

Hallo Mikrofrende, 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 Dunkelfeld-untersuchung, die Herstellung von Blutaussstrichen, die Blutaussstrichautomaten, die Fixierung der Blutaussstriche, die Färbung der Blutaussstriche und die Blutaussstrich-Färbeautomaten behandelt.

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

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

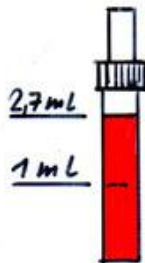
Wenn eine größere Zahl von Blutaussstrichen mit " optimaler Färbung " hergestellt werden soll, ist jedoch die Serienfärbung nach " Pappenheim " zweckmäßig.

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 -Naphthyl-Butyrat-Esterase), Saure Phosphatase-Färbung, Periodic-Acid-Schiff (PAS)-Färbung.

Blutentnahme

Venenblut



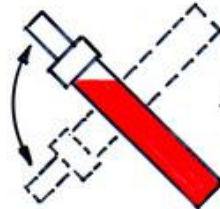
Blutbildröhrchen

mit EDTA - antikoaguliertem Blut

(EDTA = ethylene - diamine - tetraacetic -
acid = Ethylen diamintetraessigsäure)

Mischen

Vor jeder Probeentnahme durch
30 x Kippen schonend mischen.

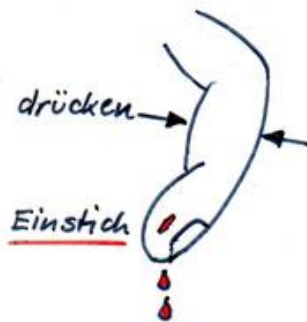


30 x kippen !

Probeentnahme

Blut aus dem Blutbildröhrchen 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

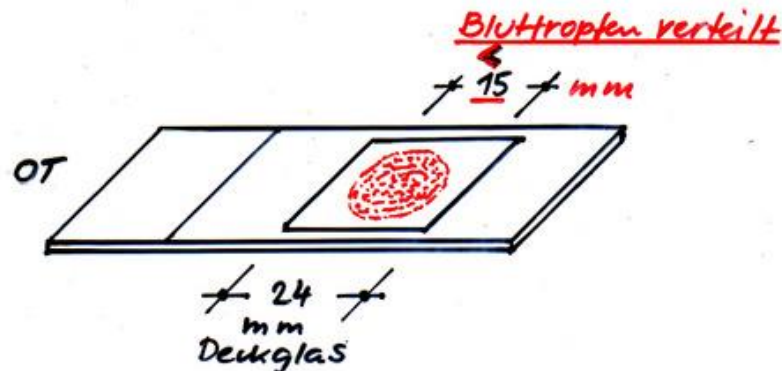
Blutentnahme: Finger am Mittelglied
oben und unten durch drücken kurz
stauen, 1. Bluttröpfchen mit trockenem
Tupfer wegwischen, 2. Bluttröpfchen
mit Pipette entnehmen oder direkt auf
den Objektträger geben. Einstichstelle
mit trockenem Tupfer abwischen und
mit Pflaster abdecken.

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

Vitalblutpräparat für Dunkelfelduntersuchung

Deckglas - Methode

2. Blutropfen aus der Fingerbeere mit einem Deckglas 24x24 mm aufnehmen und sofort auf einen Objektträger legen. Der Blutropfen 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

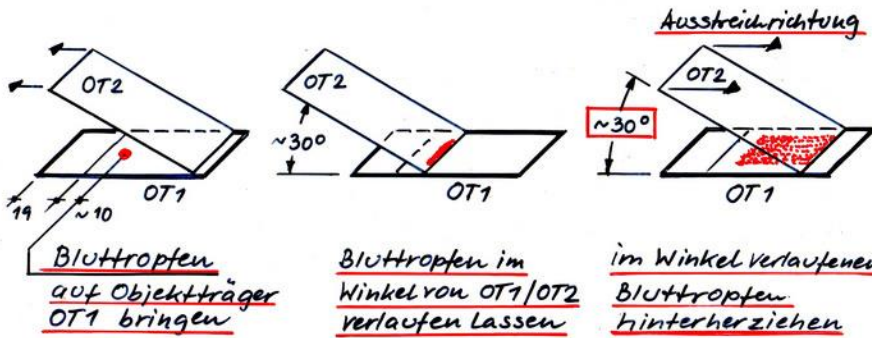
2. Blutropfen aus der Fingerbeere mit einem Objektträger aufnehmen oder mit Pipette abnehmen und auf Objektträger übertragen und sofort mit einem Deckglas 24x24 mm eindecken. Weitere Randbedingungen wie bei Deckglas-Methode.

