

SureFocus[™] Mikroskopobjektträger

Handbuch

SureFocus™ Mikroskopobjektträger

Zum Patent angemeldet

Verwendungszweck

Zur Verwendung beim Nachweis säurefester Bazillen mittels Fluoreszenzmikroskopie.

Übersicht und Grundsätze

Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO), von der seit 1990 Inzidenzdaten aufgezeichnet werden, ist die Anzahl der Tuberkulosefälle seit mindestens diesem Zeitpunkt am Steigen.¹ Die frühe und korrekte Erkennung der TBC ist ein wichtiger Faktor für eine effektive Behandlung und Eindämmung der Krankheit. Die häufigste Methode zum Nachweis säurefester Bakterien, darunter der häufigste Erreger der Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*), ist die mikroskopische Untersuchung eines Sputumausstrichs¹. Dies lässt sowohl eine Verdachtsdiagnose als auch eine Größenbestimmung der Mykobakterienbelastung zu.

Die Identifizierung von Tuberkulose in Sputumausstrichen hat sich als sensibler als Hellfeldmethoden erwiesen.² Trotz ihrer bekannten Vorteile ist die Fluoreszenzmikroskopie jedoch auch mit Problemen verbunden, die ihre Nützlichkeit und Indikation für den breiten Einsatz beeinträchtigen. Diese Probleme bestehen in erster Linie darin, dass es sich bei der Fluoreszenzmikroskopie um ein Dunkelfeldverfahren handelt, bei dem die Probe ein Lichtsignal abgeben muss. Im Falle von fluoreszenzgefärbten TBC-Ausstrichen wird die Hintergrundfluoreszenz gequenchet, um einen merklichen Kontrast für die Identifizierung säurefester Bazillen zu ermöglichen. Dadurch liefert das Untersuchungsfeld bei Präparaten ohne oder mit wenigen Bazillen kein oder nur ein geringes Signal zur Fokussierung des Mikroskops auf die Probe. Bei negativem Resultat ist die Testqualität deshalb nur schwer zu gewährleisten. Zudem ist das Signal von fluoreszenzgefärbten säurefesten Bazillen (im Vergleich zu Hellfeldmethoden) relativ niedrig und nur in geringem Abstand zur Fokusebene zu erkennen. Hier können unerfahrene Anwender positive Proben leicht übersehen, weil sie den kleinen Bereich, in dem das Signal erkennbar ist, nicht bemerken.

Die F.A.S.T. SureFocus-Objektträger lösen das Problem der Fokusungewissheit bei der Untersuchung von Ausstrichen. Hierzu sind sie mit Fluoreszenzmarkern versehen, anhand derer der Anwender einen anfänglichen Fokus einstellen und während der Untersuchung aufrecht erhalten kann. Die Marker in Form einer Ellipse mit Kreisen und Linien sind zudem gezielt formatiert und liefern Hilfsmittel für die Ausstrichpräparation, Erkennung, Schulung und Qualitätskontrolle. Die Ellipse zeichnet den für TBC-Ausstriche gebräuchlichen Bereich von 3 x 2 cm ab und ist am und um den Scheitelpunkt des größten Durchmessers mit 6 Kreisen versehen. Kreise bieten eine größere Fläche und erleichtern damit die Zentrierung des Objektivs zur anfänglichen Fokussierung. Kreise liefern darüber hinaus die Koordinaten, die zur Standardisierung von Laboruntersuchungsverfahren eingesetzt und zusammen mit Fluoreszenzlinien innerhalb des Ausstrichbereichs verwendet werden können, um die für eine vollständige Untersuchung erforderlichen Abstände zu bestimmen. Neben den Hilfsmitteln zur Präparation und Untersuchung von Ausstrichen auf den Objektträgern dienen die Fluoreszenzmarker als positive Fluoreszenzkontrolle, wenn Zweifel über die Reagenzien, das Färbeverfahren, die Gerätefunktion oder die Bedienung auftreten.

SureFocus-Objektträger besitzen ähnliche Fluoreszenzmerkmale wie Auramin O (d. h. Anregung durch blaues Licht und grüne Fluoreszenz), sodass die Objektträger mit Fluoreszenzmikroskopen eingesetzt werden können, die zur Untersuchung von mit Auramin O gefärbten Ausstrichen ausgelegt sind.

Inhalt

- 432 SureFocus-Mikroskopobjektträger
- 1 Produktbeilage

Warn- und Vorsichtshinweise

Für den Einsatz bei *In-vitro*-Diagnosen.

Klinische Proben vom Menschen können Erreger von Infektionskrankheiten enthalten, wie z. B. Tuberkulose, Hepatitis, humane Immundefizienz (HIV). Bei der Handhabung klinischer Proben sind allgemeine Vorsichtshinweise und örtliche Vorschriften und Bestimmungen zu befolgen. Alle Aktivitäten, bei denen ein Aerosol der klinischen Proben entstehen könnte, müssen in einer Sicherheitswerkbank durchgeführt werden. Bei Aktivitäten, bei denen *Mykobakterien* gezüchtet werden, sind Sicherheitsverfahren und -praktiken der Stufe 3 anzuwenden.

