

Praxisorientierte Diplomarbeit

Verifikation der Qualität des Dako Artisan Link Pro

Ein Vergleich von Handmethode und Automatisierung von sechs
Spezialfärbungen



Vedrana Brcković

Careum AG Bildungszentrum für Gesundheitsberufe

Höhere Fachschule für biomedizinische Analytik, Kurs H18, Juni 2021

Vorwort

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben. Besonders bedanke ich mich bei meiner Betreuerin Daniela Joseph, deren Zeit und Geduld ich in Anspruch nehmen durfte und welche mir mit Ihren fachlichen und konstruktiven Ideen zur Seite stand.

Weiter möchte ich mich bei der Laborleitung von Kempf und Pfaltz bedanken, die mir die Infrastruktur zur Verfügung gestellt hat, um diese Diplomarbeit zu schreiben.

Auch danke ich dem Laborteam, sie haben daran mitgewirkt, dass diese Arbeit in dieser Form vorliegt.

Zusammenfassung

Ausgangslage: Das histologische Labor Kempf und Pfaltz möchte im Spezial Färbelabor Bereich den Prozess optimieren. Der Färbeprozess der Spezialfärbungen soll durch eine Automatisierung effizienter gestaltet und eine entsprechende Arbeitsoptimierung erfolgen.

Ziel: Durch die Automatisierung sollen die Mitarbeiter entlastet, die Qualität verbessert und die Kosten reduziert werden. Mittels der Zeiteinsparung sollen sich ausserdem die Mitarbeiter einer anderen Tätigkeit im Labor widmen können.

Fragestellung: Kann durch den Dako Artisan Link Pro die Effizienz bei den Spezialfärbungen im histologischem Labor Kempf und Pfaltz erhöht werden?

Vorgehen und Methode: Mit dem Dako Artisan Link Pro wurden bis zu 11 Testläufe pro Färbung durchgeführt. Bei der Handmethode wurde pro Färbung ein Schnitt gefärbt. Für die Schnitte wurden Kontrollblöcke vom Labor verwendet. Es wurde so lange getestet, bis ein zufriedenstellendes Färgergebnis erzeugt wurde.

Ergebnis: Es stellte sich heraus, dass das Färgergebnis der Automatisierung besser war als die Handmethode. Zusätzlich konnte Zeit eingespart werden, wodurch sich die biomedizinische Analytikerin (BMA) einer anderen Tätigkeit im Labor widmen konnte. Die Masson-Fontana-Färbung konnte im Dako Artisan Link Pro etabliert werden. Dafür wurde der Jones Kit so angepasst, dass es für die Masson-Fontana-Färbung angewendet werden kann. Die Kosten konnten gesamthaft betrachtet durch die Automatisierung gesenkt werden.

Diskussion/Fazit: Der Dako Artisan Link Pro erzielt ein sehr gutes Färgergebnis. Er färbt besser als die Handmethode. Zugleich wird mit dem Gerät Zeit sowie längerfristig Kosten gespart.

In der vorliegenden Arbeit wird für die bessere Lesbarkeit grundsätzlich die weibliche Schreibweise verwendet. Damit sind selbstverständlich immer beide Geschlechter gemeint.

Abbildungsverzeichnis

Sämtliche Abbildungen wurden durch Vedrana Brcković erstellt. Abbildung 1 und 2 stellen Fotografien dar, die Abbildungen 3 bis 16 wurden mit einem Objektträger-Scanner in einer 400-fachen Vergrößerung aufgenommen.

Abbildung 1: Färbekapelle für die Handmethode	8
Abbildung 2: Dako Artisan Link Pro	9
Abbildung 3: Brown Brenn Handmethode.....	11
Abbildung 4: Brown Brenn Dako Artisan.....	11
Abbildung 5: Grocott Handmethode.....	11
Abbildung 6: Grocott Dako Artisan.....	11
Abbildung 7: Giemsa Handmethode.....	12
Abbildung 8: Giemsa Dako Artisan.....	12
Abbildung 9: Giemsa Lymphknoten Handmethode.....	13
Abbildung 10: Giemsa Lymphknoten Dako Artisan.....	13
Abbildung 11: Kongorot Handmethode.....	13
Abbildung 12: Kongorot Dako Artisan.....	13
Abbildung 13: Masson Fontana Handmethode.....	14
Abbildung 14: Masson Fontana Dako Artisan.....	14
Abbildung 15: Ziehl-Neelsen Handmethode.....	15
Abbildung 16: Ziehl-Neelsen Dako Artisan.....	15
Abbildung 17: Vergleich des Zeitaufwands	17

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Ausgangslage.....	1
1.2	Zielsetzung	1
1.3	Fragestellung.....	1
1.4	Eingrenzung Thema	2
1.5	Vorgehen.....	2
2	Theoretische Grundlagen Spezialfärbungen.....	3
2.1	Brown-Brenn-Färbung	3
2.2	Grocott-Färbung	3
2.3	Giemsa-Färbung	4
2.4	Kongorot-Färbung	5
2.5	Masson-Fontana-Färbung	5
2.6	Ziehl-Neelsen-Färbung.....	6
3	Praxisteil.....	7
3.1	Material und methodisches Vorgehen	7
3.1.1	Verarbeitung der Proben	7
3.1.2	Herstellung von Paraffinschnitten	7
3.1.3	Färbepreparation	7
3.1.4	Methodisches Vorgehen.....	8
3.2	Interpretation und Beurteilung der Färbungen	10
3.2.1	Brown-Brenn-Färbung	11
3.2.2	Grocott-Färbung	11
3.2.3	Giemsa-Färbung	12
3.2.4	Kongorot-Färbung	13
3.2.5	Masson-Fontana-Färbung	14
3.2.6	Ziehl-Neelsen-Färbung.....	15
3.3	Zeitaufwand.....	16
3.4	Finanzieller Aufwand	17
4	Diskussion.....	18
5	Reflexion	19
6	Literaturverzeichnis	20

Titelbild: Dako Artisan Link Pro (Agilent, Datum unbekannt, Zugriff am 17.04.2021)

1 Einleitung

Das histologische Labor Kempf und Pfaltz AG ist auf die Dermatopathologie spezialisiert. In diesem Fachgebiet ist die Hämalaun-Eosin-Färbung der Goldstandard. Neben dieser Färbung sind die Spezialfärbungen ein wichtiges Mittel, um spezifischere Diagnosen stellen zu können. Die Autorin durfte im Labor Kempf und Pfaltz AG ihr drittes Praktikum in der Ausbildung zur biomedizinischen Analytikerin absolvieren und verfasste dabei die vorliegende Diplomarbeit.

1.1 Ausgangslage

Das histologische Labor Kempf und Pfaltz AG möchte seinen Färbungsprozess für Spezialfärbungen, welcher zurzeit mittels Handmethode durchgeführt wird, effizienter gestalten und überlegt sich dafür das Gerät Dako Artisan Link Pro einzusetzen. Die Handmethode nimmt sehr viel Zeit in Anspruch. Dies kann bei hoher Arbeitsbelastung dazu führen, dass die Schnitte nicht rechtzeitig den Pathologen abgegeben werden und sich dadurch die Diagnostik verzögert. Ausserdem werden Mitarbeiter trotz modernster Sicherheitsvorkehrungen bei der Handmethode den verwendeten Chemikalien ausgesetzt. Die Automatisierung sollte die Mitarbeiter somit gesamthaft entlasten, einen schnelleren Färbungsprozess ermöglichen und bestenfalls Kosten sparen.

Der Dako Artisan Link Pro war dem Labor Kempf und Pfaltz bekannt und gehört zu den besten auf dem Markt. Im Vergleich zu anderen Geräten beansprucht der Dako Artisan Link Pro wenig Platz und ist einfach zu bedienen. Folglich wurde das Gerät für drei Monate zur Austestung der Färbungen zur Verfügung gestellt.

1.2 Zielsetzung

Die Mitarbeiter sollten mit Hilfe der Automatisierung des Dako Artisan Link Pro bei den sechs Spezialfärbungen entlastet werden. Aufgrund einer erhöhten Probeneinnahme stieg in den vergangenen Jahren die Arbeitsbelastung für die Mitarbeiter stetig. Es war nicht immer möglich, die Arbeit effizient zu erledigen und eine schnelle Diagnostik zu gewährleisten. Gleichzeitig sollten durch diese Automatisierung Kosten eingespart werden und auf positive Kontrollen verzichtet werden können. Die Qualität der Spezial Färbeergebnisse soll auch bei erhöhter Reproduzierbarkeit mindestens gleich gut wie bei der Handmethode sein.

1.3 Fragestellung

Kann mit dem Dako Artisan Link Pro bei den sechs Spezialfärbungen Giemsa, Brown-Brenn, Grocott, Kongorot, Ziehl-Neelson und Masson-Fontana eine vergleichbare Qualität erreicht werden, wie wenn diese von Hand gefärbt werden?

Kann die Masson-Fontana-Färbung auf dem Dako Artisan Link Pro etabliert werden, auch wenn kein Kit für die Masson-Fontana-Färbung besteht?

Kann durch die Automatisierung die Gesamteffizienz des Labors gesteigert werden? (Zeiteinsparung, Aufwand Vor- und Nachbereitung)

1.4 Eingrenzung Thema

In dieser Arbeit wird ausschliesslich auf den Dako Artisan Link Pro eingegangen, und dieser mit der Handmethode verglichen.

In der Theorie wird tiefer auf das Gerät und die verschiedenen Färbungen eingegangen.

Der vorangehende histologische Aufarbeitungsprozess der Schnittherstellung wird nur kurz beschrieben.

1.5 Vorgehen

Vorgesehen waren maximal 15 Ansätze pro Färbung. Für die Schnitte wurden Kontrollblöcke von Hautproben intern vom Labor verwendet. Es wurden pro Färbung je eine Handmethode und eine maschinelle Methode gefärbt und verglichen. Nach dem ersten Testlauf wurden notwendige Anpassungen vorgenommen. Anschliessend begutachtete der Pathologe die Schnitte und es wurden, wenn nötig, weitere Anpassungen vorgenommen. Dies wurde wiederholt, bis der Pathologe mit dem Färbeergebnis zufrieden war.

2 Theoretische Grundlagen Spezialfärbungen

Nachfolgend wird auf die sechs Spezialfärbungen (Brown-Brenn, Grocott, Giemsa, Kongorot, Masson-Fontana und Ziehl-Neelsen) eingegangen und dabei erläutert, wie diese funktionieren und welche Chemikalien für den Färbeprozess verwendet werden. Ebenso werden die Krankheiten beschrieben, für welche die Spezialfärbungen zur Diagnostik angewendet werden. Für ein besseres Verständnis der nachfolgenden theoretischen Ausführungen vergleiche im Anhang 1 und 2 die Färbeprotokolle von Kempf und Pfaltz, welche Aufschluss über das spezifische Vorgehen bei den Handfärbungen und der Automatisierung im Labor Kempf und Pfaltz geben.

2.1 Brown-Brenn-Färbung

Die Brown-Brenn Reaktion ist eine regressive (überfärben) Färbung und erlaubt den Nachweis von Bakterien, Visualisierung der Morphologie (Stäbchen, Kokken) und die Unterscheidung von grampositiven und gramnegativen Mikroorganismen. Die Mikroorganismen nehmen den Farbstoff Kristallviolett auf. Lugol'sche Lösung (Jodlösung) wird hier als Beize verwendet. Dadurch bildet sich ein Farbstoff-Jod-Komplex in den Mureinschichten der Bakterienzellwand. Die grampositiven Bakterien haben eine dicke Mureinschicht und sind dadurch sehr stabil, somit bleiben diese blau/violett (Zum Ganzen Riedelsheimer & Büchl-Zimmermann In Mulisch & Welsch, 2015, S. 231). Durch die Differenzierung mit Aceton werden die gramnegativen Bakterien wieder entfärbt, da sie eine dünnere Mureinschicht haben als die grampositiven Bakterien (Lang, 2013, S. 236). Mittels Fuchsin werden die gramnegativen Bakterien angefärbt und erscheinen rot. Nach dem Fuchsin wird der Schnitt im Aceton gespült, um das Fuchsin wegzuwaschen. Mit Pikrinsäure wird so lange differenziert, bis der Hintergrund rosa – gelblich erscheint. Mittels Aceton wird die überschüssige Pikrinsäure weggespült. Danach wird der Schnitt über ein Aceton-Ottix Plus Gemisch ins Ottix Plus überführt (vgl. zum Ganzen Riedelsheimer & Büchl-Zimmermann In Mulisch & Welsch, 2015, S. 231).

Im Labor Kempf und Pfaltz sind die meisten Fragestellungen bei dieser Färbung, Hautabszess, Akne inversa, Follikulitis und bakterielle Hautinfektion. Die Follikulitis ist eine entzündliche Veränderung des Haarfollikels und des umliegenden Bindegewebes durch Bakterien (Kempf, 2007, S. 118). Es zeichnet sich durch gerötete Papeln und Pusteln auf der Haut aus (ebd.) Ein Hautabszess ist eine Infektion der Haut, die zu einer Eiteransammlung führt. Als Ursache sind meistens *Staphylococcus aureus* verantwortlich. Bei kleinen Hautrissen kann es schon zur einer bakteriellen Hautinfektion kommen. Die Bakterien dringen durch die kleinen Risse oder Verletzungen in die Haut ein und verursachen eine Infektion. Die Akne inversa bildet eine Infektion in der Haut mit einer ascendierenden (aufgehenden) Fistel in den Achselhöhlen, Leisten und im Genitalbereich. Dadurch kommt es zu grossflächigen Entzündungen, Abszessen und auffälligen Narben (Zum Ganzen Netter, 2006, S. 300).

2.2 Grocott-Färbung

Die Grocott-Färbung ist eine argentaffine (silberliebend ohne Reduktionsmittel) Versilberung, mit welcher Pilze (Sporen, Hyphen) nachgewiesen werden. Die Zellwände der Mikroorganismen sind reich an Glykoproteinen, diese können durch die Versilberung dargestellt werden. Die glykoproteinhaltigen Strukturen werden durch Chromsäure zu Aldehyden oxidiert. Somit werden nur Substanzen, die eine grosse Menge an Glykoproteinen enthalten, wie z.B. Pilzzellwände, mit der Methenamin-Silberlösung reaktiv und reduzieren sie zum metallischen Silber. Die Methenamin-Silberlösung enthält lösliche Silberionen. Diese bilden mit Methenamin zusammen ein basisches Milieu. Um den pH-Wert zu optimieren wird als Puffer Natriumtetraborat verwendet (pH 9). Durch Erhitzen (60°C) der Silberlösung

hydriert Methenamin zu Formaldehyd und Ammoniak, es reduziert dadurch das an die Aldehydgruppen angelagerte Silberion zu metallischem Silber. Goldchlorid bewirkt, dass sich metallisches Gold niederschlägt. So entsteht eine kontrastreichere Darstellung. Das nicht reduzierte Silber wird mittels Natriumthiosulfat entfernt und der Schnitt fixiert. Lichtgrün wird als Gegenfärbung verwendet. Somit erscheinen durch die Versilberung die Pilze schwarz und der Hintergrund Lichtgrün (Zum Ganzen Lang, 2013, S. 237).

