Färbekit: PAPPENHEIM-Färbung (MAY GRÜNWALD & GIEMSA)

REF 11103

siehe

Verwendungszweck:

Färben von Blut- und Abstrichpräparaten

IVD

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

gedruckt: 28.08.2019

Verwendungszweck

Die Färbung nach Pappenheim dient zur Untersuchung von Blut- und Knochenmarkaustrichen und zytologischem Material. Die Färbung differenziert verschiedene Zellen und Zelltypen und erlaubt z.B. eine Unterscheidung von eosinophilen, basophilen und neutrophilen Zellen des Blutes oder Knochenmarkes. Neben einer quantitativen Bestimmung der Granulozyten, Lymphozyten und Erythrozyten findet die Färbung in diversen Varianten auch Anwendung in der Diagnostik verschiedener Erkrankungen oder Parasitenbefall des Blutes (z.B. Plasmodien). Das Färbekit zur Pappenheim-Färbung ist ausschließlich für die professionelle Anwendung im histologischen bzw. zytologischen Labor vorgesehen.

Prinzip

Die Pappenheimfärbung ist eine panoptische Kombinationsfärbung der Färbelösungen Giemsa und May Grünwald Eosin und geht auf die Romanowsky-Färbung von Blutausstrichen zurück.

Die Färbelösungen bestehen aus einer Mischung der Farbstoffe Azur, Eosin und Methylenblau und werden in einer Methanol-Glycerin-Lösung dargeboten. Das Ergebnis der Färbung ist eine mitunter intensive jeweils typische Färbung der Zellkerne, die auf eine Wechselwirkung (Komplexreaktion) der Farbstoffe Eosin und Azur mit der Zell-DNA zurückzuführen ist. Sie wird vor allem durch den pH-Wert der Färbelösungen und Puffersubstanzen, die Färbezeit und das verwendete Fixativ beeinflusst.

Reagenz

Wirksame Bestandteile	Besondere Hinweise
1000 ml May Grünwald Eosin (CAS-Nr.:) 1000 ml GIEMSA-Stammlösung (CAS-Nr.:) 1000 ml Puffer nach Weise, pH 7,0 - 10x Konzentrat (CAS-Nr.:)	Die Stammlösungen müssen vor Gebrauch verdünnt werden. Bereits geöffnete Flaschen stets gut verschlossen aufbewahren. Die Gebrauchslösungen sind frisch anzusetzen.

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Die Färbung differenziert Zellen in der folgenden Weise:

Zellkerne:	purpur bis violett
Lymphozyten:	blau (Zellplasma)
Monozyten:	graublau (Zellplasma)
Granulozyten (neutrophil):	hellviolett (Granula)
Granulozyten (eosinophil):	dunkelrot
Granulozyten (basophil):	dunkelviolett, schwarz
Thrombozyten:	violett
Erythrozyten:	rötlich

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:
Wir empfehlen vor der diagnostischen Verwendung die Lösungen über einen Referenzvergleich zu prüfen. Dies kann über das Mitführen einer bekannten Referenzprobe erfolgen.

Vorsichtsmaßnahmen:
Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Fachpersonal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Infektionsschutz:
Im Umgang mit den Blut- und Abstrichpräparaten ist auf wirksamen Infektionsschutz gem. der Laborrichtlinien zu achten.

Probennahme:
Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen für Abstrichpräparate & Blutausstriche.

Hinweise zur Durchführung:
Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik behandelt werden. Die visuelle Auswertung sollte nur von geeignetem und geschultem Personal durchgeführt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Wir empfehlen das Ergebnis mit anderen Methoden/Untersuchungen zu bestätigen.

Vorbereitung der Gebrauchslösungen
Die gelieferten Lösungen sollten in folgender Weise vorbereitet werden:
Puffer nach Weise, pH 7,0 – 10x Konzentrat wird als Konzentrat geliefert. Um die Leistungseigenschaften entfalten zu können, muss die Lösung in der vorgeschriebenen Weise zubereitet werden:

(1) Puffer nach Weise, pH 7,0 – 10x Konzentrat,
Artikel-Nr.:13170
Puffer-Gebrauchslösung:
Die Stammlösung (10x Konzentrat) wird im Vehältnis 1 + 9 mit destilliertem oder entionisiertem Wasser gemischt, um die Gebrauchslösung zu erhalten.