Herstellung von Blutausstrichen mit der „Schub-Methode“

Objektträger OT2 vor Blut-
tropfen unter Winkel von
 $\sim 30^\circ$ aufsetzen u. langsam
rückwärts an Blutropfen
heranziehen

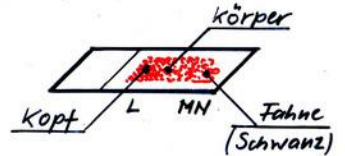
Objektträger OT2
an Blutropfen
unter Winkel von
 $\sim 30^\circ$ „andocken“

Objektträger OT2 in Ausstreichrichtung
ohne Druckausübung zügig unter Winkel
von $\sim 30^\circ$ über Objektträger OT1 schieben



Achtung! Dickere Ausstriche entstehen bei großem Winkel ($>45^\circ$)
zwischen OT1 und OT2 und schnellem Ausstreichen.
Dünnere Ausstriche entstehen bei kleinem Winkel ($<15^\circ$)
zwischen OT1 und OT2 und langsamem Ausstreichen.
Ausstreichrichtung auch von rechts nach links üblich!

fertiger
Blutausstrich



oft!

L = Anreicherung von
Lymphozyten

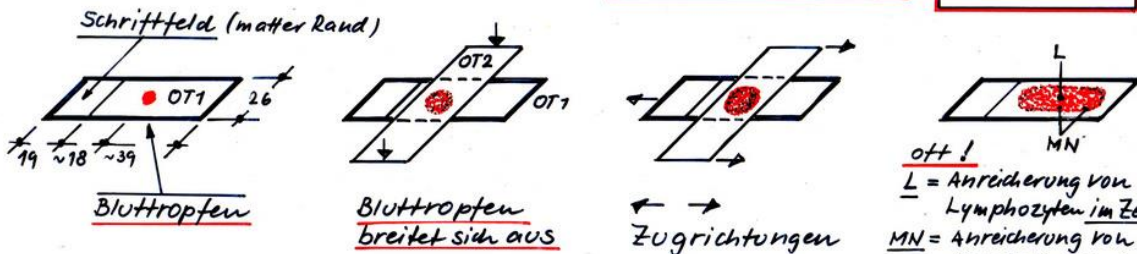
MN = Anreicherung von
Monozyten und
Neutrophilen

Herstellung von Blutausstrichen mit der „Squash-Methode“

Blutropfen
auf Objektträger
(OT1 76x26mm) bringen

2. Objektträger (OT2)
ohne Druck auf
OT1 auflegen

vor vollständiger Aus-
breitung des Blutropfens
beide Objektträger
schnell auseinanderziehen



fertiger
Blutausstrich

oft!

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

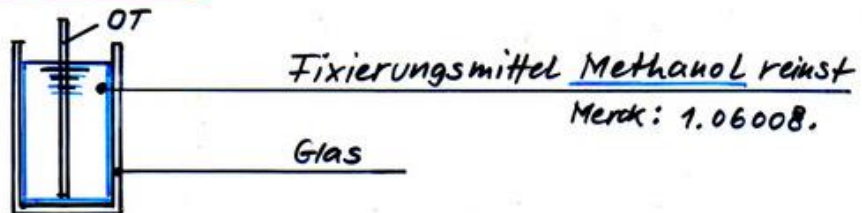
Variante: Objektträger längs überlappend!