Diese Färbung wird im Labor Kempf und Pfaltz durchgeführt bei Fragestellung nach Dermatomykosen, oft bei Onychomykose (Nagelpilz). Die Infektion geschieht meistens, wenn die normale Hautflora gestört ist, bei Allergien, über Nahrung oder bei immunsupprimierten Patienten (z.B. Chemotherapie) (Netter, 2006, S. 76; Kempf et al., 2007, S. 26).

2.3 Giemsa-Färbung

Die Giemsa-Färbung hebt in der Histologie besonders gut die Blut- und Knochenmarkszellen sowie auch Lymphknoten und Mastzellgranula hervor (Lang, 2013, S. 228). Sie kann auch zur Darstellung von *Helicobacter pylori*, Chlamydien, Toxoplasmen, Leishmania, Plasmodien, Trichomonas, Cryptosporidien, Giardia und Parasiten eingesetzt werden (ebd.). Die Giemsa-Lösung besteht aus einem Gemisch aus Eosin, Methylenblau, Methylenazur und Methylenviolett (Riedelsheimer & Büchl-Zimmermann In Mulisch & Welsch, 2015, S. 236 f.). Kurz genannt auch Azur-Eosin-Methylenblaulösung. Methanol und Glycerin werden als Lösungsmittel und Stabilisator verwendet (ebd.). Die Giemsa-Reaktion ist eine regressive, physikalische Metachromasie-Färbung. Metachromasie bedeutet, dass die Gewebeelemente in einem Farbton dargestellt werden, der vom verwendeten Farbstoff abweicht. Dadurch können verschiedene Zellstrukturen unterschiedliche Farben haben, obwohl nur ein Farbstoff verwendet wurde. Die Giemsa-Gebrauchslösung wird kurz vor der Färbung immer frisch mit demineralisiertem Wasser verdünnt, damit die Farbstoffe ihre Wirkung entfalten können. Entgegengesetzte Farbstoffionen, wie beispielsweise aus basischem Methylenblau und saurem Eosin, sind durch diese Verbindung instabil. Dies führt zu einer Salzbildung. Die Anfärbung findet durch die gelösten Anionen und Kationen statt. Je nach pH-Milieu werden Zytoplasma und Zellkerne angefärbt. Ein niedriger pH-Wert bewirkt ein selektiveres Anfärben des Chromatins und weniger Basophilie des Zytoplasmas. Bei hohem pH-Wert zeigen sich dichtere Kerne und das Zytoplasma wird basophiler dargestellt. Die Giemsa-Färbung ist eine regressive Färbung. Das bedeutet, der Schnitt wird zuerst überfärbt und anschließend differenziert. Der überschüssige Farbstoff wird mittels angesäuertem Wasser und 100%igem Alkohol herausgelöst. Das Ergebnis der Giemsa-Färbung ist vom pH-Wert abhängig. Mit dem angesäuerten Wasser wird der pH-Wert gesenkt und dadurch die bläuliche Färbung in Rot bis rosa verändert. Wird der Schnitt dabei zu rotlastig, ist der pH-Wert aufgrund zu starker Essigsäurekonzentration zu tief. Im zweiten Differenzierungsschritt mit Alkohol wird der pH-Wert erhöht, wodurch der Farbumschlag nach blau bewirkt wird (Vgl. zum Ganzen Lang, 2013, S. 228 f.).

Im Labor Kempf und Pfaltz wird die Giemsa-Färbung bei der Frage nach kutaner Mastozytose, kutane Ektoparasitose und kutane Leishmaniose eingesetzt. Die kutane Mastozytose (Urticaria pigmentosa) ist eine Hauterkrankung, die zu einer Ansammlung von Mastzellen in der Epidermis führt (Kempf et al., 2007, S. 284). Dies kann bei Allergien vorkommen und im Lymphknoten. Hier wird die Infiltration der Mastzellen in den Lymphknoten und der Haut diagnostiziert. Die Kutane Leishmaniose ist eine tropische Infektionskrankheit, welche über den Speichel der Sandmücken auf den Menschen übertragen werden (Kempf et al., 2007, S. 90). Die Leishmanien nisten sich unter der Haut ein und bilden meistens ein Ulcus (Geschwür) oder eine granulomatöse Reaktion (Tumor) (Netter, 2006, S. 90). Danach entstehen kleine hyperpigmentierte Narben (ebd.). Die Ektoparasitose wird von tierischen Ektoparasiten (z.B. Läuse) beim Menschen hervorgerufen (ebd. S. 92). Sie nisten sich unter der Haut ein, es kommt zum Juckreiz und zu einem Ekzem (ebd.).

2.4 Kongorot-Färbung

Mittels dieser chemisch-regressiven Färbung werden die Amyloide dargestellt. Amyloide sind hauptsächlich aus Proteinen zusammengesetzt in einer β -Faltblatt-Formation (Lang, 2013, S. 18).

Kongorot ist ein kolloidaler Farbstoff, der sich an die parallel zueinander liegenden Amyloidfibrillen lagert. Damit die abgelagerten Amyloide auf den Amyloidfibrillen sichtbar sind, wird der Schnitt 8 μ m dick geschnitten, da das β -Faltblatt 4 μ m hoch ist. Wenn zu dünn geschnitten wird, kann sich der Farbstoff nicht anlagern. Dadurch können falsch negative Resultate entstehen. Der Farbstoff bindet durch hydrophobe Wechselwirkungen an der Faseroberfläche parallel zur Faser. Somit werden im polarisierten Licht die Amyloide sichtbar, und erscheinen grün. Im normalen Mikroskop erscheinen die Amyloide hingegen ziegelrot. Nachdem die Einwirkung des Kongorots erfolgte, wird mit alkalischem Alkohol differenziert. Damit werden unerwünschte Anfärbungen entfernt. Für die Gegenfärbung wird Hämalaun verwendet, welches die Kerne blau anfärbt (Zum Ganzen Lang, 2013, S. 230).

Im Labor Kempf und Pfaltz wird die Kutane Amyloidose (Lichen amyloidosus) mittels dieser Färbung diagnostiziert. Es ist eine Ablagerung von abnormen veränderten Proteinen im Zwischenzellraum (Netter, 2006, S. 136). Da die Makrophagen nicht in der Lage sind die Proteine zu phagozytieren (verdauen), kommt es zu irreversiblen Ablagerungen in den Organen (ebd.).

2.5 Masson-Fontana-Färbung

Die Masson-Fontana-Färbung basiert auf einer argentaaffinen Versilberung. Dargestellt wird bei dieser Färbung das Melanin in den Melanozyten, welches ein silberliebendes Pigment ist. In einer ammoniakalischen Silberlösung (Footlösung) werden durch das Melanin die Silberionen zu metallischem Silber reduziert. Die Silberniederschläge werden mit Goldchlorid getönt. Mittels Natriumthiosulfat wird fixiert, das heisst, nicht reduziertes Silber wird dadurch entfernt und verhindert so das Nachschwärzen. Als Kernfärbung und Kontrast wird Kernechtrot verwendet. Durch die Versilberung erscheint das Melanin schwarz (Zum Ganzen Lang, 2013, S. 233).

Melanin wird in den Melanozyten gebildet. Es ist ein braun bis braunschwarzes Körnchen. Man findet Melanin nicht nur in der Epidermis, sondern auch in Haar, Retina und teilweise im zentralen Nervensystem (ZNS) (vgl. Riedelsheimer & Büchl-Zimmermann In Mulisch & Welsch, 2015, S. 196 ff.). Histopathologisch, findet man Melanin vor allem in Melanomen (ebd.).

Im Labor Kempf und Pfaltz ist diese Färbung sehr wichtig, da die Vitiligo Krankheit (Weissfleckenkrankheit) so diagnostiziert wird. Es ist eine Pigmentstörung der Haut (Netter, 2006, S. 264). Die Melanozyten werden zerstört und bilden deshalb kein Melanin mehr. So entstehen die weissen Flecken auf der Haut (ebd.).

2.6 Ziehl-Neelsen-Färbung

Mittels der Ziehl-Neelsen-Färbung werden säurefeste Stäbchen (Mycobakterien) nachgewiesen. Es ist eine physiko-chemische Färbung. Bei dieser Färbung wird Karbolfuchsin verwendet, das durch die Lipid-Kapsel aufgenommen wird. Sind diese Bakterien einmal angefärbt, können sie selbst durch intensive Differenzierungsmittel wie Salzsäure-Alkohol nicht mehr entfärbt werden, daher der Begriff säurefest. Die säurefesten Stäbchen erscheinen rot. Andere Bakterien werden auch angefärbt, durch das Differenzieren mit Salzsäure-Alkohol werden diese aber wieder entfärbt. Als Gegenfärbung wird Hämalaun oder Lichtgrün verwendet und der Hintergrund erscheint blau respektive grün. In Salzsäure-Alkohol wird das überschüssige Hämalaun differenziert. Anschliessend wird durch das Bläuen der pH-Wert angehoben. Es entsteht ein Farbumschlag nach blau-violett. Wird als Gegenfärbung Lichtgrün verwendet, fällt das Bläuen weg, da der Hintergrund und die Kerne grün sind. (Zum Ganzen Riedelsheimer & Büchl-Zimmermann In Mulisch & Welsch, 2015, S. 232; Lang, 2013, S. 236).

Mycobacterium tuberculosis sind schlanke säurefeste Stäbchen. Sie sind unbeweglich, bilden keine Sporen und wachsen aerob. Sie kommen bei der Krankheit Tuberkulose vor (Zum Ganzen Lang, 2013, S. 237).

Mit der Ziehl-Neelsen-Färbung wird im Labor Kempf und Pfaltz nach der Fragestellung Kutane Infektion mit Mycobakterien diagnostiziert. Dabei handelt es sich um eine verkäsende granulomatöse Entzündung der Haut (Kempf et al., 2007, S. 86; Netter, 2006, S. 50).

3 Praxisteil

In diesem Kapitel wird zuerst auf das Material und das methodische Vorgehen eingegangen und dabei die Grundlagen für das Verständnis der nachfolgenden Ausführungen geschaffen. Die anschließende Interpretation und Beurteilung der Färbungen stellen den Kern dieses Kapitels dar. Es werden detailliert mit Hilfe von Abbildungen die Färberesultate der Handfärbung und der Automatisierung verglichen. Der Weg zu einem zufriedenstellenden Resultat wird beschrieben und die Schwierigkeiten aufgezeigt, welche sich dabei stellen.

3.1 Material und methodisches Vorgehen

In diesem Abschnitt wird die Verarbeitung der Proben und das methodische Vorgehen beschrieben.

3.1.1 Verarbeitung der Proben

Das Gewebematerial wird von eingesendetem Arzt in 4%igem gepufferten Formalin fixiert und dem Labor zugesendet. Der Patient wird erfasst und der Probe wird eine Nummer vergeben. Die Probe wird makroskopisch verarbeitet und in die zugeordnete Kassette eingekapselt. Über Nacht wird die Kassette mit der Probe im Entwässerungsautomaten über eine aufsteigende Alkoholreihe überführt und dem Gewebe damit das Wasser entzogen. Allfällige Hohlräume werden mit flüssigem Paraffin gefüllt. Danach wird die Kassette zur weiteren Verarbeitung in die Gießstation gegeben. Dort wird das Gewebe orientiert in eine entsprechende Form gelegt und mit flüssigem Paraffin zu einem Paraffinblock gegossen.

3.1.2 Herstellung von Paraffinschnitten

Nachdem der Paraffinblock gegossen wurde, ist das Gewebe bereit für die Herstellung des Schnittes. Der Block wird von der Kühlplatte genommen und in den Blockhalter des Rotationsmikrotoms eingespannt. Zuerst wird der Paraffinblock mittels 10µm getrimmt, damit das Gewebe angeschnitten ist. Danach wird ein Grundschnitt auf 3µm geschnitten. Je nach Färbung wird die Dicke des Schnittes angepasst. Während des Schneidens entsteht ein Bändchen, dieses wird entnommen und in das kalte Wasserbad überführt. Der Grundschnitt wird auf den zugehörigen Objektträger aufgezogen und auf die 45°C warme Wärmeplatte gelegt, bis der Schnitt gestreckt ist. Anschliessend werden die Schnitte für 30 Minuten bei 60°C in den Wärmeschrank gestellt. Dabei schmilzt das Paraffin, wodurch der Schnitt auf dem Objektträger haften bleibt.

3.1.3 Färbepreparation

Bevor die Schnitte gefärbt werden, muss der Schnitt entparaffiniert werden. Dies geschieht normalerweise mittels Xylol. Danach wird es in absteigender Alkoholreihe (100-96-70-50% Alkohol) rehydriert, bis hin zum demineralisierten Wasser (Aqua demi.). Dadurch wird das Gewebe auf die Färbung vorbereitet.

In der histologischen Diagnostik Kempf und Pfaltz werden andere, als soeben beschriebene Lösungen gebraucht. Das Xylol wird durch Ottix plus ersetzt und der Alkohol durch den Ottix Shaper. Nur der 100% Alkohol wird beibehalten (Ottix plus-100% Alkohol-Ottix Shaper-Aqua demi.).

3.1.4 Methodisches Vorgehen

Bei der Handmethode wurde pro Färbung ein Schnitt nach der Vorschrift von Kempf und Pfaltz gefärbt. Für jede maschinelle Färbung habe ich 15 Schnitte hergestellt. Dazu wurden Kontrollblöcke verwendet. Um einen optimalen Vergleich zu erhalten, wurden die gleichen Kontrollblöcke, wie bei der Handmethode auch für den Dako Artisan Link Pro verwendet. In der Abbildung 1 ist der Färbeplatz mit der Färbekapelle für die Handmethode ersichtlich.

