyonel kullanıma yöneliktir

IVD

İn Vitro Tanı Amaçlı Tıbbi Cihaz



Kullanım amacı

Bu "AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti - aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için (soğuk boyama)" ürünü, insan-tıbbi hücre tanısında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin bakteriyolojik olarak incelenmesini sağlar. Bu, portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanı amaçlı ürünlerle birlikte kullanıldığında zenginleştirilmiş bakteri kültürü yaymala-rından elde edilen bakteriyolojik örnek materyallerinde sabitleme, boyama, karşı boyama ve yerleştirme işlemleriyle hedef yapıları tanılama amaçları (aside dirençli bakteriler (AFB)) için değerlendirilebilir hale getiren kullanı-ma hazır bir boyama çözeltisidir.

Boyanmamış yapıların kontrastı görece düşüktür ve ışık mikroskobu altında ayırt edilmeleri son derece güçtür. Boyama çözeltileriyle oluşturulan görüntü-ler, yetkili ve kalifiye araştırmacının bu tip durumlarda formu ve yapıyı daha iyi tanımlamasına yardımcı olur. Kesin bir tanıya ulaşmak için kabul edilmiş ve geçerli yöntemler doğrultusunda başka testler de yapılmalıdır.

Çalışma İlkesi

Aside dirençli bakterilerin boyanması, hücre duvarlarında yüksek oranda lipid ve vaks bulunması nedeniyle zordur. Fuksin boyasının emilimini ve dolayısıyla hücre duvarında mikolatfuksin kompleksinin oluşumunu hızlandırmak için ha-zırlığa uygulanan karbol fuksin çözeltisi normalde buhar oluşana kadar ısıtılır. AFB-Color karbol fuksin çözeltisinde yapılan bir modifikasyon, bu durumda ısıtma ihtiyacını ortadan kaldırır (Kinyoun yöntemi, soğuk boyama). Aside dirençli bakteriler fuksin boyasını absorbe ettikten sonra, örneğin eta-nol içinde hidroklorik asit gibi bir renk giderme çözeltisi ile yoğun bir şekilde işlenseler bile tekrar renk giderme uygulanması neredeyse imkansızdır. Bu doğrultuda aside dirençli bakteriler boyama açısından aside ve alkole dirençli olarak adlandırılır ve mikroskopik görüntülemeye kırmızıya boyanır. Bu bağ-lamda aside dirençli olmayan tüm mikroorganizmalar uygun bir boya ile karşı boyanır. Bu kullanım talimatında karşı boyama için malakit yeşili kullanılmış-tır. Örneklerin Sputofluol™ ile ön işleme tabi tutulması, bakterilerin çevredeki viskid sputum ve hücre materyalinden çözünmesini sağlar.

Numune materyali

Havayla kurutulmuş, ısıyla sabitlenmiş ve Sputofluol™ ile ön işlem den geçi-rilmiş sputum, ince iğne aspirasyon biyopsisi (FNAB) yaymaları, durulama ve iz yöntemiyle alınan numuneler, efüzyon, irin, eksüda, sıvı ve katı kültür-ler gibi bakteriyolojik materyal.

Reaktifler

Kat. No. 1.10630.0500

AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti 1 l, 5 l
aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için
(soğuk boyama)

Gereken diğer ürünler:

Kat. No. 1.00327 Hidroklorik asit etanolde 1 l, 5 l
mikroskopi için

Kat. No. 1.08000 Sputofluol™ 1 l
mikroskopi için

Kat. No. 1.08512 AFB-Color karbol fuksin çözeltisi 500 ml, 2,5 l
aside dirençli bakterilerin (AFB)
mikroskopik incelemesi için (soğuk
boyama)

Alternatif olarak:

Tekli reaktiflerin kombinasyonu yerine boyama kiti 1.16450.0001 kullanıla-bilir:

Kat. No. 1.16450.0001

AFB-Color boyama kiti 1 set
aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için
(soğuk boyama)

Numune hazırlığı

Numune alımı, kalifiye personel tarafından gerçekleştirilmelidir. Tüm numuneler son teknoloji kullanılarak işlenmelidir. Tüm numuneler net bir şekilde etiketlenmelidir. Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun cihazlar kullanılmalıdır. Uygulama/kullanım için üreticinin talimatlarına uyun. Uygun yardımcı reaktifler kullanılırken ilgili kullanım talimatları izlenmelidir.

