



Kit di colorazione con auramina O
QBC F.A.S.T.[™]

Manuale d'istruzioni

Form 422 Rev. C
Ultima revisione: 21.9.2017

Kit di colorazione con auramina O QBC F.A.S.T.TM

Uso previsto

Colorazione di strisci di campioni di pazienti o colture per il rilevamento o la caratterizzazione di bacilli acido-resistenti, quali il *Mycobacterium tuberculosis*.

Introduzione e principi

L'incidenza della tubercolosi a livello mondiale è caratterizzata da una tendenza all'aumento almeno dal 1990, anno in cui l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha intrapreso il monitoraggio dei dati d'incidenza¹. Il rilevamento tempestivo e accurato della tubercolosi è essenziale per un efficace controllo e trattamento di questa patologia. Il metodo di rilevamento più utilizzato per il *Mycobacterium tuberculosis* è l'analisi microscopica di uno striscio dell'espettorato¹, in grado di fornire sia una prima diagnosi presuntiva che una quantificazione della carica micobatterica.

I bacilli acido-resistenti, fra cui il *Mycobacterium tuberculosis*, possono essere colorati con anilina e sono resistenti alla decolorazione con acido e alcol. Questo trattamento, seguito da una colorazione di contrasto, consente di distinguere i bacilli acido-resistenti da altri organismi e particelle che reagiscono esclusivamente alla colorazione di contrasto. Tuttavia, i metodi di colorazione generalmente utilizzati per l'analisi microscopica di bacilli acido-resistenti generano uno striscio la cui lettura può risultare complessa e richiedere molto tempo. La colorazione con auramina O e auramina-rodamina si è dimostrata efficace nell'analisi microscopica a fluorescenza dei micobatteri. Le relazioni riguardanti il meccanismo di colorazione riportano risultati contrastanti; secondo alcune di queste, l'auramina O si lega alla parete cellulare dei micobatteri² e la colorazione si lega "alla maggior parte o alla totalità" dell'acido nucleico presente nei micobatteri³. Ciononostante, è stato dimostrato che i metodi di colorazione con auramina O presentano una maggiore sensibilità rispetto ai metodi di microscopia a luce trasmessa nel rilevamento di batteri acido-resistenti⁴. Questa maggiore sensibilità è principalmente dovuta al notevole contrasto che la colorazione fluorescente conferisce ai batteri acido-resistenti, che assumono una colorazione verde su sfondo scuro. La maggior distinzione consente l'uso di obiettivi con campi visivi di maggiori dimensioni, riducendo quindi i tempi complessivi di analisi.

I metodi tradizionali di colorazione con auramina rappresentano un progresso significativo rispetto ai metodi tradizionali; tuttavia, la procedura di colorazione richiede ancora molto tempo. Il kit di colorazione con auramina O QBC F.A.S.T. semplifica ulteriormente la procedura grazie a una combinazione esclusiva di colorante spegnitore e decolorante, con un processo rapido in quattro fasi, della durata di soli 2 minuti.

Contenuti

Questo kit comprende i seguenti prodotti:

- Colorazione con auramina O QBC F.A.S.T. (120 ml, 250 ml, or 3,8 l)
- Decolorante/colorante spegnitore QBC F.A.S.T. (120 ml, 250 ml, or 3,8 l)
- Inserto confezione

Avvertenze e precauzioni

Per l'uso diagnostico *in vitro*

I campioni clinici umani possono contenere agenti infettivi, fra cui gli agenti causali di tubercolosi, epatite, virus dell'immunodeficienza umana (HIV) e di altre patologie. Si raccomanda di attenersi alle precauzioni generalmente accettate, nonché alle linee guida e alle normative locali per la manipolazione di campioni clinici. Tutte le attività che possono generare aerosol da campioni clinici devono essere svolte all'interno di una cappa di biosicurezza. Le attività che prevedono la coltura di *Mycobacterium tuberculosis* devono essere effettuate nel rispetto delle procedure e delle pratiche di Biosicurezza di Livello 3.

Le sostanze chimiche in questo kit sono pericolose e possono essere nocive o letali. Utilizzare in un'area ben ventilata, indossando dispositivi di protezione individuale adeguati. Tenere il prodotto lontano da fiamme libere. Consultare la scheda di sicurezza (MSDS) del kit per ulteriori informazioni sulle procedure di sicurezza e smaltimento.

Questo prodotto è progettato per facilitare il rilevamento dei bacilli acido-resistenti. L'analisi microscopica dell'espettorato e le procedure di preparazione e trattamento dei campioni per il rilevamento di bacilli acido-resistenti (AFB) devono essere effettuate soltanto da personale adeguatamente formato in merito alle relative tecniche, nonché alle pratiche e alle procedure generiche di laboratorio.

