



# **Ausgewählte Färbemethoden**

**für**

**B O T A N I K**

**P A R A S I T O L O G I E**

**Z O O L O G I E**

Münster, im Juli 2003

WALDECK GmbH & Co. KG

Division Chroma®

## V o r w o r t

zur Auflage 1962

Mit dem vorliegenden Heftchen wollen wir oft aus Verbraucherkreisen an uns herangetragenen Wünschen nach einer Zusammenfassung der von uns herausgegebenen Färbemethoden entsprechen. Neben einer Reihe altbekannter Vorschriften finden Sie auch neuere Methoden, soweit diesen ein stärkeres Interesse zuteil wurde. Wir haben aber auch einige seltener angewandte Vorschriften aufgenommen und hoffen damit allen Wünschen gerecht zu werden. Jede Vorschrift wurde nochmals genau durchgeprüft. Alle über Lösung und Färbedauer gemachten Angaben gelten in erster Linie für die von uns gelieferten Farbstoffe. Soweit es uns nötig erschien, haben wir das zur Färbung verwendete Material genannt. Dies schließt natürlich nicht aus, dass auch bei anders geartetem oder fixiertem Material die gleichen Resultate möglich sind.

Für Mitteilung beobachteter Mängel oder Verbesserungsvorschläge sind wir stets dankbar. Wir werden diese Hinweise gern in der nächsten Auflage berücksichtigen.

## V o r w o r t

zur Neuausgabe 2003

Natürlich wissen wir, dass viele Färbemethoden sich geändert haben und wir mit unseren Vorschriften nicht unbedingt „up to date“ sind. Trotzdem meinen wir, dass es sich durchaus lohnt in den alten Rezepten zu stöbern, weil dort oft verborgene Schätze vorhanden sind, die man auch heute noch gut gebrauchen kann.

Münster-Roxel, im Juli 2003

WALDECK GmbH & Co. KG, Divison Chroma®

# Inhaltsverzeichnis

## Fixierungsmethoden

## Einbettungsmethoden

## *Färbemethoden für*

### **A) Botanik**

### **B) Parasitologie**

- a) pflanzliche Parasiten
- b) tierische Parasiten
- c) filtrierbare Infektionserreger

### **c) Zoologie**

# Fixierung

Jedes dem lebenden Organismus entnommene Material beginnt sehr bald sich zu verändern. Man versucht deshalb durch verschiedene Mittel den ursprünglichen Zustand zu erhalten, zu fixieren. Für Ausstriche von Blut, Gewebesaft, Bakterienkulturen bedient man sich meist des Alkohols oder der Hitzefixierung. In den vorliegenden Vorschriften wurde die jeweils beste Methode angegeben. Zur Fixierung der Struktur von Gewebeschnitten werden Fixierungslösungen angewendet, von denen die nachstehenden am Häufigsten gebraucht werden. Eine Fixierungslösung, die alle Zell- und Gewebebestandteile gleich gut erhält, gibt es nicht. In den nachstehenden Vorschriften wurde deshalb bei den einzelnen Methoden angeführt, welches Fixierungsmittel jeweils das geeignetste ist.

## **A. Ausstrichpräparate:**

Man breitet eine möglichst kleine Menge Untersuchungsmaterial mit Hilfe einer geglähten Platinnadel oder eines Skalpells in möglichst dünner und gleichmäßiger Schicht auf dem Deckglas bzw. auf dem Objektträger aus oder bedient sich zur Ausbreitung der besonders für Blutpräparate empfohlenen folgenden Methode: Man bringt einen möglichst kleinen Tropfen Blut usw. auf einen Objektträger und setzt an den Tropfen einen zweiten Objektträger in spitzem Winkel an. Der Tropfen breitet sich dann längs der Kante des zweiten Objektträgers aus. Nun lässt man diesen langsam auf dem als Unterlage dienenden ersten Objektträger entlang gleiten, wodurch der Tropfen nachgeschleppt und ausgebreitet wird. Reinkulturen oder schwer austreichbares Material wird zweckmäßig vorher mit einem Tropfen Wasser verdünnt. Dann lässt man den Ausstrich völlig lufttrocknen werden und zieht dann erst das mit einer Cornetschen Pinzette gehaltene Deckglas bzw. den Objektträger, Schichtseite nach oben, dreimal durch die Flamme. Das Trocknen an der Luft wird durch mehrfaches Hin- und Herschwenken der Präparate beschleunigt, die Fixierung der lufttrockenen Präparate kann statt durch Hitze auch durch etwa zehn Minuten währendes Einlegen in Alkohol absolut oder ein Gemisch aus Alkohol absolut und Äther zu gleichen Teilen erfolgen. Die Färbung geschieht am besten durch Auftropfen der Farblösung aus einer Pipette. Die Dauer der Färbung richtet sich nach der Art der Präparate und ist bei den verschiedenen Farblösungen verschieden. Im allgemeinen kommt man mit 15 Sekunden bis 1 Minute aus. Schwaches Erwärmen beschleunigt die Färbung. Soweit sich überhaupt zahlenmäßige Angaben machen lassen, sind diese in den nachstehenden Vorschriften aufgeführt. Nach beendeter Färbung werden die Ausstrichpräparate sorgfältig mit Wasser abgespült, mit Fließpapier abgetupft und getrocknet, was wiederum unter vorsichtigem Erwärmen geschehen kann. Das Präparat wird dann mit einem Tropfen Zedernholzöl versehen und ohne Deckglas betrachtet. Soll ein Dauerpräparat hergestellt werden, so wird mit Canadabalsam oder Malinol ein Deckglas aufge kittet. Sofern besondere Fixierungsmethoden angewendet werden müssen, finden sich die erforderlichen Angaben in den nachfolgenden Vorschriften.

## **B. Schnittpräparate:**

Die Dauer der Fixierung ist abhängig von dem Fixierungsmittel und der Art und Größe des Gewebestückes. Soweit sich überhaupt Angaben machen lassen, wurden diese bei den nachstehenden Fixierungsgemischen angegeben.

# Fixierungslosungen

## 1. Bouin

Pikrinsäure 1% ig wässrig	15 ccm
Formalin 40%	5 ccm
Eisessig	1 ccm

Die Mischung der 3 Bestandteile erfolgt erst vor dem Gebrauch. Fixierungsdauer je nach Größe 2 - 24 Stunden, längere Einwirkung schadet nicht. Nach der Fixierung wird sofort in 70 - 80% igen Alkohol übertragen, der 2 - 3 mal gewechselt wird.

## 2. Carnoy

Alkohol absolut	60 ccm
Chloroform	30 ccm
Eisessig	10 ccm

Die Lösung dringt sehr rasch ein. Objekte von 1 - 2 mm sind schon in einer Stunde fixiert. Größere Stücke brauchen nicht länger als höchstens 3 Stunden. Darüber hinaus sollte nicht fixiert werden, da sonst zu starke Schrumpfungen auftreten und die Präparate zu hart werden. Nach der Fixierung überträgt man gleich in absoluten Alkohol, der nach 24 Stunden einmal gewechselt wird.

## 3. Flemming

Starkes Gemisch =	
Chromsäure 1 %ig	15 ccm
Osmiumsäure 2 %ig	4 ccm
Eisessig	1 ccm

Das Fixierungsgemisch dringt nur langsam ein. Man nimmt deshalb möglichst dünne, kleine Stücke von höchstens 1 - 3 mm Seitenlänge und lässt sie 24 Stunden oder länger in der Lösung verweilen. Man wäscht in Wasser gründlich aus und härtet in Alkohol nach, indem man die Stücke je 24 Stunden in 40% igen, dann 70% igen, darauf 90% igen und schließlich absoluten Alkohol bringt. Haematoxylin-Färbungen sind nach Flemming-Fixierung nicht möglich.

## 4. Formalin

Formalin 40 %ig	10 ccm
Wasser dest.	100 ccm

Kleinere Stücke verweilen in der verdünnten Formalinlösung 4, 6, 8 Stunden. Größere Stücke lässt man mehrere Tage darin liegen. Längerer Aufenthalt schadet nichts. Es folgt gründliches Auswaschen in Wasser, Nachhärten in steigendem Alkohol wie unter 3. angegeben. Die Fixierung kann auch im Brutschrank bei 40 - 50° C erfolgen, wodurch die Fixierung meistens schon in 10 - 15 Minuten beendet ist.

## 5. Formalin-Alkohol

Formalin 40 %ig	10 ccm
Alkohol 80 %ig	20 ccm

Fixieren 1 - 2 Tage, größere Stücke noch länger, auswaschen in 80 %igem Alkohol. Besonders empfehlenswert für stark bluthaltiges Material, da die Granula der Leukocyten und die Körner der Mastzellen besser erhalten bleiben als in Alkohol allein.

## 6. Formalin-Sublimat (Heidenhain)

Sublimat	4,5 g
Natriumchlorid	0,5 g
Wasser	80 ccm
Formalin 40 %ig	20 ccm

Fixierungsdauer 2 - 24 Stunden, nachbehandeln in 70 %igem, 90 %igem und schließlich absolutem Alkohol. Das Gemisch ist sehr gut geeignet zur Fixierung bindegewebsreicher Organe. Das Protoplasma wird in ihm besser erhalten als in reinem Sublimat.

## 7. Helly

Sublimat	5,0 g
Kaliumbichromat	2,5 g
Natriumsulfat krist.	1,0 g
Wasser dest.	100 ccm
Formalin 40 %ig	5,0 ccm

Das Formalin wird erst unmittelbar vor dem Gebrauch zugefügt. Die Fixierungsdauer beträgt 1 - 6 Stunden. Bei haematologischen Untersuchungen soll diese Zeit nicht überschritten werden. Man wähle deshalb die Stücke nicht zu groß, etwa 2 - 4 mm dick. Bei längerer Einwirkung (1 - 2 Tage) gelingt auch die Darstellung der Mitochondrien. Die Blutzellen und ihre Granulationen bleiben in dem Hellyschen Gemisch besser erhalten als in der Zenkerschen Lösung.

## 8. Müller

Kaliumbichromat	2,5 g
Natriumsulfat krist	1,0 g
Wasser dest	100 ccm

Fixieren nicht länger als 24 Stunden, empfindliches Gewebe nur 12 Stunden, auswaschen in fließendem Wasser, nachhärten in steigendem Alkohol.

## 9. Regaud

Kaliumbichromatlösung 3 %ig	80 ccm
Formalin 40 %ig, neutral	20 ccm

Der Formalinzusatz erfolgt erst unmittelbar vor dem Gebrauch. Fixierungsdauer 4 Tage, jeden Tag Lösung erneuern. Dann wird 8 Tage in 3 %iger Kaliumbichromatlösung nachchromiert. Hierauf folgt 24-stündiges Auswaschen in Wasser. Darauf wird in steigendem Alkohol entwässert und in Paraffin eingebettet. Das Gemisch ist besonders zur Darstellung der Mitochondrien zu empfehlen.

## 10. Stieve

Sublimatlösung gesättigt wässrig	76 ccm
Formalin 40 %	20 ccm
Eisessig	4 ccm

Das Gemisch fixiert sehr gut und dringt rasch ein, so dass auch größere Stücke gut fixiert werden. Nachbehandlung: Übertragen in 90%igen Alkohol.

## 11. „Susa“-Gemisch, Heidenhain

Sublimat	4,5 g
Kochsalz	0,5 g
Trichloressigsäure	2,0 g
Eisessig	4,0 ccm
Wasser dest	80,0 ccm
Formalin 40 %ig	20,0 ccm

Die Fixierungsdauer beträgt je nach Größe des Stückes 1 - 24 Stunden. Nach der Fixierung wird sofort in 90 %igen Alkohol übertragen, der mehrmals gewechselt wird. Das Gemisch dringt sehr rasch ein, die Färbbarkeit des Gewebes ist sehr gut.

## 12. Zenker

Sublimat	5,0 g
Kaliumbichromat	2,5 g
Natriumsulfat krist	1,0 g
Wasser dest.	100,0 ccm
Kurz vor dem Gebrauch zufügen: Eisessig	5,0 ccm

Fixieren dünner Stücke 24 Stunden, gründlich auswaschen in Wasser, am besten 24 Stunden in fließendem Wasser. Nachhärten in steigendem Alkohol. Bei Sublimat enthaltenden Fixierungslösungen ist es bisweilen empfehlenswert, bei gründlichem Auswaschen aber nicht unbedingt nötig, etwa vorhandene Sublimatrückstände durch Jod zu entfernen. Zu diesem Zweck setzt man dem zur Nachhärtung bestimmten 70 %igen Alkohol soviel alkoholische Jodlösung zu, dass er eine weinrote Farbe erhält. Das Jod entfernt durch Bildung von Quecksilberjodid das überschüssige Sublimat und der Alkohol entfärbt sich. Bleibt der Alkohol gefärbt, so ist kein Sublimat mehr vorhanden.

# Einbettung

Das fixierte Material besitzt nicht immer die zum Schneiden auf dem Mikrotom nötige Festigkeit oder es enthält größere Hohlräume, die beim Schneiden deformiert würden. Deshalb werden die Objekte vor dem Schneiden mit einem Medium durchtränkt, das ihnen nach dem Erstarren eine gut schneidbare Beschaffenheit gibt. Die gebräuchlichsten Einbettungsmittel sind Paraffin und Celloidin, zu denen sich in neuerer Zeit für bestimmte Zwecke die Polyäthylenglycole gesellen.

**Paraffin:** Paraffin gestattet die Herstellung sehr dünner Schnitte (1 – 5  $\mu$ ). Serien lassen sich leichter von Paraffinmaterial als von Celloidinmaterial anfertigen. Die Paraffineinbettung ist rasch und einfach durchzuführen. In Paraffin eingebettete Objekte können beliebig lange aufbewahrt werden. Ein Nachteil des Paraffins besteht jedoch darin, dass das Material während der Durchtränkung eine beachtliche Schrumpfung (8 - 20 %) erfährt.

**Celloidin:** Die Celloidineinbettung ist schonender und erlaubt wegen der Durchsichtigkeit des Celloidins eine bessere Orientierung an den eingebetteten Objekten. Schrumpfererscheinungen treten bei Celloidineinbettung nicht auf. Als Nachteile sind jedoch zu erwähnen, dass der Einbettungsvorgang länger dauert als bei Paraffin, die Anfertigung von lückenlosen Serien schwieriger ist. In Celloidin eingebettetes Material darf wegen der Eintrocknungsgefahr nie längere Zeit offen an der Luft liegen bleiben. Die Aufbewahrung von Celloidinmaterial muss in 70 %igem Alkohol erfolgen. Celloidin wird meist für Knochen, Nervensystem, dicke Schichten glatter Muskulatur, Haut und Material mit größeren Hohlräumen verwendet.

**Polyäthylenglycol:** In Amerika als Carbowax, in England als Aquax bezeichnet. Wir haben aus der Vielzahl der lieferbaren Polyäthylenglycole eine Auswahl der für die Mikroskopie am besten geeigneten Qualitäten getroffen, die wir unter dem Namen Histowachse in den Handel bringen. Wir liefern Histowachs in verschiedenen Härtegraden, die sich untereinander beliebig mischen lassen. Der Vorteil der Einbettung in Histowachs besteht darin, dass bei dem ganzen Einbettungsvorgang Alkohol, Xylol und andere fettlösende Mittel vermieden werden, so dass Lipide und Fette nicht durch die Behandlung verloren gehen. Schrumpfungen wie bei Paraffineinbettung werden weitgehend vermieden. Eine Nachbehandlung der Schnitte mit Fermenten ist möglich. Die Einbettung dauert nur etwa 1 ½ Stunden, so dass die Präparate in kurzer Zeit fertiggestellt werden können. Histowachs ermöglicht Schnitte bis zu 0,1  $\mu$ .

## **Paraffineinbettung:**

1. Die fixierten Stücke gründlich entwässern in Alkohol absolut.
2. Alkohol entfernen durch einlegen in Xylol, das 1 - 2mal gewechselt wird, für 30 - 180 Minuten. Die Stücke bleiben nur solange in Xylol, bis sie völlig durchsichtig bzw. durchscheinend geworden sind, bei zu langem Aufenthalt werden sie leicht spröde.
3. Übertragen für 2 - 3 Stunden in Xylol, das mit Paraffin gesättigt war.
4. Stücke übertragen in reines, geschmolzenes Paraffin, das nach 30 Minuten gewechselt wird, um die Stücke völlig xylolfrei zu erhalten. In dem zweiten Paraffin verbleiben die Stücke, je nach ihrer Größe 2 -5 Stunden. Für die meisten Objekte genügt, wenn sie bei Zimmertemperatur geschnitten werden sollen, ein Paraffin vom Schmelzpunkt 50/52° C. Kleine Differenzen in der Härte, die sich beim Schneiden bemerkbar machen, kann man dadurch ausgleichen, dass man in einem kühleren oder wärmeren Raum (am Fenster oder in der Nähe des Ofens) schneidet oder, dass man das Messer abkühlt oder erwärmt.

5. Nunmehr erfolgt die Einschmelzung. Diese geschieht, indem man Paraffin vom gleichen Härtegrad frisch schmilzt und in ein Blockschälchen oder einen Paraffinrahmen gießt. Nun entnimmt man das Präparat mit erwärmter Pinzette und ordnet es so in dem flüssigen Paraffin, dass die Seite, die zuerst geschnitten werden soll, nach unten kommt. Darauf wird weiteres geschmolzenes Paraffin aufgegossen, bis es das Objekt um 2 - 3 mm überragt. Hierauf wird das Gefäß in kaltes, eventuell mit Eis gekühltes Wasser gesetzt, damit das Paraffin zunächst von unten und von den Seiten her erstarrt. Dadurch können kleine, im Paraffin enthaltene Luftblasen an die Oberfläche steigen und hier entweichen. Sobald sich an der Oberfläche ein dickes Paraffinhäutchen gebildet hat, taucht man das Schälchen ganz unter, damit das Paraffin nunmehr rasch vollständig erstarrt.
6. Darauf wird der Paraffinblock aus dem Schälchen oder Rähmchen gelöst und das Paraffin mit dem Messer soweit entfernt, dass nur ein 1 - 2 mm breiter Paraffinrand das Objekt umgibt.
7. Der zurechtgeschnittene Block wird auf einem Stück hartem Holz oder Stabilit durch Anschmelzen befestigt und darauf die Unterlage in die Mikrotomklammer fest eingeschraubt. Das Schneiden erfolgt nach den verschiedenen, den einzelnen Mikrotomen beigefügten Vorschriften.
8. Die fertigen Schnitte werden mit einem schmalen Messer, Präparierspatel oder Pinsel von dem Mikrotommesser in 45 - 50° C warmes Wasser gebracht, worin sich faltige oder gerollte Schnitte schnell glatt ausbreiten. Die Schnitte werden dann durch einen unter sie geschobenen Objektträger aufgefangen, und zwar so, dass die dem Messer zugekehrt gewesene, glänzende Fläche des Schnittes auf das Glas zu liegen kommt. Sie legen sich glatt und faltenlos an die Glasfläche an. Voraussetzung dabei ist die Verwendung absolut reiner, fettfreier Objektträger.
9. Überschüssiges Wasser lässt man durch Schrägstellen des Objektträgers ablaufen oder versucht es durch vorsichtiges Auflegen von Fließpapier hervorzudrücken oder abzusaugen.
10. Hierauf kommen die Objektträger in den Brutofen von 37° C, wo sie wenigstens 6 Stunden verweilen. (Nicht in den Paraffinofen.)
11. Bei Material, das in chromsäurehaltigen Lösungen gehärtet oder mit Silberlösungen behandelt wurde oder das viel Blut enthält, versagt bisweilen das Aufkleben durch Kapillarattraktion, wie man die unter 8 genannte Aufklebemethode nennt. Derartiges Material muss mit Eiweißglycerin aufgeklebt werden. Man geht dabei in folgender Weise vor: Auf einem gut gereinigten Objektträger verreibt man eine Spur Eiweißglycerin und erwärmt über der Flamme, so dass eine Temperatur von 70° C erreicht wird. Auf den abgekühlten Objektträger gießt man reichlich dest. Wasser auf und bringt den Schnitt auf den Wasserspiegel, auf dem er sich meistens völlig glättet. Bleiben noch einige Falten, so erwärmt man über einer Flamme, aber ohne dabei den Schmelzpunkt des Paraffins zu erreichen. Dann saugt man mit Fließpapier das überschüssige Wasser ab und bringt den Objektträger für 3 - 4 Stunden in den Brutschrank, wie unter 10. angegeben.
12. Die Entfernung des Paraffins aus dem Schnitt wird dadurch erreicht, dass man den Objektträger zunächst für 5 - 10 Minuten in Xylol und dann 10 Minuten in absoluten Alkohol bringt, der vorteilhaft einmal gewechselt wird. Die Schnitte können zur größeren Sicherheit der Paraffinentfernung mit Xylol bedeckt kurze Zeit in den Thermostaten gestellt werden. Die Temperatur soll jedoch nicht höher als der Schmelzpunkt des verwendeten Paraffins sein. Nunmehr sind die Schnitte zur Färbung fertig. Werden wässrige Farblösungen verwendet, so ist es empfehlenswert, die Schnitte aus dem absoluten Alkohol erst in 90 %igen, dann in 60 %igen Alkohol zu übertragen und dann erst in Wasser zu bringen.

## **Celloidineinbettung:**

Das fixierte und gut gewässerte Material kommt in

1. Alkohol 96 %ig .....24 Stunden
2. Alkohol absolut (1 mal wechseln) .....24 Stunden
3. Äther-Alkohol Zu gleichen Teilen .....24 Stunden
4. Celloidin-Lösung 4 %ig .....3–6 Tage
5. Celloidin-Lösung 8 –10 %ig .....3–6 Tage.

Nun gießt man Celloidinlösung 10 %ig in ein Schälchen, legt das Objekt hinein und stellt unter eine Glasglocke, unter die man vom 2. Tage an gleichzeitig ein kleines Schälchen mit Chloroform stellt.

Nach etwa 3 - 5 Tagen ist das Celloidin so hart geworden, das es sich mit dem Fingernagel kaum noch eindrücken lässt. Nun schneidet man den Block aus dem Schälchen heraus und entfernt mit dem Messer das Celloidin soweit, das es die Ränder des Gewebestückes nur noch um 1 - 2 mm überragt. Den so gerichteten Block legt man für 24 Stunden in 70 %igen Alkohol zur Nachhärtung.