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

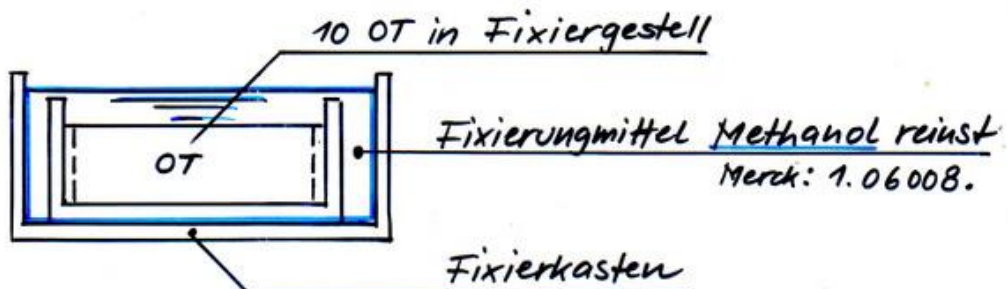
Fixierung von Blutausstrichen

- 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. Gelbfärbung) haltbar gemacht.
- Färbbarkeit der Blutzellen bleibt erhalten.
- Die Fixierung steigert die Haltbarkeit und Qualität der Präparate!

Einzelfixierung



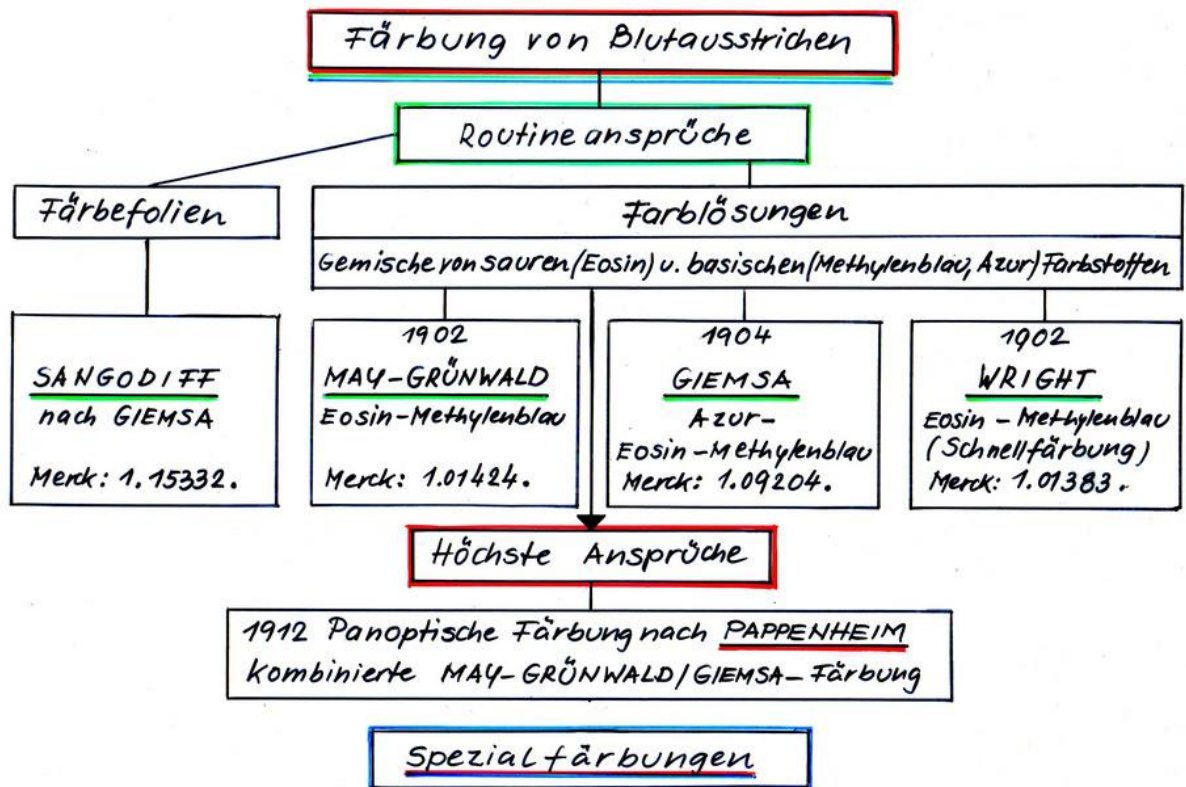
Serienfixierung



Fixierungszeitpunkt: nach 2 Stunden Lufttrocknung

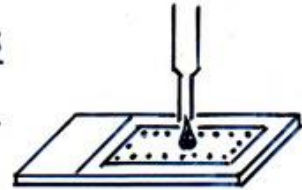
Fixierungsdauer : 5 - 10 Minuten

Trocknung : an der Luft auf Trockenständer

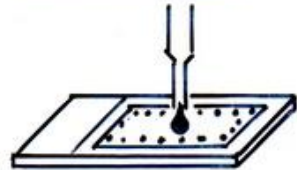


Blutausstrich - Schnellfärbung nach WRIGHT

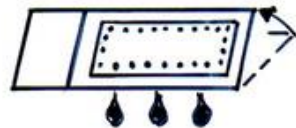
- ① Genau horizontal Liegenden
Luftgetrockneten Blutausstrich mittels
Pipette mit 1mL WRIGHTS-Lösung
Überschichten



