

**Artisan™
Acid-Fast Bacillus
(AFB) Stain Kit**

**ENGLISH
Code AR162****Intended use**

For In Vitro Diagnostic Use.

Acid-Fast Bacillus (AFB) Stain Kit is intended for laboratory use to identify, by light microscopy, acid-fast bacilli, such as Mycobacterium, in tissue samples.^{1,2} Routinely processed samples (paraffin-embedded) may be used. The preferred fixative is neutral buffered formalin. The clinical interpretation of any staining, or its absence, should be complemented by morphological studies and proper controls, and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. All reagents in the AFB Stain Kit have been optimally prepared for use on Dako's Artisan Staining System and require no mixing or diluting.

Summary and explanation

The AFB Stain Kit is typically used to identify acid-fast bacilli, such as Mycobacterium. This procedure is based on the work of Ziehl-Neelsen¹ and utilizes a Carbol Fuchsin solution to which phenol has been added. The addition of phenol acts as a mordant between the bacilli and staining solution. This species of bacteria retains the Carbol Fuchsin after being treated with Acid Decolorizer, thus the name Acid-Fast.

Principle of procedure

Acid-fast organisms typically do not stain with Hematoxylin and Eosin and are difficult to demonstrate by the Gram technique, because they possess a hydrophobic capsule containing mycolic acid, a long-chain fatty acid.¹ The AFB Stain Kit is a modification of the original Ziehl-Neelsen method.²

The AFB Stain Kit is optimized for use on the Artisan Staining System. Wash steps follow all of the staining steps. Following staining, the air dried slides are removed from the instrument cleared with xylene or xylene substitute and mounted with appropriate mounting media. Results are interpreted using a standard light microscope.

Control Tissue: Lung infected with Acid Bacteria Bacillus

Reagents provided

The AFB Stain Kit is composed of three ready-to-use dispenser packs, each one containing:

Carbol Fuchsin**CARBOL FUCHSIN**

0.9% Basic Fuchsin, 4.3% Phenol and 9% Alcohol in deionized water

Acid Alcohol 1%**ACID ALCOHOL 1%**

70% Alcohol with 1% Hydrochloric Acid

Methylene Blue**METHYLENE BLUE**

1% Methylene Blue in deionized water containing antimicrobial agents

The Carbol Fuchsin reagent pack should be agitated before priming.

Dako provides these reagents at optimal formulation for use according to the instructions provided for staining on prepared tissue sections. Any deviation from the recommended test procedures may invalidate declared expected results.

Materials required, but not supplied

1. Microscope slides
2. Artisan Staining System
3. Wash Solution (code AR102)

Precautions

1. For professional users.
2. Minimize microbial contamination of reagents or increase in nonspecific staining may occur.
3. Reagent packs may contain residual solution after completing the prescribed number of tests.
4. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any changes made to the factory-released procedure.
5. Store reagent packs in an upright position when not in use on the instrument.
6. Keep reagent packs out of direct sunlight and away from heat-generating sources.
7. As a general rule, persons under 18 years of age are not allowed to work with this product. Users must be carefully instructed in the proper work procedures, the dangerous properties of the product and the necessary safety instructions. Please refer to Safety Data Sheet (SDS) for additional information.
8. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
9. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
10. Safety Data Sheet available for professional users on request.



Danger

Carbol Fuchsin: 1-5% Phenol, 0.1-1% 4,4'-(4-Iminocyclohexa-2,5-dienylidene)methyl)dianiline hydrochloride

H314	Causes severe skin burns and eye damage.
H360	May damage fertility or the unborn child.
H341	Suspected of causing genetic defects.
H351	Suspected of causing cancer.
H373	May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.
P201	Obtain special instructions before use.
P202	Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
P281	Use personal protective equipment as required.
P280	Wear protective gloves. Wear eye or face protection. Wear protective clothing.
P260	Do not breathe vapor.
P264	Wash hands thoroughly after handling.
P314	Get medical attention if you feel unwell.
P308 + P313	IF exposed or concerned: Get medical attention.
P304 + P340 + P310	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER or physician.
P301 + P310 + P330 + P331	IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or physician. Rinse mouth. Do NOT induce vomiting.
P303 + P361 + P353 + P363 + P310	IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water or shower. Wash contaminated clothing before reuse. Immediately call a POISON CENTER or physician.
P305 + P351 + P338 + P310	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER or physician.
P405	Store locked up.
P501	Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, national and international regulations.