Sputum

Aside dirençli bakteriler, mukus ve hücresel yapılardan çözünmeleri için Sputofluol™ ile ön işleme tabi tutulmalıdır. Bu işlemde, etkin bileşen hipok-lorit organik maddeyi oksidasyon yoluyla çözer ve aside dirençli bakterileri daha fazla işlenebilmeleri için hassas bir şekilde serbest bırakır.

Reaktif hazırlığı: %15 Sputofluol™ çözeltisi hazırlama
Yaklaşık 100 ml çözelti karışımı hazırlamak için:

Sputofluol™	15 ml
Distile su	85 ml

Santrifüj tüplerinde numune materyalinin hazırlanması:	
Numune	1 ölçü (min. 2 ml)
Sputofluol™ çözeltisi (distile suda %15)	3 ölçü
Kuvvetlice çalkalayın	10 dak
3000-4800 devir/dak hızda santrifüjleyin	20 dak
Süpernatantı boşaltın Sedimentten yaymalar hazırlayın Havayla kurumaya bırakın	

Punktatlar, lavajlar, sedimentler

Uygun zenginleştirme işlemlerinden sonra numune materyalini lama yayın ve havayla kurumaya bırakın.

Yayma numunelerinin fiksasyonu

Numuneler, Bunsen beki alevi üzerine sabitlenir (aşırı ısınmayı önlemeye dikkat edilerek 2-3 kez). Numuneler ayrıca bir kurutma dolabında veya ısıtma plakasında 20 dakika boyunca 100-110°C'de ısıtılarak da sabitlenebilir. Aşırı sıcaklık veya uzun süreli ısıtma, boyama performansının bozulmasına neden olabilir.

Reaktif hazırlığı

Boyama için kullanılan AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için (soğuk bo-yama) kullanıma hazırdır ve çözeltinin seyreltilmesi gerekmez; seyreltme işlemi boyama sonucunun ve stabilitenin bozulmasına neden olur.

Yayma numunelerinin boyanmasıyla ilgili prosedür

Optimal boyama sonuçları elde etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

Boyama rafında boyama

Sabitlenmiş yayma bulunan lam		
AFB-Color karbol fuksin çözeltisi	tamamen kaplayın ve boyayın	20 dak
Akan musluk suyu	daha fazla boya bulanıklığı oluşmayınca kadar durulayın	
Etanol içinde hidroklorik asit	tamamen kaplayın ve tepkimeye bırakın	15-30 sani-ye*
Akan musluk suyu	derhal durulayın	
AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti	tamamen kaplayın ve tepkimeye bırakın	1 dak
Akan musluk suyu	dikkatlice durulayın	
Havayla kurumaya bırakın (ör. gece boyunca veya kurutma dolabında 50°C'de)		

* örnek kalınlığına bağlı olarak

Boyama hücresinde boyama

Lamların çözeltilere daldırılması ve hareket ettirilmesi gerekir. Basit daldır-ma tek başına yetersiz boyama sonuçları verir. Çözeltilerin gereksiz şekilde çapraz kontaminasyona maruz kalmasını ön-

lemeye ilişkin bir tedbir olarak her boyama adımından sonra lamların iyice süzülmesi sağlanmalıdır.

Sabitlenmiş yayma bulunan lam	
AFB-Color karbol fuksin çözeltisi	20 dak
Akan musluk suyu	45 saniye
Etanol içinde hidroklorik asit	15-30 saniye*
Akan musluk suyu	15 saniye
AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti	5 dak
Musluk suyuyla yıkayın	10 saniye
Aquatex® ve cam lamel kullanarak yerleştirin.	

* örnek kalınlığına bağlı olarak

Otomatik boyama cihazında boyama

Çözeltilerin gereksiz şekilde çapraz kontaminasyona maruz kalmasını önlemeye ilişkin bir tedbir olarak her boyama adımından sonra lamların iyice süzülmesi sağlanmalıdır.

Reaktif	Süre	İstasyon
Sabitlenmiş yayma bulunan lam		
AFB-Color karbol fuksin çözeltisi*	20 dak	1
Musluk suyuyla yıkayın	45 saniye	5
Etanol içinde hidroklorik asit	15 saniye	2
Musluk suyuyla yıkayın	15 saniye	5
AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti	60 saniye	3
Musluk suyuyla yıkayın	10 saniye	5
Havayla kurumaya bırakın (ör. istasyon 6'da 3 dakika ya da gece boyunca veya kurutma dolabında 50°C'de)		

* 10-15 döngüden sonra veya gerektiğinde istasyon 1'deki reaktifi değiştirin.

