

Prinzip

Diese standardisierte Färbemethode für Differentialblutbilder basiert im Wesentlichen auf der bekannten Blutbildfärbung nach Pappenheim (1912). Basische Farbstoffe (Methylenblau) bilden in wässriger Lösung aktive Farbstoffanteile mit positiver Ladung und färben Zellbestandteile, die negative Ladung tragen. Saure Farbstoffe (Eosin) zerfallen in wässriger Lösung in aktive Farbstoffanteile mit negativer Ladung und färben Proteinstrukturen mit positiver Ladung. Zertifizierte Farbstoffe sind in einer Pufferlösung mit pH 7,2 gelöst um eine optimale Färbung zu gewährleisten. Zur Fixierung der Ausstriche wird eine Methanol-Farbstofflösung eingesetzt.

Reagenzien

Reagenz 1	Fixierlösung
Reagenz 2	Farblösung Rot
Reagenz 3	Farblösung Blau

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig und werden unverdünnt angewendet. In seltenen Fällen, wie etwa bei zu kalter Lagerung, können Ausfällungen auftreten. Diese beeinträchtigen die Qualität der Reagenzien nicht. Gegebenenfalls sind die Farbstofflösungen vor Gebrauch zu filtrieren. Die Reagenzien sind sowohl zur manuellen Durchführung der Färbung in Küvetten, als auch zur Verwendung in Färbeautomaten geeignet. Die Behälter nach Gebrauch dicht verschließen und vor Licht geschützt lagern. Die Haltbarkeit der Reagenzien in dicht verschlossenen Küvetten beträgt, abhängig von der Zahl der gefärbten Präparate, mehrere Wochen. Die Fixierlösung ist leicht flüchtig und sollte deshalb öfter erneuert werden. Zusätzlich wird H₂O dest. oder Phosphatpuffer pH 7,2 benötigt.

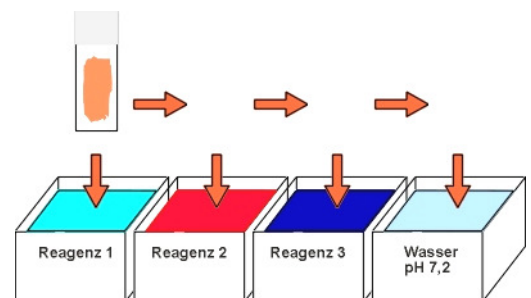
Herstellen der Ausstriche

Nur gut gereinigte, absolut fettfreie Objektträger verwenden. Den Ausstrich nach der im Labor üblichen Methode herstellen und an der Luft trocknen lassen.

Durchführung der Färbung

Die Fixierlösung, die Farbstofflösungen Rot und Blau, sowie destilliertes Wasser bzw. Pufferlösung pH 7,2 in folgender Reihenfolge in gut verschließbare Küvetten geben:

1. Fixierlösung
2. Farbstofflösung Rot
3. Farbstofflösung Blau
4. Destilliertes Wasser oder Puffer pH 7,2



1. Fixierlösung 8 x je 1 Sekunde eintauchen
2. Abtropfen lassen
1. Farbstofflösung Rot 4 x je 1 Sekunde eintauchen
2. Abtropfen lassen
3. Farbstofflösung Blau 4 x je 1 Sekunde eintauchen
4. Abtropfen lassen
5. Mit Aqua dest. oder Phosphatpuffer pH 7,2 spülen
6. Trocknen lassen

Bemerkungen

Zur besseren Benetzung der Präparate bitte immer die Objektträger mehrmals kurz in die Reagenzien eintauchen. Es genügt nicht, die Präparate die angegebene Zeit in den Farblösungen stehen zu lassen. Die Fixierlösung verdunstet schneller als die Farbstofflösungen und ist deshalb öfter zu ersetzen. Das verwendete Wasser sollte einen neutralen pH-Wert haben. Steht Wasser dieser Qualität nicht zur Verfügung, ist Phosphatpuffer pH 7,2 zu verwenden. Wasser oder Puffer täglich, bei starker Verfärbung auch öfter, erneuern.

Beurteilung der Präparate

Zur Beurteilung des Präparates ein Ölimmersionsobjektiv (100 x) verwenden. Mehrere Bereiche des Objektträgers sollten untersucht werden.

Darstellung

Zellkerne:	rot-violett
Erythrozyten:	pink-bräunlich
Eosinophile Granula:	rot-rotbraun
Neutrophile Granula:	schwach violett
Zytoplasma der Lymphozyten:	blau

Sicherheitshinweise

Die im Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten. Sicherheitsdatenblatt beachten. Reagenz 1 enthält Methanol und ist somit als "Giftig" und "Leicht Entzündlich" einzustufen. Sicherheitsdatenblätter stehen im Internet unter <http://www.niepoetter.de> zum Download bereit oder können bei uns kostenlos angefordert werden.

Literatur

Pappenheim A. Zur Blutzellenfärbung im klinischen Bluttrockenpräparat und zur histologischen Schnittpräparatfärbung der hämatopoetischen Gewebe nach meiner Methode. *Folia Haematol* 13:337-344

Romeis, Benno. *Mikroskopische Technik*, 17. Aufl., Urban u. Schwarzenberg München, 1989.

Niepötter Labortechnik
Dieburger Straße 10
68642 Bürstadt
Telefon 06206/75558
Telefax 06206/75428
E-Mail post@niepoetter.de
<http://www.niepoetter.de>