Färbekit: WARTHIN-STARRY für Spirochaeten & Bacillus piliformis

REF 13339 | siehe

Verwendungszweck:

Färben von Spirochaeten & Bacillus piliformis

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

gedruckt: 28.08.2019

Verwendungszweck

Die Warthin-Starry Färbung dient zum histologischen Nachweis von *Spirochäten* und *Bacillus piliformis* in Gewebeproben mittels Lichtmikroskopie. Verschiedene Modifikationen dieser Färbung finden Anwendung für den gezielten Nachweis anderer Bakterien, wie z.B. *Helicobacter pylori.*

Prinzip

Die Warthin-Stary-Färbung ist eine klassische Silbernitratfärbung bei der Silbernitrat mit Hilfe eines hydrochinohaltigen Entwicklers zu metallischem Silber reduziert wird. Die Reaktion wird nach einer bestimmten Zeit durch einen Spülschritt gestoppt.

Im Ergebnis wird das Gewebe gelbbraun bis goldbraun gefärbt, während Bakterien schwarz hervorstechen. Zellkerne nehmen eine dunkelbraune Farbe an.

Die Färbung wird durch einen abschließende Fixierungsreaktion in Natriumthiosulfat stabilisiert. Erfolgt dieser Schritt nicht, so bleichen die Schnitte nach einiger Zeit aus.

Reagenz

Wirksame Bestandteile	Besondere Hinweise
2000 ml Acetatpuffer pH 3,6 (CAS-Nr.:) 1000 ml Silbernitrat 1 %ig, gepuffert (CAS-Nr.:) 1000 ml Kit: Entwicklerlösung, gepuffert für WARTHIN-STARRY Silberfärbung (CAS-Nr.:) 1000 ml Natriumthiosulfat 5 %ig (CAS-Nr.:)	Bereits geöffnete Flaschen müssen stets fest verschlossen aufbewahrt werden.

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:

Gewebe: goldbraun
Zellkerne: braun
Baktieren: schwarz

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 Personal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Probennahme:
Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen. Hierbei ist zu gewährleisten, dass frische Proben unmittelbar nach Probennahme ordnungsgemäß fixiert werden. Hämatoxylin-Lösungen können nach Fixierung in gebräuchlichen Fixiermitteln angewandt werden. (Formalin freie Fixiermittel wurden noch nicht auf ihre Anwendbarkeit untersucht). Die Fixierung bestimmt die Intensität des Färbeergebnisses.

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 geeignetem 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

Zur vollständigen Durchführung der Färbung werden folgende Reagenzien benötigt:

- Alkoholreihe in ver. Konzentrationen, siehe Verfahren
  Ethanol 96% vergällt Artikel-nr.: 11470
- xylolhaltiges Eindeckmittel
- Xylol

letzte Aktualisierung:

Färbekit: WARTHIN-STARRY für Spirochaeten & Bacillus piliformis

REF 13339 | siehe

Verwendungszweck:

Färben von Spirochaeten & Bacillus piliformis

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

gedruckt: 28.08.2019

Verfahren

Beispiel für eine Warthin-Starry-Färbung:
(keine Metallgefäße verwenden)

(1)	Schnitte entparaffinieren	
(2)	Schnitte mit absteigender Alkoholreihe rehydratisieren	
(3)	Leitungswasser	2 min
(4)	Silbernitrat 1%ig	3 min
(5)	Spülen in Leitungswasser	3 min
(6)	Gebrauchslösung Entwicklerlösung	4 min
(7)	Spülen mit Aqua dest.	2 min
(8)	Spülen mit Aqua dest.	2 min
(9)	Natriumthiosulfat-Lösung	2 min
(10)	Spülen mit Aqua dest.	2 min
(11)	Entwässern mit aufsteigender Alkoholreihe	
(12)	Klären mit Xylol, eindecken	

Empfehlung:
Das Silbernitrat (Schritt 4) und die Entwicklerlösung (Schritt 6) können auf 60°C erwärmt werden. Dies kann zu verbesserten Färbeergebnisse führen.

Ebenso können zur Verbesserung der Ergebnisse vor der Imprägnierung in Silbernitrat die Schnitte in der Acetatpufferlösung kurz gespült werden.

Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheit des Labors und den jeweils zu bearbeitenden Fragestellungen des Anwenders orientieren.

Zu beachten ist, dass diese spezielle Färbung sehr viel Sorgfalt und Laborroutine des Durchführenden erfordert.

Literaturangaben

Literatur zu diesem Verfahren

Warthin, A.S. & Starry, A.C. (1920): A more rapid and improved method of demonstrating spirochaetes in tissues. – Am J. Syph 4:97.

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