Danger

Acid Alcohol, 1%: 30-60% Ethanol, 3-<10% Methanol

H225	Highly flammable liquid and vapor.
H314	Causes severe skin burns and eye damage.
H360	May damage fertility or the unborn child.
H371	May cause damage to organs.
H335	May cause respiratory irritation.
H336	May cause drowsiness and dizziness.
H373	May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.
P201	Obtain special instructions before use.
P202	Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
P281	Use personal protective equipment as required.
P280	Wear protective gloves. Wear eye or face protection. Wear protective clothing.
P210	Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
P241	Use explosion-proof electrical, ventilating, lighting and all material-handling equipment.
P242	Use only non-sparking tools.
P243	Take precautionary measures against static discharge.
P233	Keep container tightly closed.
P271	Use only outdoors or in a well-ventilated area.
P260	Do not breathe vapor.
P270	Do not eat, drink or smoke when using this product.
P264	Wash hands thoroughly after handling.
P314	Get medical attention if you feel unwell.
P309 + P311	IF exposed or if you feel unwell: Call a POISON CENTER or physician.

P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER or physician.

P301 + P310 + P330 + P331 IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or physician. Rinse mouth. Do NOT induce vomiting.

P303 + P361 + P353 + P363 + P310 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water or shower. Wash contaminated clothing before reuse. Immediately call a POISON CENTER or physician.

P305 + P351 + P338 + P310 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER or physician.

P405 Store locked up.

P403 Store in a well-ventilated place.

P235 Keep cool.

P501 Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, national and international regulations.



Warning

Methylene Blue: 0.1-1%

H317 May cause an allergic skin reaction.

P280 Wear protective gloves.

P261 Avoid breathing vapor.

P272 Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.

P302 + P352 + P363 IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. Wash contaminated clothing before reuse.

P333 + P313 If skin irritation or rash occurs: Get medical attention.

P501 Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, national and international regulations.

Storage

Each component should be stored at the temperature indicated on the label. Do not use after expiration date. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, appropriate tissue must be run as controls for such verification. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures or improper storage, contact Dako Technical Support.

Instrument procedure / Staining procedure

Preliminary Comments

Please refer to the *Artisan Operator's Manual* for detailed instructions.

Priming Reagent Packs

Before beginning staining, reagent packs should be primed and checked for leakage. Check the prime of each reagent pack when a new kit is used and before the first staining run of the day.

1. Over a paper towel, if present, remove the red or black shipping cap from the dispense assembly of the reagent pack by gently pulling down on the cap.
2. To prime a reagent pack when it is first received, hold the reagent pack with the dispenser assembly pointed downward and lightly tap on the side of the reagent pack 2–3 times to release any air bubbles that may be trapped in the dispenser assembly.
3. Fully compress and release the plunger 3–4 times in rapid succession, taking care to absorb any expelled fluid into a paper towel, absorbent gauze, or similar material, until a steady stream is obtained.
4. Avoid dispensing excess amounts of reagent during priming. Excessive priming will result in reagent loss, which may cause the reagent pack to run out of fluid before the stated number of tests is performed.
5. Before each use, reagent packs may be primed 1–2 times, checking for a steady stream.
6. Holding the reagent pack in one hand, slide the mounting guide on the back of the reagent pack into the slots on the reagent carousel until the pack is completely seated.

Procedure

Refer to the *Procedure Report* section in the *Artisan Host Software* for the recommended detailed procedure.

Note: After staining is completed, slides will be dry. Do Not Dip in Alcohol as this will further differentiate the stain. Dip in xylene or xylene substitute and permanently mount.

The use of the Artisan Clearing Solution in combination with the AFB Kit may reduce the amount of target bacteria stained by the Acid Fast Bacillus Kit.

Staining interpretation

Acid-fast bacilli:**Varying shades of red**
 Background:**Light blue**

Performance characteristics

Reproducibility

Intra-run reproducibility of 100% was determined by staining 12 slides containing the same control tissue on one instrument.
Inter-run reproducibility of 100% was determined by staining 12 slides containing the same control tissue on three different instruments.

Troubleshooting

Refer to the Maintenance and Troubleshooting section of your *Artisan Operator's Manual* or contact our Technical Support.