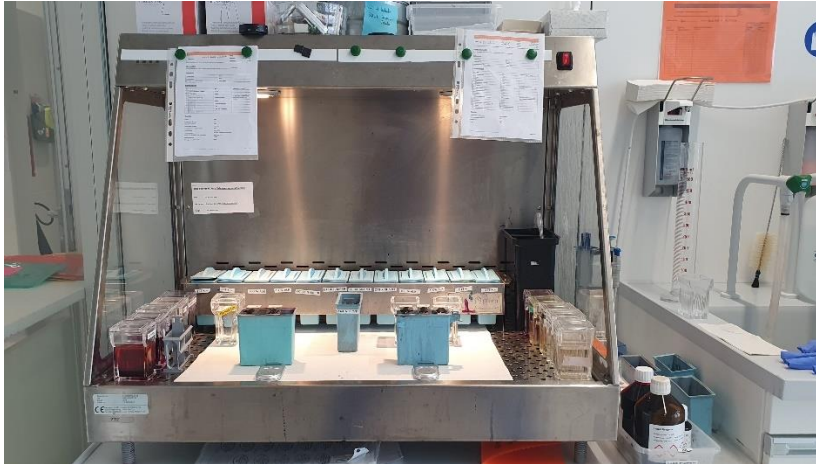


Abbildung 1: Färbekapelle für die Handmethode

Zur automatisierten Durchführung wurde gleich wie bei der Handmethode ein Schnitt gefärbt. Auch hier wurden vor der Entparaffinierung die Schnitte für 30 Minuten in den Wärmeschrank gestellt. Die Entparaffinierung wurde von Hand durchgeführt. Dies hat der Hersteller so empfohlen, weil die automatisierte Entparaffinierung leider noch nicht optimiert und weiterhin in Entwicklung sei.

Die Schnitte können nach Wunsch in der zugehörigen Software des Dako Artisan Link Pro bezeichnet werden und das passende Färbeprotokoll hinzugefügt werden. Das System generiert einen Barcode, welcher auf den Objektträger geklebt und beim Scannvorgang vom Gerät erkannt wird. Somit erkennt das Gerät, welchen Schnitt es mit welchem Färbeprotokoll färben muss. Bevor der Dako Artisan Link Pro arbeiten kann, werden die Abfallbehälter geleert und die Auffüllbehälter mit 100% Alkohol, 95% Alkohol und Waschsolution aufgefüllt. Damit keine Luft in den Schläuchen Störungen hervorruft, werden alle Behälter vor dem ersten Gebrauch vorgepumpt.

Als Nächstes werden die Farbkartuschen mit den Reagenzien geladen. Vorher werden die Farbkartuschen ca. 20-mal geschwenkt und auch hier wieder vor dem ersten Gebrauch vorgepumpt, damit allfällige Luft entweichen kann. Jetzt können die Schnitte mit der Schnittfläche nach oben auf dem Karussell geladen werden, so dass die Barcodeetiketten nach aussen schauen. Bei den Objektträgern sollte die untere Seite abgetrocknet werden, damit ein richtiger Kontakt mit der Heizplatte entstehen kann. Durch das Einhaken der «Slide Clips» auf den Objektträger entsteht eine Färbewanne. So werden nur kleine Mengen an Färbemittel benötigt und gleichzeitig eine Verschmutzung des Barcodes verhindert. Die Kammertür des Objektträgerkarussells wird geschlossen und der Lauf kann gestartet werden. Das Gerät scannt die Reagenzien sowie die Objektträger. Falls etwas fehlt, gibt das Gerät eine Meldung. Die Laufzeit des Färbelaufes wird berechnet und das Gerät kann starten.

Ist der Lauf beendet, gibt das Gerät ein akustisches Signal von sich. Die Kammertür kann geöffnet werden und die Schnitte vom Objektträgerkarussell entnommen werden. Die «Slide Clips» können nur einmal verwendet werden und sind nach dem Lauf zu entsorgen. Von Hand werden nun die Schnitte in der aufsteigenden Alkoholreihe (Ottix Shaper-100% Alkohol-Ottix Plus) dehydriert und kurz zum Trocknen in den Ofen gestellt. Danach wird der Objektträger maschinell eingedeckt.

Nach jedem Lauf werden die Abfallbehälter kontrolliert und wenn nötig geleert. Der Füllstand der Auffüllbehälter kann auch kontrolliert werden. Da aber das Gerät einen Sensor für die Auffüllbehälter hat, wird vor jedem Lauf der Füllstand automatisch kontrolliert.

Die Ventile werden nach jedem Lauf automatisch durchgespült, um allfällige Verschmutzungen auszuspülen. Das Objektträgerkarussell wird nach jedem Lauf mit einer getränkten Gaze mit Waschlösung gereinigt, so werden - falls vorhanden - Farbreste auf der Platte weggeputzt. In der Abbildung 2 ist der Dako Artisan Link Pro am neuen Färbepplatz ersichtlich.



Abbildung 2: Dako Artisan Link Pro

Eine erste mikroskopische Beurteilung entscheidet über das weitere Vorgehen. Sind die Schnitte zufriedenstellend und vergleichbar mit der Handmethode, werden diese zusammen mit dem Pathologen begutachtet. Sind die Färbungen nicht befriedigend, werden weitere Massnahmen am Färbeprotokoll ergriffen und geändert.

3.2 Interpretation und Beurteilung der Färbungen

Nach der ersten Durchführung mit dem Dako Artisan Link Pro war ersichtlich, wie viel Zeit und Aufwand im Vergleich zur Handmethode gespart werden konnte. Für ein vertieftes Verständnis der nachfolgenden Interpretationen und Beurteilungen der Färbungen siehe im Anhang das Färbeprotokoll vom Dako Artisan Link Pro und die Tabelle in Anhang drei mit den Färbeergebnissen.

Die Handmethode ist sehr aufwändig und zeitraubend, sowie auch anspruchsvoll betreffend Koordination und Zeitmanagement im Färbelabor. Meistens werden mehrere Färbungen zusammen durchgeführt. Dafür muss konzentriert und effizient gearbeitet werden. Da bei der Handmethode kein Mitarbeiter genau gleich färbt, sind die Färbeergebnisse sehr unterschiedlich. Eine einheitliche Färbung wäre besonders bei einer Differenzierung wichtig. So entsteht die Schwierigkeit für den Pathologen eine Diagnose zu stellen.

Es wird auch mehr Abfall von den Reagenzien produziert, da die Menge des Farbstoffs nicht so präzise dosiert werden kann wie durch den Dako Artisan Link Pro und somit zu viel Farbstoff verwendet wird. Es besteht kein Risiko mehr, die Dämpfe der Chemikalien einzuatmen, da durch die Automatisierung die Reagenzien sicher im Kit verschlossen sind.

Der Dako Artisan Link Pro ist sehr einfach zu bedienen und verständlich aufgebaut. Nach dem ersten Testlauf mit dem vorprogrammierten Färbeprotokollen des Herstellers wurden einige Schnitte sehr gut gefärbt, andere mussten leicht angepasst werden. Wie schon erwähnt, wird das Entparaffinieren von Hand durchgeführt, weil dies auf dem Gerät noch nicht die optimalen Färbeergebnisse ergibt. Das Entparaffinieren auf dem Dako Artisan Link Pro wirkt sich negativ auf das Gewebe aus. Das verwendete Mittel ist für die Färbungen nicht optimal; der Schnitt sieht verwaschen aus.

Um zu kontrollieren, ob die Färbung funktioniert hat, wird immer eine positive Kontrolle mitgefärbt. Beim Dako Artisan Link Pro sind die Reagenzien alle standardisiert und werden vom Hersteller kontrolliert. Somit könnte auf eine positive Kontrolle im Labor verzichtet werden. Im Labor Kempf und Pfaltz hat man sich entschieden, dass einmal pro Tag eine Positivkontrolle gefärbt wird.

Im nächsten Abschnitt werden die vorgenommenen Anpassungen und Ergebnisse zu den entsprechenden Färbungen erläutert und immer das Endergebnis der Handmethode und der Automatisierung abgebildet.

3.2.1 Brown-Brenn-Färbung

An der Brown-Brenn-Färbung wurden nach dem ersten Testlauf am Färbeprotokoll Änderungen vorgenommen, weil der Schnitt zu dunkel war. Die grampositiven (roter Pfeil) und gramnegativen (grüner Pfeil) Bakterien waren nicht gut zu erkennen. Am Protokoll wurde die Tatrazine (Säuregelb) von 30 Sekunden auf null Sekunden gesetzt. Damit wurde der ganze Schnitt heller und damit auch der Hintergrund und die Bakterien besser ersichtlicher. Der zuständige Pathologe war zufrieden mit dem Ergebnis. Bei der Handmethode sind die gramnegativen (grüner Pfeil) Bakterien hingegen sehr schwach angefärbt.

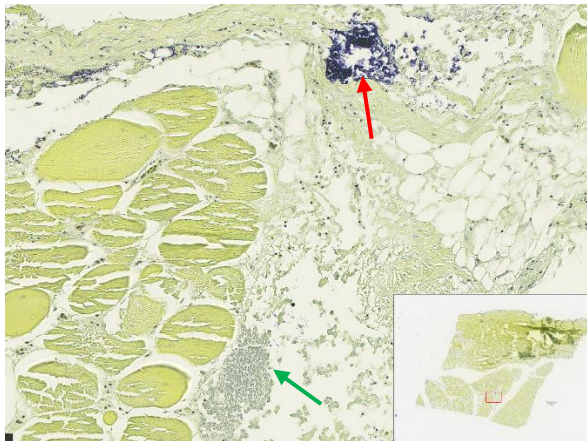


Abbildung 3: Brown-Brenn Handmethode

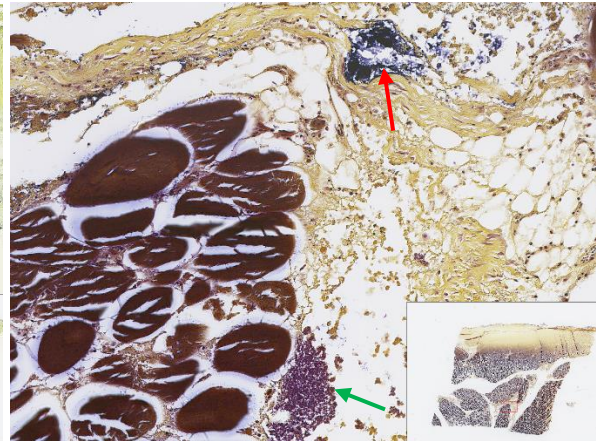


Abbildung 4: Brown-Brenn Dako Artisan

3.2.2 Grocott-Färbung

Bei der Grocott-Färbung wurde ein Testlauf durchgeführt. Nach dem ersten Lauf war die Färbung sehr zufriedenstellend. Die Pilzsporen waren hier schön schwarz dargestellt. Daher wurde das originale Färbeprotokoll des Herstellers weiterhin verwendet. Bei der Handmethode sind die Pilzsporen hingegen schwach erkennbar.

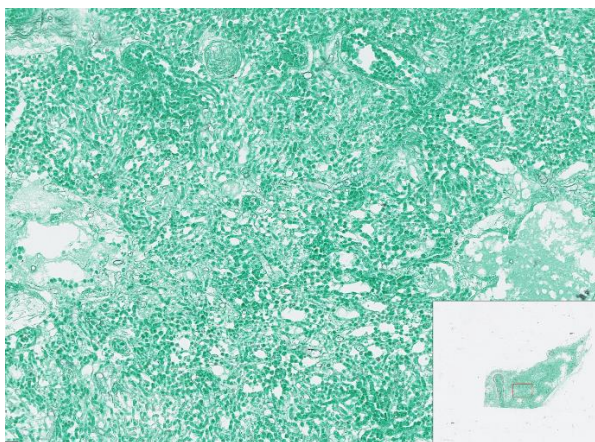


Abbildung 5: Grocott Handmethode

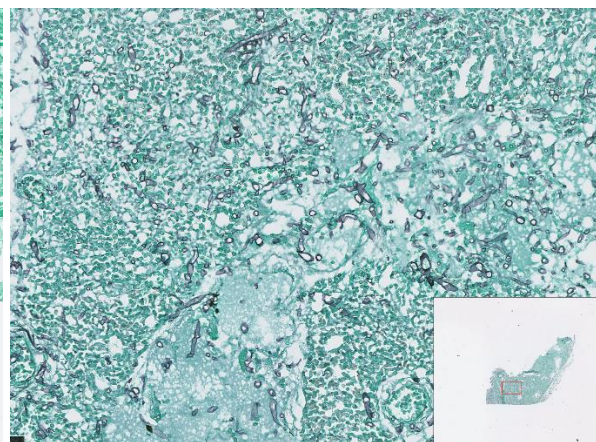


Abbildung 6: Grocott Dako Artisan

3.2.3 Giemsa-Färbung

Die Schwierigkeit bei dieser Handfärbung ist das Differenzieren. Dadurch ergibt sich ständig ein anderes Färberegebnis. Der Dako Artisan Link Pro hat den Vorteil, dass ein Standard festgelegt wird und das Ergebnis immer gleich aussieht. So kann sich der Pathologe immer auf das gleiche Färberegebnis verlassen.

Das Giemsa Färbeprotokoll des Herstellers machte kleine Probleme beim ersten Testlauf. Es wurden 11 Testdurchläufe vorgenommen und dabei festgestellt, dass die Giemsa-Lösung und die Differenzierungslösung angepasst werden müssen. Das originale Protokoll war zu dunkel und zu wenig differenziert. Somit wurde am meisten an der Differenzierungslösung geändert, so dass es den Vorstellungen des Pathologen am besten entspricht. Dafür wurde bei der Giemsa-Lösung von 3600 Sekunden auf 3000 Sekunden und die Differenzierungslösung von 60 Sekunden auf 40 Sekunden reduziert.

Mit diesen Änderungen wurde die Giemsa-Lösung heller und die Differenzierung besser. Es wurde ein schöner Kontrast erzielt, mit dem der Pathologe zufrieden war. Es war wichtig für ihn, dass die Mastzellen schön dargestellt werden, die Kerne ersichtlich sind und ein schönes Gesamtbild entsteht. Das Färberegebnis der Handmethode ist vergleichbar mit der Automatisierung.

Für eine detaillierte Darstellung der vorgenommenen Änderungen siehe die Tabelle im Anhang 3.

