

BacterLab Division



THUỐC NHUỘM VI SINH VẬT

BacterStain™ Bộ thuốc nhuộm Ziehl Neelsen

Thuốc thử thực nghiệm soi nhuộm để phát hiện vi khuẩn kháng cồn kháng acid.

Code: 04002



I. MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

BacterStain™ Bộ thuốc nhuộm Ziehl Neelsen được sử dụng để nhuộm vi khuẩn để khảo sát tính chất để phát hiện vi khuẩn kháng cồn kháng acid.

II. NGUYÊN TẮC

BacterStain™ Bộ thuốc nhuộm Ziehl Neelsen dựa trên sự khác nhau về cấu trúc của vách tế bào một số Mycobacteria có một lượng lớn acid mycolic nên khi sử dụng phương pháp nhuộm Gram truyền thống một số vi khuẩn này rất khó bắt màu. Vì vậy, phải sử dụng phương pháp nhuộm kháng cồn kháng acid để quan sát một số vi khuẩn.

Phương pháp nhuộm Ziehl-Neelsen sử dụng hai hoá chất nhuộm màu là carbol fuchsin và xanh methylen kết hợp với chất tẩy màu (hỗn hợp acid-alcohol) để phát hiện một số trực khuẩn kháng cồn kháng acid.

III. THÀNH PHẦN

- BacterStain™ Carbon Fuchsin (Code: 04004)
- BacterStain™ Alcohol acid (Code: 04009)
- BacterStain™ Methylene blue (Code: 04006)

**Lưu ý: thành phần này mang tính chất tham khảo ngoài ra công ty chúng tôi sẽ pha chế thành phần theo yêu cầu hoặc theo hồ sơ thầu.*

IV. HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Làm tiêu bản

- Chuẩn bị lam kính sạch, không xước vỡ, nhúng vào dung dịch ethanol 95%.
- Sử dụng kẹp gấp lam kính, để ráo cồn, hơ lam kính trên ngọn lửa đèn cồn.
- Dán nhãn thông tin mẫu bệnh phẩm.
- Sử dụng bút viết kính khoanh tròn, đánh dấu vị trí phết bệnh phẩm, ở mặt dưới lam kính.
- Bệnh phẩm lâm sàng nghi ngờ có chứa *Mycobacteria* như: Đàm, dịch phế quản, dịch não tủy, một số loại dịch khác, mô ... Hoặc khuẩn lạc (khóm) từ nuôi cấy thuần.
- Ly tâm bệnh phẩm, đổ bỏ nước nổi, lấy cặn.
- Sử dụng que cấy vô trùng lấy 1 vòng ống (đường kính 3mm), hoặc nhỏ một giọt bệnh phẩm lên lam kính.
- Nếu là đàm:
 - + Mở nắp cốc đàm nhẹ nhàng, đặt nắp ngửa trên khay inox.
 - + Sử dụng đầu vát của que phết bằng chọn lấy chỗ đàm nhầy mũ nhẹ nhàng cắt mẫu đàm bằng phương pháp di cạnh vát que gỗ vào thành cốc đàm (lưu ý: mỗi bệnh phẩm sử dụng que phết riêng).
 - + Đậy nắp cốc đàm.
 - + Đặt que phết có mẫu bệnh phẩm vào giữa lam kính và dàn theo vòng xoắn ốc từ trong ra ngoài, dàn đều đặn liên tục tạo độ mịn, dày vừa phải hình ô van kích thước dài 2 cm rộng 1cm.
 - + Ngâm que phết sau khi dàn vào dung dịch sát khuẩn phenol 5% hoặc Javel 0,5%.

Cố định tiêu bản

- Để tiêu bản khô tự nhiên trong tủ ATSH hoặc làm khô ở 60 °C
- Cố định tiêu bản.
- Đặt tiêu bản lên mâm kính và để tiêu bản khô tự nhiên hoàn toàn ở nhiệt độ phòng (18 – 25 °C).