FRANÇAIS

Réf. AR162

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

Le kit Acid-Fast Bacillus (AFB) Stain Kit est destiné à un usage en laboratoire pour identifier, par microscopie optique, les bacilles acido-résistants telles les mycobactéries, dans les échantillons de tissu.¹⁻² Des échantillons traités en routine (inclus en paraffine) peuvent être utilisés. Le fixateur préféré est le formol neutre tamponné. L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Tous les réactifs du AFB Stain Kit ont été optimisés pour être utilisés sur le Dako Artisan Staining System et ne nécessitent aucun mélange et aucune dilution.

Résumé et explication

Le kit AFB Stain Kit est généralement utilisé pour identifier les bacilles acido-résistants, telles les mycobactéries. Cette procédure est basée sur les travaux de Ziehl-Neelsen¹ et utilise une solution de carbol fuchsine à laquelle on a ajouté du phénol. L'ajout de phénol agit comme mordant entre les bacilles et la solution de coloration. Ce type de bactérie retient la carbol fuchsine après avoir été traitée avec de l'acide décolorant.

Principe de la procédure

Les organismes acido-résistants ne sont généralement pas colorés par l'hématoxyline et l'éosine et sont difficilement mis en évidence par la technique de Gram car ils possèdent une enveloppe hydrophobe contenant de l'acide mycolique, acide gras à longue chaîne.¹ Le kit AFB Stain Kit est une modification de la méthode originale de Ziehl-Neelsen.²

Le kit AFB Stain Kit est optimisé pour une utilisation sur l'Artisan Staining System. Des étapes de lavage suivent toutes les étapes de coloration. Après la coloration, les lames séchées à l'air libre sont retirées de l'instrument, rincées au xylène ou avec un substitut de xylène puis montées avec un milieu de montage approprié. Un microscope optique standard est utilisé pour l'interprétation des résultats.

Tissu de contrôle : poumon infecté par une bactérie acide de type bacille

Réactifs fournis

Le kit AFB Stain Kit est composé de trois blocs de distribution prêts à l'emploi, qui contiennent chacun :

Carbol fuchsine

CARBOL FUCHSIN

0,9 % de fuchsine basique, 4,3 % de phénol et 9 % d'alcool dans de l'eau déionisée

Acide-alcool à 1 %

ACID ALCOHOL 1%

70 % d'alcool avec 1 % d'acide chlorhydrique

Bleu de méthylène

METHYLENE BLUE

1 % de bleu de méthylène dans de l'eau déionisée contenant des agents antimicrobiens

La cartouche de réactif Carbol Fuchsin doit être agitée avant l'amorçage.

Dako fournit ces réactifs à une formulation optimale pour une utilisation conforme aux instructions fournies pour la coloration sur des coupes de tissus préparées. Toute modification par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus et obtenus.

Matériels requis mais non fournis

1. Lames de microscope
2. Artisan Staining System
3. Wash Solution (réf. AR102)

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Réduire toute contamination microbienne des réactifs faute de quoi une augmentation de la coloration non spécifique peut se produire.
3. Les cartouches de réactif peuvent contenir des résidus de réactifs après avoir effectué le nombre de tests.
4. Des temps ou températures d'incubation autres que ceux indiqués peuvent produire des résultats erronés. L'utilisateur doit valider tout changement apporté à la procédure d'usine.
5. Stocker les cartouches de réactif en position verticale lorsqu'elles ne sont pas utilisées sur l'instrument.
6. Conserver les cartouches de réactif à l'abri de la lumière du soleil directe et d'autres sources de chaleur.
7. En règle générale, il n'est pas permis aux personnes âgées de moins de 18 ans de manipuler ce produit. Les utilisateurs doivent être formés aux procédures de travail adéquates, aux propriétés dangereuses du produit et aux instructions de sécurité nécessaires. Veuillez vous rapporter à la fiche technique de sécurité (SDS) pour plus d'informations.
8. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
9. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.
10. La Fiche technique de sécurité destinée aux utilisateurs professionnels est disponible sur demande.