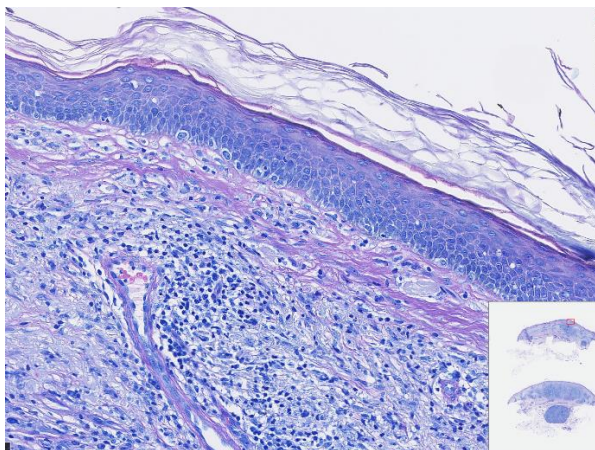


Abbildung 7: Giemsa Handmethode

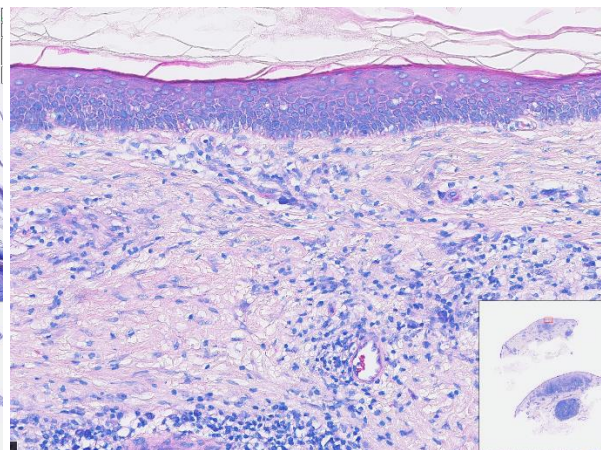


Abbildung 8: Giemsa Dako Artisan

Für das Probematerial Lymphknoten hat das angepasste Färbeprotokoll nicht funktioniert. Hier waren die Kerne noch zu dunkel. Es wurden 4 Testläufe durchgeführt. Gleich wie bei dem angepassten Färbeprotokoll wurde die Giemsa-Lösung auf 3000 Sekunden belassen. Die Differenzierungslösung wurde wie beim Originalprotokoll auf 60 Sekunden beibehalten. Das Färberegebnis war mit diesem Protokoll zufriedenstellend. Die Kerne waren heller und gut dargestellt. Bei der Handmethode waren die Kerne etwas weniger gut dargestellt.

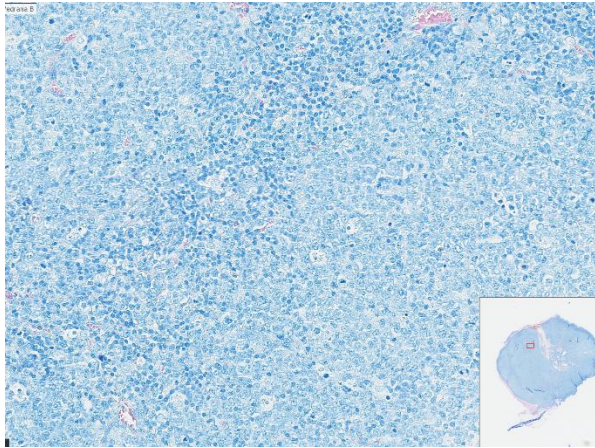


Abbildung 9: Giemsa Lymphknoten Handmethode

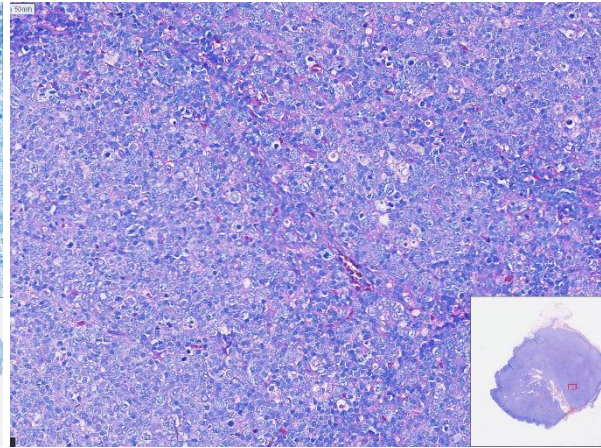


Abbildung 10: Giemsa Lymphknoten Dako Artisan

3.2.4 Kongorot-Färbung

Auch bei dieser Kongorot-Färbung wurde nichts am Färbeprotokoll geändert. Das Ergebnis nach dem ersten Testlauf sah sehr gut aus. Das originale Färbeprotokoll des Herstellers wird hier verwendet. Die Amyloide werden deutlich rot bis ziegelrot dargestellt und im Polarisationsmikroskop leuchten sie grün auf. Bei der Handmethode sind die Amyloide schwächer dargestellt.

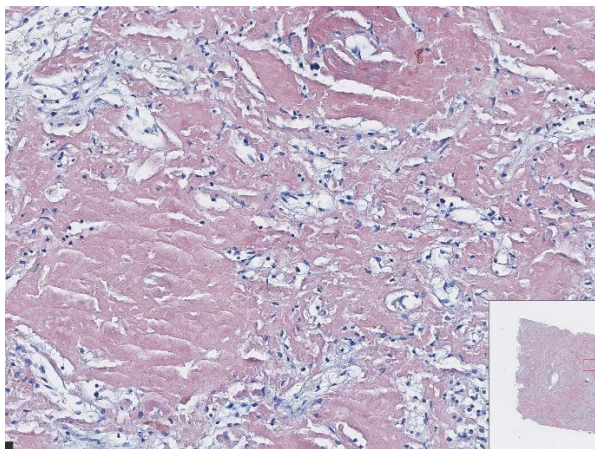


Abbildung 11: Kongorot Handmethode

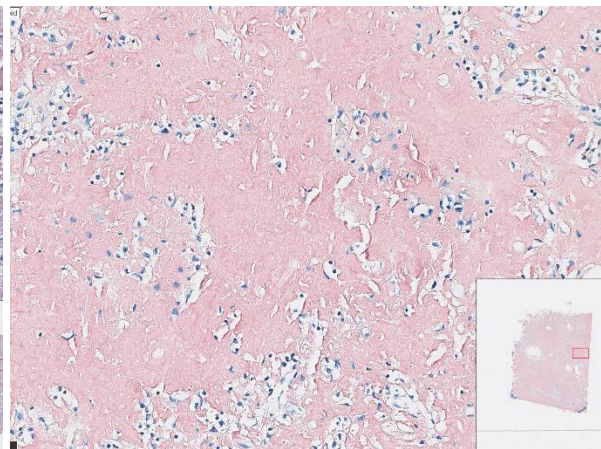


Abbildung 12: Kongorot Dako Artisan

3.2.5 Masson-Fontana-Färbung

Die Masson-Fontana-Färbung war die grösste Herausforderung, da hier auf das Färbeprotokoll Jones zurückgegriffen wurde. Dies war notwendig, weil beim Dako Artisan Link Pro kein Färbeprotokoll für diese Färbung existiert. Sowohl die Jones Färbung als auch die Masson-Fontana-Färbung sind Versilberungen. Daher konnte das Jones Färbeprotokoll so angepasst werden, dass eine Masson-Fontana-Färbung etabliert werden konnte. Für die Hintergrundfärbung wird in diesem Kit Kernechtrot verwendet.

Während den 11 Testläufe wurden dafür folgende Anpassungen vorgenommen: Die Perjodsäure, Silber Enhance (Silberverstärker) und der Methenamin Borat Schritt wurden entfernt. Dadurch war das Originalprotokoll aber zu dunkel. Aus diesem Grund wurde die Silberlösung von 300 auf 180 Sekunden reduziert. Der Schnitt wurde dadurch entsprechend heller und das Melanin deutlich schwarz dargestellt. Das Ergebnis war erstaunlich gut und der Pathologe war sehr zufrieden mit diesem Ergebnis. Bei der Handmethode ist das Melanin schwächer dargestellt.

Für eine detaillierte Darstellung der vorgenommenen Änderungen siehe die Tabelle im Anhang.

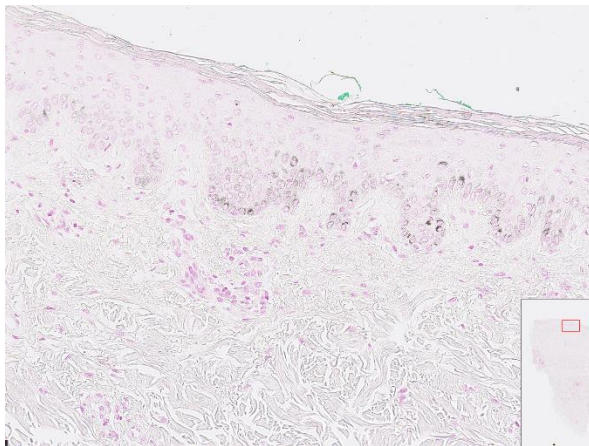


Abbildung 13: Masson-Fontana Handmethode

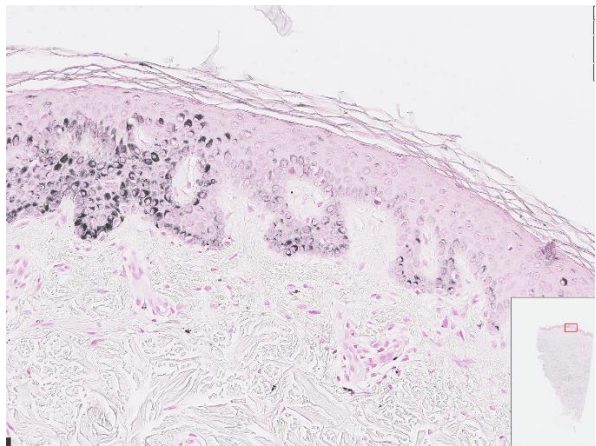


Abbildung 14: Masson-Fontana Dako Artisan

3.2.6 Ziehl-Neelsen-Färbung

Bei der Ziehl-Neelsen-Färbung mit Lichtgrün wurde das originale Färbeprotokoll des Herstellers verwendet. Hier wurde auch ein Testlauf durchgeführt und das Ergebnis war sehr zufriedenstellend. Als Hintergrundfärbung wurde Lichtgrün verwendet und nicht wie klassischerweise Methylenblau. Die säurefesten Bakterien Stäbchen werden im pinken Farbton dargestellt. Der Färbekit mit Methylenblau vom Hersteller färbte nur den Geweberand an. Dieses Problem war dem Hersteller vorher nicht bekannt. Der erste Verdacht lag bei der Entwässerung und Entparaffinierung mit Ottix Plus und Ottix Shaper. Ein Testlauf mit einer anderen Hautprobe zeigte aber ein gutes Färbeergebnis, obwohl diese gleich entwässert und entparaffiniert wurde. Dieses Problem konnte sich niemand erklären, daher wurde uns empfohlen das Reagenz mit Lichtgrün zu verwenden.

Im Gegensatz zum Dako Artisan Link Pro, wird bei der Handmethode Hämalaun verwendet. Das Färbeergebnis der Handmethode ist vergleichbar mit der Automatisierung.

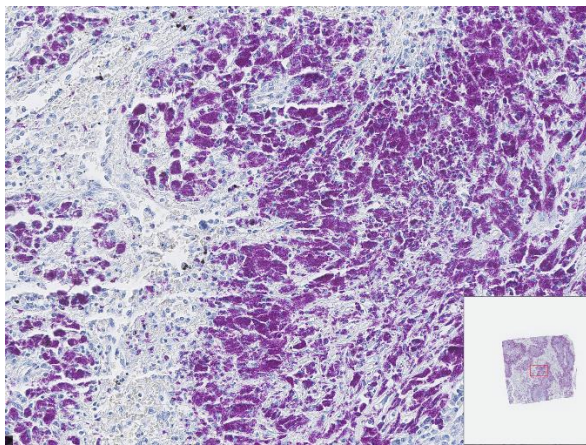


Abbildung 15: Ziehl-Neelsen Handmethode

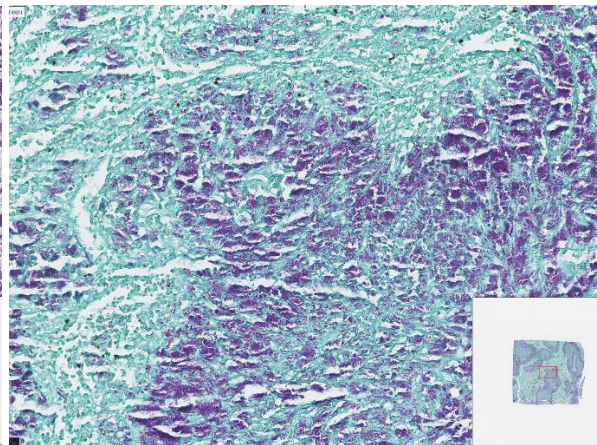


Abbildung 16: Ziehl-Neelsen Dako Artisan

3.3 Zeitaufwand

Im Vergleich zum Dako Artisan Link Pro nimmt die Handmethode sehr viel Zeit in Anspruch. Eine BMA ist im Schnitt ca. 4 bis 5 Stunden am Färbepplatz mit 30 Präparaten beschäftigt. Der Färbepplatz nimmt neben dem Färben auch andere Arbeiten in Anspruch. Das Herstellen von Lösungen, Wechseln und Entsorgen der Reagenzien, Waschen von Färbeküvetten und die Reinigung der Färbekapelle gehören ebenfalls zu diesen Arbeiten.

Das Zeitaufwändigste beim Dako Artisan Link Pro ist das Schwenken der Farbkartuschen und das Platzieren der Präparate. Die Farbkartuschen werden morgens einmal geschwenkt und vorgepumpt. Während der Dako Artisan Link Pro läuft, kann die BMA einer anderen Tätigkeit nachgehen. Bei der Handmethode werden mehrere Färbungen parallel bearbeitet. Auch der Dako Artisan Link Pro arbeitet parallel an mehreren Färbungen. Er ist dabei so programmiert, dass er die einzelnen Bearbeitungsschritte an den verschiedenen Schnitten des Laufs in der Reihenfolge durchführt, dass die Dauer des gesamten Laufs optimiert wird (Agilent, 2017).

Das Entladen der Schnitte, Dehydrieren und Eindecken nimmt ca. 15 Minuten in Anspruch. Das Gerät trennt die Abfalllösungen in vier verschiedene Behälter (Farb-, Alkohol-, Silber- und wasserlöslichen Abfall). Bei vielen Schnitten wird empfohlen, die Abfallbehälter jeden Abend zu entleeren. Somit besteht keine Gefahr, dass die Abfallbehälter überlaufen und Schaden am Gerät anrichten können. Die Abfallventile werden nach jedem Lauf automatisch gespült (Zum Ganzen Agilent, 2018, S. 85). Die leeren Farbkartuschen mit den Reagenzien können im Gegensatz zur Handmethode im normalen Abfall entsorgt werden. Im untenstehenden Diagramm Zeitvergleich (Abb. 15 Vergleich des Zeitaufwands) wird dies schematisch dargestellt. Das Diagramm zeigt den Vergleich von Handmethode und Automatisierung von den sechs Färbungen.

