

Модифицированный набор Tb-color для горячего окрашивания

Набор для обнаружения микобактерий (AFB) методом горячего окрашивания. Микобактерии трудно окрашиваются из-за большого содержания липидов и воска в стенках их клеток. До сих пор для проведения классического окрашивания по Цилю-Нильсену тестовый материал было необходимо нагревать с раствором карбол-фуксина для получения соединения миколовой кислоты с фуксином. После окрашивания кислотоустойчивые микобактерии сохраняют цвет даже после обработки такими сильными обесцвечивателями, как HCl-этанол. Они остаются красными после контрастного окрашивания метиленовым синим в то время, как чувствительные к кислоте микроорганизмы приобретают синюю окраску

Реагенты

№ в каталоге Merck	Продукт
1.00497	Модифицированный набор для окрашивания Tb-color: Раствор 1 Ziehl - Neelsen's carbol - fuchsin solution 500 мл, Раствор 2/3 Hydrochloric acid in ethanol 2 x 500 мл, Раствор 4 Löffler's methylene blue solution 500 мл

Применение

Микроскопические исследования микобактерий. Модифицированный набор для окрашивания Tb-color предназначен для классического горячего окрашивания по методу Циля-Нильсена с контрастным окрашиванием метиленовым синим.

Материал проб

Термофиксированные мазки мокроты, материалов биопсии тонкоигольной аспирацией, жидкостей промывания полостей, отпечатков, биологических жидкостей, экссудатов, гноя, жидких и плотных культур и гистологических срезов.

Фиксация

Фиксация проводится над пламенем бунзеновской горелки (2 -3 раза, избегая излишнего нагрева). Также возможно фиксировать мазки в термостате при 100 - 110 °С в течение 20 минут. Можно ожидать ухудшения качества окрашивания при более высокой температуре или более длительном нагревании.

Предварительная обработка

Мокрота

Мокрота должна предварительно обрабатываться Sputofluo® для освобождения бактерий из окружающей слизи. Один из ингредиентов в Sputofluo® - это гипохлорит, который окислительно растворяет органический материал, не причиняя, в основном, вреда микобактериям. Смешать в центрифужной пробирке 1 часть пробы (не меньше 2 мл) с 3 частями 15% раствора Sputofluo®, приготовленного с дистиллированной водой, и выдержать для реакции 10 минут с энергичным взбалтыванием. Центрифугировать при 3000 – 4800 об/мин в течение 20 минут, слить супернатант, снять осадок и высушить.

Функциональные и промывные материалы, осадки

После проведения соответствующего обогащения нанести мазки на слайды и высушить.

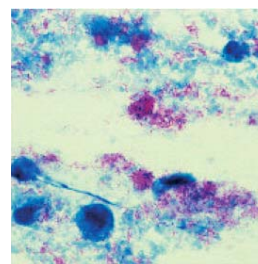
Гистологические срезы

Депарафинировать срезы обычным путем и регидратировать в серии спиртов понижающей концентрации.

Окрашивание на стойке для окрашивания:

- 1) Полностью покрыть образцы раствором карбол-фуксина по Цилю-Нильсену. Осторожно нагреть 3 раза над пламенем бунзеновской горелки до появления испарений и выдержать горячими в течение 5 минут. Не допускать кипения окрашивающего средства.
- 2) Промыть проточной водой до прекращения схода окраски.
- 3) Полностью покрыть раствором соляной кислоты в этаноле и, в зависимости от толщины образца, оставить на 15 – 30 секунд.
- 4) Немедленно промыть проточной водой.
- 5) Контрастно окрасить в течение 30 секунд в растворе метиленового синего Леффлера или в течение 1 минуты в разбавленном растворе метиленового синего Леффлера (разбавление: 1+9 дистиллированной водой).
- 6) Хорошо промыть проточной водой.
- 7) Высушить.

Провести обезвоживание гистологических образцов (в серии спиртов повышающей концентрации), осветлить ксилолом или Neo-Clear® и смонтировать препараты с помощью Entellan® new или Neo-Mount®.



Мокрота, окрашена модифицированным Tb-color

Результаты

Кислотоустойчивые бактерии: красные
Фон: светло-синий

Оценка

Положительный результат означает, что "обнаружены кислотоустойчивые бактерии", а отрицательный – что "кислотоустойчивые бактерии не обнаружены". Невозможно определить, являются ли они туберкулезными бактериями или другими "атипичными" бактериями, а также, способны ли они размножаться или уже погибли. При обнаружении в тестовом материале кислотоустойчивых бактерий необходимы дальнейшие тесты.

Емкость

Набора достаточно для обработки 250 образцов, окрашиваемых на стойке.