Dangereux

Fuchsine carbolique : 1-5% phénol, 0,1-1% chlorhydrate de 4,4'-(4-iminocyclohexa-2,5-diénylidèneméthylène)dianiline

H314	Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.
H360	Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.
H341	Susceptible d'induire des anomalies génétiques.
H351	Susceptible de provoquer le cancer
H373	Peut endommager les organes suite à des expositions répétées ou à une exposition prolongée.
P201	Se procurer les instructions avant utilisation.
P202	Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
P281	Utiliser l'équipement de protection individuel requis.
P280	Porter des gants de protection. Porter un équipement de protection du visage ou des yeux. Porter un vêtement de protection.
P260	Ne pas respirer les vapeurs.
P264	Se laver soigneusement les mains après manipulation.
P314	Consulter un médecin en cas de malaise.
P308 + P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : Consulter un médecin.
P304 + P340 + P310	EN CAS D'INHALATION : Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P301 + P310 + P330 + P331	EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Rincer la bouche. Ne PAS faire vomir.
P303 + P361 + P353 + P363 + P310	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les poils) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P305 + P351 + P338 + P310	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P405	Garder sous clef.
P501	Éliminer le contenu et le récipient conformément à l'ensemble des réglementations locales, régionales, nationales et internationales.



Dangereux

Alcool acide, 1 %:	30-60% éthanol, 3-< 10% méthanol
H225	Liquide et vapeurs très inflammables.
H314	Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.
H360	Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.
H371	Peut endommager les organes.
H335	Peut irriter les voies respiratoires.
H336	Peut provoquer somnolence et vertiges.
H373	Peut endommager les organes suite à des expositions répétées ou à une exposition prolongée.
P201	Se procurer les instructions avant utilisation.
P202	Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
P281	Utiliser l'équipement de protection individuel requis.
P280	Porter des gants de protection. Porter un équipement de protection du visage ou des yeux. Porter un vêtement de protection.
P210	Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'ignition. Ne pas fumer.
P241	Utiliser du matériel électrique, de ventilation, d'éclairage et de manipulation antidéflagrant
P242	Utiliser des outils ne produisant pas d'étincelles.
P243	Prendre des mesures de précaution contre les décharges électrostatiques.
P233	Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
P271	Utiliser seulement en plein air ou dans un endroit bien ventilé.
P260	Ne pas respirer les vapeurs.

P270	Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.
P264	Se laver soigneusement les mains après manipulation.
P314	Consulter un médecin en cas de malaise.
P309 + P311	EN CAS d'exposition ou d'un malaise : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P304 + P340 + P310	EN CAS D'INHALATION : Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P301 + P310 + P330 + P331	EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Rincer la bouche. Ne PAS faire vomir.
P303 + P361 + P353 + P363 + P310	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les poils) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P305 + P351 + P338 + P310	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
P405	Garder sous clef.
P403	Stocker dans un endroit bien ventilé.
P235	Tenir au frais.
P501	Éliminer le contenu et le récipient conformément à l'ensemble des réglementations locales, régionales, nationales et internationales.



Avertissement

Bleu de méthylène : 0,1-1%

H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
P280	Porter des gants de protection.
P261	Éviter de respirer les vapeurs.
P272	Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail.
P302 + P352 + P363	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.
P333 + P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : Consulter un médecin.
P501	Éliminer le contenu et le récipient conformément à l'ensemble des réglementations locales, régionales, nationales et internationales.

Conservation

Chaque composant doit être conservé à la température indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, un tissu approprié doit être testé comme contrôle pour permettre une telle vérification. Si une coloration inattendue est observée, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire ou une mauvaise conservation, contacter l'assistance technique de Dako.

Procédure d'utilisation de l'instrument / Procédure de coloration

Commentaires préliminaires

Se référer au Guide de l'utilisateur de l'instrument *Artisan* pour des instructions détaillées.

Amorçage des cartouches de réactif

Avant de lancer la coloration, les cartouches de réactif doivent être amorcées et vérifiées afin de déceler toute fuite. Vérifier l'amorçage de chaque cartouche de réactif lorsqu'un nouveau kit est utilisé et avant la première coloration de la journée.

1. Sur une serviette en papier, retirer le cas échéant le bouchon de transport rouge ou noir du bloc de distribution de la cartouche de réactif en tirant doucement sur le bouchon.
2. Pour amorcer une cartouche de réactif qui vient d'être déballée, tenir la cartouche avec le bloc de distribution orienté vers le bas et taper doucement 2 ou 3 fois sur le côté de la cartouche pour libérer toute bulle d'air susceptible d'être emprisonnée dans le bloc de distribution.
3. Enfoncer et relâcher complètement le piston 3 à 4 fois rapidement, en prenant soin d'absorber tout liquide expulsé dans une serviette en papier, de la gaze absorbante ou autre tissu similaire, jusqu'à obtention d'un flux régulier.
4. Éviter de déverser des quantités excessives de réactif pendant l'amorçage. Un amorçage excessif entraîne une perte de réactif, qui peut provoquer un manque de liquide dans la cartouche avant que le nombre de tests prévu ne soit réalisé.
5. Avant chaque utilisation, les cartouches de réactif doivent être amorcées 1 ou 2 fois, en vérifiant la régularité du flux.
6. En tenant la cartouche d'une main, faire glisser le guide de montage à l'arrière de la cartouche dans les fentes sur le carrousel des réactifs jusqu'à ce que la cartouche soit bien enclenchée.

