

Przed poniższą procedurą należy przygotować hodowlę o liczbie min. 10^5 jtk/ml. Można używać podłoży z rezynami, węglem czy polianetosulfonianem sodowym.

W miarę potrzeby (materiał badany inny, niż pałeczki G(-)) przygotować roztwór roboczy (4 ml x60 Wash Buffer do sterylnej, 240 ml wody demineralizowanej) lub wodę destylowaną, następnie podgrzać do 55°C . Na tę samą temperaturę nastawić płytkę grzejącą.

PRZYGOTOWANIE PREPARATU



Na szkiełko podstawne AdvanDx AC001 dodać 1 kroplę utrwalacza.
W przypadku G(-) pałeczek, należy używać utrwalacza dla Gram Negative

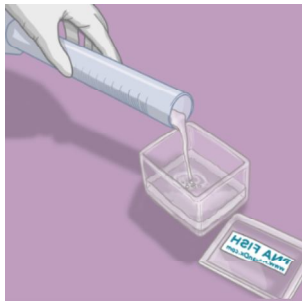


Dodać 10 μl lub nałożyć jedną kroplę z hodowli na utrwalacz. Zmieszać ze sobą.



Utrwalanie otrzymanego rozmazu:

- podgrzewać przez 20 minut w 55-80°C
- dać obeschnąć i utrwalić w ogniu
- dać obeschnąć i utrwalić w metanolu



Przygotować roboczy roztwór płuczący w naczynku do barwienia i ogrzać w łaźni wodnej do $55 \pm 1^\circ\text{C}$.
W przypadku analiz pałeczek G(-), należy przygotować oddzielne naczynko do barwienia z wodą o temperaturze $55 \pm 1^\circ\text{C}$.

HYBRYDYZACJA



Dodać kroplę sond PNA, nałożyć szkiełko przykrywkowe. Unikać bąbelków powietrza.



Powtórzyć powyższy punkt na odpowiednim **preparacie kontrolnym**.
Można przygotować własne kontrole pozytywne.



Hybrydyzować w $55 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 30 minut.

PŁUKANIE I MOCOWANIE

Dotyczy tylko pałeczek G(-)!

Zanurzyć szkiełka w rozgrzanej uprzednio wodzie do 55°C na mniej niż 60 sekund i ostrożnie zdjąć szkiełko nakrywkowe.



Zanurzyć próbki pozostałych typów w uprzednio przygotowanym i podgrzanym roztworze płuczącym i ostrożnie zdjąć szkiełko przykrywkowe.



Inkubować preparaty przez 30 minut w $55 \pm 1^\circ\text{C}$. Po upływie tego czasu wystawić preparaty na suche powietrze.



Dodać jedną kroplę płynu mocującego i nałożyć ostrożnie szkiełko przykrywkowe. Zaleca się użycie szkiełek przykrywkowych AdvanDx AC002, aby uniknąć zafałszowanych wyników.

OBSERWACJA



Obejrzyć preparaty pod mikroskopem fluorescencyjnym pod obiektywem 60x lub 100x. Należy użyć filtra AdvanDx AC003/AC007, aby uniknąć zafałszowanych wyników.