



Холодное окрашивание микобактерий Tb-color

Набор для окрашивания для микроскопического исследования микобактерий. В данной модификации метода окрашивания Циля-Нильсена стабильно хорошие результаты окрашивания достигаются без нагревания раствора карбол-фуксина (испарения фенола) в процессе окрашивания (холодное окрашивание).

Реагенты

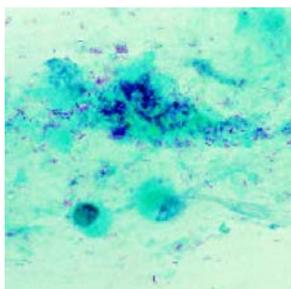
№ в каталоге Мерк	Продукт
1.16450	Tb-color staining kit: Раствор 1 Sputofluor® solution (contains sodium hydroxide solution and sodium hypochlorite solution) 500 мл, Раствор 2 Carbol-fuchsin solution (contains phenol and ethanol) 500 мл, Раствор 3 Decolorization solution (contains ethanol with 0.75% hydrochloric acid) 500 мл, Раствор 4 Malachite green-oxalate solution (contains 0.2% malachite green oxalate) 500 мл

Подготовка с Раствором 1 (раствор Sputofluor®)

Добавить 3 части 15% раствора Sputofluor® в дистиллированной воде к 1 части образца (не меньше 4 мл) в центрифужной пробирке. Оставить для реакции на **10 минут** с энергичным взбалтыванием, центрифугировать **20 минут** при 300 – 4800 об/мин. Слить супернатант и использовать осадок для приготовления мазка.

Фиксация

Фиксировать над пламенем бунзеновской горелки (2 – 3 раза без чрезмерного нагрева). Либо можно фиксировать мазок **20 минут** при 100 - 110°C в сушильном шкафу. Интенсивный жар отрицательно влияет на окрашиваемость.



Мокрота,
окрашена Tb-color

Окрашивание на стойке для окрашивания

- 1) Полностью покрыть высушенный на воздухе, термофиксированный образец Раствором 2 (раствор карбол-фуксина) и окрашивать в течение **5 минут**.
- 2) Промыть проточной водой до исчезновения "тумана" окрашивания.
- 3) Полностью покрыть Раствором 3 (обесцвечивающий раствор) и немедленно смыть его проточной водой (**максимальная длительность окрашивания 30 секунд**).
- 4) Полностью покрыть Раствором 4 (раствор малахитового зеленого) и контрастно окрашивать в течение **1 минуты**.
- 5) Смыть проточной водой в течение **10 секунд** и высушить на воздухе.

Окрашивание в сосуде Коплина

- | | |
|--|------------------|
| 1) Раствор 2 (раствор карбол-фуксина) | 5 минут |
| 2) Проточная вода | 15 секунд |
| 3) Раствор 3 (обесцвечивающий раствор) | 45 секунд |
| 4) Проточная вода | 15 секунд |
| 5) Раствор 4 (раствор малахитового зеленого) | 1 минута |
| 6) Проточная вода | 10 секунд |
| 7) Сушка | 3 минуты |

Исследовать окрашенный препарат под микроскопом не меньше **5 минут**, используя освещение светлого поля и объектив 90 – 100x с иммерсионным маслом (№ в каталоге Мерк 1.15577).

Результаты окрашивания

Кислотоустойчивые микобактерии: **красные**
Фон: **светло-зеленый**

Диагноз

Положительный результат означает, что "обнаружены кислотоустойчивые палочки", а отрицательный – что "кислотоустойчивых палочек не обнаружено".
Невозможно определить, являются ли они туберкулезными бактериями или другими "атипичными" микобактериями, а также, способны ли они размножиться или уже погибли.

Хранение/срок годности

Не хранить при ниже +15°С, так как краситель образует осадок. При появлении осадка поместить бутылку на 2 – 3 часа в воду при температуре около 60°C. Перед употреблением профильтровать. При должном хранении набор стабилен не меньше 24 месяцев.

Емкость

Одного набора достаточно для окрашивания на стойке 250 образцов.

Литература

Bielt, LJ: Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung. mta, 6 415-416(1986).