

Kit: Entwicklerlösung, gepuffert für WARTHIN-STARRY Silberfärbung

REF 13361

15 ... 25 °C

Verwendungszweck:

Imprägnieren von Gewebeschnitten

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verwendungszweck

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

Der Nachweis erfolgt i.d.R. in Proben des Oberflächenepithels der Magendrüsen und Magenschleimhaut.

Prinzip

Die Warthin-Starry-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 eine abschließende Fixierungsreaktion in Natriumthiosulfat stabilisiert. Erfolgt dieser Schritt nicht, so bleichen die Schnitte nach einiger Zeit aus.

Reagenz

Wirksame Bestandteile

250 ml Silbernitrat 2 %ig, gepuffert (CAS-Nr.:)
1000 ml Gelatine-Lösung, gepuffert (CAS-Nr.:)
100 ml Hydrochinon-Lösung 3%ig, gepuffert (CAS-Nr.:)

Besondere Hinweise

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
Bakterien: 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 Färberegebnisses.

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.

Vorbereitung der Gebrauchslösung Entwicklerlösung:

Wichtig: keine metallischen Gegenstände verwenden

Gelieferte Lösung:

Gelatine-Lösung, gepuffert, Artikel-Nr.: 13353

Hydrochinon-Lösung 3%ig, Artikel-Nr.: 13357

Silbernitrat 2 %ig, gepuffert, Artikel-Nr.: 13349

Für den Gebrauch müssen die 3 Lösungen zu einer Entwicklerlösung verdünnt werden. Die Gelatine vor Gebrauch auf 60°C vorwärmen.

Entwicklerlösung ist immer vor Gebrauch wie folgt frisch anzusetzen.

10 ml Hydrochinon-Lösung 3%ig

150 ml Gelatine -Lösung, gepuffert

Kurz vor Gebrauch Zugabe von 30 ml Silbernitrat 2%ig, gepuffert.

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
- xylohaltiges Eindeckmittel
- Xylol

Verwendungszweck:

Imprägnieren von
Gewebeschnitten

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verfahren

Beispiel für eine Warthin-Starry-Färbung:

(keine Metallgefäße verwenden)

- | | | |
|------|---|-------|
| (1) | Schnitte entparaffinieren | |
| (2) | Schnitte mit absteigender
Alkoholreihe rehydratisieren | |
| (3) | Aqua dest | 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 5%ig | 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

1. 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