Zum Aufkleben auf den Holzblock bringt man auf diesen einige Tropfen dickes Celloidin, setzt den gerichteten und gut abgetrockneten Celloidinblock darauf und lässt an der Luft fest werden. Nach einer Viertelstunde legt man das Ganze in 70 %igen Alkohol. Nach einer weiteren halben Stunde kann geschnitten werden.

Nicht aufgeklebte Celloidinschnitte dürfen nie in einen Alkohol von mehr als 96 % gebracht werden, da das Celloidin sonst aufgelöst wird. Zum Aufkleben bringt man den Schnitt aus 70 %igem Alkohol auf einen mit Eiweißglycerin vorbereiteten Objektträger. Dann wird der Alkohol mit Fließpapier abgetupft, Nelkenöl aufgetropft und nach 3 - 5 Minuten durch Abtrocknen mit Fließpapier das Nelkenöl wieder entfernt. Nun kommt der aufgeklebte Schnitt für je 2 Minuten in

Alkohol 96 %,  
Alkohol absolut,  
Alkohol-Äther 1:1,  
Alkohol absolut,  
Alkohol 96 %,  
Wasser. Darauf kann die Färbung vorgenommen werden.

## **Histowachseinbettung:**

1. Fixiertes oder unfixiertes Material in Stücken von 2 - 5 mm kurz mit Wasser waschen und auf Fließpapier leicht abtrocknen, um möglichst wenig Wasser in das Histowachs zu übertragen.
2. Einlegen der Materialstücke in reines Histowachs (gewöhnlich Histowachs von 52 - 54° C).
3. Sobald das Objekt untergesunken ist, nach ca. ½ Stunde, Histowachs erneuern. Das Untersinken ist ein Zeichen dafür, das das Histowachs vollständig in das Objekt eingedrungen ist. Die Erneuerung bezweckt, möglichst wenig Wasser mit in den Block zu bringen. Die Einbettungstemperatur soll konstant bleiben. Es genügt, wenn sie 2° C über dem Schmelzpunkt der verwendeten Histowachsmischung liegt.
4. Kurz vor dem Gießen des Blocks wird das Histowachs nochmals erneuert.
5. Etwa nach insgesamt 1 ½ Stunden kann der Block, wie bei Paraffineinbettungen üblich, gegossen werden.
6. Unmittelbar nach dem Gießen wird der Block in den Eisschrank gebracht, wo er in wenigen Minuten erstarrt, damit ist er zum Schneiden fertig. Um eine nachträgliche Erweichung des Blockes durch Luftfeuchtigkeit zu verhindern, erfolgt Aufbewahrung am besten in Gläsern mit eingeschlifffenem Glasstopfen.

7. Schneiden in der üblichen Weise, Block nach dem Schneiden nicht unnötig lange im Mikrotom belassen, damit er nicht weich wird.
8. Schnitte mit feiner Nadel übertragen in Wasser, dem vorher ein oberflächen entspannendes Mittel (ca. 0,2 % Osatin-Chroma) zugefügt wurde. Das Wasser muss entspannt sein, damit die feinen Schnitte auf der Wasseroberfläche nicht zerrissen werden. Histowachs löst sich augenblicklich. Die Schnitte sinken glatt ausgebreitet auf den Boden des Gefäßes.
9. Für elektronenmikroskopische Untersuchungen werden die Schnitte unmittelbar aus dem entspannten Wasser mit der befilmten Objektblende aufgefischt. Nach dem Auftrocknen des Schnittes auf der Blende werden etwa vorhandene Verunreinigungen durch kurzes Waschen in dest. Wasser entfernt.
10. Für histologische Untersuchungen werden die Schnitte aus dest. Wasser auf Objektträger mittels Eiweißglycerin aufgezogen.
11. Falls die Färbung nicht gleich vorgenommen wird, werden die beschickten Objektträger in 50 %igem Alkohol aufbewahrt. Zur Färbung eignen sich Haemalaun-Eosin, Resorcinfuchsin, Azan, Sudan III, Toluidinblau, Versilberung nach Gömöri.
12. Sofern Imprägnationsmethoden oder Beizenfarbstoffe angewendet wurden, schließt man am besten in Glyceringelatine oder Gelatinol ein, weil hierbei Schrumpfungen am ehesten vermieden werden.
13. Werden die üblichen wasserlöslichen Farbstoffe verwendet, die in ein wasserhaltiges Einschlußmittel hinein-iffundieren würden, werden die Präparate m besten aus 80 %igem Alkohol über Terpeneol in Balsam oder Malinol eingeschlossen. Wenn höhere Alkohol-konzentrationen vermieden werden, was bei der vorstehenden Methode der Fall ist, treten keine wesentlichen Schrumpfungen auf.

### **Gefrierschneiden:**

Gefrieren des zu untersuchenden Materials ist die einfachste und schnellste Methode, um die Stücke schneidbar zu machen. Man kann das frische Material direkt gefrieren lassen, besser ist es aber vorher in Formol zu fixieren und in Wasser gründlich auszuwaschen. Als Gefriermittel dienen flüssige Kohlensäure, Chloräthyl oder Äther. Zur Anfertigung der Schnitte bedarf es eines Gefriermikrotoms oder wenigstens eines Gefriertisches, der sich auf ein gewöhnliches Mikrotom aufsetzen lässt. Die Stücke sollen nicht dicker als 1 - 2 mm sein, da die obersten Schichten sonst nicht genügend gefrieren. Splintern die Schnitte beim Schneiden, so ist das Objekt zu stark gefroren. Man muss es dann, etwa durch Betupfen mit dem Finger, etwas zum Auftauen bringen. Dünne Schnitte und Schnittserien sind mit der Gefriermethode kaum zu erzielen. Man verwendet sie deshalb hauptsächlich bei Schnelldiagnosen und Spezialuntersuchungen, z. B. bei Fett- und Nervengewebe

# A. Botanik

## Astrablau - Auramin - Safranin

Differenzierung von Cellulose und verholzten Zellwände

### Erforderliche Lösungen:

- |                 |        |
|-----------------|--------|
| A. Astrablau FM | 0,5 g  |
| dest. Wasser    | 100 ml |
| Weinsäure       | 2,0 g  |
- B. Auramin O gesättigt wässrige Lösung  
C. 1 g Safranin O in 100 ml dest. Wasser  
Verwendetes Material: Pflanzenschnitte, Einbettung in Paraffin, synth. Wachs oder nicht eingebettet.  
Fixierung: Formaldehyd oder Aethanol.

### Färbevorschrift:

1. Entparaffinierte Schnitte aus Wasser übertragen für 1 - 5 Minuten in A.
2. Abspülen mit dest. Wasser.
3. Färben in B 1 - 5 Minuten, die Schnitte besitzen nun einen grünlichen Ton.
4. Abspülen in dest. Wasser.
5. Färben 1 - 5 Minuten in C.
6. Abspülen in dest. Wasser.
7. Entwässern in dreimal gewechseltem Aceton.
8. Über Phenol-Benzin 1 :3 einschließen in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Cellulosewände und ausschließlich die reine Cellulose intensiv blau.  
Verholzte Zellwände je nach dem Grad der Verholzung schwefelgelb bis ziegelrot. Je stärker die Verholzung ist um so intensiver ist der gelbe Farbton.  
Anm.: Die Verwendung eines Blaufilters verstärkt den Kontrast von Auramin und Safranin.  
Lit.: Maáčz und Vágás, „Mikroskopie“ Bd. 16 (1961), S. 40 - 43.

## Pikrin -Anilinblau

Differenzierung verholzter und unverholzter Zellwände

### Erforderliche Lösungen:

- A. Pikrin-Anilinblau-Lösung nach Strasburger  
B. 0,5 g Pikrinsäure in 100 ml 96 % igem Alkohol  
Verwendetes Material: Stengel von Zea Mays.

### Färbevorschrift:

1. Färben der Schnitte 1 - 2 Minuten in A.
2. Abspülen in dest. Wasser.
3. Entwässern in B.
4. Durch Xylol überführen in Xylol-Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Verholzte Elemente gelb.  
Unverholzte blau.

## **Safranin und Pikrinanilinblau**

Verholzte und nicht verholzte Zellwände

### **Erforderliche Lösungen:**

- A. 4 g Safranin O lösen in 200 ml Methylcellosolve, zufügen 100 ml Alkohol 95 %ig und 100 ml dest. Wasser, dann zugeben 4 g Natriumacetat und 8 ml Formalin 40 %ig.
- B. Gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Alkohol.
- C. Gesättigte Lösung von Anilinblau wasserlöslich in Alkohol.  
Vor dem Gebrauch werden 78 ml B mit 22 ml C gemischt.  
Verwendetes Material: Jedes verholzte Gewebe.

### **Färbevorschrift:**

1. Färben der Schnitte wenigstens 2 Stunden in A.
2. Gründlich auswaschen mit Leitungswasser.
3. Differenzieren in B.
4. Färben 2 Stunden in dem Gemisch von B und C.
5. Waschen in Alkohol absolut, 10 Sekunden.
6. Aufhellen in Nelkenöl.
7. Übertragen in Xylol.
8. Einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Verholzte oder kutinisierte Wände hellrot, Cellulosewände blau gefärbt.  
Lit.: Johansen, 1940, Plant Microtechnique, 1. Ausgabe.

## **Auramin und Kristallviolett**

Holz- und Cellulosemembranen

### **Erforderliche Lösungen:**

- A. Gesättigt wässrige Lösung von Auramin O frisch hergestellt.
- B. 1 g Kristallviolett wird in 50 ml dest. Wasser und 50 ml Isopropylalkohol gelöst.  
Vor dem Gebrauch werden gleiche Teile A und B gemischt.  
Verwendetes Material: Schnitte von frischem oder konserviertem oder mit Eau de Javelle behandeltem Material.

### **Färbevorschrift:**

1. Färben der Schnitte 5 - 10 Minuten in dem Gemisch von A und B.
2. Kurz abspülen in dest. Wasser.
3. Differenzieren in einmal gewechseltem absoluten Isopropylalkohol, abtrocknen mit Filterpapier.
4. Übertragen in zweimal gewechseltes Terpeneol.
5. Einschließen in Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Verholzte Membranen gelb.  
Cellulose violett gefärbt.

Lit.: Beck, Mikrokosmos 48 (1959): 94 - 95, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart.

## Reinblau und Brillantcrocein

Differenzierung von Holz- und Cellulosemembranen

### Erforderliche Lösungen:

- 0,2 %ige wässrige Lösung von Reinblau
  - 0,2 %ige wässrige Lösung von Brillantcrocein R
- Unmittelbar vor dem Gebrauch werden gleiche Teile A und B gemischt.  
Verwendetes Material: Wie vorstehend.

### Färbevorschrift:

- Schnitte 5 - 15 Minuten färben in dem Gemisch von A und B.
- Kurz in einmal gewechseltem Isopropylalkohol abspülen.
- Abtrocknen mit Filterpapier.
- Übertragen in zweimal gewechseltes Terpeneol.
- Einschließen in Malinol.

### Färbeergebnis:

Holzmembranen rot, Cellulose blau gefärbt.  
Lit.: Wie vorstehend.

## Malachitgrün-Säurefuchsin

Verholzung der Zellwände

### Notwendige Lösung:

A. Malachitgrün	0,5 g
Säurefuchsin	0,5 g
Alkohol	75 ccm
Wasser dest.	75 ccm

### Färbevorschrift:

- Schnitte aufkleben.
- Färben in Lösung A, 10 Minuten.
- Waschen in 96 %igem Alkohol.
- Aufhellen in Karbol-Xylol, über Xylol einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Membrancellulose: rot  
Verholzte Anteile: grün

Lit.: Nečasný, V. (1955), Prirodovedecký Sporník Ostravskeho kraje, 16: 184 - 202

## Sudanblau-Safranin-Congorot

Darstellung von Cellulose, Holz, Gummi

### Notwendige Lösungen:

A. Äthylalkohol	90,0	ccm
Propionsäure	5,0	ccm
Formaldehyd 40 %ig	5,0	ccm
B. Natriumhypochlorit 1 %ig		
C. Kaliumhydroxyd 10 %ig in 95 %igem Alkohol		
D. Sudanblau	0,5	g
Butylalkohol (tert.)	10,0	ccm
lösen bei Zimmertemperatur, zuzufügen: Äthylalkohol gut schütteln, filtrieren	190,0	ccm
E. Safranin O	2,0	g
Cellosolve)	100,0	ccm
Äthylalkohol 95 %ig	50,0	ccm
Natriumacetat 4 %ig wässrig	50,0	ccm
Formaldehyd 40 %ig	4,0	ccm
F. Congorot	0,05 - 0,1	g
Lösung D	25,0	ccm
Lösung E	0,5	ccm

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Lösung A, 24 - 48 Stunden.
2. Schneiden auf 50 - 100  $\mu$  Dicke, einlegen in 50 %igem Alkohol.
3. Extrahieren in Aceton, 5 Minuten.
4. Bleichen in Lösung B, 5 Minuten.
5. Verseifen in Lösung C, 15 Minuten.
6. Spülen mit 50% igem Alkohol, 3 mal.
7. Färben in Lösung F, 30 Minuten bei 55° C.
8. Spülen in 50 %igem Alkohol, 2 mal.
9. Einbetten in Malinol.

**Färbeergebnis:**

Cellulose und Cytoplasma: hellrot

Holzgewebe und Kork: orangerot

Gummi: blau

Lit.: Addicott, F.T. (1944), Stain Tech., 19: 99 - 102.

Johansen, D. A. (1940), Plant Microtechnique, Seite 41 - 42, 62 (McGraw-Hill Book Co., New York & London).

**Safranin-Lichtgrün**

für Botanische Präparate

**Notwendige Lösungen:**

A. Safranin	1 g
Alkohol 50 %ig	100 ccm
B. Lichtgrün FS	1 g
Nelkenöl	100 ccm

**Färbevorschrift:**

1. Färben der Schnitte in Lösung A, 5 -10 Minuten.
2. Waschen in Wasser.
3. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe.
4. Gegenfärben mit Lösung B, 2 - 5 Minuten (Mikroskopkontrolle).
5. Aufhellen in Nelkenöl.
6. Waschen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Holzfasern: rot

Cellulose: grün

Lit.: Chamberlain, C. J. (1932), Methods in Plant Histology, 5. Aufl. (Univ. of Chicago Press)

**Thionin und Orange G**

Darstellung von Parasiten in pflanzlichem Gewebe

**Erforderliche Lösungen:**

- A. 0,1 g Thionin werden in 100 ml Phenollösung 5 %ig unter Erwärmen gelöst.
  - B. Gesättigte Lösung von Orange G in Alkohol absolut.
- Verwendetes Material: Pathologische Pflanzenschnitte, Fixierung beliebig, Paraffineinbettung.

**Färbevorschrift:**

1. Entparaffinieren wie üblich.
2. Färben in A etwa eine Stunde.
3. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe.
4. Differenzieren in B.
5. Abspülen in Alkohol absolut.
6. Über Xylol einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Parasiten purpurviolett, Cellulosewände gelbgrün, Xylem blau, Chromosomen blau, Spindeln purpur gefärbt.

Lit.: Conn, 1953, Biological Stains, 6. Auflage, Williams & Wilkins Company, Baltimore.

## **Resorcinblau und Martiusgelb**

Färbung der Pollenschläuche in Griffeln

### **Erforderliche Lösung:**

5 mg Resorcinblau und 5 mg Martiusgelb in 10 - 15 ml dest. Wasser lösen. Zufügen einige Tropfen sehr stark verdünnten Ammoniak bis die Lösung einen olivenfarbigen Ton zeigt. Verwendetes Material: Pollenschläuche in Griffeln nicht fixiert und nicht eingebettet.

### **Fö rbevorschrift:**

1. Dünne Griffel oder Fruchtknoten leicht befeuchten mit Wasser und zwischen 2 Objektträgern zerquetschen oder von stärkeren Griffeln oder Fruchtknoten von Hand Längsschnitte anfertigen und dann zerquetschen.
2. Das auf einem Objektträger ausgebreitete Material mit der obigen Lösung bedecken und 2 - 5 Minuten einwirken lassen
3. Überschüssige Farblösung vorsichtig absaugen oder mit wenig Wasser abspülen
4. Deckglas auflegen, andrücken und bei starker Beleuchtung unter dem Mikroskop betrachten
5. Falls Dauerpräparate erwünscht, Deckglas mit Deckglaskitt oder Deckglaslack umranden.

### **Färbeergebnis:**

Pollenschläuche blau, Untergrund hellgelblichgrün gefärbt.

Lit.: Nebel, 1931, Stain Technology, 6, 27 - 29, Verlag: Williams & Wilkins Company, Baltimore.

## **Burri-Tusche**

Negativdarstellung der Pollenkörner

### **Erforderliche Lösung:**

Bakteriologische Tusche

Verwendetes Material: Blütenstaub des Haselnuss-Strauches, der Erle, Kiefer, Fichte, des Huflattichs, Löwenzahns, Kürbis und andere.

### **Färbevorschrift:**

1. Etwas Tusche mit der gleichen Menge dest. Wassers innig vermischen.
2. Einen Tropfen der verdünnten Tusche auf einen Objektträger bringen, etwas Blütenstaub daneben schütten und gut miteinander verreiben.
3. Den Tropfen mit Hilfe eines zweiten Objektträgers oder eines Deckglases möglichst dünn ausstreichen und an der Luft trocknen lassen.
4. Bei starker Beleuchtung unter dem Mikroskop betrachten.

### **Färbeergebnis:**

Die Pollenkörner heben sich in ihren verschiedenen Formen deutlich von dem dunklen Untergrund ab.

Anm.: Wenn der Ausstrich vollkommen eben aufgetrocknet ist, kann durch Aufkitten eines Deckglases ein Dauerpräparat hergestellt werden.

## Orcein-Essigsäure

### Chromosomen

#### Erforderliche Lösungen:

- A. Fixierungslösung bestehend aus 20 ml Eisessig und 60 ml Alkohol 100 %ig
- B. Orcein-Stammlösung: 1 g Orcein wird in 50 ml Essigsäure 45% ig 2 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Erkalten wird filtriert.  
Verwendetes Material: Meristemzellen von Wurzelspitzen.

#### Färbevorschrift:

1. Fixieren des Materials in A.
2. Übertragen in ein Gemisch aus gleichen Teilen Alkohol und konzentrierter Salzsäure für 5 Minuten, gründlich auswaschen in reinem Alkohol.
3. Auf einen mit Eiweißglycerin bestrichenen Objektträger bringen.
4. Färben 3 - 4 Minuten mit einem Gemisch aus gleichen Volumteilen B und Essigsäure 45 %ig.
5. Material mit einem zweiten Objektträger fest andrücken und die austretende Flüssigkeit mit Filterpapier absaugen.
6. Die mit dem Material beschickten beiden Objektträger fest mit Fließpapier umhüllen, das in 95 %igem Alkohol getränkt ist, in eine Petrischale legen und abdecken.
7. Nach 5 Stunden das Fließpapier entfernen und in Alkohol einlegen, bis sich die Objektträger leicht trennen lassen. Das Material haftet jetzt fest an dem aufgetragenen Eiweißglycerin.
8. Abtropfen lassen und einschließen in Euparal.

#### Färbeergebnis:

Chromosomen erscheinen purpurn bis bräunlichrot gefärbt, Cytoplasma und Kerne sind kaum gefärbt.

Lit.: B. P. Kaufmann, referiert nach Conn, Darrow und Emmel, Staining Procedures, II. Ed.

## Eisenalaun - Haematoxylin - Pikrinsäure

### Chromosomen, Kernteilungsstadium

#### Erforderliche Lösungen:

- A. Eisenalaunlösung 4 %ig, frisch bereitet
  - B. Haematoxylinlösung 0,5 %ig wässrig
  - C. Pikrinsäurelösung wässrig 1,2 %ig
- Verwendetes Material: Wurzelspitzen, Schnittpräparate.

#### Färbevorschrift:

Fixieren in Chromosmiumsäure nach Flemming, Paraffineinbettung.

1. Die entparaffinierten Schnitte aus Wasser übertragen in A für 30 Minuten.
2. Waschen in fließendem Wasser für 10 Minuten.
3. Färben 30 - 60 Minuten in B.
4. Waschen 10 Minuten in fließendem Leitungswasser.
5. Differenzieren in C, Mikroskopkontrolle.
6. 20 Minuten waschen in fließendem Leitungswasser.
7. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe und dabei zu dem 70 %igen oder dem 80 %igen Alkohol einen Tropfen Ammoniak zufügen.
8. Durch Xylol führen und einschließen in Balsam oder Malinol Gegenfärbung kann angeschlossen werden.

#### Färbeergebnis:

Chromosomen sind bläulichschwarz gefärbt und gut differenziert.

Lit.: Hutner, Stain Technology, 9, 57 - 59

## **Safranin-Gentianaviolett-Orange**

(Flemming's Dreifachfärbung)  
Kernteilungsfiguren

### **Erforderliche Lösungen:**

- A. 1 %ige wässrige Lösung von Safranin
- B. 1 %ige wässrige Lösung von Gentianaviolett
- C. 0,5 %ige wässrige Lösung von Orange G

Verwendetes Material: Wurzelspitzen, z. B. von *Vicia Faba*, zarte Längsschnitte.

Fixierung am Besten in Chromosmiumessigsäure nach Flemming.

### **Färbevorschrift:**

1. Entparaffinieren der Schnitte in der üblichen Weise.
2. Färben 1 - 3 Stunden in A.
3. Abspülen in dest. Wasser.
4. Übertragen für etwa 2 - 5 Minuten in B.
5. Abspülen mit dest. Wasser.
6. Auftropfen von C.
7. Nach etwa 1 - 5 Minuten abspülen mit Wasser.
8. Entwässern in 96 %igem Alkohol.
9. Wenn die letzten Farbwolken entweichen, Objektträger schnell mit Nelkenöl oder Terpeneol bedecken und unter dem Mikroskop prüfen, ob die Färbung gelungen ist.
10. Durch Xylol führen und einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Ist die Färbung gelungen, so sind in sich teilenden Zellen die Chromosomen leuchtend rot, der Nucleolus rot mit meist bläulichem Anflug gefärbt. Die Spindelfasern erscheinen blau, das Plasma bräunlichgelb gefärbt.

Lit.: Flemming, W., 1891, Arch. mikr. Anat, 37, 249 - 298

## **Carmin-Essigsäure**

Kernteilung

Erforderliche Lösung:

Carmin-Essigsäure nach Schneider.