Phủ thuốc nhuộm

- Đặt tiêu bản lên giá nhuộm.
- Nhuộm màu:
 - + Phủ đầy dung dịch Carbol fuchsin (**Code: 04004**) lên mặt tiêu bản đã được cố định.
 - + Hơ nóng trên ngọn lửa đèn cồn đến khi bốc hơi (không được để sôi) 1 lần.
 - + Để nguội tự nhiên trong 5 phút.
 - + Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ.
- Tẩy màu:
 - + Phủ đầy dung dịch Alcohol acid (**Code: 04009**)
 - + Duy tiêu bản trong 2 phút.
 - + Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ.
- Nhuộm nền:
 - + Phủ dung dịch Methylene blue (**Code: 04006**) trong 1-2 phút.
 - + Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ
- Làm khô tiêu bản trước khi soi kính.

Soi kính hiển vi

- Lau thị kính, vật kính và tụ quang bằng giấy lau chuyên dụng.
- Xoay vật kính X10 vào trục quang học.
- Đặt tiêu bản lên mâm kính, sử dụng vật kính X10 để lấy vi trường.
- Nhỏ một giọt dầu soi vào đầu trái của vết dán, để giọt dầu rơi tự do không chạm đầu ống nhỏ giọt vào vết dán tránh nhiễm chéo.
- Xoay vật kính X100 vào trục quang học. Dầu soi tạo thành 1 lớp mỏng giữa vật kính X100 và tiêu bản.
- Không để vật kính chạm tiêu bản.
- Điều chỉnh ốc vi cấp nhẹ nhàng để nhìn hình ảnh rõ nét.
- Cách soi: cần phải hệ thống và chuẩn hóa, soi dòng giữa từ trái sang phải (tương đương với 100 vi trường). Điều chỉnh ốc vi cấp cho hình ảnh rõ nét nhất, quan sát kỹ từ ngoại vi vào trung tâm vi trường để phát hiện AFB. Đọc xong vi trường thứ nhất, chuyển sang đọc các vi trường kế tiếp cho đến hết dòng. Khi cần đọc >100 vi trường, chuyển dòng kế tiếp từ phải qua trái

V. ĐỌC KẾT QUẢ

- *Mycobacterria*: màu đỏ/ hồng.
- Canh trường còn lại: màu xanh dương

Hình ảnh AFB từ bệnh phẩm: AFB có hình que mảnh, hơi cong, bắt màu đỏ, đứng riêng biệt hay xếp thành từng cụm, dễ nhận biết trên nền xanh. Đếm số lượng AFB và ghi kết quả theo qui định như bảng 1.

Số lượng AFB	Kết quả	Phân loại
0 AFB/ 100 vi trường		Âm tính
1 – 9 AFB/ 100 vi trường	Dương tính	Ghi số lượng AFB cụ thể
10 – 99 AFB/ 100 vi trường	Dương tính	1+
1 – 10 AFB/ 1 vi trường (soi ít nhất 50 vi trường)	Dương tính	2+
> 10 AFB/ 1 vi trường (soi ít nhất 20 vi trường)	Dương tính	3+

Hình ảnh AFB từ khuẩn lạc trên nuôi cấy đặc: AFB màu đỏ xếp thành đám dày đặc hoặc thành từng búi lớn.

- Hình ảnh AFB từ tuýp MGIT(+): AFB màu đỏ kết thành cuộn thừng (cord forming) hoặc thành đám hoặc rải rác riêng biệt.

VI. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

BacterLab dùng chủng chuẩn để kiểm tra chất lượng cho mỗi lô sản phẩm.

Chủng chuẩn	Điều kiện	Kết quả
<i>Tiêu bản dương</i>	Vật kính 100X	AFB bắt màu đỏ trên nền xanh sáng, không thấy cặn thuốc nhuộm
<i>Tiêu bản âm</i>		Không thấy AFB

VII. ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN

- Bảo quản lưu trữ: Nhiệt độ môi trường
- Vận chuyển: Nhiệt độ môi trường.

VIII. QUY TẮC ĐÓNG GÓI

- Đóng gói thành phần: Alcohol acid; Carbol fuchsin; Methylene blue: 100 mL/ chai hoặc theo yêu cầu của khách hàng.
- Bộ nhuộm: 3 chai hoặc theo yêu cầu của khách hàng

IX. HẠN SỬ DỤNG

- Hạn sử dụng: 24 tháng kể từ ngày sản xuất.

BacterLab is Brand of LABone Scientific Equipment Co.ltd.

Nhà máy: Số 228/13/3 Nguyễn Thị Lăng, Xã Tân Phú Trung, Huyện Củ Chi, Tp.HCM

Hotline: 0978 782 147 | Email: info@labone.vn | Website: www.labone.vn