1B-339

Auramin O

In Vitro Diagnostikum

IVD

Beschreibung

Es handelt sich um einen Trockenfarbstoff zur Herstellung einer Färbelösung für den professionellen Anwender zur Anwendung in der Histologie. Das Produkt wird in 6 verschiedenen Packungsgrößen geliefert: 1B-339.00010 (10g-Flasche), 1B-339.00025 (25g-Flasche), 1B-339.00100 (100g-Flasche), 1B-339.00500 (500g-Flasche), 1B-339.01000 (1Kg-Eimer). und 1B-339.50000 (50Kg-Trommel).

Hauptbestandteile

Auramin O	100%

Verwendungszweck

Der Pulverfarbstoff „Auramin O“ wird für die Zelldiagnostik zur bakteriologischen und histologischen Untersuchung von Proben verwendet. Der Pulverfarbstoff dient der Herstellung einer Farbstofflösung. „Auramin O“ wird für verschiedene Färbemethoden in der Mikroskopie verwendet, beispielsweise zum Nachweis von Tuberkulose-Mykobakterien und anderen säurefesten Bakterien.

Probenmaterial und Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch das Fachpersonal erfolgen. Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln. Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen.

Probenmaterial: Ausstriche bakteriologischen Materials (Sputum, Ausstriche von Feinnadel-Aspirationsbiopsien (FNAB), Spülflüssigkeiten, Imprinte, Ergüsse, Eiter, Exsudate, flüssige und feste Kulturen), luftgetrocknet, hitzefixierte und Sputofluol®- vorbehandelt.
Schnitte (3 - 4 µm) von Gewebe humanen Ursprungs, formalinfixiert, eingebettet in Paraffin.

Probenvorbereitung erfolgt je nach Art der Probe:
Sputum mit Sputofluol® vorbehandeln, um Mykobakterien schonend aus Schleim und Zellverbänden freizusetzen. Zur Herstellung von 100ml 15%iger Sputofluol®-Lösung werden 15ml Sputofluol® mit 85ml Aqua dest. gemischt. Für den Probenansatz im Zentrifugenröhrchen 1 Teil der Probe (mindestens 2ml) mit 3 Teilen 15%iger Sputofluol®-Lösung vermengen und 10 Minuten kräftig schütteln. Für 20 Minuten bei 3000-4800 U/min zentrifugieren. Überstehende Flüssigkeit dekantieren und Sediment ausstreichen, anschließend lufttrocknen lassen.

Für Punktate, Lavagen und Sedimente die Probe nach geeigneten Anreicherungsschritten auf dem Objektträger ausstreichen und lufttrocknen lassen.
Histologische Schnitte in typischer Weise entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydratisieren. Keine Sputofluol®-Vorbehandlung bei formalinfixierten Proben.

Die Fixierung erfolgt über der Flamme des Bunsenbrenners (2–3-mal, unter Vermeidung übermäßiger Hitze). Alternativ Material für 20 Minuten bei 100 - 110 °C in einem Trockenschrank oder auf einer Wärmeplatte fixieren. Höhere Temperaturen oder längere Erhitzung können eine Verschlechterung der Färbeleistung zur Folge haben.

Waldeck GmbH & Co. KG
Havixbecker Str. 62
48161 Münster
Deutschland
Amtsgericht Münster
HRA 1926

Komplementärin:
Wahlig Beteiligungs- und Verwaltungsgesellschaft mbH
Amtsgericht Münster
HRB 692

Geschäftsführer:
Wilhelm Wahlig

Bankverbindungen:
SPK Westmünsterland
IBAN:
DE49401545300036060184
BIC:
WELADE3WXXX

USt.-Id.-Nr.:
DE126046718
Steuer-Nr.:
5336/5779/0252
Gläubiger-ID:
DE67ZZZ00000021849

Kontakt:
Tel. +49 2534 970 0
Fax +49 2534 970 258
info@waldeck-ms.de
www.waldeck-ms.de

Jedoch ist eine ausreichende Hitzefixierung notwendig, um das Infektionspotential der Präparate und ein Weiterwachsen der Bakterien zu verhindern.

Testprinzip

Bei der Färbung handelt es sich um eine Fluoreszenzmethode zur Visualisierung von säurefesten Bakterien. Der Mechanismus der Fluoreszenzfärbung ist vergleichbar mit der klassischen Ziehl-Neelsen Färbung. Der hohe Wachs- und Lipidanteil in der Zellwand erschwert die Aufnahme von Farbstoffen. Nach Aufnahme des Fuchsin-Farbstoffs ist ein Entfärben kaum mehr möglich. Mykobakterien werden daher als färberisch säure- und alkoholfest bezeichnet. Bei der Anfärbung mit Auramin O behalten die säurefesten Mykobakterien den Farbstoff deshalb auch dann bei, wenn sie starken Entfärbelösungen wie HCl-Ethanol ausgesetzt werden.

Sputofluol® wird zur Vorbehandlung der Präparate eingesetzt, um die Bakterien aus dem umgebenden, zähen Sputum und Zellmaterial zu lösen und um Mikroorganismen abzutöten.