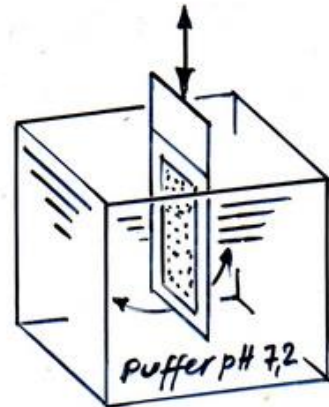
- ② Nach 1min mittels Pipette
mit 1mL Pufferlösung pH 7,2
Überschichten



- 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



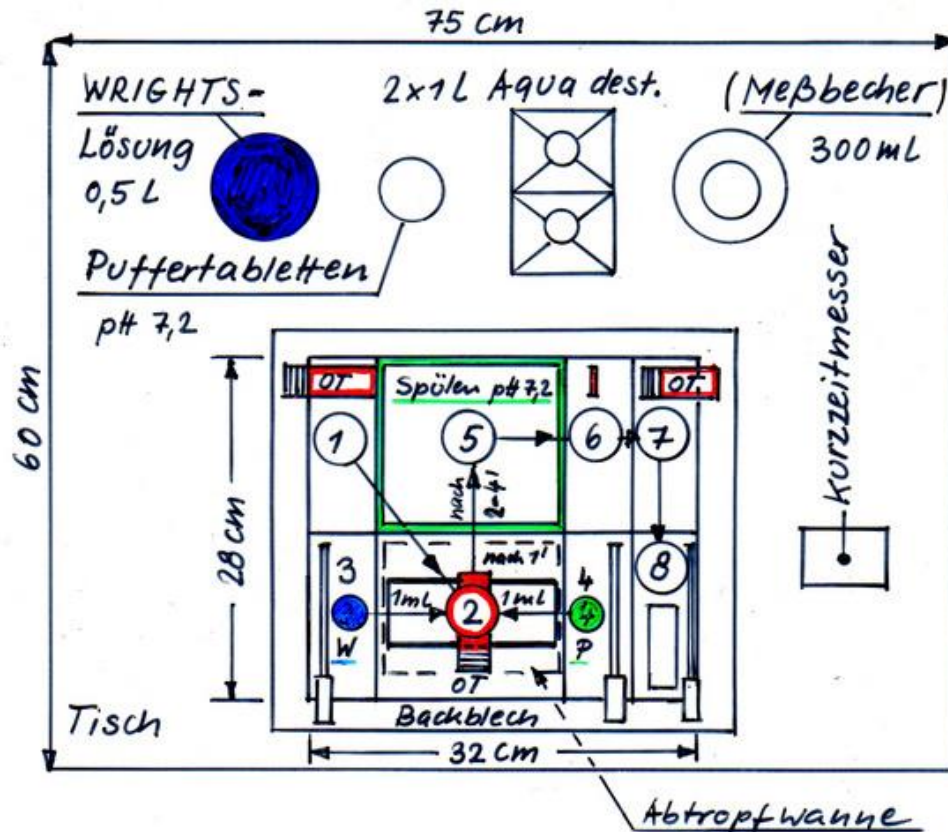
- ⑤ Dann senkrecht über
OT-Schmalseite abtropfen
Lassen oder beidseitig
auf Fließpapier drücken