Die Geräewartung gestaltet sich einfach. Sie beinhaltet das tägliche Reinigen der Objektträger-Plattform, Tropfring und die Überlaufschale. Das Objektträgerkarussell sollte nach jedem Lauf mit einer Gaze, die mit Waschlösung getränkt ist, gereinigt und danach abgetrocknet werden. So wird der Kontakt zwischen Objektträger und der Objektträger-Heizplatte gewährleistet. Der Reagenzientropfring wird ebenso gereinigt wie das Karussell. Die Überlaufschale wird täglich kontrolliert und gereinigt. Nach 300 gefärbten Präparaten, wird durch eine Meldung in der Software eine Gerätereinigung verlangt (Zum Ganzen: Agilent, 2018, S. 86 f.). Dazu wird eine Reinigungskartusche vom Hersteller «Maintenance Reagent» benötigt (Agilent, 2018, S. 83 ff.). Einmal pro Monat werden die Spülflüssigkeitsflaschen sowie die Schläuche gereinigt. Der Hersteller empfiehlt mit 95%igem Alkohol (optional 70%igem Alkohol) zu spülen. Damit werden Ablagerungen entfernt und Kontaminationen minimiert. Die jährliche Wartung wird vom Techniker des Herstellers durchgeführt. (Zum Ganzen: Agilent, 2018, S. 88).

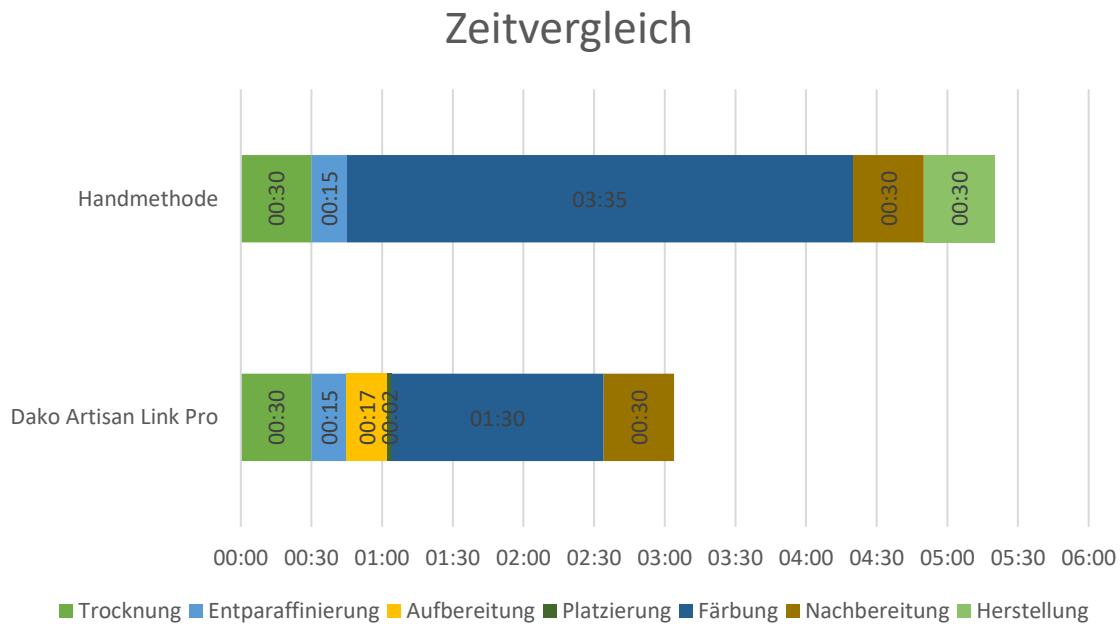


Abbildung 17: Vergleich des Zeitaufwands

Wie im Diagramm ersichtlich, ist der Gesamtaufwand für die Färbungen mit dem Dako Artisan Link Pro mit ca. 3 Stunden im Vergleich zur Handmethode mit ca. 5 Stunden und 20 Minuten weniger als halb so gross. Ausserdem kann sich während der Färbezeit des Dako Artisan Link Pro (1 Stunde 30 Minuten) der Mitarbeiter einer anderen Tätigkeit widmen. Somit benötigt der Dako Artisan Link Pro lediglich ca. 1 Stunde und 30 Minuten reine Arbeitszeit. Die BMA kann aber während der Färbezeit im Labor mitarbeiten, dies ist bei der Handmethode nicht möglich. Das heisst, die BMA ist ungefähr 2 Stunden weniger lang mit den Färbungen beschäftigt. Die Präparate können so schneller abgegeben werden und zugleich ist auch eine schnellere Diagnose möglich.

3.4 Finanzieller Aufwand

Ein wichtiger Aspekt liegt auch im finanziellen Aufwand des Färbeprozesses. Mit dem Dako Artisan Link Pro sollten wenn möglich Kosten eingespart werden. Die Anschaffungskosten sind bei der Automatisierung höher, da in das Gerät investiert werden muss. Der Preis pro Schnitt ist bei der Automatisierung etwas höher als bei der Handmethode. Bei diesem Preisvergleich sind die Reagenzien sowie auch die Arbeitsstunden miteinberechnet worden. Obwohl der Schnitt etwas teurer ist, können trotzdem Kosten eingespart werden, indem eine BMA weniger gebraucht wird. Dadurch können langfristig mit dem Dako Artisan Link Pro Kosten eingespart werden.

4 Diskussion

Nach der ersten mikroskopischen Beurteilung zusammen mit dem Pathologen waren die Färbungen Grocott, Ziehl-Neelsen und Kongorot schon sehr zufriedenstellend. Der Pathologe war erstaunt, wie gut der Dako Artisan Link Pro diese färbt. Bei diesen Färbeprotokollen wurden keine Änderungen vorgenommen. Die maschinellen Ergebnisse waren besser als die Handmethode. Bei der Brown-Brenn, Giemsa und Masson-Fontana Färbungen wurden die Färbeprotokolle angepasst, bis sie zufriedenstellend waren.

Nach den Anpassungen dieser Färbungen gab es eine zweite mikroskopierende Begutachtung mit dem Pathologen. Die Brown-Brenn-Färbung erzielt mit dem neuem Färbeprotokoll ein sehr gutes Ergebnis. Die grampositiven und -negativen Bakterien sind sehr schön dargestellt und der Hintergrund ist nicht mehr so stark.

Bei der Giemsa-Färbung wurde die Giemsa – und Differenzierungslösung angepasst, da das Resultat anfangs zu dunkel war. Mit den Änderungen wurde ein schöner Kontrast erzielt und die Mastzellen sowie auch die Kerne waren gut dargestellt. Beim Lymphknoten wurde die Giemsa-Färbung reduziert, die Differenzierungslösung wurde gleich beibehalten wie im Originalprotokoll. Die Masson-Fontana-Färbung war anfangs auch zu dunkel. Dort wurde die Silberlösung reduziert und der Schnitt ergab eine schöne Darstellung des Melanins. Hiermit konnte die Masson-Fontana-Färbung mit dem Jones Kit auf dem Dako Artisan Link Pro etabliert werden. Bei der Ziehl-Neelsen-Färbung war der Färbekit mit Methylenblau schlecht, da das Methylenblau wie ein Färbeartefakt auf dem Gewebe erschien. Die Gewebeproben wurden nur am Rand angefärbt. Trotz einigen Testläufe konnte das Problem nicht behoben werden, somit hat der Hersteller empfohlen mit Lichtgrün zu färben. Ein Testlauf mit Lichtgrün reichte aus, um ein gutes Färbeargebnis zu erzielen.

Während der Austestung hatten wir keine technischen Probleme. Da wir aber das Gerät auch zwischendurch für die Routine einsetzten, tauchte doch noch ein Problem auf. Der Techniker hatte bei der Montage des Geräts die Schläuche vom Abfallkanister vertauscht. Dies konnte aber selbständig nach kurzer telefonischer Rücksprache behoben werden.

Nun erzielen alle sechs getesteten Färbeprotokolle ein sehr gutes Färbeargebnis. Die Zielsetzungen des Labors konnten somit umgesetzt werden.

Durch den Dako Artisan Link Pro kann sehr viel Zeit in der täglichen Routine eingespart werden. Es muss keine Farblösung mehr hergestellt werden und das Reinigen der Farbküvetten und Färbekapelle fällt weg. Die BMA steht somit nicht mehr stundenlang bei der Färbekapelle und färbt die Präparate. Auch der Reagenzien-Abfall konnte im Vergleich zur Handmethode reduziert werden, da der Dako Artisan Link Pro die Reagenzien sparsam verwendet. Durch die Automatisierung können auch langfristig gesehen die Kosten gesenkt werden.

Da die Nachfrage der Spezialfärbungen stetig steigt, ist eine Automatisierung erwünscht. Die BMA wird entlastet und kann sich einer anderen Tätigkeit im Labor widmen. Die Reagenzien sind alle standardisiert. Damit erzielen alle Schnitte ein gleiches Färbeargebnis. Der Pathologe kann so eine bessere Diagnose stellen. Die Kontrollschnitte können, wenn gewünscht weggelassen oder reduziert werden, da die Farbkartuschen vom Hersteller geprüft werden. Die Laborleitung ist sehr zufrieden mit dem Dako Artisan Link Pro und entschied sich, in das Gerät zu investieren.

Bis anhin hat die Handmethode das Verständnis der Färbelehre gestärkt. Mit der vermehrten Anwendung der Automatisierung könnte der theoretische Aspekt der Färbelehre in Vergessenheit geraten. Es droht dadurch die fachliche Kompetenz einer BMA verloren zu gehen. Diese wird aber auch in Zukunft von grosser Bedeutung sein, da auch ein automatisierter Färbeprozess von einer fachlich kompetenten BMA überwacht werden muss. Es darf nicht so weit kommen, dass das Resultat einer Automatisierung nicht mehr durch einen Menschen kritisch hinterfragt werden kann.

5 Reflexion

Als mir meine Berufsbildnerin Daniela Joseph dieses Thema vorgeschlagen hatte, dachte ich mir, dass dies eine interessante Arbeit werden könnte. Der Start im 3. Praktikum begann bei mir im Spezialfärbelabor und die Arbeit dort faszinierte mich von Anfang an sehr. Das Projekt mit dem Dako Artisan Link Pro war daher genau das Richtige für mich.

Einerseits habe ich mich sehr auf den Dako Artisan Link Pro gefreut, andererseits war ich anfangs auch etwas skeptisch. Irgendwie konnte ich mir nicht vorstellen, wie ein Gerät, im Vergleich zur Handmethode so präzise Spezialfärbungen färben kann.

Anfang Januar 2021 kam das Gerät im Labor an und wurde vom Techniker installiert. Einige Tage darauf kam eine Fachperson des Herstellers vorbei, die mich mit dem Gerät vertraut gemacht hat. Die Einarbeitung durch sie dauerte zwei Tage. Schon als Erstes fiel mir auf, wie einfach das Gerät programmiert war und die Handhabung entsprechend bedienungsfreundlich war. Wir starteten zusammen einen Testlauf und mikroskopierte auch das Färbergebnis. Ab diesem Moment war ich fasziniert von diesem Gerät. Die Austestungen durchzuführen machte mir sehr viel Spass. Der Pathologe war erstaunt wie gut das Gerät färbt.

Eine sehr gute Unterstützung hatte ich von Daniela Joseph. Darüber war ich sehr froh. Sie war stets für mich und meine Fragen da. Auch vom Hersteller hatte ich eine gute Unterstützung. Ich konnte mich immer an die zuständige Fachperson wenden.

Das Gerät wurde auch zwischendurch in der Routine eingesetzt. In einem Lauf hat das Gerät abgebrochen und der Grund dafür war mir unklar, da mir das Gerät keine Fehlermeldungen angezeigt hat. Ich kontaktierte die zuständige Fachperson des Herstellers und zusammen fanden wir heraus, dass der Techniker die Schläuche des Abfallbehälters vertauscht hatte. Das Problem konnten wir danach beheben und der Dako Artisan Link Pro lief wieder einwandfrei. Ein Stolperstein war die Ziehl-Neelsen-Färbung. Das Reagenz mit Methylenblau funktionierte nicht. Wir waren erstaunt über das schlechte Ergebnis und wussten nicht, wo der Fehler lag. Zuerst dachten wir, dass es an der Entwässerung und Entparaffinierung mit Ottix Plus und Ottix Shaper lag. Folglich färbten wir eine andere Hautprobe, bei welcher die Färbung funktionierte. Daraus schlossen wir, dass der Fehler nicht bei der Entwässerung und der Entparaffinierung lag. Der Hersteller kannte vorher dieses Problem nicht und hat uns empfohlen, das Reagenz mit Lichtgrün zu verwenden. Ein Testlauf genügte schon und das Ergebnis war gut.

Mir hat es sehr viel Spass gemacht diese Arbeit zu schreiben und das Gerät zu testen. Da ich zum ersten Mal so eine Arbeit schreibe, wurde ich mit vielen neuen Aufgaben konfrontiert. Der Lernbereich, Training und Transfer (LTT) Schreibwerkstatt am Universitätsspital Zürich hat mir dabei sehr geholfen. Nach diesem LTT war mir bewusst, mit was ich mich in den nächsten Monaten befassen musste. Anfangs hatte ich Mühe, schreibtechnisch in das Thema hereinzukommen. Der theoretische Aspekt der Färbelehre war für mich auch eine Herausforderung. Nach einer vertieften Auseinandersetzung gelang es mir aber zu verstehen was jeder Schritt bedeutet und was das Gerät genau macht. Dank der Unterstützung von allen Seiten konnte ich aber auch diese und weitere Schwierigkeiten bewältigen. Das Ziel dieser Diplomarbeit konnte ich erreichen. Ich konnte aufzeigen, dass mit dem Dako Artisan Link Pro die Spezial Färbediagnostik im Labor Kempf und Pfaltz effizienter ausgestaltet werden kann. Insbesondere hat es mich gefreut, dass wir aus dem Jones Kit eine Masson-Fontana-Färbung entwickeln konnten. Ich bin zufrieden mit meiner Arbeit und freue mich, dass dieses Projekt zur Optimierung der Abläufe im Labor Kempf und Pfaltz beigetragen hat.

6 Literaturverzeichnis

- Riedelsheimer, B. und Büchl-Zimmermann, S., In Mulisch, M. und Welsch, U. (Hrsg.). (2015). *Romeis Mikroskopische Technik* (19. Auflage). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Agilent (2018). *Artisan Link Pro*. Benutzerhandbuch Basiswissen (Revision 5). Glostrup: Dako Denmark A/S.
- Agilent (2017). *Artisan Link Pro*. The consistent, safe and easy choice for special stains. Santa Clara: Agilent Technologies, Inc.
- Agilent (Datum unbekannt). *Dako Artisan Link Pro*. Zugriff am: 17.04.2021 unter: <https://www.agilent.com/en/product/special-stains/automated-special-staining/artisan-link-pro-special-staining-system-776828>
- Kempf, W., Hantschke, M., Kutzner, H. und Burgdorf, W. (2007). *Dermatopathologie*. Darmstadt: Steinkopff Verlag.
- Lang, G. (2013). *Histotechnik Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytikerin* (2. Auflage). Wien: SpringerWienNewYork.
- Netter, F. H. (2006). *Netters Dermatologie*. Stuttgart: Elsevier Saunders.