Procédure

Se référer à la section *Rapports de procédure* dans le logiciel *Artisan* pour la procédure détaillée recommandée.

Remarque : Une fois la coloration terminée, les lames seront sèches. Ne pas tremper dans de l'alcool car ceci différencie encore la coloration. Tremper dans du xylène ou un substitut de xylène puis monter à l'aide d'un milieu de montage permanent.

L'utilisation de la solution de rinçage *Artisan* en association avec le kit AFB peut réduire la quantité de bactéries cibles colorées par le kit bacille acidorésistant.

Interprétation de la coloration

Bacilles acido-résistants : **Diverses nuances de rouge**

Fond : **Bleu clair**

(127138-001)

P04003_EFG01/AR162/2015.04 p. 6/10

Caractéristiques de performance

Reproductibilité

Une reproductibilité intra-cycle de 100 % a été déterminée en colorant 12 lames contenant le même tissu de contrôle sur un instrument. Une reproductibilité inter-cycles de 100 % a été déterminée en colorant 12 lames contenant le même tissu de contrôle sur trois instruments différents.

Dépannage

Se référer à la section Maintenance et Dépannage du Guide de l'utilisateur de l'instrument *Artisan* ou contacter l'assistance technique.

DEUTSCH

Code-Nr. AR162

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Das Acid-Fast Bacillus (AFB) Stain Kit wird im Labor verwendet, um säurefeste Bakterien („Acid-Fast Bacilli“, AFB) wie *Mycobacterium* in Gewebeproben unter dem Lichtmikroskop nachzuweisen.^{1,2} Hierzu können routinemäßig fixierte, paraffineingebettete Proben verwendet werden. Zur Fixierung wird neutral gepuffertes Formalin empfohlen. Die klinische Auswertung einer Färbung oder deren Ausbleiben muss durch morphologische Studien und geeignete Kontrollen bestätigt werden und unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen. Die Reagenzien im AFB Stain Kit wurden für die Verwendung auf dem Dako Artisan Staining System optimal formuliert und müssen weder gemischt noch verdünnt werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Das AFB Stain Kit ist für den Nachweis säurefester Bakterien wie *Mycobacterium* bestimmt. Dieses Verfahren beruht auf der von Ziehl-Neelsen¹ entwickelten Methode und verwendet eine phenolhaltige Karbolfuchsinlösung. Das Phenol dient als Beizmittel für die Bakterien und die Färbelösung. Die Bezeichnung „säurefest“ geht darauf zurück, dass diese Bakterienspezies das Karbolfuchsin auch bei einer Behandlung mit saurem Entfärber zurückhalten.

Verfahrensprinzip

Säurefeste Organismen können in der Regel nicht mit Hämatoxylin und Eosin angefärbt werden und sind daher mit Gram-Verfahren schwierig nachzuweisen, denn sie verfügen über eine hydrophobe Kapsel, die Mykolsäure, eine langkettige Fettsäure, enthält. Das AFB Stain Kit ist eine Modifikation des ursprünglichen Verfahrens nach Ziehl-Neelsen.²

Das AFB Stain Kit wurde für das Artisan Staining System optimiert. Auf jeden Färbeschritt folgt ein Waschschriff. Nach der Färbung werden die luftgetrockneten Objektträger aus dem Gerät entnommen, mit Xylol oder Xylolersatz gereinigt und mit geeigneten Fixiermitteln fixiert. Ergebnisse werden mit Hilfe eines Standard-Lichtmikroskops ausgewertet.