Modalità di conservazione

Conservare a una temperatura compresa fra 15 °C e 25 °C. Tenere al riparo dalla luce. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

Procedura di colorazione

Il kit di colorazione con auramina O *F.A.S.T.* può essere utilizzato su campioni di espettorato appena prelevati, concentrati e campioni sottoposti a coltura.

1. Termofissare il vetrino contenente lo striscio di campione
2. Applicare la colorazione auramina O *F.A.S.T.* e lasciare in posa per 1 minuto
3. Sciacquare delicatamente lo striscio con acqua deionizzata o di rubinetto, quindi lasciarlo sgocciolare
4. Applicare il decolorante/colorante spegnitore *F.A.S.T.* sul vetrino e lasciare in posa per 1 minuto
5. Sciacquare delicatamente lo striscio con acqua deionizzata o di rubinetto, quindi lasciarlo sgocciolare. Far asciugare il vetrino
6. Esaminare il vetrino utilizzando il sistema QBC ParaLens o un sistema equivalente per la microscopia a fluorescenza

Controllo qualità

Si raccomanda l'uso periodico dei vetrini di controllo qualità QBC Diagnostics (codice catalogo 427402) per il controllo dei reagenti e della procedura di colorazione. Le procedure di controllo della qualità devono rispettare le normative governative pertinenti.

In caso di esito negativo del controllo qualità, non registrare i risultati relativi al paziente prima di aver individuato e risolto il problema. L'esito negativo di un controllo positivo può indicare il deterioramento del reagente colorante. Se la colorazione del controllo positivo appare scarsamente fluorescente o affatto fluorescente, non utilizzare la colorazione su campioni di pazienti.

Risultati previsti

I micobatteri e altri bacilli acido-resistenti assumono una colorazione verde fluorescente su sfondo scuro se visualizzati con un microscopio a fluorescenza configurato con filtro di eccitazione blu e filtro di emissione verde (es. filtro di eccitazione: 435-480 nm; filtro di emissione: 510-600 nm). Tutti gli altri organismi non sono visibili. La fluorescenza di un bacillo può indicare la sua appartenenza alla specie dei *Mycobacterium*.

Limitazioni

È possibile che alcuni micobatteri a crescita rapida non assumano una colorazione fluorescente con questa colorazione. Per questi campioni, si raccomanda l'uso delle metodiche di Ziehl-Neelsen, di Kinyoun o di altre tecniche di colorazione. La fluorescenza degli strisci si attenua col tempo; si raccomanda pertanto di analizzare i campioni colorati nel minor tempo possibile. Un risultato positivo evidenzia la presenza di micobatteri; allo stesso tempo, un risultato negativo non esclude la presenza di un'infezione. Si consiglia l'uso di altri metodi diagnostici, come la coltura o la PCR.

I reagenti di colorazione *F.A.S.T.* possono deteriorarsi se esposti a temperature eccessive. Effettuare sempre il controllo qualità per determinare l'integrità della colorazione prima di registrare i risultati relativi ai pazienti. Non utilizzare la colorazione in caso di esito negativo del controllo qualità.

Strumenti necessari ma non forniti

Il Kit di colorazione con auramina O QBC *F.A.S.T.* è progettato per l'uso con un sistema di microscopia a fluorescenza con eccitazione a 425-480 nm e trasmissione della fluorescenza a un minimo di 510-600 nm. Gli strumenti necessario comprendono vetrini, uno scaldavetrini o un becco Bunsen.

Bibliografia

1. Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO). (2009) Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO Report 2009. WHO Press, Ginevra, Svizzera.
2. Baron, E.J. e S.M. Finegold. (1990) Baily & Scott's Diagnostic Microbiology, ottava edizione. The CV Mosby Company, Baltimore, Maryland.
3. Steingart K. R., et al. (2007) Fluorescence versus conventional for sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infectious Disease* 6:570-81.
4. Hanscheid, T. (2008) The future looks bright: low-cost fluorescencnt microscopes for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Coccidia*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Elsevier Ltd., 520-521.

Modalità d'ordine

Kit di colorazione con auramina O QBC *F.A.S.T.*:

Dimensioni	Codice Cat.
Kit di prova	427422
120 ml Kit	427404
250 ml Kit	427424
3,8 l Kit	427425



Drucker Diagnostics
200 Shady Lane, Suite 170, Philipsburg PA, 16866
+1-814-692-7661, www.druckerdiagnostics.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP, L'Aia, Paesi Bassi
Tél. : +31 (0) 70-345-8570, Fax : +31 (0) 70-346-7299



Produttore



Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea



Utilizzare entro



Codice catalogo



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Limiti di temperatura



Codice del lotto (partita)



Consultare le istruzioni per l'uso



Caustico



Infiammabile