

BEOOGD GEBRUIK

Zuurbestendige kleuringen van Pro-Lab zijn bestemd voor gebruik bij het kleuren van uitstrijkjes die zijn geprepareerd uit monsters waarvan wordt vermoed dat zij mycobacteriën bevatten.

SAMENVATTING EN VERKLARING

Mycobacteriën bezitten unieke zuurbestendige kenmerken die de zuurbestendige kleuringstechnieken waardevol maken voor het detecteren van tuberkelbacillen.

PRINCIPE

Het lipidengehalte van de celwand van zuurbestendige bacillen bemoeilijkt kleuring van de organismen. Bij zuurbestendige kleuringen maakt het fenol het mogelijk dat de keuring doordringt, zelfs na blootstelling aan ontkeuringmiddelen. Wanneer een organisme zuurbestendig moet worden genoemd, moet het bestand zijn tegen ontkeuring door middel van zuur-alcohol. Daarna wordt een tegenkleuring gebruikt om het gekleurde organisme te accentueren.

REAGENTIA
Gebruiksklare kleuringen.

PL.7018	ZN carbofuchisine	500 ml
PL.7019	ZN carbofuchisine	1 liter
PL.7020	ZN cCarbofuchisine	2 liter
PL.7021	Kinyoun carbofuchisine	500 ml
PL.7022	Kinyoun carbofuchisine	1 liter
PL.7024	ZN & Kinyoun CF-differentiator	500 ml
PL.7025	ZN & Kinyoun CF-differentiator	1 liter
PL.7026	ZN & Kinyoun CF-differentiator	2 liter
PL.7027	Methyleenblauw	500 ml
PL.7028	Methyleenblauw	1 liter
PL.7029	Methyleenblauw	2 liter
PL.7030	Malachietgroen	500 ml
PL.7031	Malachietgroen	1 liter
PL.7032	Malachietgroen	2 liter
PL.7033	Auraminefenol	500 ml
PL.7034	Auraminefenol	1 liter
PL.7035	Auraminefenol	2 liter
PL.7036	Auramine-differentiator	500 ml
PL.7037	Auramine-differentiator	1 liter
PL.7038	Auramine-differentiator	2 liter
PL.7059	Thiazinerood	500 ml
PL.7060	Thiazinerood	1 liter

Geconcentreerde kleuringen – Verdun vóór gebruik met gedestilleerd water tot 1 liter.

PL.8005	ZN carbofuchisine	100 ml
PL.8006	Methyleenblauw	100 ml
PL.8007	Malachietgroen	100 ml
PL.8008	Auraminefenol	100 ml
PL.8013	Kaliumpermanganaat	100 ml

Geconcentreerde kleuringen – Verdun vóór gebruik met gedestilleerd water tot 4 liter.

PL.8005-4.0	ZN carbofuchisine	400 ml
PL.8006-4.0	Methyleenblauw	400 ml

PL.8007-4.0	Malachietgroen	400 ml
PL.8008-4.0	Auraminefenol	400 ml
PL.8013-4.0	Kaliumpermanganaat	400 ml

Geconcentreerde kleuringen – Verdun vóór gebruik met gedestilleerd water tot 5 liter.

PL.8005-5.0	ZN carbofuchisine	500 ml
PL.8006-5.0	Methyleenblauw	500 ml
PL.8007-5.0	Malachietgroen	500 ml
PL.8008-5.0	Auraminefenol	500 ml
PL.8013-5.0	Kaliumpermanganaat	500 ml

Kleuringsets (Klaar voor gebruik)

PL.8060/25	TB-kleuringset- ZN carbofuchisine 250 ml, ZN-differentiator 2 x 250 ml, methyleenblauw 250 ml.
PL.8061/25	TB-kleuringset- ZN carbofuchisine 250 ml, ZN-differentiator 2 x 250 ml, malachietgroen 250 ml.

Immersie-olie (Verminderd gevaar -vrij van DBP)

PL.396	Immersie-olie.	50 ml
--------	----------------	-------

VEILIGHEIDSVORZORGEN

- Zuurbestendige kleuringen van Pro-Lab Diagnostics worden aangeboden als een *in vitro* materiaal en zijn absoluut niet bedoeld voor een genezend of profylactisch doel.
- Tijdens en na gebruik alle materialen hanteren op een wijze die voldoet aan goede laboratoriumpraktijken en men mag nooit vergeten dat getest materiaal gezien moet worden als een mogelijk biologisch gevaar.
- Het hulpmiddel vormt geen gevaar voor het milieu buiten de gevaren die de met het hulpmiddel gebruikte klinische monsters vormen. Men dient veiligheidsvoorzorgen te treffen voor het hanteren, verwerken en weggooiden van alle klinische monsters daar er een pathogeen organisme aanwezig kan zijn. Gevolgen voor het milieu bestaan en worden adequaat aangepakt door middel van correcte verwijdering.

STABILITEIT EN OPSLAG

Kamertemperatuur. Uit de buurt van ontstekingsbronnen. Weg van direct zonlicht. Indien bewaard onder deze condities kunnen reagentia worden gebruikt tot aan de uiterste gebruiksdatum op het label.

MONSTERAFNAME EN PREPARATIE VAN KWEKEN.

Raadpleeg een standaard microbiologietekst.

BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

Schone objectglasjes, steriele lus, vlam / hete lucht, kleuringrek, leidingwater, immersie-olie, microscoop, vloeipapier of soortgelijke vervanging.

