



QBC F.A.S.T.™ Auramin O Färbekit

Handbuch

Form 414 Rev. B
Stand 18.1.2012

QBC F.A.S.T.™ Auramin O Färbekit

Verwendungszweck

Zum Einsatz als Färbemittel für Patientenprobeausstriche oder -kulturen zum Nachweis oder zur Charakterisierung von säurefesten Bazillen wie *Mycobacterium tuberculosis*.

Übersicht und Grundsätze

Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO), von der seit 1990 Inzidenzdaten aufgezeichnet werden, ist die Anzahl der Tuberkulosefälle seit mindestens diesem Zeitpunkt am Steigen.¹ Die frühe und korrekte Erkennung der Tuberkulose ist ein wichtiger Faktor für eine effektive Behandlung und Eindämmung der Krankheit. Die häufigste Methode zum Nachweis von *Mycobacterium tuberculosis* ist die mikroskopische Untersuchung eines Sputumausstrichs.¹ Dies lässt sowohl eine Verdachtsdiagnose als auch eine Größenbestimmung der Mykobakterienbelastung zu.

Säurefeste Bazillen wie *Mycobacterium tuberculosis* können mit Anilinfarben gefärbt werden und widerstehen der Verfärbung durch Säure und Alkohol. Wenn der Behandlung eine Gegenfärbung folgt, werden die säurefesten Bazillen damit im Kontrast zu anderen Organismen und Verunreinigungen gefärbt, die nur die Gegenfärbung behalten haben. Die klassischen Färbemethoden für die säurefeste Mikroskopie erzeugen jedoch einen Ausstrich, der mitunter nur schwierig und langsam auszulesen ist. Die Färbemittel Auramin O und Auramin-Rhodamin wurden erfolgreich bei der Fluoreszenzmikroskopie von Mykobakterien eingesetzt. Es liegen widersprüchliche Berichte über den Färbemechanismus vor, darunter die Bindung von Auramin O an die Zellwand der Mykobakterien² und die Bindung des Färbemittels mit „dem Großteil bzw. dem gesamten“ Auramin O, das mit der Nukleinsäure der Mykobakterien verbunden ist.³ Es wurde jedoch gezeigt, dass die Färbung mit Auramin O bei der Identifizierung von säurefesten Bakterien sensibler ist als lichtmikroskopische Methoden.⁴ Die höhere Sensibilität ist größtenteils auf den hohen Kontrast zurückzuführen, den die fluoreszenten Färbemittel den säurefesten Bazillen verleihen, die grün vor einem dunklen Hintergrund erscheinen. Diese Kontraststeigerung ermöglicht den Einsatz von Objektiven mit größeren Sichtfeldern, wodurch sich die Gesamtuntersuchungszeit verringert.

Reguläre Auraminfärbemethoden haben im Vergleich zu herkömmlichen Methoden wesentliche Vorteile, sind jedoch zeitaufwändig. Das QBC F.A.S.T. Auramin O Färbekit vereinfacht den Prozess, weil es dank einer speziellen Kombination aus Quencher und Entfärber eine Färbung in nur vier Schritten ermöglicht, die nur knapp über zwei Minuten dauert.

Inhalt

Das Kit enthält:

- QBC F.A.S.T. Auramin O Färbemittel (120 ml, 250 ml oder 3,8 l)
- QBC F.A.S.T. Entfärber/Quencher (120 ml, 250 ml oder 3,8 l)
- Packungsbeilage

Warn- und Vorsichtshinweise

Für den Einsatz bei *In-vitro*-Diagnosen.

Klinische Proben vom Menschen können Erreger von Infektionskrankheiten enthalten, wie z. B. Tuberkulose, Hepatitis, humane Immundefizienz (HIV). Bei der Handhabung klinischer Proben sind allgemeine Vorsichtshinweise und örtliche Vorschriften und Bestimmungen zu befolgen. Alle Aktivitäten, bei denen ein Aerosol der klinischen Proben entstehen könnte, müssen in einer Sicherheitswerkbank durchgeführt werden. Bei Aktivitäten, bei denen *Mycobacterium tuberculosis* gezüchtet werden, sind Sicherheitsverfahren und -praktiken der Stufe 3 anzuwenden.

Die Chemikalien in diesem Kit sind gesundheitsschädlich und können zu Verletzungen oder sogar zum Tod führen. Sie sind in einem gut belüfteten Bereich und unter Verwendung ordnungsgemäßer Personenschutz-ausrüstung zu verwenden. Kontakt mit offenem Feuer vermeiden. Weitere Informationen über die

Sicherheit und ordnungsgemäße Entsorgung entnehmen Sie dem Sicherheitsdatenblatt zum Kit.

Dieses Produkt dient zum Nachweis säurefester Bazillen. Die Mikroskopie von Sputumausstrichen sowie die Verfahren zur Präparation und Verarbeitung von Proben zum Nachweis säurefester Bakterien dürfen nur von Personen ausgeführt werden, die in den entsprechenden Verfahren und in allgemeiner Laborpraxis geschult sind.

Lagerung

Bei 15 bis 25 °C lagern. Das Färbemittel vor Licht schützen. Nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwenden.