Bakteriyolojik örneklerin birkaç ay boyunca saklanması için sulu olmayan bir yerleştirme ortamı (ör. Neo-Mount™, Entellan™ new veya DPX new) ve cam lamel ile kapatılmaları önerilir. Bunun için boyanmış örneklerin çok iyi kurutulması gerekir.

40 kattan fazla mikroskobik büyütme kullanılacağı zaman boyanmış lamların analizi için immersiyon yağı kullanılması önerilir.

Sonuç

Aside dirençli bakteriler	kırmızı
Arka plan	açık yeşil

Değerlendirme

Pozitif sonuç, "aside dirençli bakteri tespit edildiği" ve negatif sonuç da "aside dirençli bakteri tespit edilmediği" anlamına gelir. Pozitif bir sonuç, mikroskopi ile taksonomik bir sınıflandırma yapılabileceği anlamına gelmez. Aside dirençli bakteriler tespit edilirse özel donanımlı laboratuvarlarda daha ileri analizler yapılmalıdır. Bakterilerin canlılığı (aktif, inaktif) da belirlenemez.

Sorun giderme

Yayma numunelerinin fiksasyonu

Örneklerin enfeksiyöz potansiyelini ve bakterilerin daha fazla çoğalmasını önlemek için Bunsen bekiyle veya bir ısıtma kabininde yeterli düzeyde ısıyla sabitleme yapılması şarttır.

Aside dirençli bakterilerin boyanmaması

Bu boyama işleminin kritik adımı, örnek yaymasının kalınlığından etkilenebilen renk giderme adımıdır.

Ayrıca etanol içindeki taze hidroklorik asit çözeltisi oldukça reaktiftir; bu da sonucun dikkatle değerlendirilmesi gerektiği anlamına gelir. Renk giderme adımımda bu protokolde belirtilen inkübasyon sürelerine doğru şekilde uyulmalıdır; aksi takdirde yanlış negatif sonuçlar çıkabilir.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop bir tıbbi tanı laboratuvarının gerekliliklerini karşılamalıdır.

Otomatik boyama sistemleri kullanırken lütfen sistem ve yazılım tedarikçisinin sağladığı kullanım talimatlarını izleyin.

Dosyalamadan önce immersiyon yağının fazlasını alın.

Analitik performans özellikleri

"AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti" bu Kullanım Talimatları'nın "Sonuç" bölümünde açıklandığı gibi biyolojik yapıları boyayarak görselleştirir. Ürün yalnızca yetkili ve kalifiye kişiler tarafından kullanılmalıdır. Ürünün kullanımı; numune ve reaktif hazırlığı, numune işlenmesi, uygun kontrollere ilişkin kararların alınması gibi adımları içerir.

Ürünün analitik performansı her üretim serisinin test edilmesiyle doğrulanır. Aşağıdaki boyamalar için analitik performans; ürünün özgüllüğü, hassasiyeti ve tekrarlanabilirliği açısından %100 oranında doğrulanmıştır:

	Analizler Arası Özgüllük	Analizler Arası Hassasiyet	Analiz İçi Özgüllük	Analiz İçi Hassasiyet
AFB boyama				
Aside dirençli bakteriler	11/11	11/11	8/8	8/8
Arka plan	11/11	11/11	8/8	8/8

Analitik performans sonuçları

Analiz içi (aynı seri üzerinde gerçekleştirilen) ve analizler arası (farklı seriler üzerinde gerçekleştirilen) veriler, gerçekleştirilen analizlerin sayısına göre doğru boyanan yapıların sayısını listeler.

Bu Performans Değerlendirmesi, ürünün kullanıma amacına uygun olduğunu ve güvenilir şekilde performans gösterdiğini doğrular.

Tanılama

Tanılar yalnızca yetkili ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır. Geçerli adlandırmalar kullanılmalıdır. Bu yöntem, insana yönelik tanılama işlemlerinde destekleyici olarak kullanılabilir. Kabul görmüş yöntemlere göre başka testler seçilmeli ve uygulanmalıdır. Hatalı sonuçları önlemek için her uygulama uygun kontrollere (ör. ISOSLI-DE™ AFB Kat. No. 1.02560.0001) gerçekleştirilmelidir.

