

Hallo Mikrofreunde, es folgt der 3. Teil der kleinen Hämatologie • Beste Grüße Jürgen aus Hemer

Kleine mikroskopische Hämatologie in Bildern • Teil 3

Im Teil 3 werden die Blutabnahme, die Vitalblutpräparate für Dunkelfelduntersuchung, die Herstellung von Blatausstrichen, die Blatausstrichautomaten, die Fixierung der Blatausstriche, die Färbung der Blatausstriche und die Blatausstrich-Färbeautomaten behandelt.

Dem an der Hämatologie interessierten Mikroskopiker stehen Blatausstrichautomaten und Blatausstrich-Färbeautomaten in der Regel nicht zur Verfügung. Er stellt seine Blatausstriche selbst her und färbt sie auch selbst.

Bei wenigen Blatausstrichen ist die Verwendung der " Sangodiff-Färbefolien " oder die Schnellfärbung nach " Wright " zweckmäßig. Diese Färbungen führen durchaus zu brauchbaren Ergebnissen.

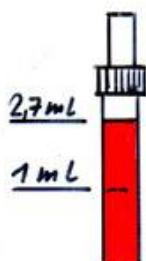
Wenn eine größere Zahl von Blatausstrichen mit " optimaler Färbung " hergestellt werden soll, ist jedoch die Serienfärbung nach " Pappenheim " zweckmäßig.

Außer den für den Mikroskopiker interessanten drei Routinefärbungen gibt es für den Hämatologen für verschiedene Indikationen noch " Spezialfärbungen ".

Z.B. : Supravitalfärbung, Eisenfärbung (Berliner-Blau-Reaktion), Peroxidasefärbung (POX), Unspezifische Esterase-Färbung (α -Naphtyl-Butyrat-Esterase), Saure Phosphatase-Färbung, Periodic-Acid-Schiff (PAS)-Färbung.

Blutentnahme

Venenblut



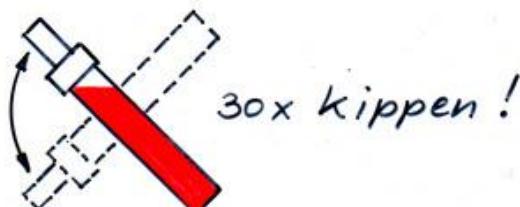
Blutbildröhren

mit EDTA - antikoaguliertem Blut

(EDTA = Ethylen-diamine-tetraacetic-
acid = Ethylenediamintetraessigsäure)

Mischen

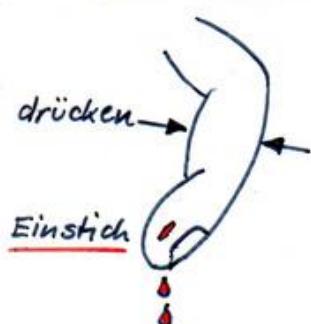
Vor jeder Probeentnahme durch
30 x Kippen schonend mischen.



Probeentnahme

Blut aus dem Blutbildröhren mit
Pipette entnehmen.

Fingerblut (Kapillarblut)



Entnahmestelle:

Fingerbeere des 4. Fingers - seitlich!

Durchblutung verbessern: z.B. Erwärmen, Reiben

Desinfektion: mit Alkohol-Pads

Einstich: ~3,5 mm tief mit Einstichhilfe
und steriler Einmal-Lanzette

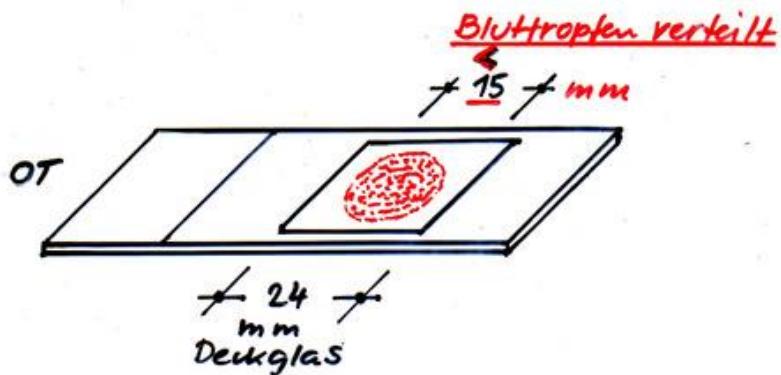
Blutentnahme: Finger am Mittelglied
oben und unten durch drücken kurz
stauen, 1. Bluttropfen mit trockenem
Tüpfel wegwischen, 2. Bluttropfen
mit Pipette entnehmen oder direkt auf
den Objekträger geben. Einstichstelle
mit trockenem Tüpfel abwischen und
mit Pflaster abdecken.

