

TB Safe Stain®

Aside Dirençli (ARB) Boyama Seti

Kullanım Yönergesi

Katalog No: MB180-MB181

In vitro kullanım içindir

Ürünün ismi:

TB Safe Stain® Aside Dirençli (ARB) Boyama Seti (250 mL) ; (1000 mL)

Kullanım amacı:

TB Safe Stain® tüberküloz tanısında önemli yer tutan aside dirençli boyama ile yapılan mikroskopik inceleme için geliştirilmiş yeni bir boyadır. **Bu amaçla kullanılmakta olan diğer boyalardan en önemli farkı boyanın toksik ve kanserojen olan fenolü içermemesidir.** Klinik örneklerde veya kültür besiyerlerinde mikobakterilerin varlığını saptamak amacı ile hazırlanmış yaymaların boyanmasında kullanılır. Genel laboratuvar kullanımı amaçlıdır.

Genel bilgi:

Mikobakteriler çeperlerinde mikolik asit adı verilen çok uzun karbondioksit zincirlerinden oluşan yağlar içeren bakterilerdir. Bu kalın yağ tabakası, mikobakterileri çok hidrofobik hale getirir. Bu nedenle mikobakteriler sulu çözeltilerde hazırlanmış boyalarla boyanamaz. Yağ moleküllerinin arasına sızabilen Erlich Ziehl Neelsen (EZN) ve Kinyoun'da olduğu gibi fenol içeren karbol fuksin ile boyanırlar.

Yöntemin esası:

EZN ve Kinyoun boyasındaki karbolfuksin fenol içeren kırmızı renkli bir boyadır. Fenol, yağları sıvılaştırarak boyanın mikobakterilerin çeperine girmesini sağlar. Kinyoun boyasında karbolfuksin ve fenol derişimi EZN boyasındakine kıyasla daha fazla olduğu için karbolfuksin yayma üzerine konduktan sonra, boyanın mikolik asitlerin arasına sızmasını sağlamak için, EZN boyasında olduğu gibi ısıtma işlemine gerek yoktur. Fenol hem toksik hem de kanserojen bir maddedir. Zorunlu olmadıkça boyalarda bulunması istenmez. **TB Safe Stain®** fenol içermeyen kullanımı güvenli bir boyadır. Özel formülü sayesinde fenol olmadan mikolik asitlerin boyanmasını sağlar. **TB Safe Stain®** ile EZN'de olduğu gibi, preparatlar ısıtılarak boyama yapılabileceği gibi, Kinyoun gibi boyanın daha uzun süre uygulanması ile ısıtmadan da boyama yapılabilir. Karbol fuksin ile kırmızıya boyanan mikroorganizmalar daha sonra güçlü bir boya çıkarıcı olan asit alkol karışımı ile yıkanır. Bu işlem sonucunda mikobakteri dışındaki mikroorganizmalar, çeperlerinde mikolik asit bulunmadığı için, boyayı bırakıp renksiz hale gelirken, mikobakteriler kırmızı renkte kalırlar. Son aşamada yayma üzerine konan metilen mavisi ile, renksiz hale gelmiş bakteriler maviye boyanırlar. Mikobakterilerin çeperi ise bu boyayı tutmaz. Sonuç olarak **TB Safe Stain®** boyası ile mikobakteriler kırmızıya, diğer mikroorganizma ve hücreler maviye boyanırlar.

Yöntemin kısıtlı olduğu durumlar:

TB Safe Stain® boyası ile boyanmış klinik örneklerde mikobakterilerin mikroskopi ile görülebilmesi için örneğin mililitresinde en az 5-10 bin mikobakteri bulunması gerekmektedir. Tüberküloz tedavisi gören hastaların balgamında **TB Safe Stain®** boyası ile mikobakteriler saptanabilir, ancak bu basillerin canlı olup olmadığı ayırt edilemez. Bunun anlaşılabilmesi için örneklerin kültür

besiyerlerine ekilip mikobakterilerin üretilmeye çalışılması gerekmektedir.

İçerik:

Kullanım yönergesi ve plastik damlalıklı kapaklı şişelerde:
TB Safe Stain® Aside Dirençli (ARB) Boyama Seti (250 mL)

- **Diagno Safe Red.** 1 şişe (250ml).
- Asit-Alkol karışımı. 2 şişe (2x250 toplam 500ml).
- Metilen mavisi çözeltisi. 1 şişe (250ml)

TB Safe Stain® ASİDE DİRENÇLİ (ARB) BOYAMA SETİ (1000 mL)

- **Diagno Safe Red.** 1 şişe (1000ml).
- Asit-Alkol karışımı. 2 şişe (2x1000 toplam 2000ml).
- Metilen mavisi çözeltisi. 1 şişe (1000ml)

Sette bulunmayan diğer gereçler :

- Bek alevi
- Öze
- Lam
- Boyama düzeneği
- Mikroskop
- İmmersiyon yağı

Dikkat edilmesi gerekenler ve uyarılar:

Mikobakterilerin tanısında kullanılan laboratuvar yöntemleri, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi açısından özel önlemler gerektirir. Örnek işleme, sınıf II biyogüvenlik kabininde ve giriş çıkışı laboratuvar çalışanları ile sınırlandırılmış alanlarda yapılmalıdır. Bu alanda yüzeyler, bir yüzey dezenfektanı ile silindiğinde kolayca temizlenebilecek şekilde olmalıdır. Klinik örneklerde mikobakteriler dışında Hepatit B virüsü, "Human İmmündeficiency Virus" (HIV) gibi başka patojen mikroorganizmalar da bulunabilir. Kan ve başka vücut sıvıları kullanılırken evrensel ve laboratuvarınızın güvenlik kurallarına uyulmalıdır. Eğer bir tüpten sızıntı saptanır, herhangi bir yüzey kirlenirse uygun bir yüzey dezenfektanı ile laboratuvarınızın yönergelerine uygun olarak temizleyiniz.