Saklama

AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti - aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için (soğuk boyama) ürününü +15°C ile +25°C arasında saklayın.

Raf ömrü

AFB-Color malakit yeşili (oksalat) çözelti - aside dirençli bakterilerin (AFB) mikroskopik incelemesi için (soğuk boyama) ürün, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişe ilk kez açıldıktan sonra içeriği, +15°C ile +25°C arasında saklandığında belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişeler daima sıkıca kapalı tutulmalıdır.

Kapasite

yaklaşık 250 boyama/500 ml

Ek talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanıma yöneliktir.

Hataların önlenmesi için uygulamanın yalnızca kalifiye personel tarafından gerçekleştirilmesi gerekir. İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergeler izlenmelidir. Standartlara uygun donanımdaki mikroskoplar kullanılmalıdır. Gerekirse tıbbi tanı amaçlı laboratuvarlara uygun bir standart santrifüj cihazı kullanın.

Enfeksiyona karşı koruma

Enfeksiyondan korunmak için laboratuvar yönergeleri doğrultusunda etkili önlemler alınmalıdır.

Bertaraf talimatları

Ambalaj, güncel bertaraf yönergeleri doğrultusunda bertaraf edilmelidir. Kullanılmış çözeltiler ve raf ömrü geçmiş çözeltiler, yerel yönergeler uyarınca özel atık olarak bertaraf edilmelidir. Bertarafa ilişkin bilgiler www.mic-roscopy-products.com adresinde yer alan "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Mikroskopi Ürünlerinin Bertarafıyla İlgili Bilgiler) Hızlı Bağlantısından edinilebilir. Avrupa Birliği (AB) içinde 67/548/EEC ve 1999/45/EC sayılı Direktifleri tadil eden ve yürürlükten kaldıran ve 1907/2006 sayılı Yönetmeliği (EC) tadil eden maddelerin ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve ambalajlanmasına ilişkin 1272/2008 sayılı YÖNETMELİK (EC) geçerlidir.

Yardımcı reaktifler

Kat. No. 1.00327	Hidroklorik asit etanolde mikroskopi için	1 l, 5 l
Kat. No. 1.00497	AFB-Color modifiye Sıcak boyama yöntemiyle aside dirençli bakterilerin (AFB) saptanması için boyama kiti	1 set
Kat. No. 1.00579	DPX yeni susuz kapama ortamı mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.00869	Entellan™ new lamel için mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.01287	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. 1.02560	ISOSLIDE™ AFB Kontrol Lamaları histolojik dokuda aside dirençli bakterile- rin saptanması için referans dokulu	25 test
Kat. No. 1.04699	İmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml damlalık- lı şişe, 100 ml, 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. 1.08512	AFB-Color karbol fuksin çözeltisi aside dirençli bakterilerin (AFB) mikros- kopik incelemesi için (soğuk boyama)	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.08562	Aquatex® (sulu destek maddesi) mikroskopi için	50 ml damlalıklı şişe
Kat. No. 1.09016	Neo-Mount™ susuz destek besiyeri mikroskopi için	100 ml damlalık- lı şişe, 500 ml
Kat. No. 1.09843	Neo-Clear™ (ksilen yedeği) mikroskopi için	5 l
Kat. No. 1.16450	AFB-Color boyama kiti aside dirençli bakterilerin (AFB) mikros- kopik incelemesi için (soğuk boyama)	1 set

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.10630.0500

Lütfen etikette yer alan tehlike sınıflandırmasına ve güvenlik veri formunda-
ki bilgilere dikkat edin.

Güvenlik veri formuna web sitesinden erişilebilir ve talep üzerine temin
edilebilir.

DİKKAT! CMR maddeleri içerir. Lütfen güvenlik veri formunda belirtilen ilgili
güvenlik talimatlarına uyun.

Ürünün ana bileşenleri

Kat. No. 1.10630.0500

C.I. 42000 2 g/l

$(C_{23}H_{25}N_2)_2C_2H_4(C_2H_2O_4)_2$

1 l = 1,00 kg

Genel açıklama

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay yaşa-
nırsa lütfen durumu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal makamı-
nıza 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

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-01	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.



Kullanım
talimatlarına
başvurun



Üretici



Katalog numarası



Seri kodu



Dikkat, eşlik eden
belgelere bakın



Son kullanma tarihi
YYYY-AA-GG



Sıcaklık sınırlaması

Status: 2024-Jul-01

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