Das Blut muß ohne starkes Quetschen
von selbst (spontan) fließen!

Vitalblutpräparat für Dunkelfelduntersuchung

Deckglas - Methode

2. Bluttropfen aus der Fingerbeere mit einem Deckglas 24x24 mm aufnehmen und sofort auf einen Objektträger legen. Der Bluttropfen soll klein sein und möglichst genau in Deckglasmitte liegen. Das Blut muß sich ohne Druck gleichmäßig verteilen und darf im Durchmesser nur etwa 15 mm haben. Das Deckglas darf die Fingerbeere nicht berühren und darf auch keinen Randschluß haben.

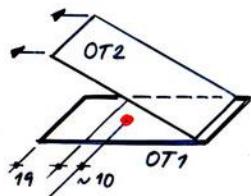


Objektträger - Methode

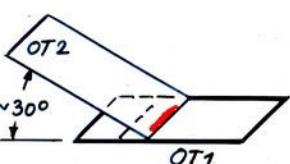
2. Bluttropfen aus der Fingerbeere mit einem Objektträger aufnehmen oder mit Pipette abnehmen und auf Objektträger übertragen und sofort mit einem Deckglas 24x24 mm eindecken.
Weitere Randbedingungen wie bei Deckglas - Methode.

Herstellung von Blutausstrichen mit der „Schub-Methode“

Objektträger OT2 vor Bluttropfen unter Winkel von ~30° aufsetzen u. langsam rückwärts an Bluttropfen heranziehen

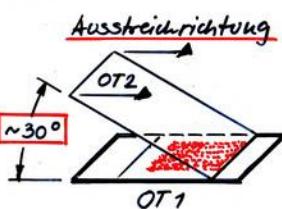


Bluttropfen auf Objektträger OT1 bringen

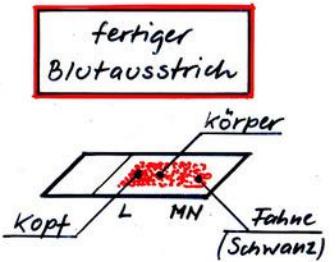


Bluttropfen im Winkel von OT1/OT2 verlaufen lassen

Objektträger OT2 in Ausstreichrichtung ohne Druckausübung zügig unter Winkel von ~30° über Objektträger OT1 schieben



im Winkel verlaufen
Bluttropfen hinterherziehen



fertiger Blutausstrich

oft!

L = Anreicherung von Lymphozyten

MN = Anreicherung von Monozyten und Neutrophilen

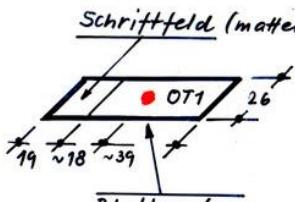
Achtung! Dicke Ausstriche entstehen bei großem Winkel (>45°) zwischen OT1 und OT2 und schnellem Ausstreichen.

Dünne Ausstriche entstehen bei kleinem Winkel (<15°) zwischen OT1 und OT2 und langsamem Ausstreichen.

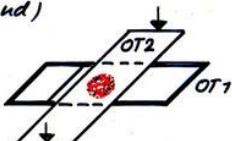
Ausstreichrichtung auch von rechts nach links üblich!

Herstellung von Blutausstrichen mit der „Squash-Methode“

Bluttropfen auf Objektträger (OT1 76x26mm) bringen

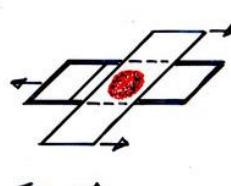


2. Objektträger (OT2) ohne Druck auf OT1 auflegen



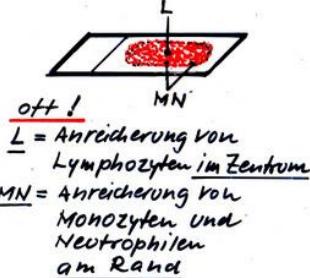
Bluttropfen breite sich aus

vor vollständiger Ausbreitung des Bluttropfens beide Objektträger schnell auseinanderziehen



Zugrichtungen

fertiger Blutausstrich



oft!
L = Anreicherung von Lymphozyten im Zentrum
MN = Anreicherung von Monozyten und Neutrophilen am Rand