Genel güvenlik kuralları:

- Enfeksiyon etkeni içermesi olası olan örneklerle çalışırken daima eldiven ve maske takınız.
- Pipetleme, çözelti ekleme, boşaltma gibi işlemleri daima sınıf II biyogüvenlik kabininde gerçekleştiriniz.
- Hiçbir zaman ağızla çekerek pipetleme yapmayınız.
- Bakterilerin çöktürülmesi sırasında aerosollerin önlenmesi için hava geçirmez kapaklı sepetleri olan soğutmalı santrifüjlerin kullanılması önerilmektedir.
- Kontamine bir sıvı dökülecek olursa %2.5' lik hipo-klorit çözeltisi ile temizleyiniz.
- Örnekler içerisinde Hepatit B ve HIV gibi patojen mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya vücut sıvıları ile kontamine tüm materyallerin işlenmeleri sırasında uluslararası önlemler ve kendi laboratuvar güvenlik yönergenize uyulmalıdır. Tüplerden sızıntı olursa veya taşıma veya toplama sırasında kazara örnek

Diagno Safe Kit®

Aside Dirençli (ARB) Boyama Seti

dökülürse, mikobakteriyel kontaminasyonun önlenmesi ile ilgili yayınlanmış yönergeleri uygulayınız.

- İş biten malzemeler çevre güvenliğine uygun şekilde atılmalıdır.

Saklama Koşulları:

Oda sıcaklığında saklayınız. Ateşten uzak tutunuz.

Bozulma Belirtileri:

Koruyucu kapağı açılmamış boyaların miktarlarında eksilme veya orijinal renklerinde değişme varsa kullanmayınız.

Uygulama:

İlk kez kullanırken şişelerin damlalıklı kapaklarını açarak içerdeki koruma bandını çıkartınız ve kapakları tekrar sıkıca vidalayınız.

- Lamin üstüne örneği yayınız ve kurutunuz.
- Yayma kuruduktan sonra ateşten birkaç kere geçirek tespit ediniz.
- Boyama için hazırlanmış olan düzenek üstüne yerleştiriniz.
- Diagno Safe Red®** çözeltisini lamı kaplayacak şekilde dökünüz ve yaymayı 5 dakika boya çözeltisi ile bekletiniz. Bu sırada lamin alttan alev ile veya ısı bloğunda ısıtılması mikobakterilerin boyanmasını belirgin hale getirecektir. Isıtma yapılmayacaksa boya ile bekletme süresi 10-15 dakika olmalıdır. Sonra yaymayı damıtık su ile yıkayınız.
- Yaymanın üzerine asit – alkol çözeltisi koyunuz ve 3 dakika bekleyiniz. Kırmızı renk akması durana dek dekolorizasyonu sürdürünüz. Sonra yaymayı tekrar damıtık su ile yıkayınız.
- Yaymanın üzerine metilen mavisi koyunuz ve 1 dakika bekleyiniz. Damıtık suyla yıkayınız.
- Yaymayı kurutunuz, üzerine bir damla immersiyon yağı damlatıp, 100x objektifini kullanarak mikroskopta inceleyiniz.

Yaymanın Değerlendirilmesi:

TB Safe Stain® boyası ile boyanmış yaymalarda mikobakteriler kırmızı, diğer mikroorganizmalar mavi olarak boyanırlar. Mikobakteriler asit-alkol çözeltisi ile yıkanmalarına karşın kırmızı boyayı bırakmadıkları için aside dirençli boyanan basiller (“acido-resistant bacilli”) veya ARB olarak da adlandırılırlar. Bu nedenle kırmızıya boyanmış basillerin görüldüğü örnek için sonuç “ARB+” olarak da verilir. Bir örneğin “ARB - ” olduğunu

söyleyebilmek için en az 300 objektif alanının taranması ve ARB görülmemesi gereklidir.

Birçok laboratuvar, yaymada görülen ARB miktarına bağlı olarak sonuçları aşağıdaki tablo kriterlerine göre sınıflandırmaktadır:

ARB	Basil Miktarı
—	ARB yok
+	300 alanda 1-2 basil
++	100 alanda 1-9 basil
+++	10 alanda 1-9 basil
++++	Her alanda 1-9 basil
+++++	Her alanda 9’dan fazla basil

Kalite Kontrolü :

TB Safe Stain® ile *M. tuberculosis* H37 Ra (ATCC 25177) ve *E. Coli* (ATCC 25922)’den hazırlanmış yaymalar boyanır. Bu işlem sonucunda mikroskopta incelendiğinde *M. tuberculosis* H37 Ra’nın kırmızı renkte, *E.coli*’nin ise mavi renkte görülmesi boya setinin istendiği gibi çalıştığını gösterir.

Kaynaklar

- Minimum Requirements, Role and Operation in a Low-Income Country. The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. 1998. Sputum smear microscopy. Chapter II. p: 13-24.
- Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology 8th edition. Ed. E. J. Baron, S. M. Finegold. The C.V. Mosby Company, 1990. 614; A35-A36.
- Clinical Microbiology Procedures Handbook, Volume 1 Henry D. Isenberg ; Long Island Jewish Medical Center, 1992.S:3.5.3-3.5.9.

Üretim yeri :

DIAGNOTİS Biyoteknoloji Ürünleri Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi

Cevizli Mahallesi, Hızır Reis Sokak No: 27 / 3, Maltepe

34846 İSTANBUL

Tel: +90 216 606 05 46

Katalog Numarası:

MB180-MB181