- ⑥ Blutausstrich schrägstehend Lufttrocknen

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

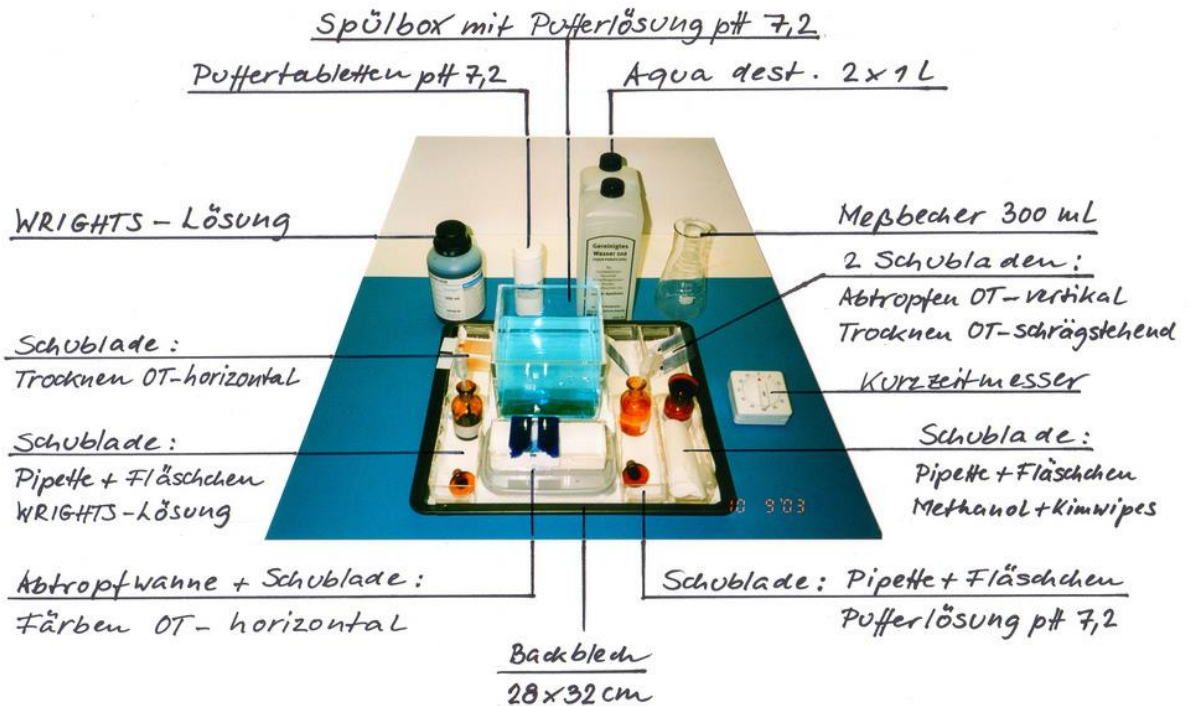


Arbeitsplatzplan
Blutausstrich - Einzelfärbung
nach WRIGHT



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

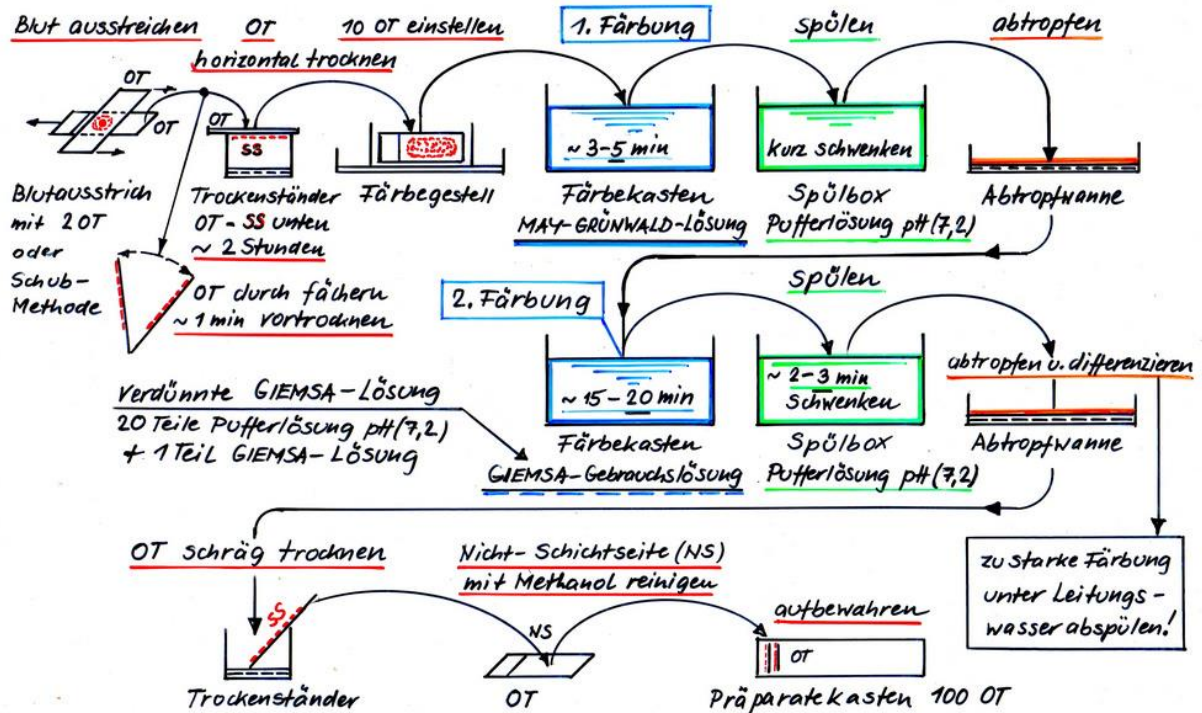
Arbeitsplatz für Blutausstrich-Einzel-färbung nach WRIGHT