Färbung

Zunächst müssen diverse Reagenzien wie folgt vorbereitet werden:
Zur Herstellung von verflüssigtem Phenol 10 Teile Phenol bei milder Wärme auf dem Wasserbad schmelzen. 1 Teil Aqua dest. zugeben und mischen.
Zur Herstellung von etwa 1l Phenol-Auramin O-Lösung 1g Auramin O in 1l Aqua dest. lösen. 50g verflüssigtes Phenol zugeben und mischen, vor Gebrauch filtrieren.
Zur Herstellung von etwa 1l 0,1%iger Kaliumpermanganat-Lösung 1g Kaliumpermanganat in 1l Aqua dest. lösen.

Zur Färbung auf der Färbebank die Objektträger in Phenol-Auramin O-Lösung überschichten, aufkochen und 5 Minuten einwirken lassen. Die Färbelösung abschütten und den Färbeschritt wie beschrieben wiederholen. Danach sorgfältig in Leitungswasser spülen, anschließend 10-25 Sekunden (je nach Materialdicke) in Salzsäure-Alkohol bis zur Entfärbung differenzieren. Da die Zeit zur Entfärbung von der Materialdicke abhängt und Salzsäure-Alkohol frisch angesetzt sehr reaktiv ist, stellt die Entfärbung den kritischen Schritt des Prozesses dar. Um falsch negativen Ergebnissen vorzubeugen, sollten die Zeiten daher unbedingt eingehalten werden. Nach der Entfärbung sofort mit Leitungswasser abspülen.

Bei Bedarf für die Gegenfärbung den Objektträger für 5 Sekunden vollständig in 0,1%iger Kaliumpermanganat-Lösung eintauchen. Mit Leitungswasser spülen und anschließend für 1 Sekunde in Löfflers Methylenblaulösung eintauchen. Abschließend nochmals mit Leitungswasser spülen. Die Probe über Nacht lufttrocknen lassen, oder alternativ bei 50°C im Trockenschrank. Bei histologischen Präparaten entfällt das Lufttrocknen. Stattdessen nach aufsteigender Alkoholreihe mit Xylol klären und eindecken.

Zur Lagerung bakteriologischer Präparate über mehrere Monate nicht-wässrige Eindeckmittel und Deckglas verwenden. Hierfür eine sehr gute Trocknung der Präparate sicherstellen. Die Färbung bleibt ohne Eindecken etwa 3 Tage, mit Immersionsöl bedeckt nur einige Stunden stabil.

Hinweis: Dies ist nur ein mögliches Verfahren zur Herstellung der Farbstofflösung. Je nach Anforderungen und Standardlaborverfahren kann die Farbstofflösung auch nach anderen Protokollen zubereitet werden.

Ergebnis

Mykobakterien	goldgelb fluoreszierend
Hintergrund	dunkelviolett

Vorsichtsmaßnahmen

Bei der Entnahme des Produktes ist darauf zu achten, dass Kontaminationen des Vorratsgefäßes vermieden werden. Einmal entnommene Lösung darf nicht wieder in den Kanister zurückgegeben werden. Bei Auftreten von

Waldeck GmbH & Co. KG
Havixbecker Str. 62
48161 Münster
Deutschland
Amtsgericht Münster
HRA 1926

Komplementärin:
Wahlig Beteiligungs- und Verwaltungsgesellschaft mbH
Amtsgericht Münster
HRB 692

Geschäftsführer:
Wilhelm Wahlig

Bankverbindungen:
SPK Westmünsterland
IBAN:
DE49401545300036060184
BIC:
WELADE3WXXX

USt.-Id.-Nr.:
DE126046718
Steuer-Nr.:
5336/5779/0252
Gläubiger-ID:
DE67ZZZ00000021849

Kontakt:
Tel. +49 2534 970 0
Fax +49 2534 970 258
info@waldeck-ms.de
www.waldeck-ms.de

Trübungen oder Feststoffen ist das Produkt zu verwerfen. Das Produkt ist für den einmaligen Gebrauch bestimmt und darf nicht wiederverwendet werden.

Lagerung & Haltbarkeit

Die ungeöffneten Gebinde trocken, unter Vermeidung direkter Sonneneinstrahlung bei 15 bis 25°C lagern.
Die Haltbarkeit beträgt 5 Jahre, siehe auch das Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) auf dem Etikett. Die Haltbarkeit entspricht nach dem Öffnen der Gebinde dem MHD, sofern die Lagerbedingungen eingehalten werden und der Farbstoff fachgerecht behandelt wird.

Sicherheitshinweis

Sollten im Zusammenhang mit dem Produkt schwerwiegenden Vorfälle auftreten, melden Sie diese bitte dem Hersteller und der nationalen Behörde.

Literatur

Romeis, Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2010, Springer Spektrum, 18. Auflage

Waldeck GmbH & Co. KG
Havixbecker Str. 62
48161 Münster
Deutschland
Amtsgericht Münster
HRA 1926

Komplementärin:
Wahlig Beteiligungs- und Verwaltungsgesellschaft mbH
Amtsgericht Münster
HRB 692

Geschäftsführer:
Wilhelm Wahlig

Bankverbindungen:
SPK Westmünsterland
IBAN:
DE49401545300036060184
BIC:
WELADE3WXXX

USt.-Id.-Nr.:
DE126046718
Steuer-Nr.:
5336/5779/0252
Gläubiger-ID:
DE67ZZZ00000021849

Kontakt:
Tel. +49 2534 970 0
Fax +49 2534 970 258
info@waldeck-ms.de
www.waldeck-ms.de