Persönliche Erklärung

„Ich bestätige, die vorliegende schriftliche Diplomarbeit mit dem Thementitel: Verifikation der Qualität des Dako Artisan Link Pro – Ein Vergleich von Handmethode und Automatisierung von sechs Spezialfärbungen, selbstständig verfasst zu haben. Sämtliche Inhalte, die nicht von mir stammen, sind als Zitate gekennzeichnet und mit genauer Quellenangabe versehen, die im Literaturverzeichnis vollständig aufgeführt sind.“

Vedrana Brcković

Kurs H18

Sulgen, 06.06.2021, Vedrana Brcković

Anhang 1

Färbeprotokolle Handmethode Kempf und Pfaltz

Brown-Brenn (BB)

zum Nachweis von Gram positiven- und Gram negativen Bakterien

Vorbereitung

Schnittdicke:	2-3µm
Kontrollblock	Bakterien
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin

Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Kristallviolett	1 min	
2.	H ₂ O	spülen	
3.	Aqua demin	spülen	
4.	Lugol'sche Lösung	1 min	
5.	Aceton	spülen	Bis keine Farbwolken mehr abgehen
6.	Aqua demin	spülen	
7.	Fuchsin basisch	1 min	
8.	Aceton	spülen	
9.	Pikrinsäure 01% in Aceton	differenzieren	So lange differenzieren bis das Gewebe gelblich-rosa wird
10.	Aceton	spülen	
11.	Aceton-Ottix + (Verhältnis 1:2)	spülen	
12.	Ottix +	7 min (bis Eindecken)	
13.	Eindecken mit Diamount		

Resultat

Grampositive Bakterien:	blau-schwarz
Gramnegative Bakterien:	rot
Hintergrund:	gelb
Kerne:	rot

<u>Lösungen / Reagenzien</u>	<u>Herstellung</u>	<u>Lagerbedingungen</u>
Kristallviolettlösung 1%	gebrauchsfertig Raumtemperatur	
Fuchsinlösung wässrig basisch 0.1%	gebrauchsfertig Raumtemperatur	
Pikrinsäure 0.1% in Aceton	gebrauchsfertig Raumtemperatur	
Lugol Reagenz	gebrauchsfertig Raumtemperatur	

Giemsa (Gie)

zum Nachweis von unter anderem Mastzellgranula, Kerne von Parasiten und Protozoen

Vorbereitung

Schnittdicke:	2-3µm
Kontrollblock	Nein
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin

Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Gebrauchslösung Giemsa	30 min	
2.	Aqua demin	spülen	
3.	Differenzierungslösung	gut differenzieren	Es darf nicht zu wenig- und nicht zu viel differenziert werden.
4.	Aqua demin	spülen	
5.	Alkohol abs.	1-2 mal schwenken	
6.	Alkohol abs.	1 min	
7.	Ottix +	7 min (bis Eindecken)	
8.	Eindecken mit Diamount		

Resultat

Kerne:	blau
Eosinophile Granula :	rot
Basophile Granula :	blau
Neutrophile Granula:	rot-violett
Protoplasma der Lymphozyten:	blau
Erythrozyten:	blassrötlich
Thrombozyten:	blau mit violetter Innenkörper
Kerne von Parasiten und Protozoen:	leuchtend rot
Mastzellgranula:	violett
Bindegewebe, Muskulatur:	rosa

<u>Lösungen / Reagenzien</u>	<u>Herstellung</u>	<u>Lagerbedingungen</u>
Gebrauchslösung Giemsa	Giemsalösung	100µl
	Raumtemperatur	
	Aqua demin	400µl
	Raumtemperatur	
Differenzierungslösung	Aqua demin	100ml
	Raumtemperatur	
	Essigsäure 99%	3Tropfen
	Raumtemperatur	
Giemsalösung	gebrauchsfertig	
	Raumtemperatur	
Essigsäure 99%	gebrauchsfertig	
	Raumtemperatur	

Grocott (Groc)

zum Nachweis von Pilzsporen

Vorbereitung

Schnittdicke:	2-3µm
Kontrollblock	Pilze
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin

Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Chromsäure 5%	30 min	
2.	H ₂ O fließend	5 min	
3.	Natriumbisulfit 1%	1 min	
4.	H ₂ O fließend	5 min	
5.	Aqua dest. B.Brown Lösung	gut spülen	
6.	Gebrauchslösung (Urotropin Silberlösung)	Wasserbad: ~15 min 60°C	Mikroskopische Kontrolle. Sind die Pilzsporen schwarz angefärbt, kann der OT aus der Lösung genommen werden
7.	Aqua dest. B.Brown Lösung	spülen	
8.	Goldchlorid 0.1%	5 min	
9.	Aqua demin	spülen	
10.	Natriumthiosulfat 2%	2 min	
11.	H ₂ O	10 min	
12.	Lichtgrün 1%	5 min	
13.	Aqua demin	spülen	
14.	Ottix Shaper	2 min	
15.	Ottix Shaper	2 min	
16.	Alkohol abs.	2 min	
17.	Alkohol abs.	2 min	
18.	Ottix +	7 min (bis Eindecken)	
19.	Eindecken mit Diamount		

Resultat

Pilze	schwarz
Hintergrund	grün

<u>Lösungen / Reagenzien</u>	<u>Herstellung</u>	<u>Lagerbedingungen</u>	
Stammlösung:	Urotropin 3%	50ml	Kühlschrank
	Silbernitrat 5%	2.5ml	Kühlschrank
Gebrauchslösung:	Stammlösung	25ml	Kühlschrank
	Borax 5% wässrig	1.5ml	Kühlschrank
Chromsäure 5%	gebrauchsfertig Raumtemperatur		
Natriumbisulfit 1%	gebrauchsfertig Raumtemperatur		
Goldchlorid 0.1%	gebrauchsfertig Raumtemperatur		
Natriumthiolsulfat 2%	gebrauchsfertig		Kühlschrank
Lichtgrün 1%	gebrauchsfertig Raumtemperatur		

Kongo Rot nach Puchtler (Kongo)

zum Nachweis von Amyloid (eiweisshaltige Ablagerungen im Gewebe)

Vorbereitung

Schnittdicke	8 µm
Kontrollblock	Amyloid
Schnitte entparaffinieren bis	Ottix Shaper

Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Kongorot	30 min	
2.	H ₂ O fliessend	10 min	
3.	Alkalischer Alkohol	Differenzieren	
4.	H ₂ O fliessend	10 min	
5.	Hämalaun	2 min	
6.	H ₂ O fliessend	10 min	
7.	Ottix Shaper	2 min	
8.	Ottix Shaper	2 min	
9.	Alkohol abs.	2 min	
10.	Alkohol abs.	2 min	
11.	Ottix +	7 min (bis Eindecken)	
12.	Eindecken mit Diamount		

Resultat

Kerne: blau
 Amyloid: ziegelrot (doppeltbrechend in polarisiertem Licht)

Lösungen / Reagenzien

Herstellung

Lagerbedingungen

Kongorot 0.5% in Ethanol 50%

gebrauchsfertig
Raumtemperatur

Alkalischer Alkohol

gebrauchsfertig
Raumtemperatur

Hämalaun nach Mayer verstärkt

vor gebrauch filtrieren
Raumtemperatur

Masson Fontana (MF)

zum Nachweis von Melanin

Vorbereitung

Schnittdicke:	2-3µm
Kontrollblock	Normale Haut (NH)
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin

Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Footlösung	20 min	Schnitt in die kalte Lösung stellen und diese wiederum in das 60°C warme Wasserbad (oder Ofen) stellen
2.	Aqua demin	spülen	
3.	Goldchlorid 0.1%	1 min	
4.	Aqua demin	spülen	
5.	Natriumthiosulfat 5%	45 sek	
6.	H ₂ O	spülen	
7.	Kernechtrot	3-5 min	
8.	H ₂ O	spülen	
9.	Ottix Shaper	2 min	
10.	Ottix Shaper	2 min	
11.	Alkohol abs.	2 min	
12.	Alkohol abs.	2 min	
13.	Ottix +	7 min (bis Eindecken)	
14.	Eindecken mit Diamount		

Resultat

Melanin, argentaffine Granula: schwarz

Kerne: rot

Lösungen / Reagenzien Herstellung Lagerbedingungen

Footlösung	gebrauchsfertig	Kühlschrank
Natriumthiosulfat	gebrauchsfertig	Kühlschrank

Ziehl Neelsen (ZN)

zum Nachweis von säurefesten Tuberkulosebakterien.

Vorbereitung

Schnittdicke:	5µm
Kontrollblock	ZN
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin

Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Karbolfuchsin	10 min	Auf Färbepank
2.	Aqua demin	spülen	Bis sich keine Farbe mehr ablöst
3.	HCL-Alkohol 0.1%	differenzieren	Differenzieren bis farblos
4.	Aqua demin	spülen	
5.	Hämalaun nach Mayer	45 sek	
6.	Aqua demin	spülen	
7.	HCL-Alkohol 0.1%	3x schwenken	
8.	H ₂ O fliessend	10 min	
9.	Ottix Shaper	2 min	
10.	Ottix Shaper	2 min	
11.	Alkohol abs.	2 min	
12.	Alkohol abs.	2 min	
13.	Ottix +	7 min (bis Eindecken)	
14.	Eindecken mit Diamount		

Resultat

Säurefeste Stäbchen: rot

Kerne: blau

Lösungen / Reagenzien

Herstellung

Lagerbedingungen

Karbol-Fuchsinlösung	gebrauchsfertig Raumtemperatur
Hämalaun nach Mayer	gebrauchsfertig Raumtemperatur
Salzsäure- Alkohol	gebrauchsfertig Raumtemperatur

Anhang 2

Färbeprotokolle des Dako Artisan Link Pro

Artisan Link-Protokollbericht


BB

Stains for Gram Positive and Gram Negative Bacteria

Änderungsdatum

2021-01-05 2:12:35 PM

Verfasser

Kempf&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flü	Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																												
1 Keine	0	0	Aus	0	☒	Wasserlöslich																												
2 Reagenz - Gram Yellow (1/6) - Crystal Violet	1000	120	Aus	4	☒	Kombiniertes Färbemittel																												
<table><tr><th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>ssigkeit</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>6 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall	1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall																															
1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Vorratsflü	ssigkeit - Wash 3000	0	Aus	0	☐	Keine																												
4 Reagenz - Gram Yellow (2/6) - Lugol's Iodine	1000	120	Aus	4	☒	Kombiniertes Färbemittel																												
<table><tr><th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>ssigkeit</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>6 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall	1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall																															
1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
5 Reagenz - Gram Yellow (3/6) - DFS	1000	50	Aus	8	☒	Kombiniertes Färbemittel																												
<table><tr><th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>ssigkeit</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1 Ethanol 95</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2 Ethanol 95</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3 Ethanol 95</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4 Ethanol 95</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5 Ethanol 95</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>6 Ethanol 95</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall	1 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	6 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall																															
1 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
2 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
4 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
5 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
6 Ethanol 95	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
6 Vorratsflü	ssigkeit - Wash 3000	0	Aus	0	☒	Kombiniertes Färbemittel																												
<table><tr><th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>ssigkeit</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall	1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel								
Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall																															
1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
7 Vorratsflü	ssigkeit - Wash 3000	0	Aus	0	☐	Keine																												
8 Reagenz - Gram Yellow (4/6) - Carbol Fuchsin	1000	60	Aus	4	☒	Kombiniertes Färbemittel																												
<table><tr><th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>ssigkeit</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1 Wash solution</td><td>2000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2 Wash solution</td><td>2000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3 Wash solution</td><td>2000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>6 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall	1 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall																															
1 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
2 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
9 Reagenz - Gram Yellow (5/6) - Decolorizing Solution	1000	60	Aus	4	☒	Kombiniertes Färbemittel																												
<table><tr><th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>ssigkeit</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall	1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel				
Vorratsflü	Volumen	ssigkeit	Abfall																															
1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																															
10 Reagenz - Gram Yellow (6/6) - Tartrazine	1000	0	Aus	4	☒	Kombiniertes Färbemittel																												

Artisan Link-Protokollbericht



BB

Stains for Gram Positive and Gram Negative Bacteria

Änderungsdatum
2021-01-05 2:12:35 PM

Verfasser
Kempf&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flü	Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Vorratsflü</th><th>Volumen</th><th>Zeit</th><th>Heizelement</th><th>Mischungen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Wash solution</td><td>2000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>6 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> </tbody> </table>							Vorratsflü	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall	1 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	6 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflü	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																																	
1 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																																	
2 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																																	
3 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																																	
4 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																																	
5 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																																	
6 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																																	

Artisan Link-Protokollbericht



Congo Red

Stains Amyloid

Änderungsdatum
2012-04-13 8:11:48 AM

Verfasser
Dako

Auftropfen – Flüssigkeit	Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																										
1 Keine	0	0	Aus	0	☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
2 Reagenz - Congo Red (1/3) - Mayer's Hematoxylin	1000	900	30	1	☐	Keine																																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Vorratsflüssigkeit</th><th>Volumen</th><th>Zeit</th><th>Heizelement</th><th>Mischungen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>4 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> </tbody> </table>							Vorratsflüssigkeit	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall	1 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflüssigkeit	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																										
1 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
2 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
3 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
4 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
5 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
3 Reagenz - Congo Red (2/3) - Alkaline Alcohol	1000	0	Aus	3	☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Vorratsflüssigkeit</th><th>Volumen</th><th>Zeit</th><th>Heizelement</th><th>Mischungen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>2 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>3 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> </tbody> </table>							Vorratsflüssigkeit	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall	1 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel														
Vorratsflüssigkeit	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																										
1 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
2 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
3 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
4 Reagenz - Congo Red (3/3) - Alcoholic Congo Red	1000	900	37	2	☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Vorratsflüssigkeit</th><th>Volumen</th><th>Zeit</th><th>Heizelement</th><th>Mischungen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>2 Wash solution</td><td>2000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>3 Wash solution</td><td>2000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>4 Wash solution</td><td>2000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> <tr> <td>5 Wash solution</td><td>3000</td><td></td><td></td><td></td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr> </tbody> </table>							Vorratsflüssigkeit	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall	1 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel	2 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel	3 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel	4 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel	5 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflüssigkeit	Volumen	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																										
1 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
2 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
3 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
4 Wash solution	2000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										
5 Wash solution	3000				☒	Kombiniertes Färbemittel																																										

Artisan Link-Protokollbericht



Gie

Stains Hematopoetic Tissue

Änderungsdatum

2021-03-05 11:19:56 AM

Verfasser

Kempf&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flü		Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall
1	Keine	0	0	Aus	0	☒	Wasserlöslich
2	Vorratsflü	2000	0	40	0	☐	Keine
3	Reagenz - Giemsa (1/2) - Giemsa Solution	1000	3000	40	6	☐	Keine
	Vorratsflü		Volumen	Ansaugen	Abfall		
	1	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
	2	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
	Vorratsflü		Volumen	Ansaugen	Abfall		
4	Reagenz - Giemsa (2/2) - Acetic Acid Decolorizer	1000	40	Aus	2	☐	Keine
	Vorratsflü		Volumen	Ansaugen	Abfall		
	1	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
	2	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
	3	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
	4	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
	5	Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich		
6	Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich			

Artisan Link-Protokollbericht



Giemsa Lym.