Verwendetes Material: Wurzelschnitte.

### **Färbevorschrift:**

1. Wurzelschnitte von etwa 0,5 cm Länge zwischen Holandermark in dünne Längsschnitte zerlegen.
2. Schnitte auf dem Objektträger mit Carmin-Essigsäure bedecken.
3. Großes Deckglas auflegen und Präparate über kleiner Flamme etwa 10 Sekunden bis Zum Aufkochen der Essigsäure erhitzen.
4. Nach dem Abkühlen die Schnitte, wenn nötig etwas quetschen und unter dem Mikroskop betrachten.  
Für Dauerpräparate nicht geeignet.

### **Färbeergebnis:**

Die Kerne und Kernteilungen treten deutlich rot gefärbt hervor.

## Methylgrün-Essigsäure

### Kernteilung

#### Erforderliche Lösung:

Methylgrün-Essigsäure

Verwendetes Material: Zarte Längsschnitte der Puffbohne (*Vicia Faba*).

#### Färbevorschrift:

1. Schnitte auf dem Objektträger mit Methylgrün-Essigsäure übergießen, kurz einwirken lassen
2. Rasch abspülen mit Wasser, dem eine Spur Essigsäure zugesetzt wurde
3. Überschüssige Flüssigkeit mit Filtrierpapier absaugen, Deckglas auflegen und unter dem Mikroskop betrachten  
Für Dauerpräparate nicht geeignet.

#### Färbeergebnis:

Die ruhenden sowie die in Teilung begriffenen Zellkerne treten fixiert und deutlich grün gefärbt in den Zellen hervor.

## PIANESE-Färbung

### Pilzbefall in pflanzlichem Gewebe

#### Notwendige Lösungen:

A. Pianese-Farbgemisch

Alkohol

Wasser dest.

erwärmen, abkühlen lassen, filtrieren

B. Salzsäure-Alkohol 3 %

0,6 g  
50 ccm  
150 ccm

#### Färbevorschrift:

1. Schnitte einbringen in 50 %igen Alkohol.
2. Färben mit Lösung A, 30 - 60 Minuten.
3. Waschen mit Alkohol.
4. Differenzieren mit Lösung B, 30 Sekunden.
5. Waschen mit Alkohol.
6. Aufhellen in Nelkenöl, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### Färbeergebnis:

Pilzhypen: rosa

Wirtsgewebe: grün

Lit.: Pianese, G. (1896), Beitr. Path. Anat. u. Allg. Path. Ergb. I, 193

## B. Parasitologie

- a) pflanzliche Parasiten
- b) tierische Parasiten
- c) filtrierbare Infektionserreger

### a) Pflanzliche Parasiten Bakterienfärbung nach Gram

Ausstrichpräparate

Erforderliche Lösungen:

- A. Carbolgentianaviolettlösung
  - B. Jod-Jodkaliumlösung 1 : 2 : 300
  - C. Carbolfuchsin
  - Wasser dest.
- 1 Teil  
10 Teile

#### Färbevorschrift:

1. Nach Fixierung unter leichtem Erwärmen mit Lösung A färben, 1 - 3 Minuten
2. Abgießen der Farblösung (nicht abspülen).
3. Übertragen in Lösung B für 1 - 3 Minuten.
4. Abgießen der Farblösung.
5. Entfärben mit Alkohol 96 %ig, bis keine Farbwolken mehr abgehen, etwa 15 Sekunden.
6. Nachfärben mit Lösung C, 5 - 30 Sekunden.
7. Kurz spülen mit Wasser, trocknen.
8. Einschließen in Canadabalsam oder Malinol.

#### Färbeergebnis:

Grampositive Bakterien: schwarzblau  
Gramnegative Bakterien: rot

### Schnittpräparate

Erforderliche Lösungen:

- A. Carbolgentianaviolettlösung
- B. Jod-Jodkaliumlösung 1 : 2 : 300
- C. Bismarckbraunlösung

#### Färbevorschrift:

1. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren.
2. Färben in Lösung A, 2 - 5 Minuten.
3. Farblösung abgießen (nicht abspülen).
4. Übertragen in Lösung B für 1 - 2 Minuten.
5. Entfärben mit 90%igem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen.
6. Abspülen mit Wasser.
7. Nachfärben mit Lösung C.
8. Spülen mit 60 %igem Alkohol.
9. Entwässern mit absolutem Alkohol.
10. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### Färbeergebnis:

Grampositive Bakterien: schwarzblau  
Gramnegative Bakterien: braun

Grampositiv sind:

Bacillus diphtheriac	Bacillus anthracis
Bacillus tetani	Mycobacterium leprae
Bacillus tuberculosis	Micrococcus tetragenus
Pneumococcus	Streptococcus
Staphylococcus	Actinomyces
Bacillus rhusiopathiae suis	Bacillus der Mäusesepdikämie
Bacterium rhinoscleromatis	Bacillus smegmatis
Hefezellen	

Gramnegativ sind:

Bacterium tussis convulsivae	Bacterium typhi
Bacterium influenzae	Bacterium paratyphi
Bacterium pneumoniae Friedländer	Bacterium pestis
Bacterium pyocyaneum	Bacterium mallei
Bacillus oedematis maligni	Bacterium coli
Bacterium aegyptiacum	Bacterium cholerae
Bacterium abortus infectiosi	Bacterium necrophorum
Micrococcus gonorrhoeae	Micrococcus melitensis
Micrococcus intracellularis	Spirochaeta Obermeier
Spirochaeta pallida	

**Bacterium typhi und paratyphi**  
(Typhus- und Paratyphus-Bazillen)

Färbung nach Bonhoff (Schnittpräparate)

Erforderliche Lösungen:

A. Methylenblaulösung alkoholisch konz.	4 Teile
Carbolfuchsin	15 Teile
Wasser dest.	20 Teile
Das Gemisch ist stets frisch zu bereiten.	
B. Essigsäure 1 %ig wässrig	
C. Anilin-Xylol	

**Färbevorschrift:**

1. Schnitte aus absolutem Alkohol auf Objektträger übertragen, wässern, fixieren.
2. Färben in Lösung A, 2 Minuten (einmal bis zur Dampfentwicklung über der Flamme erwärmen).
3. Farblösung abgießen, nachspülen mit Wasser.
4. Differenzieren mit Lösung B.
5. Spülen in Wasser.
6. Entwässern mit Lösung C (mehrmals wechseln), 3 - 5 Minuten.
7. Übertragen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Bakterien: hellblau  
Gewebe und Kerne: rot

Geisselfärbung nach Bunge (Darstellung der Typhusbakterien-Geißeln)

Notwendige Lösungen:

- A. Bungesche Beize
- B. Carbol-Gentianaviolett

**Färbevorschrift:**

1. Vermischen einer kleinen Menge Reinkultur mit der gleichen Menge Wasser und auf einem vollkommen fettfreien Objektträger austreichen.
2. Trocknen durch dreimaliges Ziehen hoch über der Flamme.
3. Auftropfen der Beize durch ein Papierfilter.
4. Beize unter gelindem Erwärmen einwirken lassen, 1 Minute.
5. Abspülen mit Wasser.
6. Nachfärben mit Lösung B unter gelindem Erwärmen, 3 - 5 Minuten
7. Abspülen mit Wasser.
8. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Geißeln: schwarzbraun  
Bakterien: violett

**Bacterium coli**  
(Colibazillen)

Ausstrichpräparate

Erforderliche Lösung:

- A. Carbolfuchsin  
Wasser dest.

1 Teil  
10 Teile

**Färbevorschrift:**

1. Ausstriche fixieren
2. Färben in Lösung A, 5 - 10 Minuten.
3. Spülen in Wasser.
4. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Bakterien: rot

Schnittpräparate

Erforderliche Lösungen:

- A. Methylenblaulösung nach Löffler  
B. Essigsäure 0,25 - 0,5 %ig wässrig

**Färbevorschrift:**

1. Färben in Lösung A, 5 - 30 Minuten.
2. Spülen in Wasser.
3. Differenzieren in Lösung B.
4. Übertragen in Alkohol 90 %ig, 2 - 5 Minuten.
5. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Bakterien: blau

**Bacterium mallei**  
(Rotzbazillen)

Färbung nach Frosch (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Fuchsin 1 %ig wässrig, schwach alkalisch  
B. Patentblau konz. wässrig  
Essigsäure konz. (Eisessig)  
Wasser dest.  
C. Wasser dest.  
Essigsäure konz. (Eisessig)

3 Tropfen  
1 Tropfen  
20 ccm  
30 ccm  
1 Tropfen

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Alkohol absolut.
2. Färben in Lösung A, 10 - 30 Sekunden.
3. Gegenfärben und differenzieren in Lösung B, bis das Präparat (bei ungleichmäßigen Ausstrichen in seinen dünneren Teilen) einen grünblauen Farbton angenommen hat
4. Spülen in Lösung C.
5. Trocknen mit Fließpapier, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Rotzbazillen: leuchtend rot  
Erythrocyten: grün

Anm.: Die Färbung misslingt bei altem, faulen Material und sehr alten Ausstrichen.

## **Bacterium abortus infectiosi**

(Bang-Bakterien)

### Färbung nach Hansen (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Methylenblau nach Löffler
- B. Safranin 3 %ig wässrig

#### **Färbevorschrift:**

1. Hitzefixierung.
2. Färben in Lösung A, 1 Minute.
3. Spülen in Wasser.
4. Nachfärben in Lösung B, 15 - 20 Sekunden.
5. Spülen in Wasser.
6. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Bang-Bakterien: blau  
Begleitbakterien und Untergrund: rot

### **Schnittpräparate**

Erforderliche Lösung: A. Carbolthionin

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der Schnitte (Paraffinschnitte) in Lösung A, 2 - 5 Minuten.
2. Spülen in Wasser.
3. Entwässern in Alkohol absolut.
4. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Bakterien: blauviolett  
Kerne: hellblau

## **Bacterium necrophorum**

(Nekrosebazillus Bang)

### Färbung nach Claudius (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Methylviolett konz. wässrig
- B. Pikrinsäure 0,5 %ig wässrig
- C. Nelkenöl

#### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren, färben in Lösung A, 1 Minute.
2. Spülen in Wasser.
3. Trocknen zwischen Fließpapier.
4. Übertragen in Lösung B, 1 Minute.
5. Spülen in Wasser.
6. Trocknen zwischen Fließpapier.
7. Differenzieren in Nelkenöl.
8. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Bakterien: blau  
Untergrund: farblos bis schwach gelblich

### Färbung nach Jensen (Schnittpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Safranin in Anilinwasser (analog dem Anilinwasser-Gentianaviolett)
- B. Safranin konz. alkoholisch
- C. Fluorescein gesättigt in Nelkenöl
- D. Methylgrün gesättigt wässrig

#### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Müllerscher Lösung
2. Nachhärten in Alkohol einige Minuten
3. Färben in Lösung A, 5 Minuten
4. Entwässern in Lösung B
5. Übertragen in Lösung C
6. Einlegen in Nelkenöl, dann in Alkohol
7. Nachfärben mit Lösung D
8. Entwässern mit Alkohol, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol

#### **Färbeergebnis:**

Nekrosebakterien: rot  
Gewebe: grün

## **Bacillus anthracis**

(Milzbrandbazillen)

### Färbung nach Ölt (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Safranin 2 %ig wässrig
- B. Essigsäure 2 %ig

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der lufttrockenen Ausstriche in Lösung A unter Aufkochen.
2. Spülen mit Wasser.
3. Differenzieren mit Lösung B, 10 Sekunden.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Bazillenleib: rot, Kapsel: gelb

### Färbung mit Azur-Eosin (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösung:

A. Azur-Eosin-Lösung

#### **Färbevorschrift:**

1. Auf lufttrockene, flicht fixierte Ausstriche Lösung A auftropfen (etwa 2 Tropfen).
2. Nach 30 Sekunden Farblösung ablaufen lassen.
3. 20 Tropfen Wasser dest. nachlaufen und 1 - 7 Minuten einwirken lassen.
4. Trocknen zwischen Fließpapier.
5. Einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Bazillen: blau

Kapseln: rotviolett bis rosa

Anm.: Diese Färbung lässt auch zerfallene Milzbrandbazillen, leere Kapseln, wie sie in Milzbrandschatten in angefaultem Material vorkommen, noch erkennbar werden. Die Färbezeiten sind genau einzuhalten, da bei zu langer Färbung zu starke Blaufärbung eintritt, wodurch die Kapseln schwer sichtbar werden.

### Färbung nach Kühne-Weigert (Schnittpräparate)

Erforderliche Lösungen:

A. Lithiumcarminlösung

B. Salzsäure-Alkohol

C. Kristall violett konz. wässrig  
Salzsäure

100 ccm

10 Tropfen

D. Lugolsche Lösung

#### **Färbevorschrift:**

1. Schnitte färben in Lösung A, 3 Minuten.
2. Kurz spülen in Lösung B.
3. Spülen in Wasser.
4. Färben in Lösung C, 5 - 10 Minuten.
5. Übertragen in Lösung D, 1 - 2 Minuten.
6. Farblösung sorgfältig abtupfen.
7. Entfärben in Anilinöl, bis keine violetten Farbwolken mehr abgehen und der Schnitt wieder Karminfarbe zeigt.
8. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Bazillen: tief blau violett

Gewebe: rot

### Kapselfärbung nach Klett (Darstellung der Milzbrandbazillen-Kapseln)

Notwendige Lösungen:

A. Methylenblaulösung wässrig-alkoholisch.

B. Fuchsinlösung wässrig-alkoholisch.

#### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Ausstriche durch die Flamme ziehen.
2. Färben in Lösung A unter Erwärmen bis zum Aufkochen.
3. Reichlich mit Wasser spülen.
4. Nachfärben mit Lösung B, 5 Sekunden.
5. Abspülen mit Wasser.
6. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Innere Teile der Bakterien: blau

Hülle: leicht rosenrot

Konturen: dunkelrot

## Kapselfärbung nach Rübiger (Darstellung der Milzbrandbazillen-Kapseln)

Notwendige Lösung:

- |                        |         |
|------------------------|---------|
| A. Formalin conc. rein | 100 ccm |
| Gentianaviolett        | 15 g    |
- Gut miteinander verrühren und nach 12 Stunden filtrieren.

### **Färbevorschrift:**

1. Nicht fixierte Präparate färben in Lösung A, 20 Sekunden.
2. Abspülen mit Wasser.
3. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.
- 4.

### **Färbeergebnis:**

- Kapseln: rötlichviolett  
Bazillen: tiefblau

## **Bacillus diphtheriae** (Diphtheriebazillen)

## Färbung nach Neisser (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Neisser I und II  
(vor Gebrauch 1: 1 zu mischen.)
- B. Neisser III

### **Färbevorschrift:**

1. Hitzefixierte Ausstriche färben in Lösung A, 10 - 20 Sekunden.
2. Kurz spülen in Wasser.
3. Gegenfärben mit Lösung B, 10 Sekunden.
4. Abspülen mit Wasser, trocknen mit Fließpapier.
5. Einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

- Bazillenleib: braun  
Polkörnchen: dunkelblauschwarz

Anm.: Pseudodiphtheriebazillen verhalten sich bei dieser Färbung negativ.

Eine deutlichere Darstellung der Polkörnchen erhält man durch eine 3 - 5 Sekunden dauernde Behandlung mit Lugolscher Lösung, der 1 % Milchsäure zugesetzt wird, vor dem ersten Spülen.

## Färbung nach Stoltenberg (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Farblösung nach Stoltenberg

Färbevorschrift:

1. Färben der fixierten Ausstriche in Lösung A, 1 Minute.
2. Spülen mit Wasser, trocknen.
3. Einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

- Bazillenleib: grün  
Polkörnchen: rot

### Färbung nach Ljubinsky

Notwendige Lösungen:

A. Methylviolett 2B	0,25 g
Wasser dest.	95 ccm
Eisessig	5 ccm
B. Bismarckbraun	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm

#### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in schwacher Hitze.
2. Färben in Lösung A, 30 - 20 Sekunden.
3. Waschen in Wasser.
4. Färben mit Lösung B, 30 Sekunden.
5. Waschen in Wasser.
6. Trocknen (Fließpapier).

#### **Färbeergebnis:**

Polkörnchen: blauschwarz  
Bakterien: gelbbraun

Lit.: Blumenthal, J. M. & Lipskerow, M. (1905), Centbl. Bakt. I Abtl., Orig. 38, 359 - 366

### Färbung nach Gram (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Carbolgentianaviolett, Gram
- B. Lugolsche Lösung
- C. Carbofuchsin  
(Vor Gebrauch mit Wasser 1 : 10 verdünnen.)

#### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Müllerscher Lösung.
2. Paraffinschnitte färben in Lösung A, 5 - 20 Minuten.
3. Spülen in Wasser.
4. Beizen in Lösung B, 1 - 2 Minuten.
5. Differenzieren in Alkohol 90 %ig, bis der Schnitt nahezu farblos erscheint.
6. Kurz spülen mit Wasser.
7. Nachfärben mit Lösung C.
8. Übertragen in Alkohol 96 %ig und absolut.
9. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Diphtheriebazillen: blauschwarz  
Untergrund: hellrot

### Fluoreszenzmethode nach Küster (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

A. Auramin O	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm
Carbolsäure flüssig	5 ccm

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der fixierten Ausstriche mit Lösung A, 10 Sekunden.
2. Kräftig spülen in sehr weichem Leitungswasser oder n/10 Ammoniaklösung etwa 10 Sekunden.
3. Trocknen an der Luft oder zwischen faserfreiem Fließpapier.

#### **Färbeergebnis:**

Diphtheriebazillen: blaugrün  
Körnchen: goldgelb

Bei Pseudodiphtheriebazillen erscheinen allenfalls vorhandene Körnchen nicht leuchtend goldgelb, sondern höchstens schwach grünlichgelb gefärbt.

**Bazillus tuberculosis**  
(Tuberkelbazillen)

Färbung nach Ziehl-Neelsen (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Carbol-Fuchsin, Ziehl-Neelsen
- B. Salzsäure-Alkohol
- C. Löffler's Methyleneblau

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren der Sputumausstriche in der Hitze.
2. Färben mit Lösung A, 3 - Minuten, erwärmen bis zur Blasenbildung.
3. Waschen in Wasser.
4. Entfärben mit Lösung B, bis nur noch ein rosa Farbton sichtbar ist.
5. Waschen in Wasser.
6. Gegenfärben mit Lösung C.
7. Waschen in Wasser.
8. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Säurefeste Bakterien: rot.  
Andere Organismen: blau.  
Untergrund: schwach blau oder ungefärbt

Lit.: Ziehl, F. (1882), Deut. Med. Woch., 8 : 451.  
Neelsen, F. (1883), Centbl. Med. Wis., 21 : 497 - 501

Färbung nach Mühlpfordt (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Victoriablau 4 R 3% ig wässrig
- B. Salzsäure-Alkohol
- C. Pyronin G 1%ig wässrig

**Färbevorschrift:**

1. Auftropfen der Lösung A auf das lufttrockene Präparat und einmal bis zur Blasenbildung erhitzen.
2. Abspülen mit Wasser.
3. Differenzieren mit Lösung B, 5 Minuten.
4. Spülen mit Wasser, trocknen mit Fließpapier.
5. Gegenfärben mit Lösung C, 10 - 20 Sekunden.
6. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Tuberkelbazillen: tiefblau  
Untergrund: karmoisinrot  
Alle Begleitbakterien: rot

Färbung nach Schaedel für Rot-Blau-Blinde (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Methylviolett BB 1 g  
Alkohol absolut 10 ccm  
Carbolwasser 2 %ig 90 ccm
- B. Salzsäure-Alkohol
- C. Bismarckbraun konz. wässrig

**Färbevorschrift:**

1. Fixierte Ausstriche färben mit Lösung A unter dreimaligem Aufkochen.
2. Kräftig spülen mit Wasser.
3. Entfärben mit Lösung B, bis das Präparat grau aussieht.
4. Spülen mit Wasser.
5. Nachfärben mit Lösung C, 1 - 2 Minuten.
6. Spülen mit Wasser.
7. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:** Bazillen: schwarzviolett                      Untergrund: hellbraun

Färbung nach Koch-Ehrlich (Schnittpräparate) Erforderliche Lösungen:

- A. Carbofuchsin
- B. Salzsäure-Alkohol
- C. Methylenblaulösung konz. wässrig
- D. Essigsäure 0,25 %ig
- G. Nelkenöl

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Müllerscher Lösung oder aufsteigender Alkoholreihe.
2. Färben mit Lösung A bei 37° C 30 Minuten oder 12 Stunden bei Zimmertemperatur.
3. Entfärben mit Lösung B, 10 - 15 Sekunden.
4. Waschen mit Alkohol 70 %ig, bis keine Farbwolken mehr abgehen und das Präparat farblos erscheint.
5. Nachfärben mit Lösung C, 5 Minuten.
6. Spülen in Lösung D, dann in Alkohol.
7. Aufhellen in Nelkenöl, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Tuberkelbazillen:                      rot  
Gewebe und andere Bakterien:      blau

Fluoreszenz-Methode nach Haitinger und Schwertner  
(Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Acridingelb 0,2 %ig wässrig
- B. Salzsäure-Alkohol

**Färbevorschrift:**

1. Hitzefixierte Ausstriche 30 Sekunden färben in Lösung A.
2. Spülen mit Wasser.
3. Differenzieren mit Lösung B etwa 10 - 15 Sekunden, bis das Präparat im Tageslicht farblos erscheint.
4. Spülen mit Wasser.
5. Trocknen an der Luft oder mit faserfreiem Fließpapier.

**Färbeergebnis:**

Tuberkel-Bazillen:                      goldgelb  
Untergrund:                              dunkelblau-schwarz

An sehr dicken Stellen des Ausstriches leuchten die Zellen des Untergrundes schwach grünlich

## Fluoreszenzmethode nach Hagemann-Herrmann(Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

A. Auramin O	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm
Carbolsäure flüssig .....	5 ccm
B. Salzsäure-Alkohol	
C. Kaliumpermanganatlösung 1 : 1000	
D. Löffler's Methylenblau	

### **Färbevorschrift:**

1. Hitzefixierte Präparate mit Lösung A übergießen.
2. Erhitzen bis zum Blasenspringen, 5 Minuten einwirken lassen.
3. Abspülen in fließendem Wasser.
4. Differenzieren mit Lösung B, bis das Präparat farblos erscheint, etwa 15 - 20 Sekunden.
5. Abspülen in fließendem Wasser.
6. Eintauchen in Lösung C genau 5 Sekunden.
7. Abspülen in fließendem Wasser.
8. Eintauchen in Lösung D, 1 Sekunde.
9. Spülen mit Wasser, trocknen zwischen faserfreiem Fließpapier.