PROCEDURE
Klassieke Ziehl-Neelsen-methode.

- Prepareer een dun, uniform uitstrijkje en laat aan de lucht drogen.
- Fixeer door verhitting en laat afkoelen.
- Bevloei het objectglasje met ZN carbofuchisine en verwarm voorzichtig (niet koken). Laat 10 minuten staan en pas na 5 minuten weer

warmtetoet.

- Spoel met water.
- Bevloei het objectglasje gedurende 10 minuten met differentiator en breng na 5 minuten een andere differentiator aan.
- Spoel met water.
- Bevloei het objectglasje met tegenkleuring (methyleenblauw of malachietgroen) en laat 1 minuut staan.
- Spoel goed met water, dep voorzichtig droog of droog met behulp van matige warmte.
- Bekijk met behulp van olie-immersiemicroscopie.

Kinyoun-carbofuchisine-methode.

- Prepareer een dun, uniform uitstrijkje en laat aan de lucht drogen.
- Fixeer door verhitting en laat afkoelen.
- Bevloei het glaasje met Kinyoun-carbofuchisine, laat 10 minuten staan.
- Spoel met water.
- Bevloei het objectglasje gedurende 10 minuten met differentiator en breng na 5 minuten een andere differentiator aan.
- Spoel met water.
- Bevloei het objectglasje met tegenkleuring (methyleenblauw of malachietgroen) en laat 1 minuut staan.
- Spoel goed met water, dep voorzichtig droog of droog met behulp van matige warmte.
- Bekijk met behulp van olie-immersiemicroscopie.

Auraminefenol-kleuringmethode.

- Prepareer een dun, uniform uitstrijkje en laat aan de lucht drogen.
- Fixeer door verhitting en laat afkoelen.
- Bevloei het objectglasje met auraminefenol, laat 10 minuten staan.
- Spoel met water.
- Bevloei het objectglasje gedurende 10 minuten met differentiator en pas na 5 minuten een andere differentiator toe.
- Spoel met water.
- Bevloei het objectglasje met kaliumpermanganaat of thiazinerood, laat 30 seconden staan.
- Spoel goed met water, dep voorzichtig droog of droog met behulp van matige warmte.
- Bekijk met behulp van olie-immersiefluorescentiemicroscopie.

KWALITEITSCONTROLE

De ouderdom van de kweken en de pH van het middel waarin de bacteriën worden gekweekt kunnen een duidelijke invloed hebben op hun reactie op de kleuring. Gebruik verse kweken van maximaal 24 uur oud.

Aanbevolen kweken voor kwaliteitscontrole;

- Mycobacterium tuberculosis* HR37 Rv NCTC 7416
- Streptomyces griseus* NCTC 7807

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN
Ziehl-Neelsen-methode:

Zuurbestendige bacillen worden rood gekleurd, andere organismen worden blauw of groen gekleurd afhankelijk van de gebruikte tegenkleuring.

Kinyoun-carbofuchisine-methode:

Zuurbestendige bacillen worden rood gekleurd, andere organismen worden blauw of groen gekleurd afhankelijk van de gebruikte tegenkleuring.



Auraminefenol-methode:





Zuurbestendige bacillen verschijnen als heldere lichtgevende staafjes tegen een donkere achtergrond.

BEPERKINGEN

1. Foutieve kleuringsresultaten zijn te zien als gevolg van celdetritus dat wordt gekleurd door de techniek.
2. Positieve kleuringsreacties bieden alleen presumptief bewijs van de aanwezigheid van *M. tuberculosis* in het monster. Negatieve kleuringsresultaten geven niet noodzakelijkerwijs aan of het monster negatief zal zijn bij kweek. Kweekmethoden dienen ook toegepast te worden voor positieve identificatie van *M. tuberculosis*.
3. Andere organismen dan mycobacteriën kunnen verschillende maten van zuurbestendigheid weergeven. Bijv. *Rhodococcus* spp., *Cryptosporidium* spp. en *Isopora* spp.
4. Het is moeilijk zuurbestendige organismen te sterk te ontkleuren. Controleer op grondige ontkleuring.
5. Timing is belangrijk bij de tegenkleuringsstap met behulp van kaliumpermanganaat om vernietiging van de fluorescerende bacillen te voorkomen.
6. Interpreteer geprepareerde objectglaasjes onmiddellijk of bewaar ze in het donker bij 2-8° C om vervaging van de fluorescentie te voorkomen.

REFERENTIES

1. Ziehl, F. 1882. Zur Färbung des Tuberkelbacillus. Dtsch. Med. Wochenschr. 8:451
2. Neelson, F. 1883. Ein Casuistischer Beitrag zur Lehre von der Tuberkulose. Centralbl. Med. Wiss. 21:497-501.
3. Kinyoun, J.J. 1915. A note on Uhlenhuth's method for sputum examination for tubercle bacilli. Am. J. Clin. Pathol. 46:472-4.
4. Manual of Clinical Microbiology. Lennette.
5. The Practice of Medical Microbiology. 12 Edition. V2. R. Cruickshank, J.P. Duguid, B.P. Marmion, R.H.A. Swain.

	= Fabrikant
	= In vitro diagnostische medische test
	= Temperatuurbepending
	= Raadpleeg de instructies voor gebruik

Deze gebruiksaanwijzing werd professioneel vertaald op basis van de originele Engelse versie. Neem contact op met Pro-Lab als de tekst niet eenduidig is of als u discrepanties vaststelt.