

VERWENDUNGSZWECK

Mukolyse-Reagenz PL.701 von PRO-LAB ist ein sputumverflüssigendes Mittel zum Verdau und zur Verdünnung von Sputum zur Verbesserung der Isolierung von Organismen, die chronische Lungenerkrankungen auslösen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Mit der Einführung von sputumverdünnenden Mitteln wurden Diagnose und Management chronischer Lungenerkrankungen verbessert. Früher wurden Iodide, Alevaire (Breon Laboratories, Inc. New York, N.Y.) und Natriumsalze verwendet, um das für diese Erkrankungen typische, dickflüssige Bronchialsekret klinisch zu verdünnen, was jedoch nur eingeschränkt erfolgreich war.¹ Einen signifikanten Beitrag zur Lösung dieser Problematik wurde 1963 von Sheffner geleistet, der zeigen konnte, dass die reaktiven Sulfhydrylgruppen in n-Acetylcystein mukolytisch sind.² Später konnte Cleland zeigen, dass das Sulfhydrylreagenz Dithiothreitol eine überragende Wirkung bei der spezifischen und vollständigen Reduktion von Disulfidbrücken in Mukoproteinen besitzt.³ DTT wird routinemäßig häufig zum Verdau von Sputum vor der Herstellung von Ausstrichen und Kulturen eingesetzt, da es weder Morphologie noch Wachstum der Pathogene im Sputum oder die Antikörperfluoreszenz beeinträchtigt.⁴

BESCHREIBUNG

Dithiothreitol (DTT) und Phosphatpuffer werden in geeigneten Mengen lyophilisiert und in getrennten Fläschchen geliefert. Der Inhalt eines jeden Fläschchens ist ausreichend, um 100 ml Endprodukt herzustellen. Der pH-Wert des Endproduktes beträgt 7,0.

FORMULIERUNG

Jedes Fläschchen enthält:
Dithiothreitol 100 mg

VERFAHREN

Zur Rekonstitution eines jeden Fläschchens mit Mukolyse-Reagenz PL.701 von PRO-LAB wird ein Volumenanteil steriles destilliertes Wasser (bis zu 10 ml) aseptisch zugegeben. Das Fläschchen wird wieder verschlossen und vorsichtig geschüttelt, um den Inhalt zu rekonstituieren. Die resultierende Lösung sollte klar und frei von sichtbaren Festpartikeln sein. Der Inhalt des Fläschchens wird zu einer Menge an sterilen destilliertem Wasser gegeben, so dass das Endvolumen 100 ml beträgt.

VERWENDUNG

1. Sputumproben werden in einem Zentrifugenröhrchen mit der gleichen Menge von verdünntem Mukolyse-Reagenz überschichtet.
2. Das Sputum wird 30 Sekunden lang auf dem Vortex gemischt.
3. Die Mischung muss 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.

Hinweis: Eine längere Inkubation führt nicht zur Hemmung der Multiplikation der Flora.

Für prädominante Organismen:

1. Die Mischung wird fünf Minuten lang bei 1500 rpm zentrifugiert, um die Zellen zu sedimentieren.
2. Der Überstand wird verworfen und das Sediment in einer kleinen Menge verdünnter Mukolyse-Reagenz resuspendiert. Die Menge an Verdünnungsmittel richtet sich nach dem Volumen des Sediments und der gewünschten Endkonzentration. Zum Auszählen von Kolonien wird eine Verdünnung von 1:100 bei einem Inokulum von 0,01 ml empfohlen. Soll die Genauigkeit der Auszählung erhöht werden, empfiehlt sich das Herstellen einer Verdünnungsreihe.

Für säurefeste Bazillen:

1. Die Probe wird dekontaminiert, indem das Sediment in 5-10 ml 1% NaOH suspendiert wird (während der ersten Minute muss gründlich gemischt werden).
2. Die Suspension wird daraufhin 15 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert und der Überstand verworfen.
3. Das Sediment wird zweimal in 10 ml Mukolyse-Reagenz gewaschen.
4. Nach der letzten Zentrifugation wird das Sediment in 0,5 ml verdünntem Mukolyse-Reagenz suspendiert.
5. Anzuchten von säurefesten Bazillen auf geeignetem Medium.

SICHERHEITSHINWEISE

1. Das Mukolyse-Reagenz PL.701 von PRO-LAB wird nur für in vitro-Verfahren und ist nicht für heilende oder prophylaktische Zwecke bestimmt.
2. Während und nach der Verwendung sollten alle Materialien entsprechend den Richtlinien der guten Laborpraxis behandelt werden; außerdem muss stets beachtet werden, dass alle Testmaterialien bei Nichtbeachten dieser Richtlinien möglicherweise bio-gefährdend sind.

PACKUNGSGRÖSSE

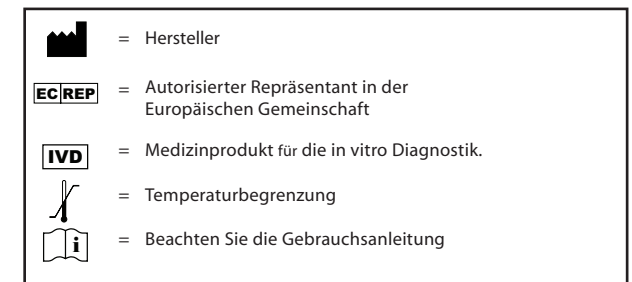
Eine Schachtel enthält 10 Fläschchen Mukolyse-Reagenz PL.701 von PRO-LAB (lyophilisiert).

AUFBEWAHRUNG

Das Mukolyse-Reagenz PL.701 (lyophilisiert) von PRO-LAB muss bei 2-8°C aufbewahrt werden. Unter diesen Bedingungen ist es bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar (s. Etikett).

QUELLEN

1. Hirsh, S.R., Zastrow, J.E., and Kory, R.C. 1969. Sputum liquefying agents: a comparative "in vitro evaluation". J. Lab. & Clin. Med. 74: 346-352.
2. Shah, R.J. and Dye, W.E. 1966. Use of dithiothreitol to replace n-acetyl-l-cysteine for routine sputum digestion-decontamination for the culture of mycobacteria. Am. Rev. Respir. Dis. 94: 454.
3. Cleland, W.W. 1964. Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups. Biochemistry. 3: 480-482.
4. Reep, B.R., Kaplan, P.H, and Kaplan, W. 1972. The use of n-acetyl-l-cysteine and dithiothreitol to process sputa for mycological and fluorescent antibody examination. Health Lab Sci. 9: 118-124.



Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.

Revision: 2012 03