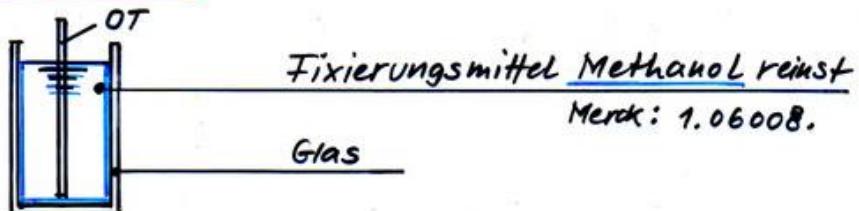
Variante: Objektträger längs übertappend!

Ziel des Ausstriches ist es, eine Probendicke von einer Zellschicht zu erreichen (Monolayer).

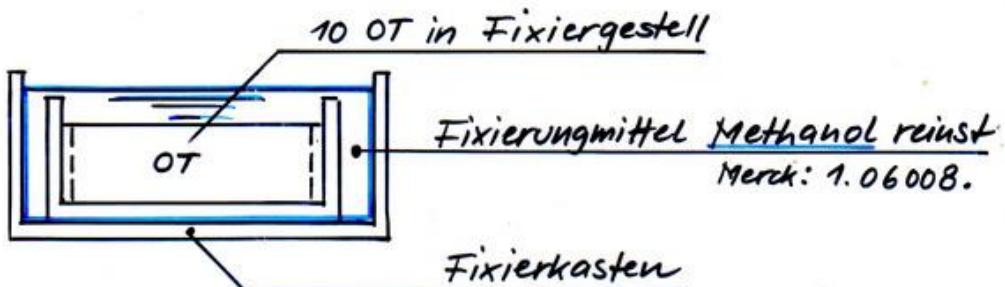
Fixierung von Blutausstrichen

- Fixierung = Stabilisierung des Strukturgefüges der Blutzellen über lange Zeit in möglichst lebensähnlichem Zustand.
- Blutzellen werden mit Methanol fixiert d.h.
- chemisch durch irreversible Veränderungen der Eiweißstoffe (Wasserentzug u. Gelbildung) haltbar gemacht.
- Färbbarkeit der Blutzellen bleibt erhalten.
- Die Fixierung steigert die Haltbarkeit und Qualität der Präparate!

Einzelfixierung



Serienfixierung



Fixierungszeitpunkt: nach 2 Stunden Lufttrocknung

Fixierungsdauer : 5 - 10 Minuten

Trocknung : an der Luft auf Trockenständen

Färbung von Blutausstrichen

Routineansprüche

Färbefolien

SANGODIFF
nach GIEMSA

Merk: 1.15332.

Farblösungen

Gemische von sauren (Eosin) u. basischen (Methylenblau, Azur) Färbestoffen

1902
MAY-GRÜNWALD
Eosin-Methylenblau

Merk: 1.01424.

1904
GIEMSA
Azur-Eosin-Methylenblau

Merk: 1.09204.

1902
WRIGHT
Eosin - Methylenblau
(Schnellfärbung)

Merk: 1.01383.

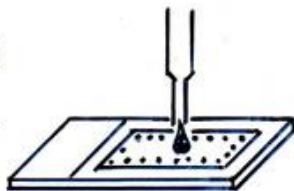
Höchste Ansprüche

1912 Panoptische Färbung nach PAPPENHEIM
kombinierte MAY-GRÜNWALD/GIEMSA-Färbung

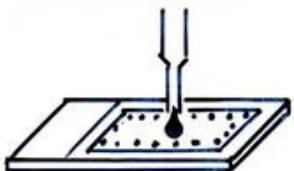
Spezialfärbungen

Blutausstrich - Schnellfärbung nach WRIGHT

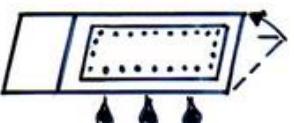
- ① Genau horizontal liegenden
Luftgetrockneten Blutausstrich mittels
Pipette mit 1mL WRIGHTS-Lösung
überschichten



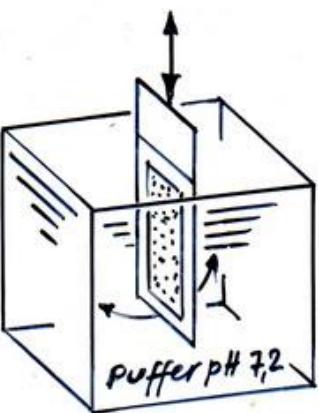
- ② Nach 1 min mittels Pipette
mit 1mL Pufferlösung pH 7,2
überschichten



