Färbekit: TB-Färbung (kalt) nach ZIEHL-NEELSEN

REF 12243 | siehe

Verwendungszweck:
Nachweis von Tuberkulose

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

gedruckt: 28.08.2019

Verwendungszweck

Die **Ziehl-Neelsen-Färbung** (nach Franz Ziehl und Friedrich Neelsen) ist eine gebräuchliche Färbung für mikroskopische Präparate in der Mikrobiologie, um sogenannte „säurefeste " Bakterien (z. B. Mykobakterien und Nocardien) durch Färbung von anderen nicht „säurefesten" Bakterien zu unterscheiden. Diese Kontrastfärbung ist eine wichtige differentialdiagnostische Hilfe zur Identifizierung bestimmter Krankheitserreger, vor allem von Erregern der Tuberkulose und der Lepra. Eine Zuordnung zu einem Genus oder einer Spezies der Bakterien ist mit diesem Merkmal der Säurefestigkeit allein allerdings nicht möglich. Das TB-Färbung nach Ziehl-Neelsen ist ausschließlich für die professionelle Anwendung im histologischen Labor vorgesehen.

Prinzip

Die in der Zellhülle von Mykobakterien enthaltenen wachsartigen Mykolsäuren nehmen das Karbolfuchsin Fuchsin auf. (Kinyoun-Methode) Es lässt sich dann durch HCl-Alkohol nicht mehr herauslösen. Daher werden mit der Ziehl-Neelsen-Färbung anfärbbare Bakterien auch als säurefest bezeichnet.

Reagenz

Wirksame Bestandteile	Besondere Hinweise
1000 ml MucoFlutol (CAS-Nr.:) 1000 ml Karbolfuchsin nach Ziehl-Neelsen (Kaltfärbung) (CAS-Nr.:) 1000 ml Salzsäure Alkohol (3 % / 90 %) (CAS-Nr.:) 1000 ml Malachitgrün-Oxalat-Lösung (CAS-Nr.:)	

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Erwartete Ergebnisse Lichtmikroskopie:

Säurefeste Bakterien: rot
Hintergrund: hellgrün

Wichtiger Hinweis:
Es kann keine Aussage getroffen werden, um welche Bakterien es sich handelt. Auch nicht ob es sich noch um vermehrungsfähige oder abgestorbene Bakterien handelt.

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:
Wir empfehlen vor der diagnostischen Verwendung die Lösungen über einen Referenzvergleich zu prüfen. Dies kann über das Mitführen einer bekannten Referenzprobe erfolgen.

Vorsichtsmaßnahmen:
Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Fachpersonal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Infektionsschutz:
Im Umgang mit den Abstrichpräperaten ist auf wirksamen Infektionsschutz gem. der Laborrichtlinien zu achten.

Probennahme:
In der Regel wird Sputum als Untersuchungsmaterial verwendet. Zur Freisetzung der Mykobakterien soll das Sputum, mit einem schleimauflösenden Reagenz (z.B. *Mucoflutol, Artikel-Nr. 12097*) vorbehandelt werden. Die Proben sind zu zentrifugieren, die überstehende Flüssigkeit dann dekantieren, das Sediment ausstreichen und trocknen lassen.
Punktate: Zentrifugationsediment ausstreichen und an der Luft trocknen lassen.
Histologische Schnitte: Schnitte in typischer Weise entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydratisieren.

Hinweise zur Durchführung:
Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik behandelt werden. Die visuelle Auswertung sollte nur von geeigneten und geschultem Personal durchgeführt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Wir empfehlen das Ergebnis mit anderen Methoden/Untersuchungen zu bestätigen.

Empfehlung:
Eventuell auftretende Niederschläge oder Ausfällungen bei häufiger Anwendung können durch Filtration über übliche Faltenfilter beseitigt werden.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

letzte Aktualisierung:

Färbekit: TB-Färbung (kalt) nach ZIEHL-NEELSEN

REF 12243 | siehe

Verwendungszweck:
Nachweis von Tuberkulose

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

gedruckt: 28.08.2019

Verfahren

Die Ziehl-Neelson wird üblicherweise manuell durch Auftropfen der Färbelösung durchgeführt. Je nach Probenaufkommen und Laborroutine kann die Färbung auch in Färbeküvetten oder in einem Färbeautomaten durchgeführt werden. Die Entscheidung drüber, in welcher Art die Färbung durchzuführen ist, trifft die Laborleitung.

Die Färbung kann als Handfärbung oder als Automatenfärbung durchgeführt werden.

(1) Entparaffinieren
(2) absteigende Alkoholreihe: 96 % - 80 % - 70 % - 60 %
Punkt 1-2 gelten nicht für luftgetrocknete Präparate
(3) Aqua dest.
? Mucoflutol
(4) Karbolfuchsin nach Ziehl-Neelson 5:00 min färben
(5) mit fließendem Leitungswasser abspülen, 0:30 min
(6) Salzsäure Alkohol 3% 0:30 min, bis keine Farbwolken mehr abgehen
(7) mit fließendem Leitungswasser abspülen, 1:00 min
(8) Malachitgrün-Oxalat-Lösung, 1:00 min
(9) mit fließendem Leitungswasser spülen 0:10 sec
(10) Trocknen 3:00 min

(*12) aufsteigende Alkoholreihe und eindecken???????*

Ergänzende Hinweise zu Färbeprotokollen können Sie auch auf unserer Internetseite www.morphisto.de finden Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheit des Labor und den Vorlieben des Anwenders orientieren.

Literaturangaben

Literatur zu diesem Verfahren

1. Ziehl F. (1882) Zur Farbung des Tuberkelbacillum. Deutsche Medizinische Wochenschrift, V8, pg 451.
2. Neelsen, P. (1883). Zentralblatt fur de Medizinischen Wissenschafen, V21, pg497.

Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

1. Bancroft, J. D. & Gamble, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone (Edinburg, London, New York).
2. Böck, P. (1989): Romeis: Mikroskopische Technik. – 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg (München, Wien, Baltimore).
3. Burck, H.-C. (1988): Histologische Technik – Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. – 6. Auflage, Thieme Verlag (Stuttgart, New York).
4. Horobin, R. W. & Kiernan, J. A. (2002): CONN's Biological Stains – A Handbook of Dyes, Stains and Flurochrome for Use in Biology and Medicine.
5. Mulisch, M. & Welsch, U. (2010): Romeis – Mikroskopische Technik. – 18. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag (Heidelberg)

Ergebnisbeispiel

letzte Aktualisierung:

MORPHISTO GmbH, Weismüllerstr 45, 60314 Frankfurt am Main. Tel.: 069 / 400 3019 60, Fax: 069 / 400 3019 64