Dieses Produkt dient zum Nachweis säurefester Bazillen. Die Mikroskopie von Sputumausstrichen sowie die Verfahren zur Präparation und Verarbeitung von Proben dürfen nur von Personen ausgeführt werden, die in den entsprechenden Verfahren und in allgemeiner Laborpraxis geschult sind.

Vorsicht: Das Produkt enthält Glas. Vorsichtig behandeln.

Lagerung

Übermäßige Hitze vermeiden. Vor direktem Sonnenlicht schützen.

Verfahren

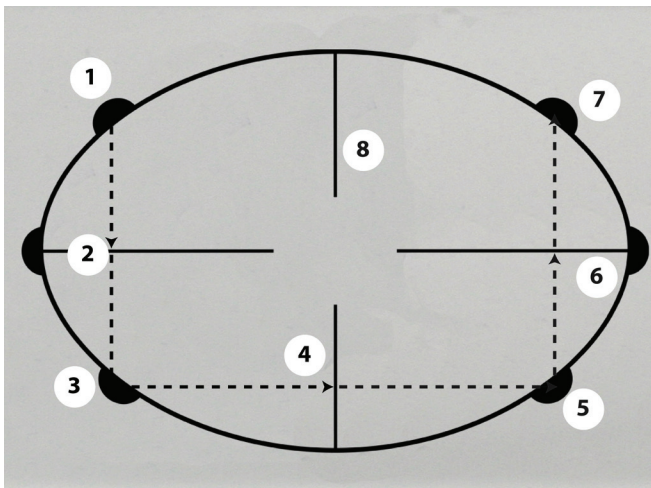
SureFocus-Objektträger können mit direkten Patientenproben, aufgeschlossenen Proben oder gezüchteten Proben eingesetzt werden.

Vorbereitung und Färbung von Proben:

Tragen Sie die Probe mittig auf dem SureFocus-Objektträger auf und streichen Sie sie gleichförmig über die gesamte Ellipsenfläche aus. Der Ausstrich muss dick genug sein, um zu gewährleisten, dass ausreichend Probematerial vorhanden ist. Bei direkten Ausstrichen müssen die Linien des SureFocus-Objektträgers durch die Probe noch sichtbar sein. Hitze-fixieren Sie den Objektträger mit einem Brenner oder Objektträgerwärmer. Färben Sie die hitzefixierte Probe mit einem Auramin O-Verfahren, z. B. F.A.S.T. Auramin O. Hinweis: Es empfiehlt sich, jeder Charge gefärbter Objektträger eine positive und negative Kontrollprobe beizufügen, um die Integrität von Reagens und Instrument sowie die korrekte Durchführung zu gewährleisten.

Untersuchung des Ausstrichs:

Abbildung 1



Legen Sie den gefärbten Objektträger auf den Objektstisch des Mikroskops und zentrieren Sie das Objektiv über dem Startkreis. Fokussieren Sie ein Objektiv mit niedriger Vergrößerung im Hellfeldmodus über dem Startkreis und gehen Sie schrittweise zum gewünschten Untersuchungsobjektiv über. Wechseln Sie in den Fluoreszenzmodus. Sie können das Mikroskop mit dem folgenden Verfahren auch im Fluoreszenzmodus fokussieren: Zentrieren Sie das Objektiv über dem Startkreis und stellen Sie den Objektstisch knapp oberhalb der Arbeitsdistanz des Objektivs ein. Blicken Sie bei eingeschalteter Fluoreszenzlichtquelle durch das Okular und stellen Sie das Feld mit der Feineinstellung scharf ein. (Tipp: Mit der Scharfstellung der Fluoreszenzlinie sollte das Sichtfeld leuchtend grün werden. Wenn das Feld dunkel bleibt, wurde die korrekte Fokusebene überschritten.) Gehen Sie zum Rand der Fluoreszenzlinie und stellen Sie die Schärfe erneut ein.

Beginnen Sie mit der Untersuchung des Ausstrichs am Startkreis und fahren Sie bis zum nächsten Marker fort. Mithilfe der Marker können die untersuchten Sichtfelder gezählt werden, wenn die Felder nacheinander bearbeitet werden (d. h. die Bewegung des Objekttschis ist durchgängig). Wenn der nächste Marker erreicht ist, prüfen Sie, ob das Bild noch scharf ist. Setzen Sie die Untersuchung fort, indem Sie von Marker zu Marker über die in Ihren Standardverfahren vorgegebene Anzahl von Feldern fortschreiten (zurückgelegte Distanz bei kontinuierlicher Bewegung). Zeichnen Sie die Ergebnisse auf.