### **Färbeergebnis:**

Tuberkelbazillen: hellgelb leuchtend  
Nicht säurefestes Material, Zellen, Schleim: dunkelbrauner Schatten.

## Fluoreszenzmethode nach Bachmann und Finke (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

A. Auramin O	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm
Carbolsäure flüssig	5 ccm
B. Brennspritus (Aethylalkohol)	100 ccm
Salzsäure	0,4 ccm
Natriumchlorid	0,4 g
C. Löfflers Methylenblau	

### **Färbevorschrift:**

1. Entparaffinierte Schnitte kräftig spülen mit Wasser.
2. Färben mit Lösung A, 15 Minuten.
3. Spülen mit Wasser.
4. Differenzieren mit Lösung B, 3 Minuten. (Nach 90 Sekunden die Lösung erneuern.)
5. Spülen mit Wasser.
6. Färben mit Lösung C, 30 Sekunden.
7. Spülen mit Wasser.
8. Vorsichtig trocknen mit faserfreiem Fließpapier.
9. Bei Dauerpräparaten: Einbetten in fluoreszenzfreiem Cedernholzöl und im Dunkeln aufbewahren.

### **Färbeergebnis:**

Tuberkelbazillen: hellgelb leuchtend

## Fluoreszenzmethode nach Schallock (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

A. Auramin O	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm
B. Salzsäure-Alkohol	
C. Thiazolgelb	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm

### **Färbevorschrift:**

1. Entparaffinierte Schnitte aus Wasser übertragen in Lösung A bei 37° C für 15 Minuten.
2. Differenzieren mit Lösung B bei 37° C.
3. Spülen in Wasser.
4. Gegenfärben mit Lösung C, 2 Sekunden.
5. Spülen in Alkohol 50 %ig.
6. Abspülen in Wasser.
7. Eindecken mit Glycerin, Deckgläschen mit Wachs umranden.

### **Färbeergebnis:**

Tuberkelbazillen: gelb leuchtend  
Gewebe: schwach blau

Anm.: Material, das länger als 4 - 5 Tage in Formalin fixiert wurde, ist zur Färbung nicht mehr geeignet.

## **Differenzierung von Tuberkel- und Lepra-Bazillen**

Notwendige Lösungen:

A. Anilinwasser-Gentianaviolett	
B. Salpetersäure-Alkohol 10 %ig	
C. Fuchsin konz. wässrig	
D. Salzsäure-Alkohol 3 %ig	
E. Malachitgrün	1 g
Wasser dest.	100 ccm

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in der Hitze.
2. Färben mit Lösung A, 5 Minuten.
3. Entfärben mit Lösung B.
4. Spülen mit Wasser.
5. Aufgeben von Lösung C.
6. Erhitzen bis zum Blasenspringen.
7. Spülen mit Wasser.
8. Entfärben mit Lösung D.
9. Spülen mit Wasser.
10. Gegenfärben mit Lösung E, 10 - 15 Sekunden.
11. Spülen mit Wasser, trocknen, einschließen in neutralem Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Leprabazillen: tiefviolett  
Tuberkelbazillen: rubinrot  
Zellanteile und sonstige Bazillen: grün

Lit.: Cardelus-Dalfó, C. (1959), Laboratorio (Granada) 27, 531 - 533.

Ref.: Z. wiss. Mikrosk., Bd. 64, H. 6 : 380 (1960).

## **Bacillus leprae (Leprabazillen)**

### Färbung nach Rüdell (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- |                          |             |
|--------------------------|-------------|
| A. Carbolfuchsin         | 1 Teil      |
| Wasser dest.             | 1 Teil      |
| B. Schwefelsäure 2,5 %ig |             |
| C. Löfflers Methylenblau | 1 Teil      |
| Wasser dest.             | 2 - 3 Teile |

### **Färbevorschrift:**

1. Färben der fixierten Ausstriche mit Lösung A unter Erhitzen bis zum Blasenspringen.
2. Mehrmaliges Spülen mit Lösung B.
3. Spülen mit Wasser.
4. Gegenfärben mit Lösung C einige Sekunden bis höchstens 1 Minute.
5. Abspülen mit Wasser.
6. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

- Leprabazillen: rot  
Untergrund: blau  
Tuberkelbazillen: ungefärbt

### Färbung nach Unna (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Thylen-Victoriablau
- B. Kochsalzlösung 25 %ig
- C. Pyronin G 1 %ig wässrig

### **Färbevorschrift:**

1. Celloidinschnitte färben in Lösung A, 12 Stunden.
2. Spülen in Wasser.
3. Übertragen in Lösung B, 2 Minuten.
4. Spülen in Wasser.
5. Einlegen in absoluten Alkohol bis zur Entfärbung.
6. Spülen in Wasser.
7. Gegenfärben mit Lösung C, 5 Minuten.
8. Spülen in Wasser.
9. Entwässern in Alkohol.
10. Aufhellen in Bergamottöl, einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

- Bazillen: dunkelblau

- Protoplasma, speziell Granoplasma sowie Kerne, Keratohyalin und  
Hornschicht: dunkelrot

## Micrococcus gonorrhoeae (Gonokokken)

### Färbung nach Schlirf (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Schlirf-Lösung A
- B. Lugolsche Lösung
- C. Schlirf-Lösung B

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der fixierten Ausstriche in Lösung A, 1 Minute.
2. Spülen mit Wasser, trocknen zwischen Fließpapier.
3. Beizen mit Lösung B, 1 Minute.
4. Differenzieren in Alkohol, indem zunächst die Lösung B vom Präparat gespült und dann unter Umschwenken weiterer Alkohol aufgetropft wird, bis keine Farbwolken mehr abgehen, Dauer etwa 30 Sekunden.
5. Nachfärben mit Lösung C, 2 Minuten.
6. Spülen in Wasser.
7. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Gonokokken: tiefrosa  
Gramnegative Flora: schwach gefärbt

### Färbung nach Unna-Pappenheim (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Methylgrün-Pyronin, Unna-Pappenheim

#### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Ausstriche fixieren in Methylalkohol.
2. Färben in Lösung A, 3 - 5 Minuten.
3. Spülen mit Wasser.
4. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Gonokokken: rot  
Kerne: blaugrün

### Färbung nach Jensen (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Methylviolett 6 B 0,5 %ig wässrig
- B. Jodjodkaliumlösung, Lugol
- C. Neutralrot  
Wasser dest. 500 ccm  
Essigsäure 1 %ig 1 ccm

#### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Präparate einmal durch die Flamme ziehen (Ausstrich nach oben), abkühlen lassen.
2. Färben mit Lösung A, 15 - 30 Sekunden.
3. Spülen mit Lösung B.
4. Spülen mit Alkohol.
5. Aufgießen von neuem absolutem Alkohol, das Aufgießen muss außerhalb des Ausstriches vom Rande des Objektträgers aus erfolgen und wird wiederholt, bis die Entfärbung vollendet ist.
6. Nachfärben mit Lösung C, 15 - 30 Sekunden.
7. Spülen mit Wasser.
8. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Gonokokken: hellrot  
Andere Kokken und Bakterien: dunkelviolett

### Färbung nach Wahl (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

A. Wahlsche Lösung

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der fixierten Ausstriche in Lösung A, 5 - 15 Sekunden
2. Kurz spülen in Wasser
3. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol

#### **Färbeergebnis:**

Gonokokken:	rötlich violett bis schwarz
Kerne der Leukocyten:	blassbläulichgrün bis hellgrün
Plasma:	hellgelb oder farblos, an dicken Stellen hellgrün
Epithelien:	gelblich-grün

### Färbung nach Unna-Pappenheim (Schnittpräparate)

Notwendige Lösung:

A. Carbol-Methylgrün-Pyronin-Lösung

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der nicht aufgeklebten Schnitte mit Lösung A, 5 - 10 Minuten in Reagensgläsern, die in Wasser von 30 - 40° C gestellt werden.
2. Rasch abkühlen durch Einstellen in kaltes Wasser.
3. Waschen in Wasser, bis das zuerst grünliche Wasser blaurötlich wird.
4. Schnitte aufkleben.
5. Leicht trocknen mit Fließpapier.
6. Eintauchen in Alkohol, bis keine rote Farbe mehr abgeht.
7. Aufhellen in Xylol 30 Sekunden, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Gonokokken:	leuchtend rot
Kerne:	blassgrün
Protoplasma:	schwach rosa

### Fluoreszenzmethode nach Haitinger und Schwertner (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

A. Acridingelb 0,2 %ig wässrig

#### **Färbevorschrift:**

1. Hitzefixierte Präparate färben in Lösung A, 5 Minuten.
2. Spülen mit Wasser, trocknen.

#### **Färbeergebnis:**

Kerne der Eiterkörperchen:	grünlichgelb
Plasma der Eiterkörperchen:	dunkelgrün
Gonokokken:	intensiv goldgelb
Untergrund:	dunkelblau

### **Actinomyces (Strahlenpilz)**

### Färbung nach Babes (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Anilinwassergentianaviolett
- B. Safranin in Anilinwasser, analog dem Anilinwassergentianaviolett
- C. Jodjodkaliumlösung, Gram

#### **Färbevorschrift:**

1. Färben der fixierten Ausstriche in Lösung A, 5 Minuten.
2. Übertragen in Lösung B, 10 Stunden.
3. Einlegen in Lösung C, 1 Minute.
4. Differenzieren in absolutem Alkohol.
5. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Fäden: blauviolett  
 Kolbige Enden: gelbrot

Färbung nach Weigert (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Bismarckbraun-Lösung
- B. Anilinwassergentianaviolett
- C. Jodjodkäuumlösung, Gram
- D. Anilin
- E. Säurefuchsin 0,2 %ig wässrig

**Färbevorschrift:**

1. Vorfärben der Paraffinschnitte in Lösung A.
2. Kurz spülen in Wasser.
3. Färben in Lösung B, 5 Minuten.
4. Spülen in Wasser, trocknen mit Fließpapier.
5. Übertragen in Lösung C, 1 - 3 Minuten.
6. Trocknen mit Fließpapier.
7. Entfärben mit Lösung D, bis keine Farbe mehr abgeht.
8. Einlegen in Alkohol, 2 - 5 Minuten.
9. Gegenfärben mit Lösung E, 3 Minuten.
10. Abspülen in Wasser, 2 Minuten.
11. Entwässern in Alkohol.
12. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Mycel: dunkelblau  
 Kolben: fuchsinrot  
 Kerne: braun

Wirtz, Sporen-Färbung

Notwendige Lösungen:

- |                 |         |
|-----------------|---------|
| A. Malachitgrün | 5 g     |
| Wasser dest.    | 95 ccm  |
| B. Safranin O   | 0,5 g   |
| Wasser dest.    | 100 ccm |

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren der Ausstriche in der Hitze.
2. Färben mit Lösung A, 30 - 60 Sekunden.
3. Erhitzen bis zur Blasenbildung.
4. Auswaschen des Farbüberschusses unter fließendem Wasser, 30 Sekunden
5. Färben in Lösung B, 30 Sekunden.
6. Waschen unter fließendem Wasser.
7. Trocknen (Fließpapier).

**Färbeergebnis:**

Sporen: grün  
 Zellen: rot

Lit.: Wirtz, R. (1908), Centbl. Bakt., I. Abt., Orig., 46, 727 - 728

**Sporenfärbung nach Rakette**

Notwendige Lösungen:

- |                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| A. Malachitgrün                 | 5,0 g   |
| Wasser dest.                    | 95 ccm  |
| B. Eosin wasserlöslich gelblich | 2,5 g   |
| Wasser dest.                    | 100 ccm |

**Färbevorschrift:**

1. Hitzefixierung.
2. Bedecken mit Lösung A, 20 Sekunden aufkochen, weitere 30 Sekunden einwirken lassen.
3. Spülen in Wasser.
4. Gegenfärben mit Lösung B, 1 Minute.
5. Spülen mit Wasser, trocknen, einschließen in neutralem Balsam oder Malinol

**Färbeergebnis:**

Sporen: grün  
Bakterienleib: rosa-rot

Sporenfärbung nach Möller (Darstellung der Tetanusbazillen-Sporen)

Notwendige Lösungen:

- A. Chromsäurelösung 5 %ig
- B. Carbofuchsin
- C. Schwefelsäure 5 %ig
- D. Methylenblaulösung wässrig

**Färbevorschrift:**

1. Fixierte Ausstriche werden zunächst 2 Minuten mit Chloroform über gossen, um etwaige Fettröpfchen, die nach der Färbung Sporen vor täuschen .könnten, zu entfernen.
2. Abspülen mit Wasser.
3. Einlegen in Lösung A, 2 Minuten.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Färben mit Lösung B, 1 Minute.
6. Differenzieren in Lösung C.
7. Abspülen mit Wasser.
8. Gegenfärben mit Lösung D, 30 Sekunden.
9. Abspülen mit Wasser dest.
10. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Sporen: rot  
Bazillen: blau

**b) Tierische Parasiten*****Spirochaeta pallida*** (Syphilisspirochaeten)Färbung nach Keil (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Astraviolett 2 %ig wässrig

**Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Ausstriche auf sorgfältig gereinigten Objektträgern bedecken mit Lösung A, 3 - 5 Minuten.
2. Vorsichtig Erwärmen.
3. Spülen mit Wasser, trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Pallidaspirochaeten: rot-violett

Anm.: Durch Vermeiden jeder Reizung, wie Fixation, wird die weitestgehende Erhaltung der charakteristischen Form der *Spirochaeta pallida* erreicht.

## Färbung nach Becker (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

A. Rugesche Lösung:	Formalin	20 ccm
	Eisessig	1 ccm
	Wasser	100 ccm
B. Tannin		10 g
Carbolsäure		1 g
Wasser		100 ccm
C. Carbofuchsin, Ziehl-Neelsen		

### **Färbevorschrift:**

1. Dünne lufttrockene Ausstriche von Reizserum fixieren in Lösung A, unter 2 - 3 maligem Wechsel für die Dauer von 1 Minute.
2. Spülen in Wasser, 10 Sekunden.
3. Beizen in Lösung B unter Erwärmen (nicht über 50° C) 30 Sekunden
4. Spülen in Wasser, 30 Sekunden.
5. Färben in Lösung C unter leichtem Erwärmen, 30 - 45 Sekunden
6. Abspülen mit Wasser.
7. Trocknen, einschließen in neutralem Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Spirochaeta pallida und Rekurrenzspirochaeten: intensiv rot

Anm.: Die steilen Windungen der Pallidaspirochaeten bleiben gut erhalten.

## Negativdarstellung nach Burri

Notwendige Lösung:

A. Burri-Tusche

### **Färbevorschrift:**

1. Einen Tropfen Reizserum oder einen Tropfen des von der Schnittfläche eines Organes abgestreiften Saftes auf einem Objektträger mit einem Tropfen dest. Wasser und einem Tropfen Burri-Tusche verreiben.
2. Gemisch mit dem Rande eines Objektträgers oder Deckgläschens in dünner Schicht möglichst gleichmäßig ausstreichen.
3. An der Luft trocknen lassen, etwa 30 - 60 Sekunden.
4. Mit Ölimmersion untersuchen.

### **Färbeergebnis:**

Die Spirochaeten heben sich ungefärbt von dem gleichmäßig braun gefärbten Untergrund ab.

## **Negativdarstellung nach Eisenberg**

Notwendige Lösung:

A. Cyanochin Eisenberg)

### **Färbevorschrift:**

1. Einen Tropfen Untersuchungsmaterial mit einem Tropfen Lösung A auf einem Objektträger möglichst gleichmäßig verreiben und in dünner Schicht ausstreichen.
2. An der Luft trocknen lassen.
3. Mit Ölimmersion untersuchen.

### **Färbeergebnis:**

Die Spirochaeten heben sich als gestochen scharfe, farblose oder höchstens schwach rosa gefärbte Spiralen von dem blau-violetten Untergrund ab.

## Malariaplasmodien

### Färbung nach Manson (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Borax-Methylenblau, Manson  
(Vor Gebrauch mit Wasser 1 : 40 verdünnen.)

#### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren der lufttrockenen, möglichst dünnen Ausstriche mit Methylalkohol, 5 Minuten.
2. Färben mit Lösung A, 10 - 15 Sekunden.
3. Spülen mit Wasser, bis das Präparat einen grünlichblauen Farbton angenommen hat.
4. Trocknen mit Fließpapier.
5. Sofort untersuchen mit Ölimmersion oder einschließen in neutralem Balsam oder Malinol

#### **Färbeergebnis:**

Erythrocyten: grünlich  
Leukocyten und Parasiten: intensiv blau

### Färbung mit Azur-Eosin (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Azur-Eosin-Lösung Giemsa

#### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren der lufttrockenen, sehr dünnen Ausstriche in Methylalkohol, 2 - 3 Minuten oder Alkohol absolut. 15 - 20 Minuten.
2. Abtupfen mit Fließpapier.
3. Färben mit Lösung A (10 Tropfen auf 10 ccm absolut neutrales Wasser) 30 - 40 Minuten.
4. Gut spülen mit Wasser.
5. Trocknen zwischen Fließpapier.
6. Einschließen in neutralem Balsam oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Chromatin der Parasiten und Schüffnersche Tüpfelung: leuchtend rot  
Protoplasma der Parasiten: blau  
Leukocytenkerne: violett-rotviolett  
Erythrocyten: rosa-braunrot

Anm.: Bei älteren Präparaten gelingt diese Methode nur, wenn die Präparate absolut trocken aufbewahrt wurden.

Zur Darstellung der Maurerfleckung und Schüffnerschen Tüpfelung ist es vorteilhaft, dem zur Verdünnung der Farblösung verwendeten Wasser einen Tropfen 0,1%iger Kalium-Carbonatlösung zuzusetzen.

### Färbung alter Trockenausstriche nach Giemsa (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Azur-Eosin-Lösung
- B. Pufferlösung nach Weise
- C. Natriumcarbonatlösung 1 %ig wässrig
- D. Natriumphosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) 0,1% ig wässrig
- E. Eosin 0,1%ig wässrig

**Färbevorschrift:**

Da die Präparate bereits durch den langen Aufenthalt über Chlorkalzium hinreichend fixiert sind, sofort

1. Färben in verdünnter Azur-Eosin-Lösung (10 Tropfen Lösung A auf 10 ccm Lösung B und 1 Tropfen Lösung C) 45 Minuten.
2. Kräftig abspritzen mit Wasser.
3. Differenzieren in Lösung D, der vor Gebrauch auf je 10 ccm 2–3 Tropfen Lösung E zugesetzt wird. Die Einwirkungsdauer beträgt 1 - 4 Minuten.  
Die Differenzierung ist beendet, wenn der blaue Farbton des Ausstriches in rötlich-braun übergegangen ist. Ein reiner Eosinton zeigt Überdifferenzierung an und ist zu vermeiden.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Trocknen, einschließen in neutralem Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Chromatin der Parasiten:	leuchtend rot
Protoplasma der Parasiten:	blau
Leukocytenkerne:	violett-rotviolett
Erythrocyten:	rosa-braunrot

Färbung nach Schilling (Ausstrichpräparate)

Methode des dicken Blutropfens, zum Nachweis spärlicher Parasiten.

Notwendige Lösung:

- A. Azur-Eosin-Lösung

**Färbevorschrift:**

1. Auf einem gründlich gereinigten Objektträger lässt man einen dicken Tropfen Blut an der Luft trocknen, 1 - 2 Stunden.
2. Nicht fixiertes Präparat übergießen mit Lösung A (verdünnt 10 Tropfen auf 10 ccm Wasser dest.).
3. In horizontaler Lage Auftreten von gelben Haemoglobinwolken nach 2 - 3 Minuten.
4. Frische verdünnte Lösung A von einer Seite aus zugießen und alte Lösung dadurch abschwemmen. Nun färben 30 - 60 Minuten.
5. Abspülen mit Wasser, trocknen durch Senkrechtstellen des Objektträgers (kein Fließpapier).
6. Untersuchen mit Ölimmersion.

**Färbeergebnis:**

Die Parasiten sind durch die langsame Eintrocknung etwas entstellt, die Färbung entspricht sonst aber völlig dem bekannten Bild der Azur-Eosin-Färbung.

Zu beachten ist, dass die Blutplättchen infolge ihrer basophilen Grundsubstanz und mit ihren azurophilen blässrötlichen Zerfallskörnchen für den Ungeübten Parasiten vortäuschen können.

