

CONJUNTO DE COLORAÇÃO ZIEHL NEELSEN

Conjunto de corantes para pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes

NOME TÉCNICO

CONJUNTO PARA COLORAÇÃO DE ZIEHL – NEELSEN

APRESENTAÇÃO

Conjunto de coloração Ziehl Neelsen: Composto de 1 frasco de Fucsina Fenicada de Ziehl Neelsen com 500 mL, 1 frasco de Descorante para B.A.A.R com 500 mL e 1 frasco de Azul de Metileno para Ziehl Neelsen com 500 mL – Cód. PA188
Azul de metileno para Ziehl Neelsen frasco c/ 1000 mL - Cód. PA182
Azul de metileno para Ziehl Neelsen frasco c/ 500 mL - Cód. PA183
Descorante para BAAR frasco c/ 1000 mL - Cód. PA192
Descorante para BAAR frasco c/ 500 mL - Cód. PA193
Fucsina fenicada de Ziehl Neelsen frasco c/ 500 mL - Cód. PA197
Fucsina fenicada de Ziehl Neelsen frasco c/ 1000 mL - Cód. PA200

COMPOSIÇÃO

Fucsina fenicada seg. Ziehl Neelsen (1%) : Fucsina básica: 10 g/L; Fenol fundido: 50 mL/L; Álcool etílico: 100 mL/L; Água purificada: 850 mL/L.

Descorante para Ziehl ou Descorante para B.A.A.R. (3%): Ácido clorídrico: 30 mL/L; Álcool etílico: 970 mL/L

Azul de metileno concentrado (0,3%): Azul de Metileno: 3 g/L; Fenol fundido: 50 mL/L; Álcool etílico: 100 mL/L; água purificada: 850 mL/L

REGISTRO NO MINISTÉRIO DA SAÚDE:

10287910054

ARMAZENAMENTO

Conservar o produto em temperatura ambiente (10 a 30° C).
Válido por 720 dias após a fabricação.
Verificar o prazo de validade na embalagem.
Nunca utilizar produtos com validade expirada.

TRANSPORTE

Transportar o produto em temperatura ambiente (10 a 30° C).

CUIDADOS ANTES DO USO

Por tratar-se de material biológico, manusear o produto utilizando equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara).

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O PRODUTO

Alça bacteriológica, bico de Bunsen, lâminas de microscopia, papel de filtro e lamparina a álcool.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

- FINALIDADE

A coloração de Ziehl-Neelsen baseia-se na capacidade de algumas bactérias (micobactérias e actinomicetos) resistirem aos métodos comuns de coloração devido à composição altamente lipídica da parede celular. Após um processo de coloração especial, a quente, uma vez coradas, não sofrem ação de decolorantes fortes, como a solução de álcool-ácido. Desta forma, a fucsina de Ziehl cora todas as bactérias de vermelho, e após a descoloração com álcool-ácido, somente os bacilos álcool-ácido resistentes (B.A.A.R.) conservarão esta cor. Para facilitar a visualização cora-se o fundo com azul de metileno, estabelecendo-se um contraste nítido entre elementos celulares e outras bactérias (azuis) e os B.A.A.R (vermelhos).

- AMOSTRA

Materiais clínicos de casos suspeitos de tuberculose pulmonar ou extra-pulmonar, tais como: escarro, lavado brônquico, lavado gástrico, urina, líquidos corporais estéreis (líquor e líquidos pleural, peritoneal, pericárdico e sinovial), fragmento de biopsia e secreção purulenta.

Materiais clínicos de casos suspeitos de micobacterioses atípicas (biopsias, secreções purulentas).

