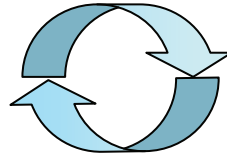


Betrieb[Ausbildungsrahmenplan
Nr. 11.1](#)**Berufsschule**[Rahmenlehrplan
Lernfeld 8](#)

Standardarbeitsanweisung (SOP) Färbung eines Blutausstrichs nach Pappenheim	„Firmenlogo“
Seite: 1 von 3 Verfasser: „ Name “, Ausbilder/in	Dok.-Nr.: TBG/06/0005.1/03 Gültig ab: 01.12.2003

1 Change Control

Grund der Erstellung dieser Fassung:

- Überarbeitung des Layouts Ersetzt SOP TB/05/0005/01

2 Gegenstand, Zweck, Ziel

Die Standard-Arbeitsanweisung beschreibt das Prinzip und die Vorgehensweise der Färbung eines Blutausstriches nach Pappenheim (Panoptische Färbung).

Durch Verwendung basischer (Methylenblau, Azur II) und saurer (Eosin) Farbstoffe lassen sich Zellen und Zellstrukturen unterschiedlich anfärben.

Die verschiedene Anfärbbarkeit beruht auf der jeweiligen Affinität der einzelnen Farbstoffe zu den in den Zellen enthaltenen makromolekularen Substanzen.

So wird die DNA des Kerns, die RNA der Nucleoli und die RNA des cytoplasmatischen Raums mit basischen Farbstoffen gefärbt. Die Proteine des Cytoplasmas und das Hämoglobin werden durch saure Farbstoffe angefärbt.

3 Geltungsbereich

Die SOP findet bei „**Firma**“ Anwendung. Sie dient ausschließlich didaktischen Zwecken.

4 Verantwortlichkeiten

Der/die betreuende Ausbilder/in ist für die korrekte Durchführung des Versuchs verantwortlich. Er/sie kann jedoch die Durchführung, Dokumentation als Auftrag an Auszubildende delegieren. Er/sie muss sich jedoch von der korrekten Durchführung und Dokumentation (Protokolle) überzeugen.

5 Arbeitssicherheit / Umweltschutz / Tierschutz

- Die R- und S-Sätze der verwendeten Gefahrstoffe sind zu beachten und im Protokoll zu dokumentieren
- Blut kann infektiös sein (Schutzbrillentragepflicht)
- Haut- und Augenkontakt zu den Farblösungen und zu Methanol vermeiden (Schutzbrille).
- Schnittverletzung durch Objektträger beachten.
- Farblösungen werden über den Biokanal entsorgt.
- Kontaminiertes Material wird gemäß Abfallentsorgungsrichtlinie „Firma“ entsorgt
- Hände desinfizieren, anschließend mit Seife waschen und eincremen
- Materialien und Tische desinfizieren

6 Material

Eosin-Methylenblaulösung nach May-Grünwald, Azur-2-Eosin-Methylenblaulösung nach Giemsa, Puffergemisch nach Weise, Pipetten, Howorkaball, Spritzflaschen mit E-H₂O, Becherglas, Färbewanne, Färbebrücke, Färbewecker, Pinzette, Fließpapier.

7 Durchführung

Azur-2-Eosin-Methylenblaulösung nach Giemsa wird mit Puffergemisch nach Weise im Verhältnis 1:10 verdünnt. Es ist bei der Herstellung der Verbrauchslösung darauf zu achten, dass das Puffergemisch nach Weise vorgelegt wird und die Giemsa-Stammlösung dazugegeben wird. Im umgekehrten Falle kann es zur Ausfällung der Farbstoffe kommen. Beim Mischen nicht stärker und länger schwenken, als es eine homogene Durchmischung erfordert, da dies ebenfalls unter Umständen zur Ausfällung von Farbstoff und somit zur Unwirksamkeit der Lösung kommen kann.

- Lufttrockener unfixierter Ausstrich mit 2,5 mL Eosin-Methylenblaulösung nach May-Grünwald bedecken und 3 Minuten einwirken lassen.
- Danach 2,5 mL Puffer nach Weise auf die Farbstofflösung zugeben. Dabei darf keine Farbstofflösung vom Objektträger abtropfen.
- Einwirkzeit 1 Minute.
- Objektträger mit der Pinzette leicht ankippen und Farbstofflösung von der Seite her mit frisch hergestellter Giemsa-Gebrauchslösung abspülen. Etwaige Farbstoffverunreinigungen auf der Glasseite mit feuchtem Tuch vor der Färbung mit Giemsa-Gebrauchslösung entfernen.
- Bedecken des Ausstrichs mit 5 mL Giemsa-Gebrauchslösung.
- Einwirkzeit 20 Minuten.
- Giemsa-Gebrauchslösung abkippen und den Ausstrich mit E-H₂O (Spritzflasche) von der Seite her abspülen.
- Bedecken des Ausstrichs mit Puffergemisch nach Weise.
- Einwirkzeit 1 Minute.
- Spülen des Objektträgers mit E-H₂O.
- Objektträger mit der Schichtseite nach unten zum Trocknen aufstellen (In eiligen Fällen zwischen Fließpapier trocknen).

Fehlererkennung

- Farbstoffniederschläge, die eine Granulierung vortäuschen (Konzentrationsveränderung der Farbstofflösung durch Alkoholverdunstung, da Vorratsflaschen zu lang geöffnet. Folge: Farbstoff fällt aus. Deshalb sind die Vorratsflaschen immer gut verschlossen zu halten).
- Ungenügende Anfärbung (Fehler bei Herstellung der Giemsa-Lösung, verdünnte Giemsa-Lösung zu lange aufbewahrt, Giemsa-Lösung nach erfolgter Färbung nicht abgespült).
- Über- und Unterfärbung (Endpunkt beim Abspülen der Färbelösung nicht erkannt).
- Blau- oder rotstichige Blutausstriche (zu alkalisches oder zu saures Wasser benutzt).

Färbeergebnis

Bei gutem Färbeergebnis stellen sich die einzelnen Zellarten wie folgt dar:

Erythrocyten	rosa
Zellkerne der Leucocyten und Protoplasma der Granulocyten	rosa
Protoplasma der Lymphocyten	blau
Protoplasma der Monocyten	grau-blau
Eosinophile Granula	leuchtend-rot
Basophile Granula	blau-schwarz
Neutrophile Granula	blass-rot

8 Verwaltung der vorliegenden SOP

Diese SOP wird von „**Abteilung und Firma**“ aufbewahrt und aktualisiert. Sie ist Bestandteil des QS-Handbuches. Das Original wird an dem in der Kopfleiste erwähnten Standortes aufbewahrt. Kopien werden an die jeweiligen Laboratorien des Bereiches der „**Abteilung**“ ausgegeben. Nur Kopien mit blauem Aufdruck „Biologie“ sind auf Übereinstimmung mit dem Original überprüft.

Überprüft und genehmigt:

.....
Datum

.....
„**Name**“
(Ausbilderin)

.....
Datum

.....
„**Name**“
(Ausbilder)