Stains Hematopoetic Tissue

Änderungsdatum

2021-03-05 11:18:20 AM

Verfasser

Kempf&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flüssigkeit		Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall
1	Keine	0	0	Aus	0	☒	Wasserlöslich
2	Vorratsflüssigkeit - Wash solution	2000	0	40	0	☐	Keine
3	Reagenz - Giemsa (1/2) - Giemsa Solution	1000	3000	40	6	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall	
		1	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	
		2	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	
		Vorratsflüssigkeit <th>Volumen</th> <th>Ansaugen</th> <th>Abfall</th>		Volumen	Ansaugen	Abfall	
4	Reagenz - Giemsa (2/2) - Acetic Acid Decolorizer	1000	60	Aus	2	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall	
		1	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	
		2	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	
		3	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	
		4	Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel	
		5	Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich	
		6	Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich	

Artisan Link-Protokollbericht



Grocott

Cytology and Fragile Tissue

Änderungsdatum

2021-03-05 11:20:32 AM

Verfasser

Kempff&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flüssigkeit		Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall
1	Keine	0	0	Aus	0	☒	Wasserlöslich
2	Reagenz - GMS (1/8) - Sodium Chromate	1000	0	Aus	0	☐	Keine
3	Reagenz - GMS (2/8) - Perchloric Acid	1000	570	45	3	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
4	Reagenz - GMS (3/8) - Sodium Bisulfite	1000	570	Aus	2	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		2 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		3 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		4 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
5	Reagenz - GMS (4/8) - Silver Nitrate	1000	0	Aus	0	☐	Keine
6	Reagenz - GMS (5/8) - Methenamine Borate	1000	570	62	3	☐	Keine
7	Vorratsflüssigkeit	2000	0	Aus	2	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		2 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		3 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		4 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
8	Reagenz - GMS (6/8) - Gold Chloride	1000	570	Aus	1	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	2000	☒	Spurenmetall		
		2 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		3 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
9	Reagenz - GMS (7/8) - Sodium Thiosulfate	1000	570	Aus	2	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich		
		2 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		3 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
10	Reagenz - GMS (8/8) - Light Green	1000	0	Aus	2	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		2 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		3 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		4 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		5 Wash solution	2000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		

Artisan Link-Protokollbericht



MF

Stains Basement Membranes

Änderungsdatum

2021-01-08 11:47:10 AM

Verfasser

Kempf&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flüssigkeit		Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall
1	Keine	0	0	Aus	0	☒	Wasserlöslich
2	Reagenz - Jones' (1/8) - Periodic Acid	1000	0	Aus	0	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		2 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		3 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
3	Reagenz - Jones' (2/8) - Silver Enhancer	1000	0	Aus	0	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		4 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
4	Vorratsflü	3000	180	62	2	☒	Wasserlöslich
5	Reagenz - Jones' (3 or 4/8) - Methenamine Borate	2000	0	Aus	1	☐	Keine
6	Reagenz - Jones' (5/8) - Silver Nitrate	500	180	60	10	☒	Spurenmetall
7	Vorratsflü	3000	300	60	4	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	2000	☒	Spurenmetall		
		2 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		3 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
8	Reagenz - Jones' (6/8) - Gold Chloride	1000	300	Aus	3	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		2 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		3 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		4 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
		5 Wash solution	3000	☒	Spurenmetall		
9	Reagenz - Jones' (7/8) - Sodium Thiosulfate	1000	300	Aus	3	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
		2 Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich		
		3 Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich		
		4 Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich		
		5 Wash solution	2000	☒	Wasserlöslich		
		6 Wash solution	3000	☒	Wasserlöslich		
10	Reagenz - Jones' (8/8) - Nuclear Fast Red	1000	600	Aus	1	☐	Keine
		Vorratsflüssigkeit	Volumen	Ansaugen	Abfall		
		1 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		2 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		3 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		4 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		5 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		
		6 Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel		

Artisan Link-Protokollbericht



ZN

Stains Acid-Fast Bacteria

Änderungsdatum

2021-03-05 11:16:52 AM

Verfasser

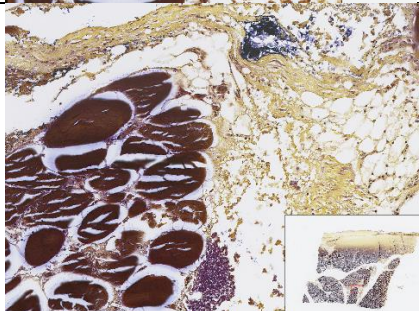
Kempf&Pfalz, Labor

Auftropfen – Flüssigkeit	Volumen (µl)	Zeit	Heizelement	Mischungen	Ansaugen	Abfall																																			
1 Keine	0	0	Aus	0	☒	Wasserlöslich																																			
2 Reagenz - AFB Green (1/3) - Carbol Fuchsin	1000	600	37	1	☐	Keine																																			
<table><tr><th colspan="2">Vorratsflüssigkeit</th><th>Volumen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>6</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall	1	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	6	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall																																					
1	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
2	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
3	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
4	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
5	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
6	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
3 Reagenz - AFB Green (2/3) - Acid Alcohol	1000	60	Aus	3	☐	Keine																																			
<table><tr><th colspan="2">Vorratsflüssigkeit</th><th>Volumen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>6</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall	1	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	6	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel
Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall																																					
1	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
2	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
3	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
4	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
5	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
6	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
4 Reagenz - AFB Green (3/3) - Light Green	1000	0	Aus	4	☐	Keine																																			
<table><tr><th colspan="2">Vorratsflüssigkeit</th><th>Volumen</th><th>Ansaugen</th><th>Abfall</th></tr><tr><td>1</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>2</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>3</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>4</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr><tr><td>5</td><td>Wash solution</td><td>3000</td><td>☒</td><td>Kombiniertes Färbemittel</td></tr></table>							Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall	1	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	2	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	3	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	4	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel	5	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel					
Vorratsflüssigkeit		Volumen	Ansaugen	Abfall																																					
1	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
2	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
3	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
4	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					
5	Wash solution	3000	☒	Kombiniertes Färbemittel																																					

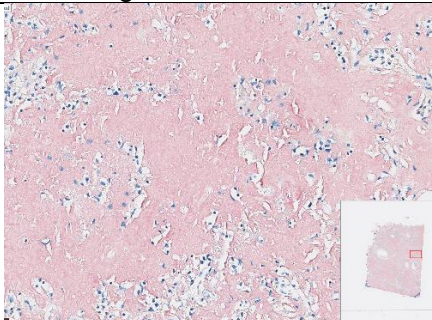
Anhang 3

Tabelle der Färbeergebnisse

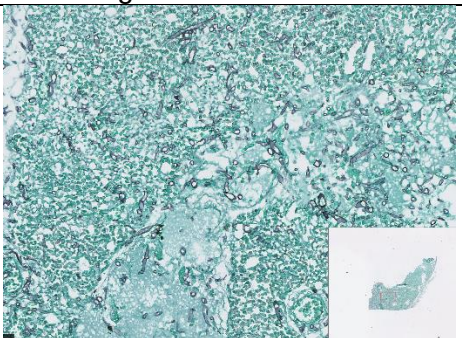
Brown-Brenn-Färbung

Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll Brown-Brenn des Herstellers	Der Schnitt ist zu dunkel. Die grampositiven und gramnegativen Bakterien sind schlecht erkennbar	
2	Tratrazine wurde von 30 Sekunden auf null Sekunden gesetzt	Der Schnitt wurde heller. Die grampositiven (blau) und gramnegativen (pink) Bakterien sind jetzt deutlich erkennbar und dargestellt.	

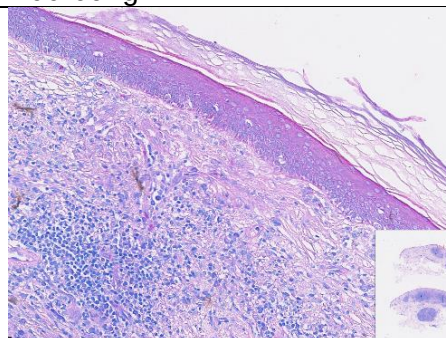
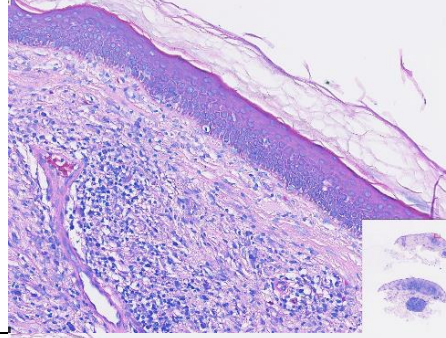
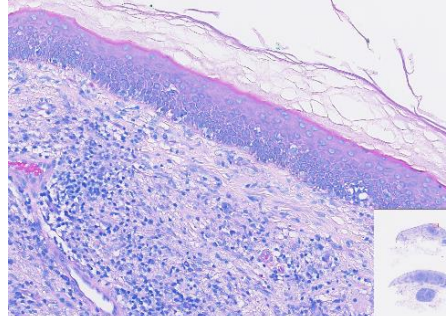
Kongorot-Färbung

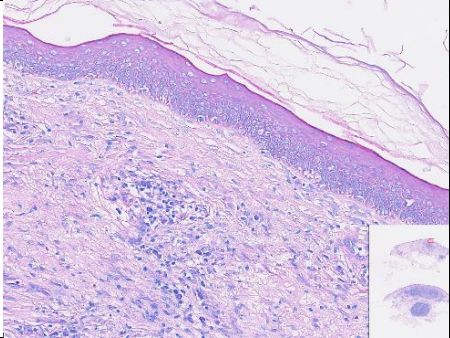
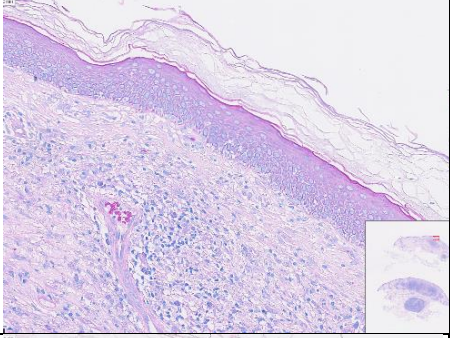
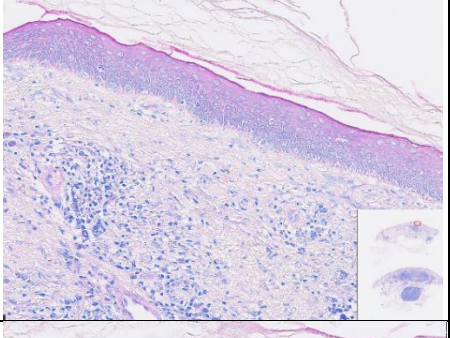
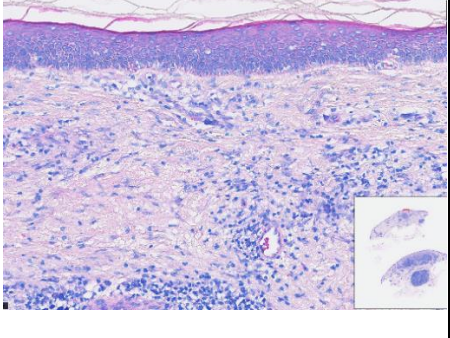
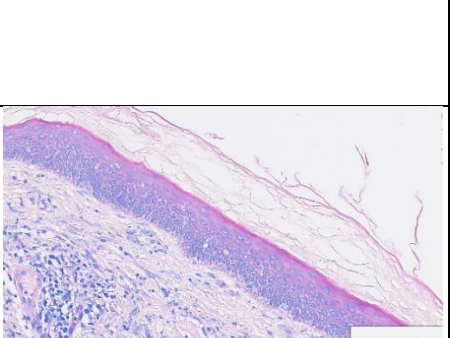
Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll Kongorot des Herstellers	Die Amyloide sind deutlich rot bis ziegelrot sowie gut erkennbar und dargestellt	

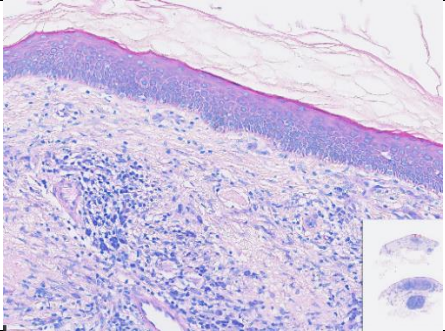
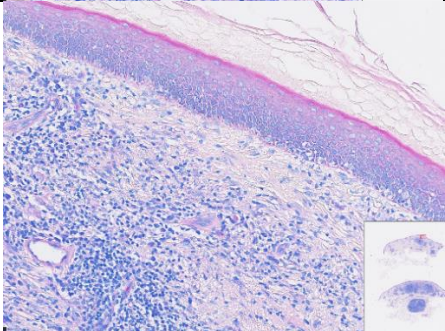
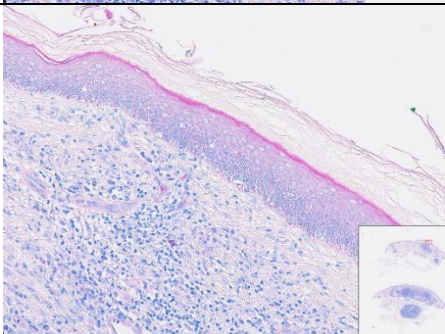
Grocott-Färbung

Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll Grocott des Herstellers	Die Pilzhypen und Sporen sind deutlich schwarz sowie gut dargestellt und erkennbar.	