Färbung mit Azur-Eosin (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Azur-Eosin-Lösung, Giemsa  
B. Essigsäure 0,5 %ig

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Alkohol absolut., einbetten in Paraffin.
2. Herstellen sehr dünner Schnitte.
3. Färben mit Lösung A (verdünnt 10 Tropfen auf 10 ccm Wasser dest.) in zugedeckter Schale 20 - 24 Stunden.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Differenzieren mit Lösung B, bis der Schnitt rötlich erscheint.
6. Auswaschen in Wasser, trocknen zwischen Fließpapier.
7. Differenzieren in absolutem Alkohol, bis der Schnitt blassblau erscheint.
8. Abtrocknen, aufhellen in Xylol, einschließen in Balsam neutral oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Malariaplasmodien: blassblau  
Chromatin der Malariaplasmodien: leuchtend rot  
Erythrocyten: rosa

**Dysenterieamoeben**Färbung nach Jäger (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösungen:

- |                          |           |
|--------------------------|-----------|
| A. Sublimatlösung 1 %ig  | 100 ccm   |
| Alkohol absolut          | 50 ccm    |
| Eisessig                 | 3 Tropfen |
| B. Jodjodkaliumlösung    |           |
| C. Haemalaun, sauer      |           |
| D. Eosin 0,1% ig wässrig |           |

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren der feuchten Ausstriche in Lösung A, 12 Minuten.
2. Einlegen in 70 %igen Alkohol, dem Lösung B bis zur blassgelben Färbung zugesetzt ist, 10 - 15 Minuten.
3. Abspülen mit Wasser.
4. Färben in Lösung C, 10 Minuten.
5. Abspülen mit Leitungswasser, bis ein blauer Farbton hervortritt.
6. Nachfärben mit Lösung D, 1 - 2 Minuten.
7. Entwässern in Alkohol, übertragen in Xylol.
8. Einschließen in neutralem Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Kerne der Amöben: rot  
Übrige Zellen: blau

Färbung nach Jäger (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

- |                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| A. Sublimatlösung 1 %ig     | 100 ccm   |
| Alkohol absolut             | 50 ccm    |
| Eisessig                    | 3 Tropfen |
| B. Jodjodkaliumlösung       |           |
| C. Haemalaun, sauer         |           |
| D. Safranin 0,1 %ig wässrig |           |

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren des Materials möglichst rasch nach dem Tode in Lösung A, 1 Stunde oder länger.
2. Abspülen mit Wasser
3. Behandeln mit Alkohol 70% ig, dem soviel Lösung B zugesetzt wird, bis eine blassgelbe Tönung auftritt.
4. Einbetten in Paraffin, aufkleben, entparaffinieren.
5. Färben mit Lösung C, 10 - 15 Minuten.
6. Abspülen mit Wasser, bis ein blauer Farbton hervortritt.
7. Nachfärben mit Lösung D, 2 - 3 Minuten.
8. Entwässern in Alkohol, aufhellen in Xylol.
9. Einbetten in neutralem Balsam oder Malinol

**Färbeergebnis:**

Kerne der Amöben safraninrot  
Übrige Zellen: blau

## **Trichomonas vaginalis** (Trichomonaden)

Notwendige Lösungen:

- A. Physiologische Kochsalzlösung
- B. Brillantcresylblau-Lösung nach Bender-Hettche

### **Färbevorschrift:**

1. Ein Teil Trichomonadeneiter mit drei Teilen Lösung A verreiben.
2. Eine Öse mit einem Durchmesser von 4 - 6 mm des aufgeschwemmten Eiters auf ein Deckglas bringen und dahinein einen Tropfen der verdünnten Lösung B verreiben.
3. Präparat mit mittelstarkem Trockensystem untersuchen.

### **Färbeergebnis:**

Leukocyten, Epithelien, Lymphocyten: blau  
Kerne: tiefblau  
Trichomonaden: ungefärbt

## **c) Filtrierbare Infektionserreger Lyssa (Tollwut, Hundswut)**

### Färbung nach Gerlach (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Carbofuchsin, Ziehl-Neelsen 3 ccm
- Methylenblau nach Löffler 6 ccm
- Wasser dest. 50 ccm

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren der lufttrockenen Ausstriche in Methylalkohol.
2. Spülen mit Wasser.
3. Anhaftende Wasserreste abschwemmen (nicht abtrocknen).
4. Lösung A auftropfen, bis zur Dampfentwicklung erhitzen.
5. Präparat in der warmen Farblösung hin und her bewegen.
6. Farblösung abgießen, Färbung noch zweimal mit neuer Farblösung wiederholen.
7. Abspülen mit Wasser.
8. Trocknen, Deckglas auflegen.

### **Färbeergebnis:**

Ganglienzellen: blau  
Negrische Körperchen: rot mit blauer Innenstruktur  
Erythrocyten: ungefärbt oder blassrot

### Färbung nach Mann-Bohne (Schnittpräparate)

Notwendige Lösungen:

- A. Eosin-Methylblau nach Mann 30 ccm
- B. Alkohol absolut 5 Tropfen
- Natronlauge 1 %ig alkoholisch 30 ccm
- C. Wasser dest. 1 Tropfen
- Essigsäure

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren möglichst dünner Schnitte aus dem Ammonshorn in Alkohol bei 37° C, 30 - 40 Minuten.
2. Einbetten in Paraffin (Schnelleinbettung).
3. Schneiden, aufkleben, entparaffinieren.
4. Färben in Lösung A, 30 - 240 Sekunden.
5. Kurz abspülen in Wasser.
6. Abspülen in absolutem Alkohol.
7. Einlegen in Lösung B, 15 - 20 Sekunden.
8. Kurz abspülen in Alkohol.
9. Abspülen in Wasser, 1 Minute
10. Einlegen in Lösung C, 1 - 2 Minuten.
11. Entwässern in Alkohol.
12. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Negrische Körperchen: rot  
Gewebe: blau

**Variola (Pocken)**

Der Erreger selbst ist unbekannt. Impft man von einer Pockenpustel mit einem feinen Schnitt die Cornea eines Kaninchens, so macht sich nach 2 Tagen eine weißliche Trübung bemerkbar und bei der mikroskopischen Untersuchung findet man in den Hornhautepithelien runde Gebilde, die Guarnierischen Körperchen. Dieselben Gebilde finden sich auch nach Impfung der Hornhaut mit Vaccine-lymphe, nicht aber nach der Impfung mit dem Inhalt der Varicellenbläschen. Die Guarnierischen Körperchen sind für Variola spezifisch. Paschen gelang in der Pockenpustel der Nachweis überaus kleiner runder Körperchen = Paschen'sche Elementarkörperchen.

**Färbung nach Paschen (Ausstrichpräparate)**

Erforderliche Lösungen:

- A. Löffler's Geißelbeize
- B. Carbofuchsin

**Färbevorschrift:**

1. Variolapustel mit Deckglas anritzen, austretenden Gewebesaft mit der Kante eines Deckglases unter leichtem Druck aufnehmen und nach Art eines Blutausstriches auf einem Objektträger ausstreichen.
2. Vollständig an der Luft trocknen lassen, Dauer etwa 12 - 24 Stunden.
3. Fixieren in Alkohol absolut, 1 - 10 Stunden oder in Methylalkohol 5 - 10 Min.
4. Beizen in A 3 Minuten unter Erwärmen, bis eben Dämpfe aufsteigen.
5. Abspülen in Wasser.
6. Färben in B unter Erwärmen für 2 - 4 Minuten.
7. Abspülen in Wasser, trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Elementarkörperchen dunkelrot gefärbt auf hellrotem Grunde.

Anm.: Die Methode nach Paschen eignet sich für Kinderlymphe, Variolapustelinhalt und Klatschpräparate der infizierten Kaninchenhornhaut.

**Färbung nach Sorgenfrei (Schnittpräparate)**

Erforderliche Lösungen:

- A. Chromosmiumessigsäure nach Flemming.
- B. Haematoxylinlösung Ehrlich, von der zum Gebrauch 1 Teil mit 19 Teilen 2 %iger Kaliumalaunlösung verdünnt wird.
- C. Ein Gemisch aus gleichen Teilen Safranin-Anilin-Lösung und 1 g Safranin O in 100 ml Alkohol absolut, und 50 ml Wasser gelöst.
- D. Tannin-Pikrinsäure = Tannin 25 g, Pikrinsäure 0,1 g, dest. Wasser 100 ml.

**Färbevorschrift:**

1. Abschaben eines kleinen Fetzens verdickten Hornhautcpithels von der mit 5%iger Cocainlösung unempfindlich gemachten Hornhaut.
2. Fetzen in einem Tropfen 1 %iger Essigsäure schnell unter Präpariermikroskop oder Präparierlupe zerpuffen, bis kleinste, dünnste, nur aus 2 - 3 Zellagen zusammengesetzte Epithelhaufen entstehen.
3. Essigsäure mit Fließpapier vorsichtig absaugen.
4. Fixieren in A für 15 Minuten.
5. Aus waschen in fließendem Wasser für 10 Minuten.
6. Färben in B für 15 Minuten.
7. 10 - 15 Minuten auswaschen in Wasser.
8. Nachfärben in C für 30 Sekunden.
9. 10 - 15 Minuten beizen und differenzieren in D.
10. Abspülen in Alkohol, bis ein Umschlag nach Violett erfolgt
11. Aufhellen in Xylol, einschließen in Balsam oder Malinol

**Färbeergebnis:**

Die Guarnierischen Körperchen sind blauviolett gefärbt und heben sich deutlich von der safraninroten Umgebung ab.

Färbung nach Heidenhain-van Gieson (Schnittpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. Haematoxylin, Heidenhain I (= Eisensalz)
- B. Haematoxylin, Heidenhain II (= Haematoxylin)
- C. van Gieson's-Lösung

**Färbevorschrift:**

1. Hornhautfetzen, wie vorstehend präpariert, fixieren in Chromosmiumessigsäure nach Flemming (30202) 15 Minuten.
2. Abspülen in Wasser für 10 - 15 Minuten.
3. Färben in B, mit der gleichen Menge dest. Wasser verdünnt für 24 Stunden.
4. Abspülen in Wasser.
5. Differenzieren in A unter Kontrolle mit dem Mikroskop, bis Zellsubstanzen hell erscheinen.
6. Abspülen in Wasser.
7. 3 - 5 Minuten färben in C.
8. Kurz abspülen in Wasser, etwa 30 Sekunden.
9. Entwässern in Alkohol, aufhellen in Xylol.
10. Einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Guarnierische Körperchen blauschwarz, Kerne hellbraun, Centrosomen rotbraun, Protoplasma gelb, Bindegewebe rot, Leukocyten dunkelbraun gefärbt.

**Fleckfieber (Rickettsia Prowazeki)**

Die von Ricketts und v. Prowazeki im Darm von Kleiderläusen gefundenen kleinsten bakterienartigen Gebilde finden sich nur in mit Fleckfieberblut infizierten Kleiderläusen. Ob sie die Erreger des Fleckfiebers sind, ist noch nicht entschieden, doch ist ihr Nachweis von diagnostischer Bedeutung.

Färbung nach Castaneda (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

- A. 23,86 g Dinatriumphosphat werden in 1 Liter dest. Wasser gelöst.
- B. 11,34 g Monokaliumphosphat werden in 1 Liter dest. Wasser gelöst.
- C. Pufferlösung = 88 ml A gemischt mit 12 ml B.
- D. Methylenblaulösung nach Löffler.
- E. 0,5 %ige Lösung von Safranin O in dest. Wasser.

**Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Ausstriche von verdächtigen Kleiderläusen 5 Minuten fixieren in Methylalkohol.
2. Färben in einem Gemisch aus:
  - 20 ml Pufferlösung C
  - 1 ml Formalin 40 %ig
  - 3 Tropfen D für die Dauer von 2 - 3 Minuten.
3. Abspülen in Wasser für 30 Sekunden.
4. Gegenfärben in E für 1 - 2 Minuten.
5. Kurz abspülen in dest. Wasser.
6. Trocknen und einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Rikettsien blau, Zellen blassrosa, Kerne rot gefärbt.

Färbung nach Giemsa (Schnittpräparate)

In Schnittpräparaten finden sich die Rikettsien besonders im Magen der Läuse. Zur Färbung dient die Azur-Eosin-Lösung nach Giemsa nach der unter Malariaplasmodien für Schnittpräparate angegebenen Vorschrift. Die Rikettsien färben sich dabei blass-rubinrot.

**Papageienkrankheit (Psittakose)**

Der Erreger der Psittakose ist noch nicht bekannt. Der Nachweis im menschlichen Material von Patienten gelingt meist sehr schlecht. Üblich ist die intraperitoneale Impfung von Mäusen mit einer Emulsion aus infektiösem Material. Die Mäuse sind nach etwa 3 Wochen zu töten, falls sie nicht von selbst sterben, da auch stumme Infektionen vorkommen. Zwischen den Darmschlingen im Abdomen sowie auf dem Peritoneum parietale und viscerale der infizierten Tiere findet sich reichlich stark fadenziehendes Exsudat, das zur Untersuchung verwendet wird. Nachgewiesen werden die sogenannten Levinthal'schen Körperchen, die für Psittakose charakteristisch sind. Sie finden sich immer in großen vakuolisierten Peritonealepithelien und zum Teil in Leukocyten in dichten Haufen und Streifen eingeschlossen, zum Teil auch frei außerhalb der Zellen.

Färbung nach Castaneda (Ausstrichpräparate)

Erforderliche Lösungen:

Gebraucht werden die unter Fleckfieber angegebenen Lösungen A, B, C, D, E.

**Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Exsudat-Ausstriche fixieren in Methylalkohol für 5 Minuten
2. Färben in einem Gemisch aus:
  - 95 ml Pufferlösung C
  - 5 ml Formalin 40 %
  - 10 ml Löffler's Methylenblau für 3 - 4 Minuten.
3. Kurz abspülen in dest. Wasser, etwa 30 Sekunden.
4. Gegenfärben in Safraninlösung E für 2 Sekunden.
5. Abspülen in dest. Wasser.
6. Trocknen, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Die Levinthal'schen Körperchen erscheinen als feine zartblaue, kokkoide Gebilde, die Zellen sind rosa gefärbt.

Anm.: Da die Infektionsgefahr sehr groß ist, dürfen Untersuchungen auf Psittakose nur unter größten Vorsichtsmaßnahmen und nur an dafür besonders eingerichteten Instituten vorgenommen werden.

Lit.: Harald Mohs, Zbl. Bakter. I Orig., Bd. 136, H 1/2 (1936).

## Virusfärbung

### Färbung nach Herzberg (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- A. Victoriablau-Lösung nach Herzberg  
(vor Gebrauch stets frisch filtrieren)

#### **Färbevorschrift:**

Virusausstriche bei Seuchenuntersuchungen dreimal durch die Flamme ziehen, sonst 24 Stunden an der Luft trocknen lassen. Klatschpräparate sollen nicht älter als 10 -15 Tage sein.

1. Färben in Lösung A, 3 - 10 Minuten.
2. Spülen in Wasser dest. unter leichtem Bewegen, 30 Sekunden.
3. Erneut spülen mit dest. Wasser.
4. Trocknen, untersuchen mit Ölimmersion.

#### **Färbeergebnis:**

Elementarkörperchen je nach Art: hell-, dunkel- bis schwarzblau

Anm.: Durch Zusatz von 0,25 ccm gesättigter Zitronensäurelösung zu 5 ccm frisch filtrierter Farblösung kann die Färbekraft verstärkt werden.

### Fluoreszenzmethode nach Hagemann (Ausstrichpräparate)

Notwendige Lösung:

- |                     |         |
|---------------------|---------|
| A. Primulin         | 0,1 g   |
| Wasser dest.        | 100 ccm |
| Carbolsäure flüssig | 2 ccm   |

#### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene, möglichst dünne Ausstriche färben mit Lösung A, 15 Sekunden
2. Abspülen mit Wasser, trocknen

#### **Färbeergebnis:**

Viruskörperchen:	weiß bis bläulichweiß fluoreszierend
Untergrund:	dunkel-violett

Anm.: Für den Menschen hochinfektiöses Material kann vor der Färbung durch Fixierung abgetötet werden, ohne die Färbung zu beeinflussen. Hierzu eignet sich dreimaliges Durchziehen der lufttrockenen Ausstriche durch die Flamme, ferner Behandeln mit Äthylalkohol 96% ig oder Formalin 4% ig für 5 - 10 Minuten. Die schönsten Bilder werden jedoch bei Färbung unvorbehandelter Präparate erhalten.

## Eisenhaematoxylin-Duropicrofuchsin

Gewebefärbung

Notwendige Lösungen:

- A. Eisenhaematoxylin Weigert A und B  
(vor Gebrauch 1:1 zu mischen)
- B. Duropicrofuchsin  
Wasser dest.

1,25 g  
100 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Bouin oder Helly, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe einlegen in Wasser.
3. Färben in Lösung A, 2 Minuten.
4. Waschen mit fließendem Wasser, 10 Minuten.
5. Färben mit Lösung B, 3 - 5 Minuten.
6. Abspülen mit Wasser.
7. Entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne: dunkelbraun  
Bindegewebe: leuchtend rot  
Muskelgewebe: gelb

Lit.: Weigert, K. (1904), Ztschr. f. wiss. Mikr., 21 : 1

## Haematoxylin-Säurefuchsin-Tuchehtgelb

Gewebe-Färbung

Notwendige Lösungen:

- A. Eisenhaematoxylin Weigert A und  
(vor Gebrauch 1:1 zu mischen)
- B. Essigsäure 1 %ig wässrig
- C. Säurefuchsin-Tuchehtgelb  
Wasser dest.  
Eisessig

1,5 g  
90 ccm  
12 Tropfen

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Formalin, Zenkcr, Helly oder Bouin, einbetten, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe einbringen in Wasser.
2. Übertragen und färben in Lösung A, 3 - 5 Minuten.
3. Spülen in Wasser.
4. Differenzieren mit Lösung B.
5. Waschen in fließendem Wasser, 10 Minuten.
6. Färben in Lösung C, 5 Minuten.
7. Spülen mit Wasser.
8. Differenzieren mit Lösung B.
9. Abwischen der Unterfläche und freien Oberfläche des Objektträgers mit Filtrierpapier.
10. Übertragen in absoluten Alkohol, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne: dunkelbraun  
Muskelgewebe: rot  
Bindegewebe: gelb

Lit.: Wallart, J. & Houette, Ch. (1934), Bull. Hist.appl., 12 B. 254 - 256.55

## Aldehydfuchsin-Dreifachfärbung

Elastische Fasern, Mucin, Collagen-Fasern

Notwendige Lösungen:

A. Aldehydfuchsin-Gebrauchslösung: = Aldehydfuchsin-Stammlösung	
(0,75 g Aldehydfuchsin in 70 %igem Alkohol)	25 ccm
Alkohol 70 %ig	75 ccm
Eisessig	1 ccm
B. Pontacylbiaschwarz SX	0,6 g
Kaliumdichromat	0,4 g
Wasser dest.	80 ccm
C. Echtgelb	2,0 g
Alkohol 95 %ig	100 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Bouin, Zenker oder Formalin.
2. Entparaffinieren und einlegen in 70 %igem Alkohol.
3. Färben in Lösung A, 30 Minuten.
4. Waschen in 70 %igem Alkohol, übertragen in Wasser.
5. Färben in Lösung B, 15 Minuten.
6. Waschen in Wasser.
7. Differenzieren in 70 %igem Alkohol (bis keine Farbabscheidung mehr erfolgt).
8. Färben in Lösung C, 5 Minuten.
9. Waschen in 95 %igem Alkohol.
10. Entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Elastische Fasern:	dunkelrot
Collagene-Fasern:	leuchtend gelb
Mucin:	rötlich purpur
Kerne:	blaugrün
Cytoplasma:	gelb bis grün

Lit.: Green, J. A.; Wood, M. L. (1959), Stain Tech., 6 : 313

## AZANFÄRBUNG nach Heidenhain-Geidies

Bindegewebe

Notwendige Lösungen:

A. Kernechtrot-Aluminiumsulfat	5,2 g
Wasser dest.	95 ccm
B. Phosphorwolframsäure	5,0 g
Wasser dest.	95 ccm
C. Anilinblau-Orange-Eisessig	

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Carnoy, Bouin oder Held.
2. Färben der entparaffinierten Schnitte in Lösung A, 30 Minuten.
3. Spülen mit Wasser.
4. Beizen mit Lösung B, 10 - 15 Minuten.
5. Spülen mit Wasser.
6. Färben mit Lösung C, 5 - 10 Minuten.
7. Spülen mit Wasser.
8. Differenzieren und Entwässern mit Isopropylalkohol (Mikroskopkontrolle).
9. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne:	rot
Collagenes Bindegewebe:	blau
Erythrocyten:	orange
Gliafasern:	rot
Protoplasma, Muskulatur:	rotorange

Lit.: Geidies, H. (1954), Mikrokosmos 10 : 239

## Kernechtrubin

### Bindegewebe

Dieser neu entwickelte Farbstoff entspricht in der Einfachheit seiner Anwendung und der Lichtechtheit dem vorstehend erwähnten Kernechtrot, er färbt aber die Kerne intensiver rot, etwa im Farbton des früher verwendeten Azokarmins.

Erforderliche Lösungen:

A. Kernechtrubin 0,1 g ohne Erwärmen in 100 ml dest. Wasser lösen und 1 ml Eisessig zufügen. Die Lösung ist unbegrenzt haltbar.

B. Anilinblau-Orange nach Halmi-Konecny =

0,1 g Anilinblau

0,3 g Orange G

0,5 g Phosphorwolframsäure

1 ml Eisessig

100 ml dest. Wasser, kochen, erkalten lassen, filtrieren

Formolfixiertes Material

### Färbevorschrift:

1. Färben in A für 5 Minuten.
2. Abspülen in dest. Wasser.
3. 5 Minuten einlegen in Phosphorwolframsäure 5 %ig.
4. Abspülen in dest. Wasser.
5. Übertragen in B für 8 Minuten.
6. Abspülen in dest. Wasser.
7. Kurz differenzieren in 96 %igem Alkohol, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne intensiv rot, Collagenes Bindegewebe blau, Erythrocyten orange, Gliafasern rot, Protoplasma und Muskulatur rotorange gefärbt.

Anm.: Statt B kann auch Azan-Lösung Heidenhain mit gleichem Erfolg verwendet werden.

## Hämalaun-Erythrosin-Safran nach Masson

### Mehrfachfärbung

Notwendige Lösungen:

A. Haemalaun, sauer, Mayer

B. Salzsäure-Alkohol

C. Erythrosin

Wasser dest.

Formalin 40 %

D. Safran du Gatinais

Wasser

1 Stunde kochen, erkalten lassen, zufügen:

Tannin 5 %ig wässrig

Formaldehyd 40 %ig

1 g

100 ccm

einige Tropfen

2 g

100 ccm

1 ccm

1 ccm

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren, einbetten.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe einbringen in Wasser.
3. Übertragen in Lösung A, färben 4–6 Minuten. (Kerne müssen gut gefärbt sein, Mikroskopkontrolle. Collagenes-Gewebe jedoch ungefärbt, gegebenenfalls mit Lösung B differenzieren).
4. Waschen mit Wasser, 10 Minuten.
5. Färben mit Lösung C, 5 Minuten
6. Spülen mit Wasser.
7. Differenzieren mit 70 %igem Alkohol, einige Sekunden.
8. Waschen mit Wasser.
9. Färben mit Lösung D, 5 Minuten.
10. Rasch spülen mit Wasser und trocknen (Fließpapier).
11. Rasch entwässern mit absolutem Alkohol.
12. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol

**Färbeergebnis:**

Kerne: dunkelblau

Cytoplasma: rötlich

Muskel-, Nerven-, elastische Fasern: rot

Collagenes-Gewebe, Knorpel, Knochen: gelb

Lit.: Ref.: Romeis, Mikr. Techn. (1948) § 711

**Muchaematein, Mayer**

## Mucinfärbung

Notwendige Lösung:

A. Muchaematein, Mayer

**Färbevorschrift:**

1. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe, einbringen in Wasser
2. Färben mit Lösung A, 5 - 10 Minuten
3. Farbüberschuss absaugen mit Filtrierpapier
4. Spülen in Wasser, 3 - 5 Minuten
5. Gründlich waschen mit 95 %igem Alkohol
6. Entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol

**Färbeergebnis:**

Mucin: tiefviolett

Zellkerne: lichtblau Bindegewebe: hellgrau oder ungefärbt

Lit.: Laskey, A. M. (1950), Stain Tech., 25 : 33

## **Alcianblau GS**

### Mucinfärbung

Notwendige Lösungen:

A. Alcianblau 8 GS	1 g
Wasser dest.	100 ccm
Eisessig	10 Tropfen
Chloroform	einige Tropfen
B. Haemalaun, Mayer	
C. Eosin, gelblich	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Pikrinsäurelösung.
2. Einbringen der Paraffinschnitte in Wasser.
3. Färben mit Lösung A, 10 - 40 Sekunden.