- ③ Nach 2-4 min dekantieren



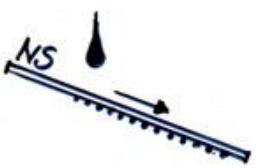
- ④ In Spülbox mit Pufferlösung
pH 7,2 durch leichtes Schwenken
spülen, bis der Ausstrich den
richtigen Farbton hat



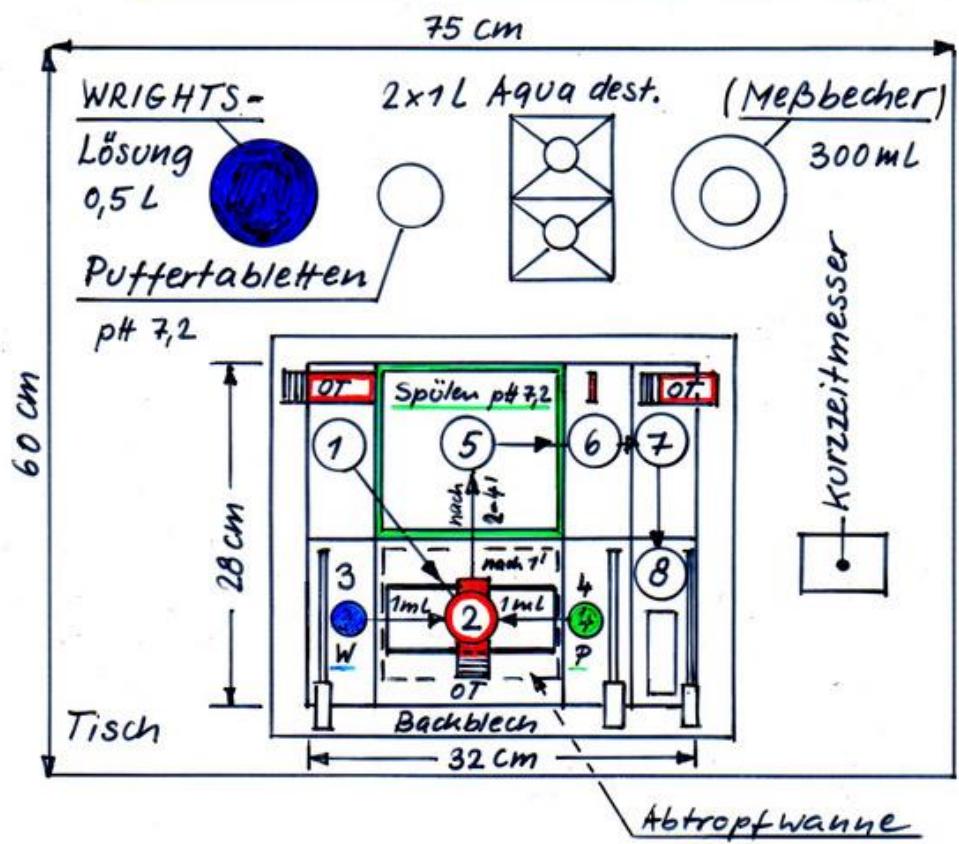
- ⑤ Dann senkrecht über
OT-Schmalseite abtropfen
lassen oder beidseitig
auf Fließpapier drücken

- ⑥ Blutausstrich schräg stehend Lufttrocknen

- ⑦ Nichtschichtseite (NS) mittels Pipette
mit 1 Tropfen Methanol
beschichten und mit Kimwipes
reinigen