Kontrollgewebe: Lunge, infiziert mit Säurebakterien

Mitgelieferte Reagenzien

Das AFB Stain Kit besteht aus drei gebrauchsfertigen Spenderpackungen mit jeweils folgendem Inhalt:

Karbolfuchsin

CARBOL FUCHSIN

0,9 % basisches Fuchsin, 4,3 % Phenol und 9 % Alkohol in entionisiertem Wasser

Säurealkohol 1 %

ACID ALCOHOL 1%

70 % Alkohol mit 1 % Salzsäure

Methylenblau

METHYLENE BLUE

1 % Methylenblau in entionisiertem Wasser mit antimikrobiellen Substanzen

Der Reagenzienbehälter mit Karbolfuchsin muss vor dem Vorfüllen geschüttelt werden.

Dako liefert diese Reagenzien optimal formuliert für die Verwendung gemäß den entsprechenden Färbearweisungen für Gewebepreparate. Jegliche Abweichung vom empfohlenen Testverfahren kann die erwarteten Ergebnisse ungünstig machen.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

1. Mikroskop-Objektträger
2. Artisan Staining System
3. Wash Solution (Code-Nr. AR102)

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Jegliche mikrobielle Verunreinigung der Reagenzien vermeiden, da diese zu unspezifischen Färbungen führen.
3. Reagenziencontainer können nach Durchführung der vorgesehenen Anzahl Tests noch Lösungsreste enthalten.
4. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten bzw. -temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Alle Abweichungen vom unternehmensseitig freigegebenen Verfahren sind vom Anwender zu validieren.
5. Reagenziencontainer, die nicht in Gebrauch sind, aufrecht aufbewahren.
6. Reagenziencontainer keinem direkten Sonnenlicht aussetzen und nicht in der Nähe von Wärmequellen aufbewahren.
7. Personen unter 18 Jahren dürfen mit diesem Produkt grundsätzlich nicht arbeiten. Anwender müssen ausführlich über die richtigen Arbeitsverfahren, die gefährlichen Eigenschaften des Produkts und die nötigen Vorsichtsmaßnahmen unterrichtet werden. Weitere Informationen bitte dem Sicherheitsdatenblatt (SDS) entnehmen.
8. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Kontakt mit Augen und Haut zu vermeiden.
9. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.
10. Auf Anfrage ist für Fachpersonal ein Sicherheitsdatenblatt erhältlich.



Gefahr

Karbolfuchsin: 1-5% Phenol, 0,1-1% 4,4'-(4-Iminocyclohexa-2,5-Dienylidenemethylen)Dianilinhydrochlorid

- H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
H341 Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.
H351 Kann vermutlich Krebs erzeugen.
H373 Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
P201 Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202 Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P281 Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
P280 Schutzhandschuhe/ Augenschutz/Gesichtsschutz/ Schutzkleidung tragen.
P260 Dampf nicht einatmen.
P264 Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
P314 Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P308 + P313 BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P304 + P340 + P310 BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P301 + P310 + P330 + P331 BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.
P303 + P361 + P353 + P363 + P310 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P305 + P351 + P338 + P310 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P405 Unter Verschluss aufbewahren.
P501 Inhalt und Behälter in Übereinstimmung mit allen örtlichen, regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen der Entsorgung zuführen.



Gefahr

Säure-Alkohol-Lösung, 1%: 30-60% Ethanol, 3-<10% Methanol

- H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
H371 Kann die Organe schädigen.
H335 Kann die Atemwege reizen.
H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H373 Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
P201 Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202 Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P281 Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
P280 Schutzhandschuhe/ Augenschutz/Gesichtsschutz/ Schutzkleidung tragen.
P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen.
P241 Explosionsgeschützte elektrische Betriebsmittel/Lüftungsanlagen/Beleuchtung/Ausrüstung zur Materialhandhabung verwenden.
P242 Nur funkenfreies Werkzeug verwenden.
P243 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen.
P233 Behälter dicht verschlossen halten.
P271 Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
P260 Dampf nicht einatmen.
P270 Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.

P264	Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
P314	Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P309 + P311	BEI Exposition oder Unwohlsein: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P304 + P340 + P310	BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P301 + P310 + P330 + P331	BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.
P303 + P361 + P353 + P363 + P310	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P305 + P351 + P338 + P310	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.
P403	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P235	Kühl halten.
P501	Inhalt und Behälter in Übereinstimmung mit allen örtlichen, regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen der Entsorgung zuführen.



Warnung

Methylenblau: 0,1-1%

H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
P280	Schutzhandschuhe tragen.
P261	Einatmen von Dampf vermeiden.
P272	Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.
P302 + P352 + P363	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
P333 + P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P501	Inhalt und Behälter in Übereinstimmung mit allen örtlichen, regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen der Entsorgung zuführen.