Anm.: Eine längere Färbezeit muss unbedingt vermieden werden, da sonst eine starke Überfärbung erfolgt.

4. Waschen in Wasser.
5. Färben in Lösung B, 5 - 10 Minuten.
6. Gegenfärben mit Lösung C, sofern erwünscht.
7. Entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Mucin: blaugrün

Lit.: Steedman, H. F. (1950), Quart. J. Microsc. Sc. 91:477

## **Mucicarmin, Mayer** Mucinfärbung

Notwendige Lösung:

- A. Mucicarmin conc., Mayer

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Alkohol, einbetten in Paraffin oder Celloidin.
2. Schnitte aufkleben, entparaffinieren.
3. Nach absteigender Alkoholreihe färben in Lösung A für 10 - 15 Minuten.
4. Abwaschen mit Wasser.
5. Entwässern mit Alkohol absolut.
6. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

Anm.: Wurden in Celloidin eingebettete Schnitte verwendet, so erfolgt die Aufhellung mit Terpinolöl oder Origanumöl.

### **Färbeergebnis:**

Mucin: rot

Lit.: Mayer, P. (1896), Mitt. Zool. Stat. Neapel, 12, 303 - 330

## **Mucicarmin- Haematoxylin-Metanilgelb** Mucinfärbung

Notwendige Lösungen:

- A. Eisen-Haematoxylin, Weigert A und B (gleiche Teile unmittelbar vor dem Gebrauch gemischt)
- B. Metanilgelb 0,25 g  
Essigsäure 0,25 %ig 100 ccm
- C. Mucicarminlösung

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Formalin 1:10, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren.
3. Durch absteigende Alkoholreihe, waschen in Wasser.
4. Färben in Lösung A, 1 Minute.
6. Waschen in Wasser. Färben in Lösung B, 30 Sekunden.
7. Waschen in Wasser.
8. Färben in Lösung C, 45 Minuten.
9. Waschen in Wasser, entwässern, einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Kerne: schwarz  
Bindegewebe: gelb  
Mucin: rot

Lit.: Mayer, P. (1896), Mitt. Zool. Stat. Neapel, 12, 303—330;  
Masson, P. (1923), Traité de Path. Medicale (Maloine et Fils, Paris)

## Pikrinsäure-MALLORY-Färbung

für Bindegewebe

Notwendige Lösungen:

A. Eisenalaun	5 g
Wasser dest.	100 ccm
in der Kälte lösen, zufügen:	
Coelestinblau	0,5 g
3 Minuten kochen, erkalten lassen, filtrieren, einschütten in:	
Glycerin	7 ccm

Anm.: Lösung ist mehrere Monate haltbar.

B. Haemalaun, sauer, Majer	
C. Picroorange 8,2 %ig in 80 %igem Alkohol	
D. Säurefuchsin	1 g
Trichloressigsäure	3 g
Wasser dest.	100 ccm
E. Phosphorwolframsäure 1 %ig wässrig	
F. Anilinblau wasserlöslich	2 g
Essigsäure 2 %ig wässrig	100 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Formol-Sublimat, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben der Schnitte, einlegen in 90 %igen Alkohol.
3. Entfernen des Quecksilber-Niederschlages.
4. Gut waschen in Wasser.
5. Färben in Lösung A, 3 - 7 Minuten.
6. Waschen in Wasser.
7. Färben in Lösung B, 3 - 7 Minuten.
8. Waschen in Wasser, mindestens 2 Minuten.
9. Spülen in 95% igem Alkohol.
10. Färben in Lösung C, 2 Minuten.
11. Färben in Lösung D, 5 Minuten.
12. Spülen mit Wasser.
13. Kurz eintauchen in eine Mischung gleicher Teile Lösung D und 80% igen Alkohol.
14. Behandeln mit Lösung E, 5 - 10 Minuten.
15. Spülen mit Wasser.
16. Färben mit Lösung F, 2 - 10 Minuten.
17. Spülen mit Wasser.
18. Entwässern mit absolutem Alkohol.
19. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne:	blauschwarz
Cytoplasma, Muskelgewebe:	rot
Erythrocyten:	rot-orange
Bindegewebe	blau
Fibrin:	lebhaft rot

Lit.: Lendrum, A. C. (1949), J. Path. & Bact., LXI 443 - 448

## Wasserblau-Orcein-Safranin

### Epithel-Fasern

Notwendige Lösungen:

A. Wasserblau	1	g
Orcein	0,75	g
Glycerin	20	ccm
Äthylalkohol	50	ccm
Essigsäure 5 %ig	100	ccm
B. Eosin 1,25 %ig alkoholisch		
C. Hydrochinon 1 %ig wässrig		
D. Safranin O 1 %ig wässrig		
E. Kaliumdichromat-Lösung 0,5 %ig		

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in 10 %igem Formaldehyd, einbetten in Paraffin oder Celloidin.
2. Einbringen in Wasser, färben in einer Mischung aus  
10 ccm Lösung A  
3 ccm Lösung B  
3 ccm Lösung C für 10 Minuten.
3. Gut waschen in Wasser.
4. Färben mit Lösung D, 10 Minuten.
5. Waschen mit Wasser.
6. Eintauchen in Lösung E, 10 - 30 Minuten.
7. Waschen in Wasser, entwässern mit Alkohol absolut, aufhellen in Bergamottöl.
8. Unter dem Mikroskop kontrollieren, nötigenfalls mit Alkohol und Bergamottöl differenzieren, bis Überfärbung durch Safranin reduziert ist.
9. Einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Epithel-Fasern:	rot
Kerne:	blass violett
Plasmosomen:	rot
Cytoplasma:	blau bis violett
Granula der neutrophilen Leukocyten:	himmelblau
Elastische Fasern:	rot
Collagen-Fasern:	blau

Lit.: Carleton, H. M. & Leach, E. H. (1947), Histological Technique, Seite 285, (Oxford University Press)

Unna, P. G. (1910), Histotechnik der leprösen Haut, (Voss, Leipzig)

## Naphtolgrün B-Haematoxylin

### für Bindegewebe

Notwendige Lösungen:

- A. Haematoxylin - Weigert A
- B. Haematoxylin - Weigert B
- C. Eosin gelbl. 1 %ig wässrig
- D. Ferrichlorid (wasserfrei) 10 %ig wässrig
- E. Naphtolgrün B 1 %ig wässrig
- F. Aceton-Xylol 1 : 1

### Färbevorschrift:

1. Aufkleben des Paraffinschnittes, einlegen in Wasser.
2. Färben in einer frisch hergestellten Mischung von gleichen Teilen Lösung A und B, 6 Min.
3. Waschen in Wasser, färben in Lösung C, 3 Minuten.
4. Waschen in Wasser, einlegen in Lösung D, 5 Minuten.
5. Gut abwaschen mit Wasser, färben mit Lösung E, 5 Minuten.
6. Differenzieren in 1 %iger Essigsäure, 2 - 3 Minuten.
7. Gut trocknen, entwässern mit Aceton, aufhellen in Lösung F, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Bindegewebe: grün      Muskeln und Cytoplasma: rosa  
Lit.: Lillie, R. D. (1954), J. Techn. Meth., 25:32

**Congorot**  
für Amyloid in Geweben

Notwendige Lösungen:

- A. Congorot 1 %ig wässrig
- B. Lithiumcarbonat, gesättigt wässrig
- C. Haematoxylinlösung Delafield  
Das in Formalin oder Alkohol fixierte Material kann eingebettet in Celloidin oder Paraffin oder als Gefrierschnitt verwendet werden.

**Färbevorschrift:**

1. Aufkleben des Schnittes, einlegen in Wasser.
2. Färben mit Lösung A, 10 - 30 Minuten.
3. Eintauchen in Lösung B, 15 Sekunden.
4. Entfärben mit 80% igem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen.
5. Waschen mit fließendem Wasser, 15 Minuten.
6. Färben mit Lösung C, 5 - 10 Minuten.
7. Waschen mit Wasser, entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

Anm.: Wurden in Celloidin eingebettete Schnitte verwendet, erfolgt Entwässerung mit Isopropylalkohol an Stelle von Äthylalkohol.

**Färbeergebnis:**

Amyloid: rot  
Kerne: blau

Lit.: Bennhold, H. (1922), Münch. Med. Woch., Seite 1537;  
Cowdry, E. V. (1952), Laboratory Techniquic in Biology & Medicine;  
Seite 11; (Balliere, Tindell & Cox, London);  
Hess, G. (1942), Arch. Path., 34:92 - 105;  
Taren, A. G. (1936-37), J. Lab. Clin. Med., 22:975 - 977

**Carbol-Fuchsin-Methylgrün**  
für Hyaline Substanz

Notwendige Lösungen:

- A. Carbol-Fuchsin, Ziehl-Neelsen 5 ccm  
Wasser dest. 45 ccm
- B. Methylgrün 1 %ig in Carbolsäure 5 %ig

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben des Schnittes, einlegen in Wasser.
3. Färben mit Lösung A, 15 - 45 Minuten.
4. Waschen mit Wasser, vorsichtig abtrocknen (Fließpapier).
5. Entwässern mit Alkohol.
6. Differenzieren und gegenfärben mit Lösung B, 2 - 3 Minuten.
7. Waschen mit Alkohol.
8. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Hyaline Substanz: rot  
 Kerne: hellgrün

Lit.: Carleton, H. M. & Leach, E. H. (1947), Histological Technique (Oxford University Press); Seite 307 - 308

**ALDEHYD-FUCHSIN nach Gomori-Gabe**

Elastische Fasern

Notwendige Lösungen:

A. Kaliumpermanganat 2,5 %ig	1 ccm
Schwefelsäure 5 %ig	1 ccm
Wasser dest.	6 ccm
B. Natriumbisulfit 2 %ig wässrig	
C. Eisentrioxyhaematein, Hansen	
D. Aldehydfuchsin-Gebrauchslösung:	
Aldehydfuchsin-Stammlösung	25 ccm
Alkohol 70 %ig	75 ccm
Eisessig	1 ccm

Anm.: Diese Lösung ist bei Zimmertemperatur einige Monate haltbar. (Herstellung der

Aldehydfuchsin-Stammlösung: 0,75 g Aldehydfuchsin werden in 100 ccm Alkohol 70 %ig gelöst)

E. Pikroindigkarmin	1 g
Wasser dest.	100 ccm

**Färbevorschrift:**

1. Fixierung nach Bouin, einbetten in Paraffin oder Celloidin.
2. Schnitte aufkleben, entparaffinieren, über absteigende Alkoholreihe einbringen in Wasser.
3. In Lösung A oxydieren, 20 - 30 Sekunden.
4. Kurz spülen mit Wasser.
5. Waschen in Lösung B.
6. Spülen in fließendem Wasser, 30 Sekunden.
7. Färben mit Lösung C, 1 Minute.
8. Spülen in fließendem Wasser.
9. Färben mit Lösung D, 2 Minuten.
10. Kurz spülen in Wasser.
11. Gegenfärben mit Lösung E, 20 Sekunden.
12. Entwässern, aufhellen mit Toluol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Elastische Fasern, Knorpelsubstanz, Mucin: intensiv rot  
 Kernchromatin: schwarz oder braun  
 Basophiles Cytoplasma: grau  
 Acidophiles Cytoplasma, Muskelfasern: grün  
 Collagene Fasern: blau

Lit.: Bull. Micro, appl., 2<sup>e</sup> Série, Tome 3, N<sup>os</sup> 11 et 12 Nov. - Dec. 1953

## Resorcinfuchsin, Weigert

Elastische Fasern

Notwendige Lösungen:

A. Resorcinfuchsin, Weigert	5,1 g
B. Kernechtrot-Aluminiumsulfat	100 ccm
Wasser dest.	

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Susa, Helly oder Stieve einbetten in Paraffin, entparaffinieren.
2. Übertragen der Schnitte aus 80 %igem Alkohol in Lösung A, färben 10 - 30 Minuten.
3. Färben in Lösung B, 5 - 10 Minuten.
4. Waschen mit Wasser.
5. Differenzieren mit 96 %igem Alkohol.
6. Entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne:	rot
Elastische Fasern:	schwarzblau

Lit.: Weigert, C. (1898), Zbl. Path., 9:289 - 292.

## Congorot-Anilinblau-Orange G

für Elastische Fasern

Notwendige Lösungen:

A. Aluminiumchlorid 2 %ig wässrig	
B. Congorot	2 g
Natriumzitat	2,5 g
Glycerin	1 ccm
Wasser dest.	97 ccm
C. Anilinblau	1,5 g
Orange G	2,25 g
Resorcin	3 g
Phosphormolybdänsäure	1 g
Wasser dest.	100 ccm

### Färbevorschrift:

Das Material kann fixiert in 10 % igem Formaldehyd oder als Gefrierschnitt verwendet werden.

1. Waschen des Schnittes in Wasser, einlegen in Lösung A, 10 Minuten.
2. Waschen mit Wasser, entwässern, färben mit Lösung B, 10 Minuten.
3. Waschen mit Wasser, mehrmals gründlich durch Einlegen.
4. Färben mit Lösung C, 5 - 10 Minuten.
5. Vorsichtig spülen, trocknen mit Fließpapier.
6. Entwässern mit Alkohol, aufhellen in Origanumöl, waschen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol

### Färbeergebnis:

Elastische Fasern:	hellrot
Fibrin:	dunkelblau
Erythrocyten:	gelblichorange

Lit.: Krajian, A. A. (1941), Canadian J. Med., 3:207.

## MOLLIER-Vierfachfärbung

### Elastische Fasern

#### Notwendige Lösungen:

A. Orcein	1 g
Alkohol 70 %ig	100 ccm
Salzsäure conc.	1 ccm
B. Eisenhämatoxylin, Weigert A Weigert B	
Vor Gebrauch sind beide zu gleichen Teilen zu mischen.	
C. Salzsäure-Alkohol	
D. Azocarmin G	0,1g
Wasser dest.	100 ccm
kochen, erkalten lassen, filtrieren, zufügen:	
Eisessig	1 ccm
E. Phosphorwolframsäure	5 g
Wasser dest.	95 ccm
F. Naphtolgrün B	1 g
Wasser dest.	100 ccm
Eisessig	1 ccm

#### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Zenker, Helly, Bouin oder Carnoy.
2. Übertragen der Schnitte aus 70 %igem Alkohol in Lösung A; färben 12 Stunden.
3. Waschen in Wasser, bis zu völliger Entfernung des Farbüberschusses.
4. Färben in Lösung B, 12 - 30 Minuten.
5. Waschen in Wasser.
6. Kurz differenzieren in Lösung C
7. Waschen unter fließendem Wasser, 6 Minuten.
8. Färben in Lösung D (Mikroskopkontrolle, da leicht eine Überfärbung erfolgt).
9. Waschen in Wasser.
10. Entfärben der Collagen-Fasern mit Lösung E, 2 - 3maliger Badwechsel, Gesamtbehandlung 3 - 6 Stunden.
11. Waschen in Wasser.
12. Färben mit Lösung F, 15 - 30 Minuten.
13. Übertragen in 95 %igen Alkohol und schütteln, 30 Sekunden.
14. Entwässern, aufhellen, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### Färbeergebnis:

Elastische Fasern:	schwarz
Collagen-Fasern:	grün
Skelett-Muskulatur:	hellrot
Glatte Muskulatur:	rosa
Epithelzellen:	rot
Kernchromatin:	schwarz

Lit.: Mollier, G. (1938), Zts. Wis. Mikr., 55:472

## ROMANES-Silberchlorid-Methode

### Nervenzellen

#### Notwendige Lösungen:

- |  |         |
|--|---------|
| A. Silbernitrat 0,1 %ig wässrig  | 3 ccm   |
| Wasser dest.   | 100 ccm |
| gut mischen, zufügen:  |         |
| Natriumchlorid 0,1 %ig wässrig   | 1 ccm   |
| gut mischen,   |         |
| wenn nötig, einstellen der Mischung auf PH 7,8 durch wenige Tropfen stark verdünnter Ammoniaklösung. |         |

Anm.: Lösung ist nicht haltbar und muss unter Lichtabschluss aufbewahrt werden.

- |                                |         |
|--------------------------------|---------|
| B. Hydrochinon                 | 1 g     |
| Natriumsulfit                  | 10 g    |
| Wasser dest.                   | 100 ccm |
| C. Goldchlorid 0,5 %ig wässrig |         |
| D. Oxalsäure 2 %ig wässrig     |         |
| E. Natriumsulfit 5 %ig wässrig |         |

#### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Formalin oder Bouin.
2. Übertragen in 2% ige Lösung von Ammoniak (spez. Gew. 0,89) in 70 %igem Alkohol, einige Stunden.
3. Gut waschen in-Wasser, entwässern, einbetten in Paraffin.
4. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe einlegen in Wasser.
5. Färben in Lösung A unter Lichtabschluss bei 58° C, 16 Stunden.
6. Sofort übertragen in Lösung B bei 18 - 20° C, 5 Minuten.
7. Gut waschen in Wasser.
8. Tönen in Lösung C, 10 Minuten.
9. 2 mal waschen in Wasser je 15 Sekunden.
10. Reduzieren in Lösung D bis die Nervenanteile deutlich sichtbar sind, ca. 3 Minuten.
11. Waschen in fließendem Wasser.
12. Fixieren in Lösung E, 3 - 5 Minuten.
13. Gut waschen.
14. Entwässern, aufhellen, einbetten in Balsam oder Malinol.

#### Färbeergebnis:

- |                 |                    |
|-----------------|--------------------|
| Nervenfasern:   | purpur bis schwarz |
| Kerne:          | rot                |
| Neurofibrillen: | purpur             |
| Keratin:        | gelb               |
| Knochenzellen:  | schwarz            |

Lit.: Romanes, G. J. (1950), J. of Anatomy, 84, II, 104 - 116

#### Natronlauge-Silbermethode nach O. Schultze-Lobo

Achsenzylinder, Neurofibrillen im zentralen und peripheren Nervensystem

#### Erforderliche Lösungen:

- A. 4 g Natriumhydroxyd pro analysi werden in genau 100 ml dest. Wasser gelöst = Stammlösung.
- B. Silbernitratlösung 10 %ig 5 ml, Pyridin pur. 25 Tropfen, dest. Wasser 20 ml, Alkohol absolut. 15 ml. Diese Lösung ist 1 - 2 Monate haltbar.
- C. Hydrochinon 1 g, 250 ml dest. Wasser, Formalin 70 ml, Aceton 40 ml.

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Formalin 1:9 Wasser mindestens 3 Tage, jedoch nicht länger als 3 Monate.
2. Gefrierschnitte anfertigen von 25 – 30  $\mu$ , gut auswaschen in dest. Wasser.
3. Entschlacken für 5 - 8 Minuten bei 60° C in verdünntem A. Man nimmt von A auf 50 ml dest. Wasser jeweils für Nervenfasern von Gehirn, Rückenmark, Ganglien, Auge 10 ml, für Nervenzellen 6 ml, für sympathische Ganglienzellen 5 ml, für Achsenzylinder 10 ml, für Hüllen 5 ml, für Neurokeratin 0,5 ml.
4. Auswaschen in mehrfach gewechseltem dest. Wasser bis sich das Waschwasser auf Zusatz von einigen Tropfen Phenolphthalein 1 %ig wässrig nicht mehr rot färbt.
5. Einlegen der Schnitte in die auf 60° C erwärmte Lösung B bis sie kastanienbraun sind.
6. Einige Minuten reduzieren in C.
7. Gut auswaschen.
8. Entwässern in der üblichen Weise und überführen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Achsenzylinder, Neurofibrillen schwarz, Ganglienzellen bräunlich gefärbt.

Anm.: Soll vergoldet werden, so bringt man die Schnitte nach 7. für 5 Minuten in eine 0,2 %ige Goldchloridlösung, wäscht dann in dest. Wasser aus, überträgt für eine Minute in 5 %ige, wässrige Natriumthiosulfatlösung und verfährt dann weiter nach 8. Für Neuroglia fixiert man statt in Formalin 1:9 in Formalin 110 ml, Bromammonium 16 g, dest. Wasser 500 ml, und zwar Microglia 2 - 3 Tage, protoplasmatische Glia 15 - 30 Tage, Faserglia 1/2 - 2 Monate. So vorbehandeltes Material kann dann in 10 %igem Formalin aufbewahrt werden.

Lit.: Lobo 1937. Sobre una nova técnica de impregnação do sistema nervoso.  
Patologia general. Bd. 22, S. 4 - 7

**Haematoxylin-Schnellfärbung nach Benda**

## Markscheiden-Schnellfärbung

Erforderliche Lösungen:

- A. Chromalaunbeize = 2,5 g Chromalaun werden in 100 ml dest. Wasser zum Kochen erhitzt, wenn die Lösung richtig siedet, wird die Flamme gelöscht. Dann fügt man unter Rühren 5 ml 30 %ige Essigsäure und schließlich unter ständigem Rühren mit einem Glasstab 5 g fein gepulvertes neutrales Kupferacetat zu.
- B. Haematoxylinlösung nach Böhmer oder Delafield.
- C. 2 g Borax und 2,5 g Kaliumferricyanid werden in 100 ml dest. Wasser unter Erwärmen gelöst.