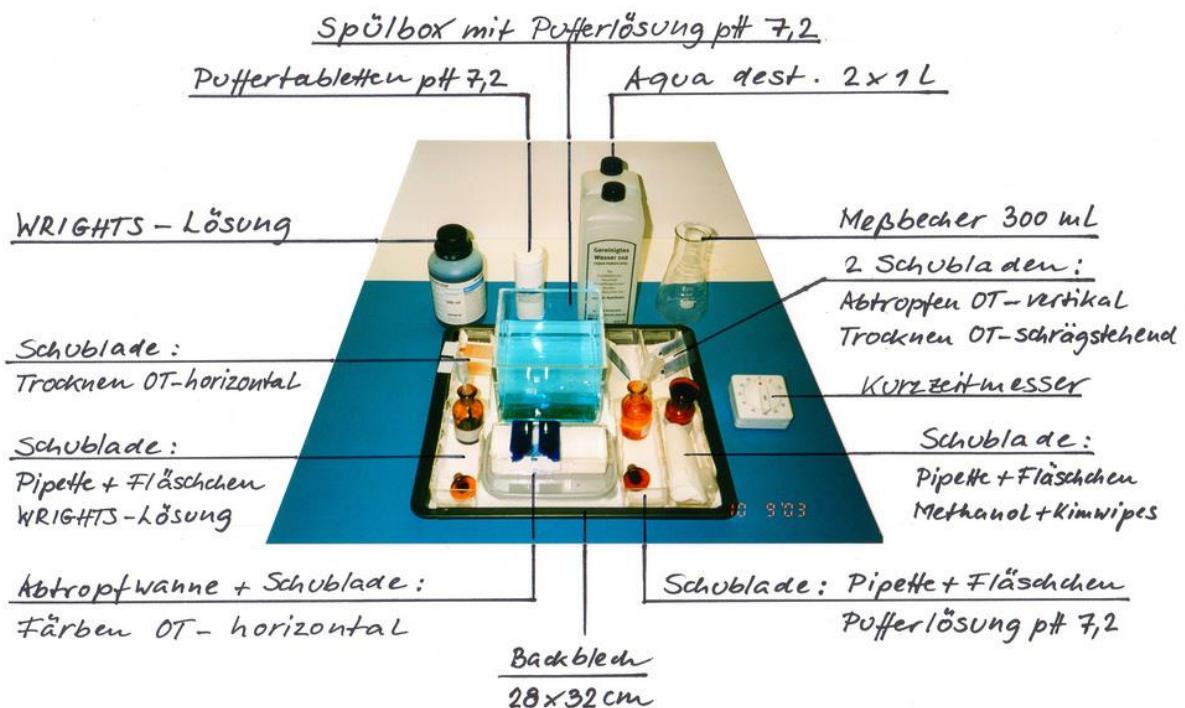


Arbeitsplatzplan
Blutaussstrich - Einzelfärbung
nach WRIGHT

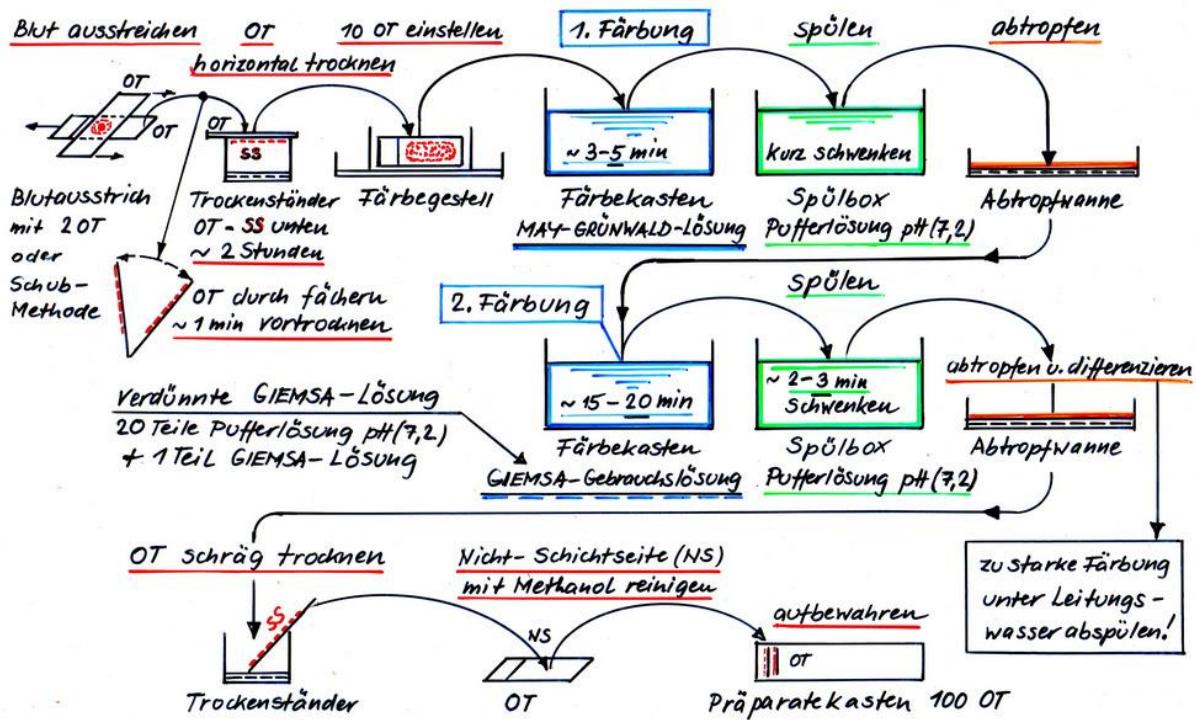


- ① Schublade: Trocknen
OT - horizontal
- ② Schublade: Färben
OT - horizontal
- ③ Schublade: Pipette +
Fläschchen WRIGHT
- ④ Schublade: Pipette +
Fläschchen Puffer pH 7,2
- ⑤ Spülbox mit
Pufferlösung
- ⑥ Schublade: Abtropfen
OT - vertikal
- ⑦ Schublade: Trocknen
OT - schrägstehend
- ⑧ Schublade: Kimwipes +
Fläschchen Methanol
+ Pipette

Arbeitsplatz für Blutausstrich - Einzelfärbung nach WRIGHT



