



Název výrobku: **Malachitová zeleň na Ziehl-Neelsen**
Kód výrobku: **98301**
Zkratka výrobku: **R-ZNMZ**

Návod k použití

Použití:

Kontrastní dobarvení preparátů v procesu barvení dle Ziehl Neelsena. (Barvení acidorezistentních mikroorganismů dle Ziehl – Neelsena se používá pro barvení vzorků/preparátů podezřelých z přítomnosti mykobakterií. Tyto mikroorganismy barvivo špatně přijímají, ale přijaté barvivo v nich pak zůstává i při odbarvování kyselinami či alkoholem.)

Princip:

Složení buněčné stěny (vysoký obsah lipidů) acidorezistentních mikroorganismů ztěžuje jejich barvení a to je pak možné jen s přidavkem mořidla nebo barvením za horka. Obarvená mykobakteria nelze následně odbarvit ani směsí alkoholu s HCl, proto se označují, jako acidorezistentní. Kontrastní dobarvení umožňuje lépe vyniknout případným acidorezistentním bakteriím (růžové) na dobarveném pozadí.

Teoretické složení (g/l destilované vody):

Malachitová zeleň 10,0

Uchování:

Barvicí roztok se uchovává v tmavé láhvi, při pokojové teplotě, mimo přímé sluneční záření. Datum expirace a číslo šarže jsou uvedeny na obalu.


Pracovní postup:

roztok je připraven k přímému použití pro barvení metodou dle Ziehl – Neelsova.

K barvení dle Ziehl - Neelsova je koncentrovaný roztok karbolfuchsinu používán v sadě s dalšími roztoky.

- Tenký stejnoměrný nátěr vzorku se usuší na vzduchu
- Vzorek se fixuje plamenem a sklíčko se nechá vychladnout

Datum účinnosti: 1.1.2011
Vydání: 2
Výtisk: 1
Strana: 1 (celkem 2)

 **V I A M A R**
International s.r.o.
U Habrovky 247/11
14000 Praha 4, ČR



- Sklíčko se polije koncentrovaným karbolfuchsinem a opatrně se zahřívá až do výstupu par. Barvivo nesmí vřít ani se odpařit; dle potřeby se přidává a nechá se působit 5 minut.
- Barvivo se slije a opláchne proudem vody.
- Preparát se odbarvuje odbarvovacím roztokem, dokud barvivo odtéká, obvykle 2 – 3 minuty. Silnější nátěry vyžadují delší dobu odbarvování. (Nebo se sklíčko polije odbarvovacím roztokem na celkem 10 minut, s výměnou roztoku po 5 minutách).
- Preparát se opláchne vodou.
- Preparát se dobarví kontrastním barvivem (methylenová modř nebo malachitová zeleň); obvykle 30 – 60 sekund, dle povahy nátěru.
- Dobarvený preparát se dobře opláchne vodou a po usušení se prohlíží mikroskopem.

Interpretace výsledků:

acidorezistentní bakterie se barví červeně, ostatní organizmy a pozadí se obarví zeleně.

Poznámka:

pozitivní nález acidorezistentní bakterie poskytuje pouze orientační či předběžnou informaci o přítomnosti *M. tuberculosis* ve vzorku. Kultivační (ev. další) metody by měly následovat. Falešnou pozitivitu lze spatřit např. z důvodu obarvení buněčných zbytků. Různý stupeň acidorezistence mohou vykazovat i některé aktinomycety, bakteriální spory, askospory některých kvasinek, *Rhodococcus spp.* apod. Negativní výsledek barvení neznamena, že vzorek kultivace bude negativní.

Kontrola kvality:

Stáří kultury, pH kultivačního média a kvalita nátěru může mít vliv na výsledky barvení.

Kontrolní kmeny:

Mycobacterium tuberculosis červené zbarvení, zelené pozadí

Balení výrobku:

Roztok o objemu 1000 ml plníme do hnědé skleněné láhve.