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Formol 1:10 und herstellen von Gefrierschnitten.
2. Übertragen der Schnitte ohne Alkoholbehandlung aus Wasser für einige Stunden in A.
3. Gründlich auswaschen in dest. Wasser.
4. Einlegen in B für 24 Stunden.
5. Gründlich auswaschen in Leitungswasser und differenzieren in C bis die graue Substanz von der weißen Substanz deutlich zu unterscheiden ist.
6. Gründlich auswaschen in Leitungswasser und über die aufsteigende Alkoholreihe, Xylol einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Die Markscheiden sind dunkelblau, Degenerationen rot gefärbt.

Lit.: C. Benda, Neurol. Centralbl., Bd. XXII, 1903, Nr. 3, S. 139 - 140.

## **Goldimprägnation nach Biondi**

Bindegewebe im Zentralnervensystem

Erforderliche Lösungen:

- A. 8 - 9%ige Lösung von Kaliumpermanganat in dest. Wasser.
- B. Kaliumsulfit-Oxalsäure: Man mischt unmittelbar vor dem Gebrauch gleiche Mengen 1 %iger Kaliumsulfitlösung und 1 %iger Oxalsäurelösung. Die Mischung hält sich nur kurze Zeit. Dagegen sind die getrennten Lösungen unbeschränkt haltbar.
- C. Unmittelbar vor dem Gebrauch werden gemischt 2 ml einer 1 %igen Lösung von Goldchlorid mit 2 ml einer 5 %igen Lösung von Sublimat und 10 ml dest. Wasser. Diese Menge genügt für höchstens 4 Schnitte. Die getrennten Lösungen von Goldchlorid und Sublimat sind haltbar.
- D. 2 %ige wässrige Lösung von Natriumthiosulfat.

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Formol 1: 0, Gefrierschnitte von 25 - 30  $\mu$  Dicke.
2. Auffangen der Schnitte im Wasser auf Filtrierpapierstreifen und mit diesen übertragen in A. In gleicher Weise werden die Schnitte nach 10 Minuten wieder in Wasser übertragen. Die Schnitte werden in der Kaliumpermanganatlösung so spröde, dass die gewöhnliche Übertragung mit Glasstäbchen nicht möglich ist. Im reinen Wasser erhalten sie dann ihre gewöhnliche Festigkeit wieder.
3. Ganz kurz abspülen mit dest. Wasser.
4. Einlegen der Schnitte in B bis sie entfärbt sind.
5. Kurz auswaschen in 2 Schalen mit dest. Wasser.
6. Übertragen in C und 20 Stunden im Dunkeln stehen lassen.
7. Gründlich auswaschen in mehrfach gewechseltem dest. Wasser und um ein Nachdunkeln zu vermeiden 1 Minute in D fixieren.
8. Gründlich auswaschen in mehrfach gewechseltem dest. Wasser, über die aufsteigende Alkoholreihe, Xylol einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Die Bindegewebefasern sind sehr scharf in tiefschwarzem Ton auf violetterem Untergrund imprägniert.

Lit.: Referiert nach Romeis, Mikroskopische Technik, 15. Aufl., 1948, § 1882

## **Eisen-Haematoxylin nach Weigert**

Darstellung der Markscheiden

Erforderliche Lösungen:

- A. Beize I = 5 g Kaliumbichromat und 2,5 g Fluorchrom werden durch Kochen in 100 ml Wasser gelöst. Nach dem Erkalten wird filtriert.
- B. Beize II = 2,5 g Fluorchrom werden in 100 ml dest. Wasser durch Kochen gelöst. Wenn die Lösung siedet, löscht man die Flamme und setzt 5 ml Eisessig zu und dann unter dauerndem Rühren mit einem Glasstab 5 g fein gepulvertes Cuprum aceticum neutrale.
- C. 1 g Haematoxylin wird in 100 ml Aethylalkohol 96 %ig gelöst. Die Lösung muss gut ausgereift sein, also einen braunen, nicht gelben Farbton besitzen.
- D. 4 ml Liquor ferrisesquichlorati werden mit 96 ml dest. Wasser gemischt. Unmittelbar vor dem Gebrauch werden gleiche Teile C und D gemischt.
- E. Borax 2 g und Kaliumferricyanid 2,5 g werden unter Erwärmen in 100 ml dest. Wasser gelöst.

### **Färbevorschrift:**

1. Fixierung in 10 %igem Formol.
2. Beizen der nicht über 2 cm dicken Stücke in A 4 - 14 Tage, die weiße Substanz soll zuletzt überall braun, nicht gelb aussehen.
3. Auswaschen im Dunkeln in 70% igem Alkohol, bis dieser sich nicht mehr färbt.
4. Celloidineinbettung und Anfertigung der Schnitte.
5. Beizen der Schnitte 24 - 48 Stunden bei 37° C in B.
6. Abspülen in 70 %igem Alkohol und färben in dem Gemisch C-D für 24 Stunden.
7. Abspülen in Leitungswasser und differenzieren in E bis die weiße Substanz (Markscheiden) schwarz, die graue Substanz dagegen hellgelb bis bräunlich erscheint, im Durchschnitt 15 - 30 Minuten.
8. Waschen in Leitungswasser für 24 Stunden, eventuell unter Zusatz von einigen Tropfen wässriger Lithiumcarbonatlösung.
9. Entwässern, Xylol, einschließen in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Die Markscheiden sind blauschwarz, alles übrige Gewebe ist gelbbraun gefärbt.

Lit.: Mayer, Paula (1909). Zur Technik der Markscheidenfärbung.  
Neurolog. Zbl., Bd. 28, S. 353 - 354.

### **Silberimprägnation nach Bielschowsky**

Achsenzylinder und Neurofibrillen

Erforderliche Lösungen:

- A. Silbernitratlösung 3 %ig wässrig, vor dem Gebrauch jeweils frisch filtriert.
- B. Ammoniakalische Silbernitratlösung: Zu 10 ml einer 10 %igen Silbernitratlösung werden unter Schütteln 5 Tropfen reiner 40 %iger Natronlauge zugesetzt. Es entsteht ein brauner Niederschlag. Nun wird tropfenweise starker Ammoniak zugesetzt unter ständigem Schütteln, bis der größte Teil des Niederschlages wieder gelöst ist. Ein Überschuss an Ammoniak darf nicht vorhanden sein. Man lässt deshalb einige Körnchen des braunen Niederschlages ungelöst. Diese werden abfiltriert und das Filtrat mit dest. Wasser auf 20 ml aufgefüllt
- C. Goldchloridlösung: 3 - 5 Tropfen einer 1 %igen Lösung aus gelbem Goldchlorid werden in 10 ml dest. Wasser getropft.
- D. 5 %ige wässrige Lösung von Natriumthiosulfat.

### **Färbevorschrift:**

Möglichst frisches Material verwenden, Gefrierschnitte 5 - 10 µ stark. Keine Metallinstrumente verwenden.

1. Fixieren in Formalin 40 %ig 1 Teil und 9 Teile Leitungswasser für 24 - 48 Stunden.
2. Auswäschen in fließendem Wasser 2 - 3 Stunden.
3. Schneiden auf dem Gefriermikrotom und Auffangen der Schnitte in dest. Wasser, Schnittdicke 5 - 10 µ.
4. Noch 1 - 2 Stunden in 3 - 4mal gewechseltem dest. Wasser.
5. Einlegen in A für 24 Stunden.
6. Rasch durchziehen durch dest. Wasser etwa 2 - 3 Sekunden. Bleibt der Schnitt zu lange im dest. Wasser, kommt keine einwandfreie Imprägnierung zustande.
7. Einlegen in B für 10 - 20 Minuten bis der Schnitt eine gelbliche Tönung angenommen hat.
8. Rasch durchziehen durch 2 - 3 Schalen mit dest. Wasser.
9. Reduzieren in Formol säurefrei (1 Teil Formol : 4 Teilen Leitungswasser) 10 Minuten, die Schnitte färben sich hierbei schiefergrau bis schwärzlich.
10. 15 Minuten auswaschen in Leitungswasser.
11. Einlegen in C bis der braune Ton des Präparates nach grau oder grauviolett umgeschlagen ist.
12. Fixieren in D für 1 - 2 Minuten.
13. Sorgfältig auswaschen in Leitungswasser für 1 - 2 Stunden.
14. Durch die aufsteigende Alkoholreihe, Carbolxylol, Xylol (nicht länger als unbedingt nötig) durchführen und einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Neurofibrillen schwarz gefärbt auf hellem Grunde, ebenso die perizellulären Netzstrukturen der Ganglienzellen. Auch die dünnsten Achsenzyylinder treten klar hervor.

Lit.: Bielschowsky, Journal für Psychologie und Neurologie, Band 3, Seite 169 -189 und Band 4, Seite 227 - 236

**Silber-Protein-Methode nach Bodian**

Darstellung der Achsenzyylinder und Neurofibrillen

Erforderliche Lösungen:

- A. Fixierungslösung = 5 ml Formalin, 5 ml Eisessig, 90 ml Alkohol 80 %ig.  
Das Ergebnis der Bodianschen Methode hängt weitgehend von der Art der Fixierung ab. Bodian hat deshalb für die verschiedenen Elemente etwa 10 verschiedene Fixierungsgemische angegeben. In den meisten Fällen kommt man mit dem vorstehenden Gemisch aus.
- B. 1 g Silber-Protein abwiegen und direkt von dem Wiegepapier auf die Oberfläche von 100 ml Wasser in feinsten Verteilung aufstäuben, ruhig stehen lassen, bis das Pulver zu Boden gesunken ist. Dann erst wird das Pulver durch Schütteln vollständig zur Lösung gebracht. Die Lösung wird nicht erwärmt.
- C. Hydrochinon 1 g, Natriumsulfit wasserfrei ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) 5 g werden in 100 ml Wasser gelöst.
- D. Goldchloridlösung 1 %ig wässrig, der vor dem Gebrauch auf 100 ml 3 Tropfen Eisessig zugefügt werden.
- E. Oxalsäure-Lösung 2 %ig wässrig .
- F. Natriumthiosulfat-Lösung 5 %ig wässrig.

**Färbevorschrift:**

1. Die fixierten und entparaffinierten Schnitte kommen aus Wasser für 12 - 48 Stunden bei 37° C in B, dem unmittelbar vor dem Einlegen der Schnitte auf 100 ml 4 - 5 g metallisches Kupfer (Kupferdraht oder Kupferspäne, sorgfältig gereinigt) zugefügt wurden.
2. Abspülen in dest. Wasser.
3. Reduzieren in C für etwa 10 Minuten.
4. Waschen in mindestens dreimal gewechseltem dest. Wasser.
5. Übertragen in D für die Dauer von 5 - 10 Minuten.
6. Waschen in dest. Wasser.
7. Einstellen in E, bis die Schnitte schwach rötlich oder bläulich sind.
8. Waschen in dest. Wasser.
9. 5 - 10 Minuten fixieren in F.
10. Waschen in dest. Wasser, entwässern, einschließen in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Achsenzyylinder und Neurofibrillen sind schwarz oder purpurschwarz gefärbt

Anm.: Die Silber-Protein-Lösung kann nur einmal verwendet werden. Celloidinschnitte müssen vor der Imprägnierung vom Celloidin befreit werden. Schnitte von altem Formolmaterial kommen vor der Imprägnation über Nacht in 5 %ige Essigsäure. Dadurch wird die Mitfärbung der kollagenen Fasern verhindert. Gegenfärbung mit Acridinrot, Azan-Lösung oder Lichtgrün-Orange nach Foley ist möglich und kann empfohlen werden.

Lit.: Bodian, 1937, Anat. Rec. 69, S. 153 - 162

## Blutfärbungen

### Vorbemerkungen:

Bei Verwendung von Eosin-Methylenblaulösungen ist folgendes zu beachten: Um stets brauchbare Resultate zu erzielen, dürfen nur reine Glasgefäße verwendet werden, die nicht mit Säure in Berührung gekommen sind. Die Objektträger bzw. Deckgläser dürfen nur mit Äther-Alkohol, keinesfalls mit Säure oder Salzsäure-Alkohol gereinigt sein. Selbst wiederholtes Abspülen in reinem Wasser entfernt nicht die letzten Säurereste, so dass einwandfreie Färbungen nicht erhalten werden. Das zum Verdünnen der Farblösungen gebrauchte Wasser muss absolut neutral reagieren. Es ist in folgender Weise auf Brauchbarkeit zu prüfen: Zu 100 ccm dest. Wasser gibt man 3 Tropfen Bromcresolpurpurlösung und fügt dann unter ' ständigem Umschütteln tropfenweise 1%ige Sodalösung zu, bis die gelbe Farbe des Wassers in Violett umgeschlagen ist. Dieser violette Farbton muss mindestens eine Minute bestehen bleiben. Wird die Lösung in dieser Zeit wieder gelb oder farblos, so reichte der Sodazusatz noch nicht aus und es ist noch ein weiterer Tropfen zuzufügen. Die so ermittelte Anzahl Tropfen fügt man nun zu je 100 ccm desjenigen Wassers, das zur Verdünnung verwendet werden soll. Diese Wasserprüfung ist jedesmal zu wiederholen, da Wasser, das im Untersuchungsraum aufbewahrt wird, durch den Einfluss der Luft seinen Säuregehalt täglich ändern kann.

Das Wasser soll mindestens Zimmertemperatur haben, andernfalls ist es anzuwärmen, Temperaturen über 40° C sind jedoch zu vermeiden. Farbstoffniederschläge lassen sich entfernen, indem man die Präparate nach der Färbung mit absolutem Alkohol übergießt, mit Wasser abspült und dann trocknet. Am besten färben sich Präparate, die 2 - 24 Stunden alt sind. Ältere Präparate färben sich langsamer und zeigen meist eine rotbraune Erythrocytenfärbung. In zu dicken Ausstrichen oder auch überfärbten Präparaten haben die Erythrocyten oft einen schmalen blauen Rand oder erscheinen überhaupt blau.

Richtig gefärbte Präparate zeigen im auffallenden Licht einen roten bis violettroten Farbton. Zu kurz gefärbte Präparate erscheinen grau bis höchstens schwach rosa. Überfärbte Präparate haben eine ausgesprochene violette bis blaue Tönung. In beiden Fällen lassen sich noch Verbesserungen erzielen, indem man zunächst durch Xylol das Cedernholzöl entfernt, die Präparate dann abtrocknet und darauf nochmals für einige Minuten in die Farblösung einlegt bzw. bei Überfärbung längere Zeit kräftig mit Wasser abspült oder - falls dieser Vorgang nicht zum Ziele führt - die Präparate für einige Sekunden in Methylalkohol eintaucht.

### Färbung nach Jenner (frische Ausstriche)

Notwendige Lösung:

A. Eosin-Methylenblau nach Jenner

### Färbevorschrift:

1. Möglichst dünne, lufttrockene, nicht fixierte Ausstriche einlegen in Lösung A, 3 Minuten.
2. Zufügen der gleichen Menge dest. Wassers, wie Farblösung verwendet
3. wurde, gut mischen und färben, 10 - 15 Minuten.
4. Kurz spülen in dest. Wasser.
5. Trocknen mit Fließpapier.
6. Dauerpräparate: Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne:	blau
Eosinophile Granula:	tiefrot
Neutrophile Granula:	bräunlichviolett
Erythrocyten:	hellrot
Blutplättchen:	blassblau

## Färbung nach May-Grünwald (frische Ausstriche)

Notwendige Lösung:

A. Eosin-Methylenblau nach May-Grünwald)

### **Färbevorschrift:**

1. Gut lufttrockene, nicht fixierte Ausstriche überschichten mit Lösung A, 3 Minuten.
2. Zufügen der gleichen Menge dest. Wassers, durch Schwenken gute Mischung bewirken und färben, 5 - 10 Minuten.
3. Gründlich abspülen mit dest. Wasser.
4. Vorsichtig abtupfen mit Fließpapier und an der Luft vollständig trocknen lassen.
5. Dauerpräparate: Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Kerne:	blau
Eosinophile Granula:	leuchtend rot
Basophile Granula:	dunkelblau
Neutrophile Granula:	hellrot bis purpurrote Körnchen
Erythrocyten:	hellrot
Blutplättchen:	hellblau

## Färbung nach May-Grünwald (ältere oder schwer färbbare Präparate)

Notwendige Lösung:

A. Eosin-Methylenblau nach May-Grünwald

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren der Ausstriche in absolutem Alkohol, 10 - 20 Minuten.
2. In einem Gemisch aus einem Teil Lösung A und zwei Teilen dest. Wasser färben 10 - 15 Minuten.
3. Abspülen mit Wasser, trocknen zwischen Fließpapier.
4. Dauerpräparate: Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Das Resultat ist das gleiche, wie bei frischen Ausstrichen angegeben.

## Färbung nach Leishman

Notwendige Lösung:

A. Eosin-Methylenblau nach Leishman (10680 und 20220)

### **Färbevorschrift:**

1. Möglichst dünne, lufttrockene Ausstriche bedecken mit Lösung A, 2 Minuten
2. Zufügen der doppelten Menge dest. Wassers, durch Schwenken mischen und färben 10 Minuten.
3. Gründlich abspülen mit dest. Wasser.
4. Trocknen zwischen Fließpapier und an der Luft.
5. Dauerpräparate: Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

**Erythrocyten:** hellrosarot bis braunrot

**Lymphocytenkerne:** tiefdunkelblau bis blauviolett

**Protoplasma der Lymphocyten:** hellblau

**Kerne der neutrophilen, polymorphkernigen Leukocyten:** tiefblau bis blauviolett

**Granula der neutrophilen polymorphkernigen Leukocyten:** rot

**Kerne der eosinophilen Leukocyten:** blauviolett

**Granula der eosinophilen Leukocyten:** tiefdunkelrot

**Kerne der basophilen Leukocyten:** blauviolett

### Färbung nach Wright Notwendige Lösung:

A. Eosin-Methylenblau nach Wright

#### **Färbevorschrift:**

1. Sehr dünne, lufttrockene Ausstriche bedecken mit Lösung A, 2 Minuten.
2. Zufügen der gleichen Menge dest. Wassers, mischen und färben 5 Minuten.
3. Gut abspülen mit dest. Wasser.
4. Trocknen mit Fließpapier und an der Luft.
5. Dauerpräparate: Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

#### **Färbeergebnis:**

Das Resultat ist das gleiche, wie bei Leishman angegeben.

### Färbung nach Giemsa

Notwendige Lösung:

A. Azur-Eosin, Romanowsky-Giemsa

#### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene, dünne Ausstriche fixieren in Methylalkohol, 5 Minuten.
2. Färben in Lösung A (verdünnt 10 Tropfen auf 10 ccm Wasser), 20 - 30 Minuten.
3. Abspülen mit dest. Wasser.
4. Trocknen zwischen Fließpapier und an der Luft.
5. Dauerpräparate: Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

Anm.: Statt dest. Wassers kann auch gepuffertes Wasser verwendet werden.

#### **Färbeergebnis:**

Kerne:	blauviolett
Eosinophile Granula:	rot
Neutrophile Granula:	rotviolett
Basophile Granula:	blau bis blauviolett
Protoplasma der Lymphocyten:	hellblau
Erythrocyten:	rötlich
Kerne der Protozoen:	leuchtend rot
Blutplättchen:	blau mit violetter Innenkörper

### Färbung nach Giemsa (im dicken Tropfen)

Notwendige Lösung:

A. Azur-Eosin, Romanowsky-Giemsa

#### **Färbevorschrift:**

1. Bereitung des Präparates: Großer Blutropfen wird auf einem gründlich mit Äther-Alkohol gereinigten Objektträger ausgebreitet, dass er ungefähr 1 cm im Durchmesser groß wird. Die Blutschicht darf nicht zu dick sein, da sie sonst leicht abblättert und schwer färbbar ist. Das Blut lässt man bei Zimmertemperatur (Achtung vor Fliegen) oder im Brutschrank bei 37° C trocknen. Höhere Temperaturen sind zu vermeiden, da die Blutschicht sonst leicht abspringt.
2. Gleichzeitiges Fixieren und Färben mit Lösung A (verdünnt 10 Tropfen auf 10 ccm dest. Wasser), 3 Minuten.
3. Jetzt auftretende grünlichgelbe Haemoglobinwolken werden abgegossen und nach Schrägstellen des Objektträgers mit neuer ebenfalls verdünnter Farblösung abgespült
4. Erneutes Aufgießen verdünnter Farblösung und färben, 45 Minuten. oder länger.
5. Abspülen durch seitliches Nachgießen von dest. Wasser.
6. Trocknen durch Senkrechtstellen des Objektträgers (kein Fließpapier).

### **Färbeergebnis:**

Gut gefärbte Präparate erscheinen rötlichviolett, schlecht gefärbte blau. Eosinophile Leukocyten (rot punktiert) und basische Erythrocyten (blau punktiert) sind leicht abzuschätzen.

Anm.: Um die Schwierigkeiten, die die Herstellung eines absolut neutralen Wassers bereiten kann, zu vermeiden, wird die Verwendung eines gepufferten Wassers mit Puffergemisch nach Weise empfohlen.