Untersuchung des Ausstrichs – Beispiel:

Abbildung 1 weiter oben zeigt einen SureFocus-Objektträger mit einem empfohlenen Untersuchungspfad. Für diesen Pfad stellen Sie das Gerät am Startkreis 1 scharf. Untersuchen Sie den Objektträger systematisch vertikal und arbeiten Sie sich dabei bis zum Startkreis 3 vor. Verwenden Sie bei der Fortbewegung von Sichtfeld zu Sichtfeld eine kontinuierliche Bewegung und springen Sie nicht von einem Feld zum anderen. Wenn Sie bei Linie 2 angekommen sind, überprüfen Sie die Fokussierung des Mikroskops. Fahren Sie vertikal bis zum Startkreis 3 fort und überprüfen Sie die Fokussierung des Mikroskops. Fahren Sie nun horizontal bis zur Linie 4 fort. Wenn Sie bei Linie 4 angekommen sind, überprüfen Sie die Fokussierung des Mikroskops. An diesem Punkt wurde die folgende Anzahl von Feldern untersucht, wenn die Sichtfelder durchgängig untersucht wurden:

Vergrößerung	Anzahl der untersuchten Felder
200x	26
400x	52
600x	78
1000x	130

Die folgende Tabelle zeigt die ungefähren Distanzen und Sichtfelder zwischen den Markern bei standardmäßigen Vergrößerungen:

Unter-suchungspfad	Distanz (mm)	Sichtfelder		
		200x	400x	600x
1 bis 2; 2 bis 3; 5 bis 6; 6 bis 7	6,5	7	14	21
1 bis 8; 8 bis 7; 3 bis 4; 4 bis 5	11	12	24	36

Qualitätskontrolle

Die Fluoreszenzlinien auf dem SureFocus-Objektträger müssen in einem Fluoreszenzmikroskop hell fluoreszieren. Mit Hilfe dieser Linien können Sie gewährleisten, dass die Lichtquelle und Optik des Mikroskops ordnungsgemäß funktionieren. Falls die Linien im Fluoreszenzmikroskop nicht sichtbar oder nur schwer erkennbar sind, kann die Ursache der Fehlfunktion beim Instrument, bei den Objektträgern oder beim Benutzer liegen. Nutzen Sie die Mikroskopie erst dann zur Patientendiagnose, wenn das Problem behoben ist.

Erwartete Ergebnisse

SureFocus-Objektträger müssen bei Anregung mit blauem Licht (435-480 nm) grün fluoreszieren und durch Fluoreszenzfilter erkennbar sein, die grünes Licht (510-600 nm) zum Benutzer durchlassen.

Einschränkungen

Die Fluoreszenz lässt mit der Zeit nach und fluoreszierende Materialien können bei Kontakt mit übermäßiger Hitze oder zu starkem Licht verblassen. Wenn von den Linien der SureFocus-Objektträger kein Fluoreszenzsignal erkennbar ist, dürfen die betreffenden Objektträger nicht für die Fluoreszenzmikroskopie verwendet werden.

Wenn die SureFocus-Objektträger nicht fluoreszieren, muss auch die ordnungsgemäße Funktion des Fluoreszenzmikroskops überprüft werden.

Benötigte, jedoch nicht mitgelieferte Geräte

- Applikator zum Auftragen und Ausstreichen der Patientenprobe
- Brenner oder Objektträgerwärmer
- Färbereagenzien und -zubehör
- Fluoreszenzmikroskop mit den folgenden Merkmalen:
 - Fähigkeit zur Anregung von Proben von 435 bis 480 nm
 - Fähigkeit zur Übertragung abgestrahlten Lichts im Bereich von 510 bis 600 nm
- Immersionsöl (falls erforderlich)

Quellen

Die QBC *F.A.S.T.* SureFocus-Objektträger sind ein unerlässlicher Bestandteil der allgemeinen Qualitätskontrolle für die Fluoreszenzmikroskopie. Weitere Informationen über die Qualitätskontrolle im Mykobakterienlabor entnehmen Sie den folgenden Informationsquellen:

1. Weltgesundheitsorganisation. (2009) Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO Report 2009. WHO Press, Genf, Schweiz
2. Steingart, K.R., *et al.* (2007) Fluorescence Versus Conventional for Sputum Smear Microscopy for Tuberculosis: a Systematic Review. *Lancet Infect Dis* 6:570-81.
3. Essential Procedures for Clinical Microbiology. (1998) American Society of Microbiology. Washington, D.C.
4. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy. (2005) Institute of Medical and Veterinary Science. Adelaide, Australien.
5. Manual of Clinical Microbiology. (2007) Band 1 und 2. 9. Ausgabe. American Society of Microbiology. Washington, D.C.

Bestellinformationen

QBC *F.A.S.T.* SureFocus-Objektträger

Art.-Nr.

427411



QBC Diagnostics, Inc.
200 Shadylane Drive, Philipsburg PA, 16866
+1-814-692-7661, www.qbcdiagnostics.com



Emergo Europe
Molenstraat 15, 2513 BH Den Haag, Niederlande
Tel. : +31 (0) 70-345-8570, Fax : +31 (0) 70-346-7299



Hersteller



Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft



Haltbar bis



Artikelnummer



Medizinisches Gerät zur In-vitro-Diagnose



Temperaturbeschränkung



Chargennummer



Siehe Gebrauchsanweisung



Nur zur einmaligen Verwendung