Lagerung

Alle Komponenten müssen bei der auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Zur Prüfung müssen deshalb geeignete Gewebe als Kontrollen getestet werden. Falls eine unerwartete Färbung auftritt, die sich nicht durch Unterschiede bei den Laborverfahren oder unsachgemäße Lagerung erklären lässt, muss der technische Kundendienst von Dako verständigt werden.

Bedienung des Geräts / Färbeverfahren

Vorbemerkungen

Detaillierte Anweisungen bitte dem *Artisan Benutzerhandbuch* entnehmen.

Vorfüllen der Reagenziencontainer

Vor Beginn der Färbung Reagenziencontainer vorfüllen und auf undichte Stellen untersuchen. Reagenziencontainer vor jeder Verwendung eines neuen Kits und vor dem ersten Färbelauf des Tages prüfen und vorfüllen.

1. Möglichst über einem Papiertuch die rote oder schwarze Versandkappe von der Spendereinheit des Reagenziencontainers entfernen, indem die Kappe vorsichtig nach unten gezogen wird.
2. Zum Vorfüllen den neuen Reagenziencontainer mit der Spendereinheit nach unten halten und 2–3 Mal leicht an die Wand des Containers klopfen, um etwaige Luftpockets in der Spendereinheit zu entfernen.
3. Den Kolben 3–4 Mal in schneller Folge vollständig hineindrücken und wieder loslassen. Dabei eventuell austretende Flüssigkeit mit einem Papiertuch, saugfähigem Zellstoff oder ähnlichem Material auffangen, bis ein gleichmäßiger Flüssigkeitsstrahl erzielt wird.
4. Das Austreten zu großer Reagenzienmengen während des Vorfüllens vermeiden. Durch übermäßiges Vorfüllen werden Reagenzien verbraucht und der Container könnte leer werden, bevor die angegebene Anzahl der Tests durchgeführt ist.
5. Reagenziencontainer müssen vor jeder Verwendung 1–2 Mal vorgefüllt und dabei auf einen gleichmäßigen Flüssigkeitsstrahl überprüft werden.
6. Den Reagenziencontainer in einer Hand halten und die Befestigungsschiene hinten am Reagenziencontainer in die Schlitze auf dem Reagenzien-Karussell schieben, bis der Container sicher sitzt.

Verfahren

Siehe Abschnitt *Verfahrensberichte* in der Artisan Host Software für empfohlene Verfahrensanweisungen.

Hinweis: Nach der Färbung sind die Objektträger trocken. Nicht in Alkohol eintauchen, da sonst die Färbung verändert wird. In Xylol oder Xylolersatz eintauchen und permanent fixieren.

Durch die Nutzung der Artisan-Reinigungslösung in Kombination mit dem AFB-Kit wird u. U. die Menge der durch das AFB-Kit gefärbten Zielbakterien verringert.

Auswertung der Färbung

Säurefeste Bakterien: **Verschiedene Rottöne**

Hintergrund: **Hellblau**

Leistungsmerkmale

Reproduzierbarkeit

Das Färben von 12 Objektträgern mit demselben Kontrollgewebe auf einem Gerät ergab eine Reproduzierbarkeit innerhalb eines Durchlaufs von 100 %.

Das Färben von 12 Objektträgern mit demselben Kontrollgewebe auf drei verschiedenen Geräten ergab eine Reproduzierbarkeit bei verschiedenen Durchläufen von 100 %.

Fehlersuche und -behebung











Bitte im Abschnitt Wartung und Fehlersuche und -behebung im *Artisan Benutzerhandbuch* nachschlagen oder unseren Technischen Kundendienst verständigen.

References

Bibliographie

Literaturhinweise

1. Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques, 4th edition, Churchill Livingstone Inc., New York, New York, 1996
2. Luna LG. Manual of Histologic Staining Methods of the AFIP, 3rd edition, McGraw-Hill Book Company, New York, New York, 1968

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum
 Manufacturer Fabricant Hersteller	 Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Contains sufficient for <N> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für „n“ Ansätze
 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU
 Caution, consult accompanying documents Attention : consulter les documents d'accompagnement Achtung, beiliegende Dokumentation beachten		

PT0077/ Rev A



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA
Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763



Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark
Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595
www.dako.com

Edition 04/15