

Kit RAL® Fluo-Color

Barvení na přítomnost mykobakterií podle DEGOMMIERA

Úvod:

Fluo-color RAL je souprava pro rychlou barvicí techniku, jenž vyžaduje použití fluorescenčního mikroskopu.

Jako fluorochrom je použit AURAMIN. I po ošetření vzorku kyselinou a alkoholem si mykobakterie ponechává auraminové zbarvení. Ke kontrastnímu vybarvení pozadí je použita tiazinová červeň.

Složení kitu Fluo-color:

Nádobka 1:	Karbol-auramin	1x 250 ml
Nádobka 2:	Odbarvovací roztok	1x 250 ml
Nádobka 3:	Roztok Tiazinové červeň	1x 125 ml
Nádobka 4:	Karbolový roztok pro Tiazinovou červeň	1x 125 ml

Postup barvení:

Doba trvání testu:	38 minut
Fixujte metanolem:	10 minut
Opláchněte destilovanou vodou:	pouze 1x
Obarvěte roztokem Karbol-auraminu (nádobka 1), není potřeba zahřívát:	20 minut
Opláchněte destilovanou vodou:	pouze 1x
Opláchněte odbarvujícím roztokem (nádobka 2):	3 minuty
Opláchněte destilovanou vodou	pouze 1x

Příprave barvicí roztok Karbol-tiazinové červeň:

Smíchejte stejná množství roztoku Tiazinové červeň (nádobka 3) a Karbolového roztoku (nádobka 4) 1:1 (objem zvolte dle vašich potřeb*).

Obarvěte připraveným roztokem Karbol-tiazin	5 minut
Opláchněte destilovanou vodou	pouze 1x

Nechte oschnout

*Čerstvě připravený roztok karbol-tiazinové červeň (nádobka 3+4) by měl být skladován v temnu, při teplotě 22 °C ± 5 °C. Roztok se doporučuje obnovovat minimálně jednou týdně.

Expirace roztoku: 1 týden

Výsledek:

Acidorezistentní bakterie oproti červenému pozadí preparátu vykazují ve fluorescenčním mikroskopu žluto-zelené zbarvení.

Při mikroskopickém stanovení není potřeba krycí sklíčko, imerzní objektiv ani imerzní olej. K hodnocení sklíček se používá celkového zvětšení 120x až 200x (objektiv- zvětšení 20x nebo 25x a okulár- zvětšení 6x až 8x).

Vždy když ve fluorescenčním mikroskopu zachytíte nějaké organizmy, doporučuje se znovu obarvit sklíčko na přítomnost *acidorezistentních* bakterií za použití Ziehl-Neelsenovy barvicí techniky.

Distributor: Diagnostica s.r.o, Za Tratí 686, Praha 9, Česká republika, tel. +420 266 315 909, Fax. +420 226 316 000, e-mail:info@diagnostica.cz



Výsledné zbarvení:

Acid-alkohol-rezistentní bakterie: žluto-zelená (ve fluorescenčním mikroskopu)
Pozadí preparátu: červená

Bibliografie:

CANETTI G., GROSSET J., Techniques et indications des examens bactériologiques en Tuberculose, Editions de la Tourelle, Saint- Mandé (94), (1968).

DEGOMMIER J., AUDRIN J., Ann. Inst. Pasteur 92, 51957, 692-493 (1957), p. 413-417.

GROSSET J., BOISVERT H., LAGRANGE PK., BARAUTON, Mycobacteriés, dans Bactériologie Médicale, edited by L. Le Mino ret M. Veron, Flammarion, Sciences, (1982), p. 657-703.

Reagencie a jejich balení:

Kit Fluo-color RAL®	kód 361460-0000	(2 x 250 ml + 2 x 125 ml)
Náplň 1: Karbol-auramin	kód 361430-0250	500 ml, 1000 ml
Náplň 2: Odbarvovací roztok	kód 320800-0250	1000 ml
Náplň 3: Tiazinová červeň	kód 320780-0125	500 ml
Náplň 4: Roztok karbolu	kód 320790-0125	500 ml

Počet možných testů: 150 – 250 sklíčků

Skladovací teplota: 15 – 25 °C

Poznámky:

Nález několika forem bakterií na sklíčku ve fluorescenčním mikroskopu vyvolává vždy pochybnosti. Může se jednat o zbytky buněčných nebo jaderných stěn, vrypy na sklíčku aj.... V každodenní praxi i jako preventivní opatření, pokud se nalezne méně než 10 acid-alkohol-rezistentních bakterií, doporučuje se zmínit se o jejich přítomnosti, pouze tehdy byla-li tato potvrzena i Ziehl-Neelsenovou barvicí technikou.