- TÉCNICA DE USO

- Colocar as lâminas (no máximo 12 de cada vez) com o esfregão voltado para cima, sem encostar umas nas outras;
- Cobrir com a **Fucsina fenicada**, todo o esfregão de cada uma das lâminas;
OBS.: Se houver necessidade pode-se filtrar a Fucsina fenicada, na hora do uso, para retirar os cristais que se formam quando a mesma está em repouso.
- Acender uma lamparina ou bico de bunsen com fogo baixo;
- Passar a chama lentamente por debaixo das lâminas até que ocorra a emissão de vapores visíveis. Retirar imediatamente a chama para evitar que a Fucsina fenicada ferva;
- Marcar o tempo de 5 minutos assim que ocorrer a primeira emissão de vapores, e repita o processo mais duas vezes. Isso significa que, ao todo, deve-se passar três vezes a chama lentamente até a emissão de vapores e essa operação deve durar 5 minutos, a contar da primeira emissão de vapores;**
- Inclinar cada uma das lâminas e derramar a Fucsina fenicada na pia;
- Abriu devagar a torneira até obter um filete de água corrente para lavar as lâminas;
- Deixar o filete de água cair em cada lâmina para que escorra suavemente sobre o esfregão até eliminar todo o corante; 9. Lavar também o lado oposto ao esfregão de cada lâmina para eliminar a Fucsina fenicada ali depositada, se necessário passar uma gaze para retirar a fuligem do fogo, aderida no lado de baixo da lâmina;
- Colocar cada lâmina novamente no suporte com o esfregão voltado para cima;
- Cobrir completamente cada lâmina com o **Descorante** e esperar **1 minuto**;
- Segurar cada lâmina pela borda, inclinar e derramar a solução decolorante na pia;

13. Deixar o filete de água corrente cair em cada lâmina para que escorra suavemente sobre o esfregão e eliminar o Álcool-Ácido.

14. Verificar se os esfregões ficaram decolorados. Considera-se **descorado o esfregão** que apresentar **coloração esbranquiçada ou levemente rosada**.

OBS.: Os procedimentos de 11 a 13 não devem ultrapassar 3 minutos, considerando os esfregões de todas as lâminas que estão sendo decoloradas.

15. Cobrir o esfregão de cada uma das lâminas com o **Azul de Metileno** e esperar **30 segundos**;

OBS.: Se houver necessidade pode-se filtrar a azul de metileno, na hora do uso, para retirar os cristais que se formam quando a mesma está em repouso.

16. Segurar, com uma pinça anatômica e pela borda, inclinar cada lâmina para derramar o Azul de Metileno na pia;

17. Deixar cair um filete de água corrente em cima da lâmina para que escorra suavemente sobre o esfregão até eliminar todo o Azul de Metileno;

18. Girar cada lâmina e lavar também o lado oposto ao esfregão para eliminar o Azul de Metileno depositado ali.

19. Colocar cada uma das lâminas em pé, para secar.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Proceder à leitura com objetiva de imersão. Os bacilos álcool-ácido resistentes aparecem como bastonetes finos vermelhos, isolados ou agrupados, frequentemente encurvados e nodulados, sobre fundo azul.

Critérios para leitura e interpretação dos resultados da baciloscopia de es-carro, após concentração ou não, corada pelo Método de Ziehl-Neelsen

QUANDO:

- Não são encontrados BAAR em 100 campos = relata-se o resultado como **NEGATIVO**;
- São encontrados de 1 a 9 BAAR em 100 campos = relata-se apenas a quantidade de BAAR encontrada
- São encontrados de 10 a 99 BAAR, em 100 campos = relata-se o resultado como **POSITIVO +**;
- É encontrada em média de 1 a 10 BAAR por campo, nos primeiros 50 campos observados = relata-se o resultado como **POSITIVO ++**;
- É encontrada em média mais de 10 BAAR por campo, nos primeiros 20 campos observados = relata-se o resultado como **POSITIVO ++ +**.

Adaptado de: Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Manual TELELAB. Tuberculose – Diagnóstico Laboratorial – Baciloscopia. Brasília. 2001.