### Färbung nach Giemsa-Pappenheim

Notwendige Lösungen:

- A. Eosin-Methylenblau nach May-Grünwald
- B. Azur-Eosin, Romanowsky-Giemsa

### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene, dünne Ausstriche (Schichtseite nach unten) Unterschichten mit Lösung A, 3 Minuten.
2. Zufügen der gleichen Menge dest. Wassers und färben, 1 Minute.
3. Abgießen der Farblösung (nicht abspülen).
4. Übergießen mit Lösung B (verdünnt 15 Tropfen auf 10 ccm dest. Wasser) und färben, 10 - 20 Minuten.
5. Kräftig abspülen mit dest. Wasser.
6. Trocknen zwischen Fließpapier und an der Luft.
7. Dauerpräparate: einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Kerne:	rötlich violett
Plasma der lymphoiden Zellen:	lichtblau
Lymphoide Azurkörnelung:	leuchtend purpurrot
Myeloische Azurkörnelung:	violett bis violettbräunlich
Neutralkörnelung:	bräunlich bis bläulichrosa
Eosinophile Granula:	bräunlichorange bis ziegelrot
Mastkörnung:	ultramarin mit Stich ins Violette
Erythrocyten:	rosa bis bläulich
Basophile Punktierung der Erythrocyten:	kräftig cobaltblau

### Färbung nach MacNeal (Ausstrich-Präparate)

Notwendige Lösung:

- A. Tetrachrome Stain, MacNeal

### **Färbevorschrift:**

1. Dünne, lufttrockene Ausstriche mit Lösung A bedecken, 2 Minuten.
2. Zufügen des gleichen Volumens dest. Wassers, mischen, färben für 5 Minuten.
3. Gut spülen mit Wasser.
4. Trocknen (Fließpapier), einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Erythrocyten: gelblich rot  
Polymorphkernige Neutrophile: Kerne dunkelblau, Granula rötlich lila, Cytoplasma schwach rosa  
Eosinophile Leukocyten: Kerne blau, Granula orange bis rot, Cytoplasma blau  
Basophile Leukocyten: Kerne purpur oder dunkelblau, Granula tief pur-pur gefärbt  
Lymphocyten: Kerne dunkel purpur, Cytoplasma himmelblau  
Thrombocyten: Granula violett bis purpur

Lit.: MacNeal, W. J., (1922), J. Amer. Med. Assoc., 78, 1112

## Vital- (Supravital-)Färbung

Notwendige Lösungen:

- A. Brillantcresylblaulösung alkoholisch
- B. Azur-Eosin-Lösung

### **Färbevorschrift:**

1. Auf sorgfältig gereinigte Objektträger setzt man einen Tropfen Lösung A und streicht diesen nach Art der Blutausrüche aus.
2. Ausstreichen des Blutes auf der Schichtseite obiger Objektträger in gewohnter Weise, jedoch nicht zu dünn.
3. Einlegen in eine feuchte Kammer, mit der Farbseite nach oben, Kammer zudecken.
4. Nach 5 - 10 Minuten Präparate herausnehmen und an der Luft trocknen lassen.
5. Fixieren der lufttrockenen Ausstriche in Methylalkohol, 3 - 5 Minuten.
6. Färben in Lösung B (verdünnt 10 Tropfen auf 10 ccm neutrales Wasser), 20 - 30 Minuten.
7. Abspülen mit Wasser, trocknen zwischen Fließpapier.
8. Einschließen in Canadabalsam neutral oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Die Methode wird hauptsächlich zur Darstellung der vitalfärbbaren Substanzen der Erythrocyten (Substantia granulofilamentosa, basophile Granulation, Polychromasie) verwendet. Sie ergibt sehr zierliche blaue Bilder der Netzstruktur mit Erhaltung aller sonstigen Bestandteile.

## **Nachweis der Bleivergiftung im Blut**

Zur Darstellung der bei Bleivergiftung vorkommenden basophilen Körnelung der Erythrocyten eignet sich der dünne Objektträger- oder Deckglasausrich besser als die Untersuchung im dicken Tropfen.

### **A. Färbung mit Methylenblau Löffler**

Erforderliche Lösung: 1 ml Methylenblau-Lösung nach Löffler gemischt mit 8 ml dest. Wasser.

### **Färbevorschrift:**

1. Lufttrockene Ausstriche fixieren in Methylalkohol für 3 Minuten.
2. Nicht abspülen, sondern sofort übertragen in das verdünnte Methylenblau nach Löffler für gleichfalls 3 Minuten.
3. Abspülen mit Wasser, trocknen zwischen Fließpapier
4. Untersuchen mit Ölimmersion bei voller Belichtung.

### **Färbeergebnis:**

Die Körnelungen der Tüpfelzellen heben sich auf dem grünblau gefärbten Erythrocyten als tiefblaue Punkte ab. Sie können wie ein zarter Staub den ganzen Erythrocyten bedecken oder als grobe Körnchen randständig erscheinen. Findet man in mehreren Gesichtsfeldern ein Blutkörperchen mit dunkelblauen Punkten, so ist eine pathologische Vermehrung dieser Zellen anzunehmen. Wenn in 50 Gesichtsfeldern - das Gesichtsfeld zu durchschnittlich 200 Erythrocyten - sich mehr als eine Körnerzelle befindet (gleich 100 granulierten Erythrocyten auf 1.000.000 rote Blutkörperchen) so gilt der Befund als positiv, bei einem granulierten Erythrocyten in 10 Gesichtsfeldern als unbedingt beweisend.

## B. Färbung nach Manson-Schwarz

Erforderliche Lösungen:

- A. Borsäure 2 g, Methylenblau puriss. 1 g, Wasser dest. 100 ml = Manson-Schwarz I
- B. Natrium hydricum pur. 0,28 g gelöst in 100 ml dest. Wasser = Manson-Schwarz II

### Färbevorschrift :

1. Fixieren der lufttrockenen Blutausrichte, 3 - 5 Minuten in Methylalkohol.
2. Abspülen mit Wasser und an der Luft trocknen lassen.
3. Färben 15 - 20 Sekunden in einem Gemisch aus 6 Tropfen A, 8 Tropfen B und 10 ml dest. Wasser.
4. Vorsichtig abspülen mit dest. Wasser, trocknen zwischen Fließpapier.
5. Untersuchen mit Ölimmersion.

### Färbeergebnis:

Wichtig bei dieser Methode ist, dass das verwendete dest. Wasser frei von CO<sub>2</sub> ist. Erythrocyten hellgrünblau, Granula tiefblau bis schwarz gefärbt. Auswertung des Befundes wie unter A angegeben.

## BARLOW's TRICHROM

### Mastzellen-Granula

Notwendige Lösungen:

- |   |      |     |
|---|------|-----|
| A. Wasser dest.   | 95   | ccm |
| Eisenalaun  | 5    | g   |
| Coelestinblau   | 0,5  | g   |
| 3 Minuten kochen, erkalten lassen, filtrieren, zufügen: |      |     |
| Schwefelsäure conc.                                     | 2    | ccm |
| Glycerin  | 14   | ccm |
| B. Haemalaun, Mayer                                     |      |     |
| C. Lithiumcarbonat-Lösung, gesättigt wässrig            |      |     |
| D. Alkohol 70% ig                                       | 99   | ccm |
| Salzsäure conc.   | 1    | ccm |
| E. Barlow's Trichrom sicc.                              | 1,55 | g   |
| Wasser dest.  | 60   | ccm |
| Salpetersäure conc.                                     | 0,25 | ccm |
| 5 - 10 Minuten stark kochen, abkühlen lassen, zufügen:  |      |     |
| Glycerin  | 50   | ccm |
| auffüllen mit Wasser dest. auf 150 ccm                  |      |     |
| <b>Anm.: Lösung nur beschränkt haltbar</b>              |      |     |
| F. Essigsäure 1% ig wässrig                             | 100  | ccm |
| Lissaminechtgelb  | 0,1  | g   |
| <b>oder</b>   |      |     |
| G. Lichtgrün 0,25%ig wässrig                            |      |     |

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Bouinscher Lösung oder Alkohol.
2. Färben in Lösung A, 2 Minuten.
3. Abspülen unter Wasser.
4. Färben in Lösung B, 2 Minuten.
5. Abspülen und bläuen mit Lösung C.
6. Differenzieren mit Lösung D.  
Kontrollieren unter dem Mikroskop, bis zur Aufhellung des Cytoplasmas und der dadurch erkennbaren Abzeichnung der Kerne.
7. Färben in Lösung E, 5 - 15 Minuten.
8. Abwaschen in fließendem Wasser.
9. Gegenfärben mit Lösung F oder G.
10. Spülen in Wasser.
11. Entwässern mit Alkohol.
12. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Mastzellen Granula:	orange bis rot
Knorpel, Keratin,	
Bakterien:	rosa bis rot
Mucin:	zart rosa
Kerne:	blau
andere Gewebeanteile:	grün oder hellgelb (je nach Gegenfärbung)

Lit.: Barlow, R. M. (1957), J. Path. & Bact. LXXIII: 272 - 274

**PAPANICOLAOU EA 36**

Paraffinschnitte von Keratin-Epithel

Notwendige Lösungen:

- A. Haematoxylin Harris
- B. Orange OG<sub>6</sub>
- C. Farblösung E A 36

**Färbevorschrift:**

1. Fixieren in 10 %igem Formaldehyd oder 80% igem Alkohol, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren mit Xylol.
3. Einlegen in Wasser, durch absteigende Alkoholreihe.
4. Färben mit Lösung A, 6 Minuten.
5. Spülen unter fließendem Wasser, 2 - 3 Minuten.
6. Waschen in aufsteigender Alkoholreihe.
7. Färben mit Lösung B, 5 Minuten.
8. Gut spülen in 95 %igem Alkohol (Gefäßwechsel).
9. Färben mit Lösung C, 2 1/2 Minuten, unter gelegentlichem Schütteln.
10. Gründlich spülen in 95 %igem Alkohol (Gefäßwechsel).
11. Entwässern mit Alkohol absolut.
12. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

**Färbeergebnis:**

Keratin:	orange
Collagenes Gewebe:	orange bis rot

Lit.: Johnson, P. L. & Klein, M. N. (1956), Stain Techn. 31 : 223 - 225  
Papanicolaou, G. N. (1942), Science 95 : 458

## Säurefuchsin-Essigsäure

Unterscheidung der alpha- und beta-Zell-Granula in Schleimpräparaten

Notwendige Lösung:

A. Säurefuchsin	1 g
Wasser dest.	100 ccm
Eisessig	1 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Hellyscher Flüssigkeit, 6 - 24 Stunden, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe einbringen in Wasser.
3. Färben in Lösung A, 1 Stunde.
4. Waschen unter fließendem Wasser.
5. In noch feuchtem Zustand Kontrolle unter dem Mikroskop, wenn beta-Zellen nicht bläulich-violett erscheinen, so nochmals einstündige Färbung mit Lösung A und erneute Kontrolle.
6. Entwässern durch aufsteigende Alkoholreihe.
7. Aufhellen in Toluol, einbetten in Canadabalsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Alpha-Zell-Granula:	rot
Beta-Zell-Granula:	blau-violett

Lit.: Petrovitch, A. (1953), Bull. Micr. Appl. Ser. 2, 3; 84—85.

## Erythrosin-Wasserblau-Haematoxylin

Zyklus-Diagnostik

Notwendige Lösungen:

- A. Haematoxylin, Ehrlich
- B. Erythrosin 0,5 %ig wässrig
- C. Phosphormolybdänsäure 2 %ig
- D. Wasserblau 2 %ig wässrig

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in gleichen Teilen Äther-Alkohol, 5 - 15 Minuten.
2. Gründlich waschen in absteigender Alkoholreihe.
3. Waschen in Wasser.
4. Färben in Lösung A, 20 Minuten.
5. Waschen in Wasser.
6. Differenzieren in 0,5 %iger Salzsäure.
7. Waschen in fließendem Wasser, einige Stunden.
8. Bläuen in Lithiumcarbonatlösung gesättigt wässrig.
9. Gut waschen in Wasser.
10. Einlegen in Lösung B, 15 Minuten.
11. Waschen mit Wasser.
12. Beizen in Lösung C, 5 Minuten.
13. Gut waschen in Wasser.
14. Färben in Lösung D, 20 Minuten.
15. Gut waschen mit Wasser.
16. Trocknen an der Luft, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Kerne:	dunkelblau
Cytoplasma:	rot oder blau (während der Menstruation), schwach purpur (kurz vor der Menstruation)

Lit.: Van Duijn, Inr., C. (1956), Mikroskopie, 10:396 -400

## **Alizarinrot S** Calcium-Nachweis

Notwendige Lösungen:

- |                                   |        |
|-----------------------------------|--------|
| A. Aluminiumacetat 2 %ig wässrig  |        |
| B. Alizarinrot S                  | 1 g    |
| Wasser dest.                      | 99 ccm |
| C. Polychromes Methylenblau, Unna |        |

### **Färbevorschrift:**

1. Beizen der in Alkohol fixierten und in Paraffin eingebetteten Schnitte in Lösung A, 24 Stunden.
2. Waschen in Wasser.
3. Färben in Lösung B, 24 Stunden.
4. Waschen in Wasser.
5. Waschen in 95 %igem Alkohol bei 60° C.
6. Gegenfärben in Lösung C.
7. Waschen, entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Calcium:	rot
Cytoplasma:	gelb
Kerne:	blau
Knorpel:	tief violett

Lit.: Langeron, M. (1934), *Precis de microscopie*, 5. Aufl. (Masson & Cie., Paris)

## **Haematoxylin-Heidenhain** Kernfärbung

Notwendige Lösungen:

- A. Eisensalz-Lösung Heidenhain I
- B. Haematoxylin Heidenhain II
- C. Orange G 0,5 %ig wässrig

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Zenker oder Bouin, einbetten in Paraffin.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren.
3. Durch absteigende Alkoholreihe, beizen in Lösung A, 30 Minuten bis 3 Stunden.
4. Waschen in Wasser.
5. Färben mit Lösung B, 1 - 3 Stunden.
6. Waschen in Wasser.
7. Differenzieren mit Lösung A (Kontrolle unter dem Mikroskop).
8. Waschen in Wasser, 5 - 10 Minuten.
9. Gegenfarben mit Lösung C, 2 - 5 Minuten.
10. Entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Kerne:	schwarz
Cytoplasma-Struktur:	orange

Lit.: Heidenhain, M. (1892), *Festschrift f. A. v. Kölliker* (Engelmann, Leipzig) 109 - 165  
Mayer, P. (1899), *Zts. Wiss. Mikr.*, 16, 196 - 220

## **SUDAN III** Fettfärbung

Notwendige Lösungen:

- A. Sudanlösung, Daddi
- B. Haemalaun, sauer, Mayer

### **Färbevorschrift:**

Zur Verwendung kommen Gefrierschnitte.

1. Fixieren in Formalin oder Helly.
2. Schnitte übertragen in 50 %igen Alkohol.
3. Färben mit Lösung A, 30 Minuten.
4. Über 50 %igen Alkohol einbringen in Wasser.
5. Gegenfärben mit Lösung B, 4 - 6 Minuten.
6. Spülen mit fließendem Wasser.
7. Einbetten in Glyceringelatine Kaiser oder Gelatinol.

### **Färbeergebnis:**

Fett: rotgelb  
Kerne: violett

Lit.: Daddi, Arch. ital. Biol., Bd. 26, 142 - 146

## **SUDANSCHWARZ** Fettfärbung

Notwendige Lösungen:

- |                                |         |
|--------------------------------|---------|
| A. Sudanschwarz                | 0,1 g   |
| Alkohol 70 %ig                 | 100 ccm |
| B. Kernechtrot-Aluminiumsulfat | 5,2 g   |
| Wasser dest.                   | 95 ccm  |

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren in Helly, einbetten in Histowachs oder Anfertigung von Gefrierschnitten.
  2. Übertragen aus 40 %igem Alkohol in Lösung A für 30 Minuten bis 3 Stunden (Kontrolle).
- Anm.: Großtropfiges Fett ist schon in 5 -10 Minuten stark gefärbt.
3. Kurz spülen in Alkohol 40 %ig.
  4. Gegenfärben mit Lösung B, 10 - 15 Minuten.
  5. Spülen in Wasser.
  6. Einbetten in Glyceringelatine oder Gelatinol.

### **Färbeergebnis:**

Fett: blauschwarz  
Kerne: rot

Lit.: Lison, C. R. Soc. Biol., Paris, Bd. 115, 202 - 205

## **SHORR-Stain** Vaginal-Ausstriche

Notwendige Lösung:

- A. Shorr, Differential Stain S 3

### **Färbevorschrift:**

1. Fixieren der noch feuchten Ausstriche mit gleichen Teilen Äther und Alkohol, 1 - 2 Minuten.
2. Färben mit Lösung A, 1 Minute.
3. Entwässern in 70 %igem und absolutem Alkohol durch mehrmaliges Eintauchen.
4. Aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### **Färbeergebnis:**

Verhornte Zellen: orangerot  
Nicht verhornte Zellen: grün

Lit.: Shorr, (1940), Science 91, 321  
Shorr, (1941), Science 94, 545  
Sinai, J. Mt. (1945), Hosp. XII, 667

## Luxol fast blue MBS-Perjodsäure-Schiff-Methode

### Nieren-Schnitte

Notwendige Lösungen:

A. Luxol fast blue MBS	0,1 g
Alkohol 95 %ig	100 ccm
B. Lithiumcarbonat 0,05 %ig wässrig	
C. Perjodsäure 0,5 %ig wässrig	
D. Schiffs-Reagens	
E. Natriummetabisulfit	0,5 g
Wasser dest.	99 ccm
Salzsäure conc.	1 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Regaud, einbetten in Paraffin, entparaffinieren, über absoluten Alkohol einbringen in 95 %igen Alkohol
2. Direkt einlegen in Lösung A, färben 2 - 4 Stunden.
3. Farbüberschuß auswaschen mit 95 %igem Alkohol und Wasser.
4. Differenzieren mit Lösung B, 3 - 5 Sekunden.
5. Waschen mit 70% igem Alkohol und Wasser.
6. Einlegen in Lösung C, 5 Minuten.
7. Übertragen in Lösung D, 20 Minuten.
8. Mehrmals waschen in Wasser.
9. Einbringen in Lösung E, 3maliger Badwechsel, je 1 - 2 Minuten.
10. Waschen in Wasser, entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Bürstenbesatz:	rötlich
Mitochondria:	dunkelblau
Hyalin, Grundmembran:	purpur

Lit.: Shanklin, W. M. & Nassar, T. K. (1959), Stain Tech., 5:257

## Fastgreen FCF-Safranin

### Mitochondria-Färbung

Notwendige Lösungen:

A. Fastgreen FCF	2 g
Anilin	5 ccm
Wasser dest.	45 ccm
B. Pikrinsäure 1,2 %ig wässrig	
C. Phosphormolybdänsäure 1 %ig wässrig	
D. Safranin rein	1 g
Alkohol	50 ccm
Wasser dest.	50 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren, einbetten.
2. Aufkleben der Schnitte, entparaffinieren, durch absteigende Alkoholreihe einbringen in Wasser.
3. Färben in Lösung A (auf 62° C erwärmt), 6 Minuten.
4. Spülen in Wasser.
5. Einbringen in Lösung B, 10 Minuten.
6. Spülen in Wasser.
7. Beizen in Lösung C, 1 Minute.
8. Waschen in Wasser.
9. Gegenfärben mit Lösung D, 3 - 6 Minuten.
10. Durch aufsteigende Alkoholreihe entwässern (Mikroskopkontrolle, da Safranin in Alkohol löslich), aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Mitochondria:	blaugrün
Erythrocyten, Nucleoli, Plasmosomen:	grasgrün
Kerne, Plasma:	safraninrot

Lit.: Harman, J. W. (1950), Stain Tech., 25:69

## Alcianblau-Perjodsäure-Schiff-Reaktion

### Mucopolysaccharide

Notwendige Lösungen:

A. Alcianblau 8 GS	0,5	g
Wasser dest.	100	ccm
Essigsäure conc.	0,5	ccm
Chloroform	einige Tropfen	
B. Phosphormolybdänsäure 1 %ig wässrig		
C. Perjodsäure 0,8 %ig wässrig		
D. Reagens nach Schiff		
E. Natriummetabisulfit	0,5	g
Wasser dest.	99	ccm
Salzsäure conc.	1	ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in 4 %iger Formollösung in 90 %igem Alkohol, einbetten in Paraffin.
2. Entparaffinieren, über absteigende Alkoholreihe einbringen in Wasser.
3. Färben in Lösung A, 10 Minuten.
4. Waschen in Wasser.
5. Einlegen in Lösung B, 6 Minuten.
6. Gründlich spülen in Wasser.
7. Einstellen in Lösung C, 10 Minuten.
8. Gut spülen mit Wasser, 5 Minuten.
9. Einlegen in Lösung D, 15 Minuten.
10. Spülen mit Lösung E, 3 maliger Badwechsel je 2 Minuten.
11. Waschen in Wasser, 2 - 5 Minuten.
12. Über aufsteigende Alkoholreihe klären in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Glykogen:	purpurrot
Neutrale Mucopolysaccharide:	blassrot
Saure Mucopolysaccharide:	blau bis blauviolett

Lit.: Runge, H., Ebner, H. & Lindenschmidt, W. (1956), Deut. Med. Woch. 38:1526

## Luxol fast blue MBS

### Alpha-Zellen

Notwendige Lösungen:

A. Luxol fast blue MBS	0,1 g
Alkohol 95 %ig	100 ccm
Eisessig	10 Tropfen
B. Lithiumcarbonat 0,05 %ig wässrig	
C. Erythrosin	1 g
Wasser dest.	100 ccm

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Bouin oder Formalin, einbetten in Paraffin, entparaffmieren.
2. Nach Behandlung mit absolutem und 95 %igem Alkohol, sofort färben in Lösung A bei 55° C, 2 - 4 Stunden.
3. Entfernen des Farbüberschusses mit 95 %igem Alkohol und Wasser.
4. Differenzieren durch rasches Eintauchen in Lösung B, 3 - 5 Sekunden. Anschließend 4 Waschungen mit 70 %igem Alkohol. Das letzte Alkoholbad muss frei von Farbstoff sein.
5. Waschen in Wasser (Differenzierungskontrolle unter dem Mikroskop).
6. Gegenfärben mit Lösung C, 5 - 10 Sekunden.
7. Waschen in Wasser, entwässern, aufhellen in Xylol, einbetten in Balsam oder Malinol.

### Färbeergebnis:

Alpha-Zellen: blau  
Beta-Zellen: ungefärbt

Lit.: Shanklin, W. M.; Nassar, T. K.; Issidorides, M. (1959), Stain Tech. 2:55

## Luxol fast blue MBS

### Hirn-Schnitte

A. Luxol fast blue MBS	0,1 g
Wasser dest.	100 ccm
Eisessig	10 Tropfen
B. Lithiumcarbonat 0,05 %ig wässrig	

### Färbevorschrift:

1. Fixieren in Formalin, 1 - 2 Wochen vor der Färbung.
2. Waschen in Wasser, mindestens 6 Stunden.
3. Entwässern, 2 mal in 95 %igem Alkohol, je 1 Stunde.
4. Färben bei 45 - 55° C in Lösung A, 16 - 18 Stunden.
5. Entfernen des Farbüberschusses mit 95 % gem Alkohol.
6. Spülen in Wasser.
7. Differenzieren mit Lösung B, bei mehrmaligem Badwechsel.
8. Mehrmals spülen in 70 %igem Alkohol unter Schütteln.
9. Waschen in Wasser.
10. Einbetten in Gelatinol

### Färbeergebnis:

Weißer Substanz: leuchtend blau  
Graue Substanz: blassgrün oder grau

Lit.: Dziabis, M. D. (1958), Stain Tech. 2:96