Färbeverfahren

Das *F.A.S.T.* Auramin O Färbekit kann mit direkten oder konzentrierten Sputum- und Zellkulturproben verwendet werden.

1. Hitzefixieren Sie den Objektträger mit dem Probeausstrich.
2. Bedecken Sie den Ausstrich mit *F.A.S.T.* Auramin O und lassen Sie das Färbemittel 1 Minute lang einwirken.
3. Spülen Sie den Ausstrich vorsichtig mit entionisiertem oder Leitungswasser ab und lassen Sie ihn abtropfen.
4. Bedecken Sie den Ausstrich mit *F.A.S.T.* Entfärber/Quencher und lassen Sie diesen 1 Minute lang einwirken.
5. Spülen Sie den Ausstrich vorsichtig mit entionisiertem oder Leitungswasser ab und lassen Sie ihn abtropfen. Trocknen Sie den Objektträger.
6. Untersuchen Sie den Objektträger mit dem QBC ParaLens oder einer anderen Fluoreszenzmikroskopvorrichtung.

Qualitätskontrolle

Es müssen regelmäßig QBC Objektträger zur diagnostischen Qualitätskontrolle (Art.-Nr. 427402) verwendet werden, um die Reagenzien und das Färbeverfahren zu kontrollieren. Die Qualitätskontrolle ist unter Einhaltung der geltenden Vorschriften durchzuführen.

Wenn die Qualitätskontrolle nicht bestanden wird, melden Sie Patientenresultate erst, wenn der Fehler beseitigt ist. Wenn die positive Kontrolle nicht bestanden wird, kann dies auf eine Qualitätsminderung des Färbereagens hindeuten. Wenn die positive Kontrolle aufgrund des Färbemittels gar nicht oder nur schwach fluoresziert, verwenden Sie das Färbemittel nicht für Patientenproben.

Erwartete Ergebnisse

Mykobakterien und andere säurefeste Bazillen fluoreszieren grün vor einem dunklen Hintergrund, wenn sie mit einem Fluoreszenzmikroskop mit einem blauen Anregungs- und grünen Emissionsfilter (z. B. Anregungsfilter: 435-480 nm, Emissionsfilter 510-600 nm) betrachtet werden. Alle anderen Organismen sind nicht sichtbar. Ein fluoreszierender Bazillus stellt eine Verdachtsidentifizierung eines *Mykobakteriums* dar.

Einschränkungen

Bestimmte schnell wachsende Mykobakterien fluoreszieren bei dieser Färbung nicht. Für derartige Proben eine Ziehl-Neelsen-, Kinyoun- oder andere Färbemethode verwenden. Die Fluoreszenz von Ausstrichen lässt mit der Zeit nach. Deshalb müssen gefärbte Proben sobald wie möglich untersucht werden. Während ein positives Ergebnis zwar das Vorhandensein von Mykobakterien belegt, ist eine Infektion auch bei einem negativen Resultat nicht auszuschließen. Deshalb müssen zur positiven Identifizierung andere Diagnosemethoden verwendet werden, z. B. eine Zellkultur oder PCR.

F.A.S.T. Färbereagenzien können bei übermäßiger Hitze verblassen. Führen Sie deshalb immer eine Qualitätskontrolle durch, um die Integrität des Färbemittels zu bestimmen, bevor Sie Patientenergebnisse melden. Verwenden Sie das Färbemittel nicht, wenn es die Qualitätskontrolle nicht besteht.

Benötigte, jedoch nicht mitgelieferte Artikel

Die QBC F.A.S.T. Auramin O Färbekits sind zur Verwendung mit Fluoreszenzmikroskopsystemen bestimmt, die Proben bei 425-480 nm anregen und Fluoreszenzlicht im Bereich von mindestens 510-600 nm übertragen können. Darüber hinaus sind Objektträger und ein Objektträgerwärmer oder Bunsenbrenner erforderlich.

Quellen

1. Weltgesundheitsorganisation. (2009) Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO Report 2009. WHO Press, Genf, Schweiz
2. Baron, E.J. and S.M. Finegold. (1990) Baily & Scott's Diagnostic Microbiology, 8. Ausgabe. The CV Mosby Company, Baltimore, Maryland.
3. Steingart K. R., et al. (2007) Fluorescence versus conventional for sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infectious Disease* 6:570-81.
4. Hanscheid, T. (2008) The future looks bright: low-cost fluorescencet microscopes for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Coccidia*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Elsevier Ltd., 520-521.

Bestellinformationen

QBC F.A.S.T. Auramin O Färbekits:

Größe	Art.-Nr.
Probe-Kit	427422
120 ml Kit	427404
250 ml Kit	424424
3,8 l Kit	424425



QBC Diagnostics, Inc.
200 ShadyLane Drive, Philipsburg PA, 16866
+1-814-692-7661, www.qbcdiagnostics.com



Emergo Europe
Molenstraat 15, 2513 BH Den Haag, Niederlande
Tel. : +31 (0) 70-345-8570, Fax : +31 (0) 70-346-7299



Hersteller



Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft



Haltbar bis



Artikelnummer



Medizinisches Gerät zur In-vitro-Diagnose



Temperaturbeschränkung



Chargennummer



Siehe Gebrauchsanweisung



Ätzend



Entzündlich