

Fibel der histologischen Technik

Von

Gerda Heinrich

Dresden

2., überarbeitete und erweiterte Auflage

Mit 11 Abbildungen im Text



VEB GUSTAV FISCHER VERLAG · JENA

1957

Fibel der histologischen Technik

Von

Gerda Heinrich

Dresden

2., überarbeitete und erweiterte Auflage

Mit 11 Abbildungen im Text



VEB GUSTAV FISCHER VERLAG · JENA

1957

Alle Rechte vorbehalten

Printed in Germany

Copyright 1957 by VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Lizenz-Nr. 261 · 215/6/57

Gesamtherstellung: VEB Leipziger Druckhaus, Leipzig (III/18/203)

Vorwort zur zweiten Auflage

Die „Fibel“ ist zu meiner großen Freude mit so viel Zustimmung aufgenommen worden und hat weit über den erwarteten Kreis hinaus Interesse erweckt, daß sich nicht nur eine zweite Auflage, sondern auch eine Erweiterung nötig machte. Ich war bei dieser zweiten Auflage bemüht, die mir zugegangenen Wünsche weitgehend zu erfüllen. Es wurden einige Techniken und Methoden, besonders auch histochemische Reaktionen, hinzugefügt, die ohne große Schwierigkeit auch in kleinen Laboratorien durchgeführt werden können, z. B. Gefrierschneiden mit Messertiefkühlung, Paraffin-Schnelleinbettung mit Dioxan, Amyloid- und Cholesterin-Nachweis, Neurofibrillen- und Markscheidenfärbung, Nuklealfärbung-FEULGEN und PAS-Reaktion. Die Bakterienfärbung wurde durch Tbc- und Spirochäten-Nachweis ergänzt.

Herrn Dozent Dr. P. GEDIGK, Bonn, möchte ich meinen Dank aussprechen für seine Ergänzungsvorschläge, für Literaturhinweise sowie Überlassung zweier Färbvorschriften.

Auch Herrn Dr. R. KRIMMENAU, Dresden, möchte ich danken für seine Hilfe bei der Beschaffung von Literatur.

Dem VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, und seinen Mitarbeitern gilt wieder mein besonderer Dank für jederzeitiges Entgegenkommen bei der Herausgabe und Ausstattung des Buches.

Dresden, im Februar 1957

Gerda Heinrich

Vorwort zur ersten Auflage

Durch den derzeitigen Mangel an Fachliteratur für histologische Technik — denn die Standardwerke sind meist nur in größeren Fachlaboratorien oder -büchereien vorhanden und nicht jeder Kollegin als persönliches Eigentum erreichbar — sah ich mich veranlaßt, einige wenige Untersuchungsmethoden zusammenzustellen, wie sie im histologisch-diagnostischen Laboratorium üblich sind.

Ich möchte mich mit dieser „Fibel“ insbesondere an die Kolleginnen wenden, die ohne Vorkenntnisse vor die Aufgabe gestellt werden, histologisch zu arbeiten und ihnen das wichtigste Material und einige kleine Ratschläge aus der Praxis für die Praxis in die Hand geben und ihnen damit helfen, sich in dieses ihnen neue Gebiet mit Freude und Erfolg einzuarbeiten. Für größere Spezialaufgaben sind jederzeit die umfassenden Fachwerke zu Rate zu ziehen, vor allem B. ROMEIS „Mikroskopische Technik“ Leibnitz-Verlag, München, G. SCHMORL „Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden“ Verlag F. C. Vogel, Leipzig, und F. ROULET „Methoden der pathologischen Histologie“, Verlag Springer, Wien.

Indem ich mit dieser „Fibel“ meine Erfahrungen weitergebe, möchte ich zugleich meinen herzlichen Dank abstaten allen Kolleginnen und Kollegen, die mir in meiner beruflichen Entwicklung jederzeit mit ihren Erfahrungen und Ratschlägen behilflich waren.

Danken möchte ich auch Herrn Dr. med. G. STRIETZEL vom Pathologischen Institut der Universität Rostock für seine Anregungen und Ratschläge.

Dem VEB Gustav Fischer Verlag danke ich für das freundliche Entgegenkommen bei der Herausgabe der Fibel.