Critérios para leitura e interpretação dos resultados da baciloscopia a partir de outras amostras clínicas, após concentração ou não, corada pelo Método de Ziehl-Neelsen

QUANDO:

- Não são encontrados BAAR no material examinado = relata-se o resultado como **NEGATIVO**
- São encontrados BAAR em qualquer quantidade, no material examinado = relata-se o resultado como **POSITIVO**

Adaptado de: Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Manual TELELAB. Tuberculose – Diagnóstico Laboratorial – Baciloscopia. Brasília. 2001.

DESCARTE DO PRODUTO E DA AMOSTRA

Descartar o produto e a amostra de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos do laboratório.

* Para o produto sem contato com a amostra seguir o plano de gerenciamento de resíduos químicos.

* Para a amostra e produto com amostra seguir plano de gerenciamento de resíduos infectantes ou possivelmente infectantes.

* Após incubação o produto deverá ser autoclavado a 121° C por 30 minutos e descartado em lixo apropriado.

CONTROLE DE QUALIDADE

ANÁLISES	RESULTADO ESPERADO
Verificação do aspecto final e da presença de precipitados a partir de gotejamento em papel de filtro gramatura 80	Fucsina Fenicada de Ziehl Neelsen: Líquido vermelho intenso opalescente, sem precipitados
	Descorante para BAAR: Líquido incolor transparente a levemente amarelado, sem precipitados
	Azul de Metileno Conc.: Líquido azul intenso translúcido, sem precipitados
Desempenho microbiológico <i>M. tuberculosis</i> H37	Coloração vermelha após técnica de Ziehl Neelsen
Desempenho microbiológico <i>E. coli</i> ATCC 25922	Coloração azul após técnica de Ziehl Neelsen

GARANTIA DA QUALIDADE

Este produto é fabricado e liberado para venda após testes de controle de qualidade para cada lote, conforme normas das Boas Práticas de Fabricação e Controle de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*.

Para eficácia do produto é necessário:

- Utilizar amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas de acordo com a indicação da literatura especializada;
- Seguir rigorosamente todas as etapas descritas nesta instrução de uso.
- Utilizar acessórios e equipamentos adequados e em boa conservação.
- Transportar e armazenar o produto de acordo com as condições indicadas.
- Nunca utilizar produtos com a embalagem original danificada.
- Nunca utilizar produto com prazo de validade expirado.

Caso ocorra qualquer problema na utilização do produto relativo à qualidade intrínseca do mesmo, que tenha ocorrido por falha de fabricação comprovada, a **Newprov** resolverá a questão sem ônus ao cliente, conforme determinado na Lei 8.078/90 – Código de Defesa do Consumidor.

A Newprov disponibiliza aos seus clientes assessoria técnico-científica para quaisquer esclarecimentos necessários quanto a utilização deste produto que não estejam contemplados nesta instrução de uso, através de contato com o SAC - Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Certificados de análise de cada lote estão disponíveis na empresa e podem ser encaminhados ao cliente sempre que solicitados ao SAC ou acesso pelo site www.newprov.com.br após cadastro no campo de acesso restrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIFCO & BBL MANUAL. **Manual of Microbiological Culture Media**. Maryland: Becton, Dickinson and Company, 2003.

ISENBERG, H. D. (Ed.) **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. 2nd Ed. Washington DC: ASM, 2004.

MANUAL OXOID. São Paulo: Oxoid Brasil Ltda., 2000.

MURRAY, P. R. et al. (Eds) **Manual of Clinical Microbiology**. 9th Ed. Washington D.C.: ASM, 2007.

NCCLS. **Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media**. 2nd Ed. NCCLS Document M22-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1996.

WINN Jr., W. et al (Eds.) **Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. 6th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*

Fabricado e distribuído por:

Newprov Produtos para Laboratório Ltda

Rua 1º de Maio, 590/608 - Centro - CEP: 83323-020 - Pinhais - PR

CNPJ: 73.636.391/0001-09

Indústria Brasileira

SAC: 41 38881300 – sac@newprov.com.br