QEEL – QUÍMICA ESPECIALIZADA ERICH LTDA.

FUCSINA FENICADA ZIEHL NEELSEN

"SOMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO"

- Marca: QEEL

- Finalidade:
Produto somente para uso “in vitro”.
Produto para coloração de Bacilos Álcool-Ácido resistentes pelo método de Ziehl-Neelsen em materiais biológicos.

- Principio:
A pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em materiais clínicos constitui a primeira evidência de doença, permitindo assim o início de um tratamento, enquanto aguarda-se o resultado de cultura. O método de Ziehl-Neelsen se executado corretamente, desde a coleta e processamento da amostra até a baciloscopia, permite uma eficácia diagnóstica em 80% dos casos, e por esta razão não deve ser usado como único meio de diagnóstico laboratorial para a tuberculose.

-Reagentes:

Fucsina Básica	2,72 g/L
Álcool Etílico 99,5%	91,11 mL/L
Fenol Liquefeito	48,88 mL/L
Água Deionizada qsp	

- Apresentação:
Frasco de vidro de 500mL ou 1000mL.

- Materiais necessários não inclusos:
- Alça bacteriológica em platina e bico de Bunsen;
- Centrifugador;
- Suporte para coloração;
- Lâminas para coloração;
- Álcool Ácido 3%;
- Azul de Metileno Seg. Loeffler;
- Solução de ácido clorídrico 1N contendo vermelho de fenol;
- Solução de hidróxido de sódio a 4%;
- Tubos de centrífuga.

- Condições de Armazenamento/Transporte:
As datas de vencimento aparecem no rótulo de cada embalagem. Não utilizar reagentes cuja data de validade tenha expirado. O material deve ser armazenado de acordo com os dizeres do rótulo. No caso deste produto, a condição de armazenagem é a temperatura ambiente (15 a 30ºC).
Para manter a integridade do produto, o transporte a longas distâncias deverá ser feito em embalagens que mantenham a temperatura ideal.

- Precauções:
A) Não se tem conhecimento de alterações nas características do produto.
B) Apresenta uma ação irritante.

C) Evitar contato do produto com a pele e mucosa; em caso de contato com a pele lavar a área afetada com água corrente abundante por pelo menos 15 minutos.
D) Não ingerir o produto, caso a ingestão ocorra procurar orientação médica.
E) Não reaproveitar a embalagem.
F) Descartar em local apropriado para dejetos potencialmente contaminados.
G) Após a mistura com amostras de material biológico, devem ser observados os procedimentos padronizados de Boas Práticas de Laboratório para o descarte deste tipo de material.

- Cuidados com a amostra:
A) A amostra deve ser constituída de esfregaços feitos a partir de colônias bacterianas, esfregaços de secreções colhidas em diversas áreas do organismo ou esfregaços de sedimento urinário.
B) A coleta deve ser realizada com cuidado e as amostras devem ser utilizadas frescas.
C) Ter em mente que as amostras utilizadas são materiais biológicos e pedem por cuidados especiais no manuseio; tomar os cuidados normais de manuseio de laboratório.
D) Evitar contato do produto com a pele e mucosa; em caso de contato com a pele lavar a área afetada com água corrente.
E) Não ingerir o produto, caso a ingestão ocorra procurar orientação médica.
F) Utilizar sempre luvas.
G) Utilizar óculos de segurança
H) Utilizar aventais de proteção
I) O material deve ser descartado em um recipiente com uma solução a 0,5% de hipoclorito de sódio,
É importante ressaltar que para a confecção dos esfregaços, as lâminas devem encontrar-se limpas e isentas de gordura.

- Preparação dos reagentes:
A) FUCSINA FENICADA ZIEHL NEELSEN
O reagente se apresenta pronto para uso. É estável até a data de vencimento indicado no rótulo se armazenado em temperatura ambiente (15 a 30ºC).

B) PROCEDIMENTO

B.1 Digestão e descontaminação do escarro (método de Petroff)
a- Em um tubo de centrífuga misturar em partes iguais escarro e solução de NaOH 4%, fechar bem e misturar durante 10 minutos;
b- Centrifugar a 3.000 rpm durante 20 minutos;
c- Decantar o sobrenadante, ressupender o sedimento e neutralizar este com gotas de HCl 1N (até a obtenção de uma coloração amarelada estável e re-neutralizar com NaOH 4% até reaparecer a coloração rósea, estando então o material pronto para ser analisado pelo método de Ziehl-Neelsen e para ser inoculado em meio de cultura próprio (Lowenstein-Jensen).

B.2. Coloração de Ziehl-Neelsen
a- Partindo do sedimento da etapa anterior, preparar um esfregaço não muito espesso no centro de uma lâmina nova limpa e desengordurada, fixando-o pelo calor;
b- Cobrir o esfregaço fixado com a fucsina fenicada de Ziehl-Neelsen e aquecer a lâmina durante 5 minutos, cuidando para que o líquido não entre em ebulição ou ainda que seque;
c- Lavar rapidamente em água corrente;
d- Descorar usando a solução descorante, gotejando-a sobre a lâmina inclinada até que não remova mais corante;
e- Lavar em água corrente;
f- Corar pelo azul de metileno “Loeffler” por 1 minuto;
g- Lavar em água corrente e deixar secar na posição vertical ao ar ;

h- Levar ao microscópio e analisar usando a objetiva de imersão.