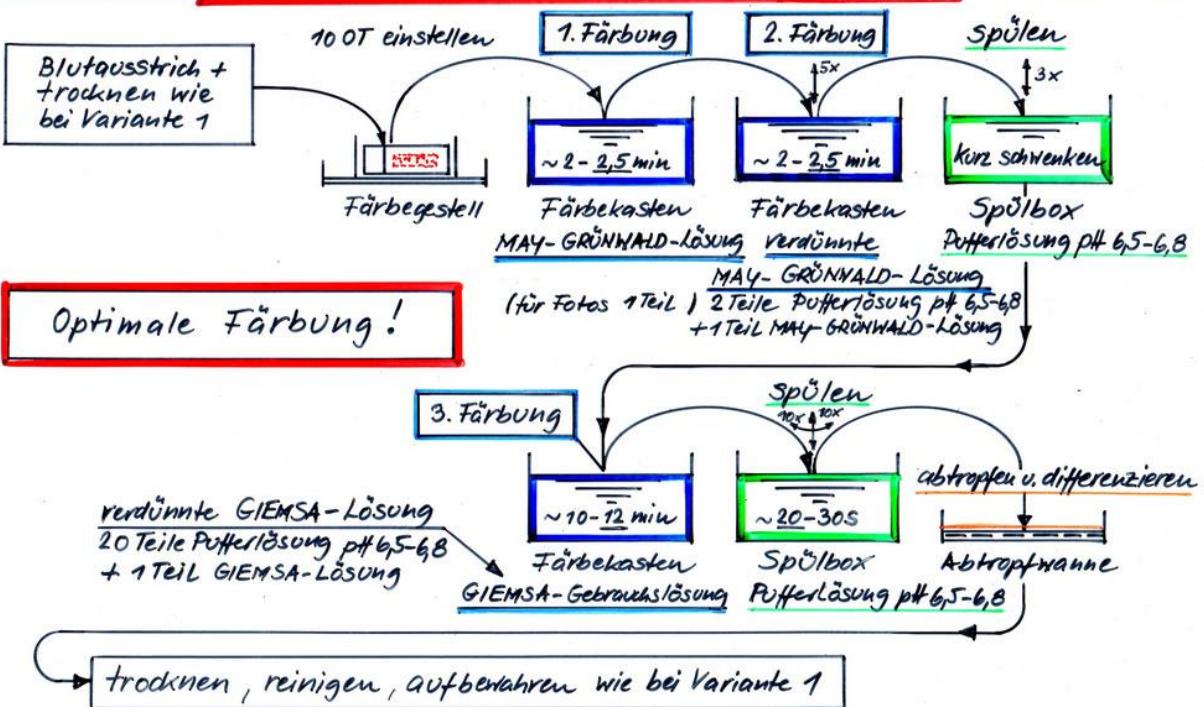
Variante 1 Blutausstrich - Serienfärbung nach PAPPENHEIM 2 Färbekästen



Variante 2

Blutaussstrich - Serienfärbung nach PAPPENHEIM

3 Färbekästen



Großer

Arbeitsplatz für Herstellung, Fixierung u. Färbung von Blutaussstrichen

Reagenzien u. Meßgeräte

Horizontaltrocknung

40 OT

Schrägtrocknung

40 OT

verstellbare Backbleche

Tisch 70x120 cm

Fixierung

Serienfärbung

wahlweise
Arbeitsfläche

für Herstellung oder Einzelfärbung
von Blutaussstrichen