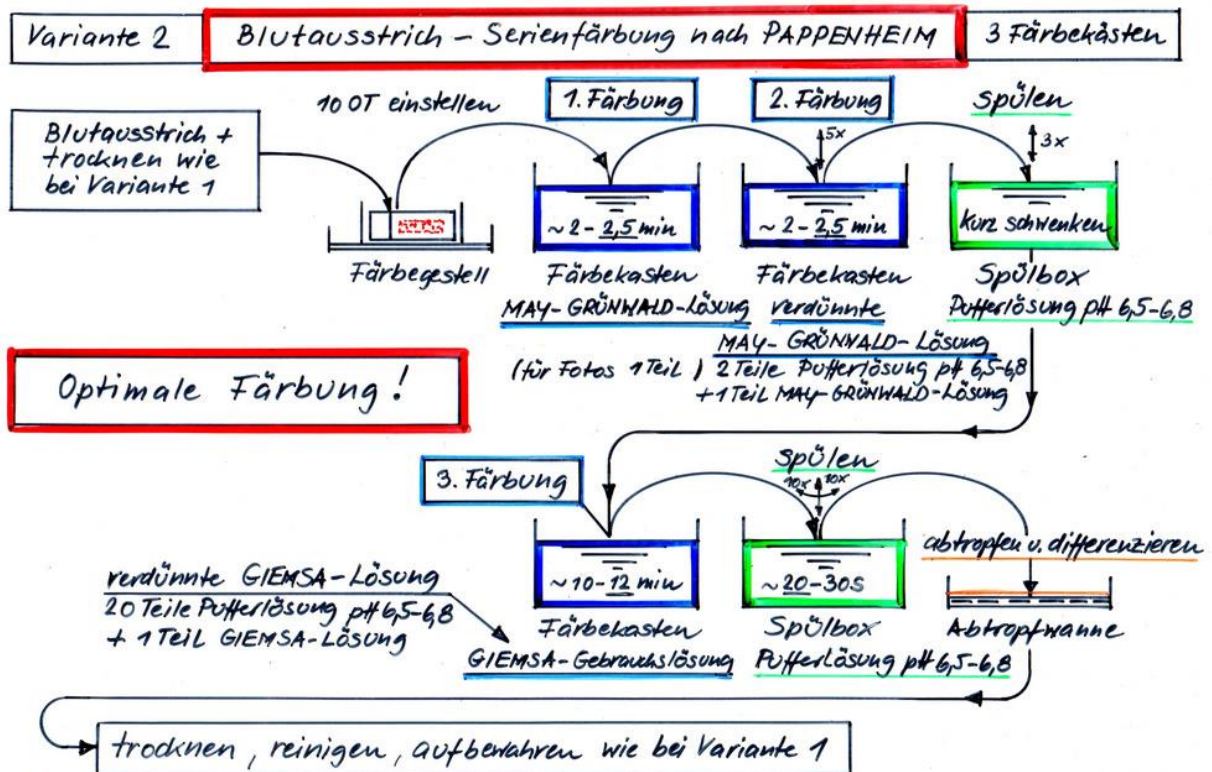


Variante 1

Blutausstrich - Serienfärbung nach PAPPENHEIM

2 Färbekästen





Großer

Arbeitsplatz für Herstellung, Fixierung u. Färbung von Blutausstrichen