Resultados: Os BAAR (Bacilos Álcool-Ácido Resistentes) coram-se em vermelho contra um fundo azul. O resultado deve obedecer ao seguinte critério:

N° de Bacilos/ Informação
Nenhum: Não foram visualizados BAAR na amostra analisada
1-2 em todo o esfregaço: mencionar o número encontrado e solicitar nova amostra
3-9 em todo o esfregaço: +
10 ou mais em todo o esfregaço: ++
1 ou mais por campo: +++

- Informações sobre limitações do produto:
- Um exame baciloscópico negativo não exclui a possibilidade de doença;
- Executando-se rigorosamente a técnica como descrito, a sensibilidade diagnóstica da mesma é de cerca de 80%;
- A sensibilidade deste método é baixa, visualizando-se 1 BAAR por campo em aumento de 1.000x, estima-se que a amostra contenha cerca de $5x10^5$ BAAR por mL;
- Este exame não substitui a cultura para B.A.A.R.

- Informações sobre controle interno de qualidade:
- Materiais necessários
Amostras clínicas contendo BAAR - Bacilos Álcool-Ácido Resistentes.
- Periodicidade
Ao receber o conjunto, efetuar teste com amostra de controle positiva.
Determinar a periodicidade do controle segundo a necessidade do laboratório.
- Interpretação e avaliação
Uma vez que a função do controle de qualidade é garantir que o material usado esteja fornecendo resultados compatíveis com os esperados e dentro de um padrão de desempenho, espera-se que os BAAR apresentem-se corados em vermelho contra um fundo azulado.

- Valores de referência:
As bactérias álcool – ácido – resistentes apresentam-se de cor avermelhada, sempre que as mesmas estiverem presentes o resultado deve ser considerado POSITIVO. Já as bactérias não ácido resistentes, elementos celulares e detritos adquirem coloração azul sendo considerados NEGATIVO.

- Características de desempenho do produto:
Repetitividade
Foram realizados testes com Fucsina Fenicada de Ziehl Neelsen em 10 esfregaços de escarro de pacientes conhecidamente tuberculosos por 5 vezes. Paralelamente, 10 esfregaços de secreção do oro-faringe foram corados pelo corantes de Ziehl. O procedimento técnico utilizado seguiu rigorosamente as instruções de uso, havendo assim total concordância das características tintoriais dos bacilos álcool – ácido – resistentes, corados de vermelho e dos bacilos não álcool – ácido – resistentes, corados de azul pela ação da solução de azul de metileno seg. Loeffler.

OBS: A repetitividade do corante está relacionada com a correta observação das instruções de uso, sendo decisivas as etapas de fixação do esfregaço, os tempos de coloração e a temperatura de aquecimento da fucsina de Ziehl Neelsen. A fervura da fucsina de Ziehl Neelsen altera as propriedades tintoriais e a morfologia dos bacilos álcool – ácido – resistentes.

Estabilidade

Foram realizados testes durante 12 meses consecutivos em esfregaços bacteriológicos de culturas de bacilos álcool – ácido – resistentes e de bacilos não álcool – ácido – resistentes, confeccionados e corados em condições ideais. Houve concordância das características tintoriais dos bacilos álcool – ácido – resistentes e dos bacilos não álcool – ácido – resistentes, durante o período citado.

É importante ressaltar que para a confecção dos esfregaços, as lâminas devem encontrar-se limpas e isentas de gordura.

- Referências Bibliográficas:

1- Otto Bier: Bacteriologia e imunologia, 19ª edição, 1978.
2- Who: Manual of basic techniques for a helath laboratory 1980
3- Balous A.: Hausler W.J.; Hermann K.L.; Isenberg H.D; Shadomy HJ: Manual of clinical microbiology, 1289 a 1314; 1991
4- Howard B.J.: Clinical and pathogenic microbiology, 107-112; 1994

- Indicação ao consumidor:

A QEEL Química Especializada Erich Ltda garante a qualidade de seus produtos, desde que todas as normas de bom desempenho, descritas neste manual de instruções de uso sejam seguidas a risca.

- Fabricante:

Nome: QEEL - Química Especializada Erich Ltda.
CNPJ: 64.822.885/0001-97
Endereço: Rua Afonso Vidal, 192 - São Paulo - CEP: 05723-330

- Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC)

Em caso de dúvida ligue para o sistema de atendimento ao consumidor:
Fone: (011) 3742-5113 - Fax: (011) 3772-7246
E-mail: vendas@qeelquimica.com.br
Site: www.qeelquimica.com.br

Nº Registro no Ministério da Saúde: 80127400003
Responsável Técnica: Sabrina Thomaz Vicente CRQ Nº 04200279
Revisão: 00 (04/2012)