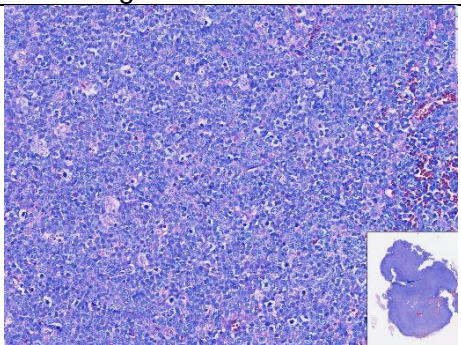
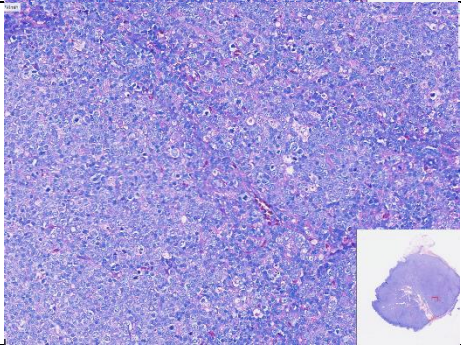
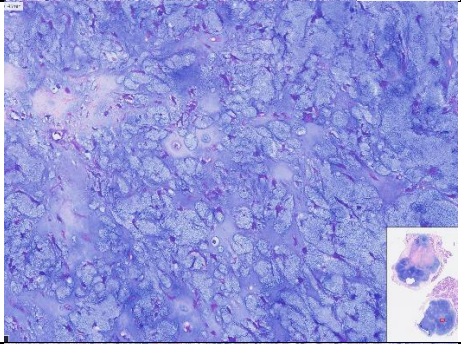
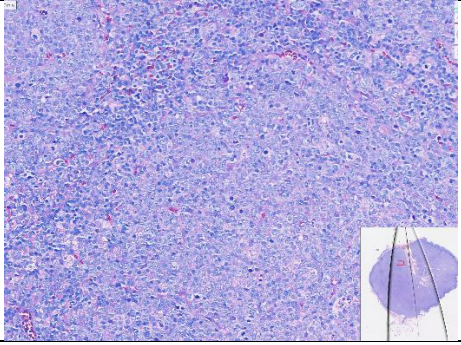
Giemsa-Färbung

Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll Giemsa des Herstellers	Der Schnitt ist zu dunkel. Die Kerne sind zu stark blau angefärbt und ein schlechter allgemeiner Kontrast ist vorhanden. Die Differenzierung ist zu stark.	
2	Giemsa-Lösung von 60min auf 50min reduziert	Der Schnitt ist nicht mehr zu dunkel. Die Kerne sind gut blau angefärbt und der Kontrast ist besser. Die Differenzierung ist immer noch zu stark.	
3	Giemsa-Lösung von 60min auf 45min reduziert	Der Schnitt ist nun zu hell. Die Kerne sind hellblau angefärbt und der Kontrast ist schlecht. Die Differenzierung ist immer noch zu stark.	

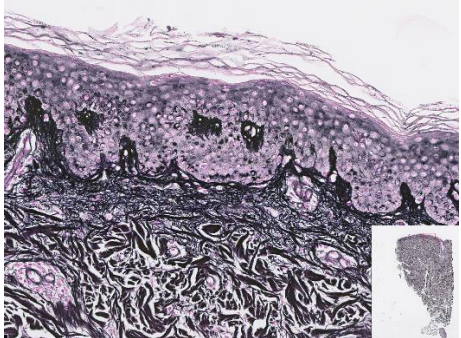
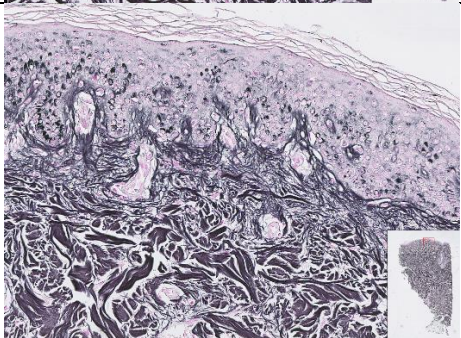
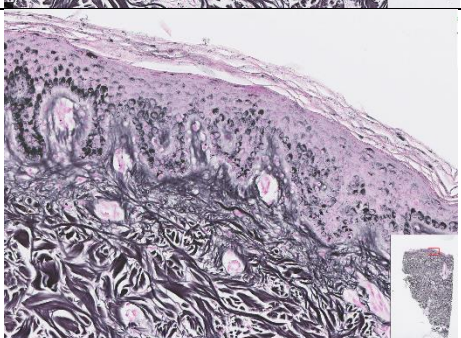
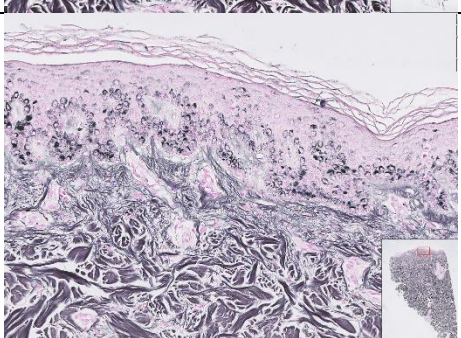
4	Giensa-Lösung von 60min auf 40min reduziert	Gleiches Ergebnis wie bei Lauf 3.	
5	Giensa-Lösung von 60min auf 30min reduziert	Noch schlechteres Ergebnis wie Lauf 4.	
6	Giensa-Lösung von 60min auf 50min reduziert und Differenzierungslösung (Acetic Acid Decolorizer) von 60s auf 50s	Der Schnitt sieht gut aus, die Kerne sind deutlich blau angefärbt. Der Kontrast ist immer noch schlecht. Die Differenzierung ist immer noch zu stark.	
7	Giensa-Lösung von 60min auf 50min reduziert und Differenzierungslösung (Acetic Acid Decolorizer) von 60s auf 40s	Der Schnitt sieht gut aus. Die Kerne sind deutlich blau angefärbt. Es besteht nun auch ein guter Kontrast. Die Differenzierung ist nun ebenso gut. Trotzdem wird mit einer weiteren Reduzierung der Einwirkzeit der Differenzierungslösung versucht, die Differenzierung noch zu verbessern.	
8	Giensa-Lösung von 60min auf 50min reduziert und Differenzierungslösung (Acetic Acid Decolorizer) von 60s auf 30s	Der Schnitt sieht gut aus. Die Kerne sind deutlich blau angefärbt. Der Kontrast ist wieder schlechter. Es wurde nun auch zu wenig differenziert.	

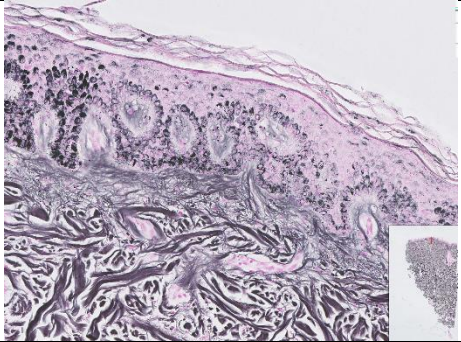
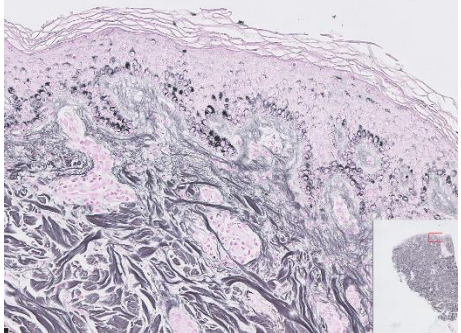
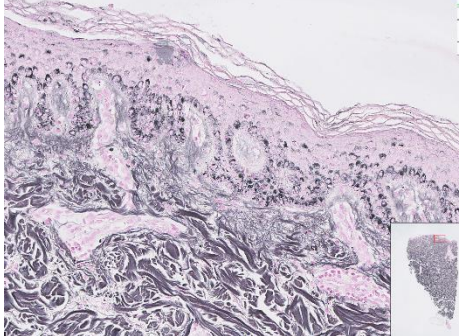
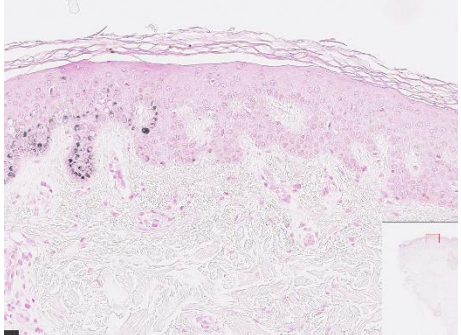
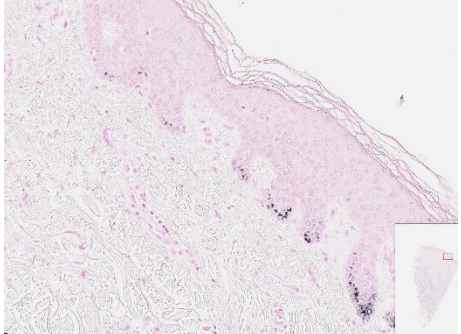
9	Giemsa-Lösung von 60min auf 45min reduziert und Differenzierungslösung (Acetic Acid Decolorizer) von 60s auf 50s	Der Schnitt ist okay, aber schlechter als bei 50min. Der Kontrast ist wieder besser, aber schlechter als bei 40s. Es wurde wieder zu viel differenziert.	
10	Giemsa-Lösung von 60min auf 45min reduziert und Differenzierungslösung (Acetic Acid Decolorizer) von 60s auf 40s	Der Schnitt ist okay, aber schlechter als bei 50min. Der Kontrast ist wieder gut, da mit 40s differenziert wurde.	
11	Giemsa-Lösung von 60min auf 45min reduziert und Differenzierungslösung (Acetic Acid Decolorizer) von 60s auf 30s	Der Schnitt sieht flau aus. Der Kontrast ist wieder schlechter. Es wurde zu wenig differenziert.	

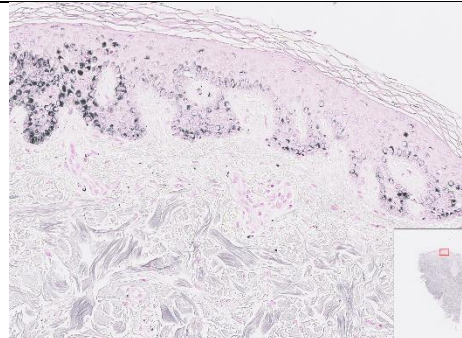
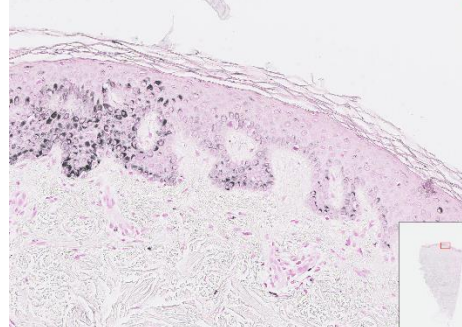
Giemsa-Lymphknoten-Färbung

Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll Giemsa des Herstellers	Der Schnitt ist zu dunkel. Die Kerne sind zu stark blau angefärbt. Der Schnitt hat einen schlechten Kontrast.	
2	Giemsa-Lösung von 60min auf 50min reduziert	Der Schnitt sieht gut aus. Die Kerne gut blau angefärbt.	
3	Giemsa-Lösung von 60min auf 45min reduziert	Der Schnitt ist zu hell und die Kerne sind schlecht blau angefärbt.	
4	Giemsa-Lösung von 60min auf 40min reduziert	Der Schnitt ist zu hell. Die Kerne sind noch schlechter blau angefärbt.	

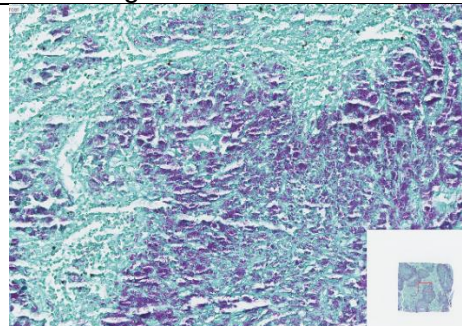
Masson-Fontana-Färbung

Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll Jones des Herstellers	Der Schnitt ist zu dunkel. Das Melanin ist zu stark schwarz angefärbt.	
2	Perjodsäure wurde entfernt.	Bei der Mason Fontana Färbung braucht es keine Perjodsäure. Der Schnitt ist zu dunkel. Das Melanin ist zu stark schwarz angefärbt.	
3	Silberversrärker (Silver Enhancer) wurde entfernt.	Bei der Mason Fontana Färbung braucht es keine Silberversrärkung. Der Schnitt ist zu dunkel. Das Melanin ist zu stark schwarz angefärbt.	
4	Waschschritt Nr. 4 (Vorratsflüssigkeit) von 300s auf 180s Methenamin Borate wurde auf 0 gesetzt	Der Schnitt trocknet auch bei 180s nicht aus. Bei der Mason Fontana Färbung braucht es keine zusätzliche Versilberung. Der Schnitt ist zu dunkel. Das Melanin ist zu stark schwarz angefärbt.	

5	Silberlösung von 600s auf 500s reduziert	Der Schnitt ist immer noch zu dunkel und auch das Melanin ist noch zu stark schwarz angefärbt.	
6	Silberlösung von 600s auf 400s reduziert	Der Schnitt ist etwas heller, aber der Kontrast ist immer noch nicht gut. Das Melanin ist immer noch zu stark schwarz angefärbt.	
7	Silberlösung von 600s auf 300s reduziert	Gleiches Ergebnis wie beim 6. Lauf	
8	Silberlösung von 600s auf 180s und Heizelement von 60°C auf 50°C reduziert	Der Schnitt ist jetzt zu hell. Es ist kein Kontrast vorhanden und das Melanin ist schwach schwarz angefärbt.	
9	Silberlösung von 600s auf 300s und Heizelement von 60°C auf 50°C reduziert	Der Schnitt hat wieder einen Kontrast und das Melanin ist gut schwarz angefärbt.	

10	Silberlösung von 600s auf 300s und Heizelement von 60°C auf 55°C reduziert	Der Schnitt ist zu dunkel aber ansonsten ein guter Kontrast vorhanden und das Melanin ist gut schwarz angefärbt.	
11	Silberlösung von 600s auf 180s reduziert und Heizelement auf 60°C belassen	Der Schnitt sieht gut aus und hat einen guten Kontrast. Auch das Melanin ist sehr gut schwarz angefärbt.	

Ziehl-Neelsen-Färbung

Lauf	Handlung	Ergebnis	Abbildung
1	Färbeprotokoll des Herstellers	Die säurefesten Bakterien sind deutlich als pinke Stäbchen erkennbar.	

In den Färbeprotokollen verwendete Abkürzungen

BB = Brown-Brenn-Färbung
 Congo Red = Kongorot-Färbung
 Gie = Giemsa-Färbung
 Giemsa Lym. = Giemsa-Lymphknoten-Färbung
 MF = Masson-Fontana-Färbung
 ZN = Ziehl-Neelsen-Färbung