Dresden, im September 1954

Gerda Heinrich

Inhaltsverzeichnis

Materialeingang und Kennzeichnung	1
Der Materialeingang	1
Die Kennzeichnung	2
Fixation und Fixationsmittel	4
Die Fixation	4
Fixationsmittel	5
Formol	5
Alkohol	6
Sublimathaltige Fixationsmittel	7
Weitere Fixationsmittel	9
Konservierung in natürlichen Farben (Kaiserling)	11
Fixation Zusammenfassung (Tabelle)	12
Entkalken von Knochen oder kalkhaltigen Geweben	12
Allgemeines	12
Vorbehandlung	13
Die Entkalkung	13
Entkalkungsflüssigkeiten	14
Gefriermethode	15
Allgemeines	15
Die Anfertigung von Gefrierschnitten	16
Aufziehen von Gefrierschnitten	17
Zusammenfassung der Gefriermethode	19
Gefrierschnittmethode mit Messertiefkühlung	20
Einbettungsmethoden	22
Paraffineinbettung	22
Entwässerung (Alkoholreihe)	22
Intermedium	23
Durchtränken	25
Einblocken	27
Die Orientierung	28
Das Erstarren des Blocks	29
Das Aufblocken	29
Das Schneiden des Paraffinblockes	30

VI

Das Aufziehen von Paraffinschnitten	33
Entparaffinieren	34
Die Anfertigung von Serienschnitten	35
Aufbewahrung von Paraffinblöcken	37
Bei Paraffineinbettung besonders zu beachten	37
Zusammenfassung und Zeittafel zur Paraffineinbettung ..	38, 39
 Gelatineeinbettung	 38
Herstellung der Lösungen	40
Durchtränken mit Gelatine	40
Einblocken in Gelatine	40
Das Schneiden von Gelatineblöcken	41
Zusammenfassung der Gelatineeinbettung	41
 Celloidineinbettung	 42
Herstellung der Lösungen	42
Vorbereitung der Präparate	42
Durchtränken, Einblocken und Aufblocken	42
Das Schneiden von Celloidinblöcken	44
Zusammenfassung der Celloidineinbettung	45
 Färbungen und Färbemethoden	 46
Allgemeines	46
Nachbehandlung gefärbter Schnittpräparate	47
Technik des Abdeckens	50
Färbetechnik	52
Färbemethoden	54
Hämatoxylin-Eosin-Färbung	54
 Bindegewebsfärbungen	 61
van-Gieson-Färbung	61
Azanfärbung nach Heidenhain	63
Goldner, Trichromfärbung	64
Silberimprägnation nach Tibor Pap	66
Silberimprägnation nach Tibor Pap, Zusammenfassung	69
 Neurofibrillenfärbung	
nach Boeke	70
 Markscheidenfärbung	
nach Benda-Spielmeyer	72
Luxol fast blue M. B. S.	73

VII

Elastika-Färbung	
nach Weigert	74
Fibrinfärbung	
nach Weigert	75
Amyloidnachweis	
Jodreaktion	76
Jod-Schwefelsäure-Reaktion	77
Färbung mit Methylviolett	77
Färbung mit Kongorot	78
Schleimfärbung	
Mucicarminfärbung	79
Färbung mit Toluidinblau	79
Astrablaufärbung	80
Fettfärbung	
Sudan III	80
Färbung mit Scharlachrot nach Herxheimer	81
Färbung mit Sudanschwarz B	82
Färbung mit Chlorophyll	82
Fettdarstellung durch Osmiumsäure	82
mit Nilblausulfat	82
Cholesterinnachweis	
nach Liebermann-Schultze	83
Darstellung von Glykogen	84
Carmin-Färbung nach Best	85
Glykogendarstellung mit Jod	87
Speichelreaktion	87
PAS-Reaktion	87
nach Schüller	88
nach Limburg-Ober	88
Darstellung feinsten Kernstrukturen	
Safranin-Lichtgrün-Färbung	90
Nuklealfärbung nach Feulgen	91
Methylgrün-Pyroninfärbung	93
Frühdiagnose von Tumorzellen im Ausstrich	
Papanicolaou	93