(2) Giemsa-Stammlösung, Artikel-Nr.:11418
Giemsa-Gebrauchslösung:
Giemsa-Stammlösung mit Puffer-Gebrauchslösung 1 + 9 mischen, einige Minuten stehen lassen und anschliessend durch einen handelsüblichen Faltenfilter filtrieren.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

Zur vollständigen Durchführung der Färbung werden folgende Reagenzien benötigt:

- Zytologisches Fixativ z.B. Methanol Artikel-Nr.: 11860
- Eindeckmittel

letzte Aktualisierung: 22.05.2012

Färbekit: PAPPENHEIM-Färbung (MAY GRÜNWALD & GIEMSA)

REF **11103** | siehe

Verwendungszweck:

Färben von Blut- und Abstrichpräparaten

IVD

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

gedruckt: 28.08.2019

letzte Aktualisierung: 22.05.2012

Verfahren

Die Färbung der Abstrichpräparate kann nach folgenden exemplarischen Protokollen vorgenommen werden.

Verwendung in der Pappenheim-Färbung:

(1)	Fixieren in Methanol	2 - 5 min
(2)	Trocknen der Abstriche an der Luft	
(3)	May Grünwald Eosin	3 - 5 min
(4)	Spülen in Puffer-Gebrauchslösung	1 min
(5)	Spülen in Puffer-Gebrauchslösung	1 min
(6)	Giemsa-Gebrauchslösung	15 min
(7)	Spülen in Puffer-Gebrauchslösung	1 min
(8)	Spülen in Puffer-Gebrauchslösung	1 min
(9)	Trocknen und Eindecken	

Abhängig vom verwendeten Präparat, Fixativ, Alter des Präparates, Färbezeiten und pH-Wert der Lösung kann das Ergebnis trotz Einhaltung der hier genannten Zeiten beeinflusst werden.

Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheit des Labors und den jeweils zu bearbeitenden Fragestellungen des Anwenders orientieren.

Weitere mögliche Verwendungen der Komponente wurden im Rahmen der Leistungsbewertung nicht getestet.

Empfehlung:
Eventuell auftretende Niederschläge oder Ausfällungen bei häufiger Anwendung können durch Filtration über übliche Faltenfilter beseitigt werden.

Literaturangaben

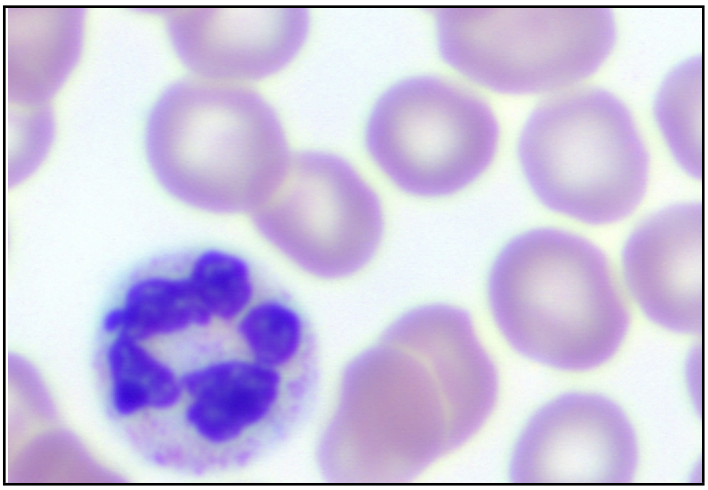
Literatur zu diesem Verfahren

1. Giemsa, G. (1907): Pharmakologische und chemisch-physiologische Studien über Chinin – Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene, Beiheft: 11, 3.
2. Pappenheim, A. (1908): Panoptische Universalfärbung für Blutpräparate. – Medizinische Klinik, Nr. 32: 1244 - 1245.

Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

1. Bancroft, J. D. & Gamble, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone (Edinburg, London, New York).
2. Böck, P. (1989): Romeis: Mikroskopische Technik. – 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg (München, Wien, Baltimore).
3. Burck, H.-C. (1988): Histologische Technik – Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. – 6. Auflage, Thieme Verlag (Stuttgart, New York).
4. Horobin, R. W. & Kiernan, J. A. (2002): CONN's Biological Stains – A Handbook of Dyes, Stains and Flurochrome for Use in Biology and Medicine.
5. Mulisch, M. & Welsch, U. (2010): Romeis – Mikroskopische Technik. – 18. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag (Heidelberg)

Ergebnisbeispiel



Blutausstrich, human
Pappenheimfärbung 14.04.2011
Leistungsmerkmale erfüllt
Puffer nach Weise, pH 7,0 - 10x Konzentrat REF 13170, LOT 3576

MORPHISTO GmbH, Weismüllerstr 45, 60314 Frankfurt am Main. Tel.: 069 / 400 3019 60, Fax: 069 / 400 3019 64