VIII

Shorrfärbung zur Zyklusdiagnostik nach Smolka-Soost	97
Bakteriennachweis	
Gram-Färbung im Schnitt	97
Tbc-Färbung Ziehl-Neelsen im Schnitt	97
Spirochätendarstellung nach Levaditi	98
Eisennachweis	
Turnbullblau-Methode	99
Berlinerblau-Reaktion	100
Anfertigung eines Schnellschnittpräparates	101
Paraffin-Schnelleinbettung	102
Herstellung von Lösungen	103
Farblösungen	107
Voraussetzungen für ein histologisches Labor	113
Das Archiv	117
Glasmaterial und dessen Reinigung	117
Fleckentfernung von Händen und aus Wäsche	118
Literaturangaben	119
Sachverzeichnis	120

Materialeingang und Kennzeichnung

Der Materialeingang

Die histologische Untersuchung hat, von wissenschaftlicher Forschung abgesehen, im allgemeinen die Aufgabe, eine klinische Diagnose zu klären oder zu bestätigen. Gewissenhafte und sorgfältige Arbeit ist daher im histologischen Laboratorium ebenso unerläßlich wie in allen anderen Arbeitsgebieten unseres Berufes.

Das histologische Präparat soll ein möglichst lebensechtes Bild vermitteln, deshalb muß das zur Untersuchung kommende Material so bald wie möglich nach der Entnahme durch Excision oder Operation verarbeitet werden.

Das Untersuchungsmaterial kommt entweder frisch auf einer Schale oder bereits in einer der üblichen Fixierungsflüssigkeiten in einem mit Namen beschrifteten Gefäß mit Antragszettel versehen ins Laboratorium.

Das frische Material wird, falls es noch vom Arzt makroskopisch untersucht und eventuell zurechtgeschnitten werden muß, bis zur weiteren Bearbeitung in den Eisschrank gestellt, um der Autolyse weitgehend vorzubeugen. Es ist darauf zu achten, daß der Zeitraum bis zur weiteren Verarbeitung nicht zu groß ist, er soll 24 Stunden nicht überschreiten. Besser ist eine sofortige Fixierung nach der Gewebsentnahme.

Für das noch nicht zugeschnittene Präparat wird dem Arzt ein Korkbrett zurechtgelegt sowie ein Präparierbesteck, das mindestens bestehen soll aus:

- 1 anatomischen und 1 chirurgischen Pinzette
- 1 kleinen und 1 großen Skalpell sowie
- 1 Schere

Die zur histologischen Untersuchung kommenden Stücke sollen so zugeschnitten sein, daß sie möglichst nicht größer als etwa 1 cm^2 und 3—5 mm dick sind.

Über den Materialeingang wird genau Buch geführt.

Im Protokollbuch wird festgehalten:

- die laufende Nummer der Untersuchungsobjekte,
- das Eingangsdatum,

Personalien des Patienten, von dem das Material stammt (bzw. Kennzeichnung des Versuchstieres usw.),
 Operations- bzw. Sektionsdatum,
 Name des beantragenden Arztes,
 Art und Herkunft des Materials,
 klinische Diagnose.

Nach beendeter Untersuchung wird in das gleiche Protokollbuch nachgetragen:

histologische Diagnose,
 Name des die Diagnose stellenden Arztes,

Datum, wann der Befund der beantragenden Stelle mitgeteilt wurde.
 Schließlich muß im Protokollbuch noch vermerkt sein, in welchem Präparatenkasten und unter welcher Nummer in diesem Kasten die Schnittpräparate für spätere Betrachtung wiederzufinden sind.

Beispiel für die Eintragung im Protokollbuch¹:

Nr.	Datum	Personalien	Op.-Datum u. Arzt	Material	Diagnose
928	14. 10. 53	Krüger, Hildegard geb. 3. 8. 18 Stat. 97	14. 10. 53 Dr. Frank	Probeexcis. Portio	suspekte Portio- erosion
histol. Diagnose		Arzt	Datum	Präp.-Kasten	
Plattenepithelcarcinom		Dr. Hesse	17. 10. 53	124/18—29	

Die Kennzeichnung

Die Kennzeichnung der einzelnen Untersuchungsobjekte hängt von der Anzahl der täglich eingehenden Präparate ab. Bei nicht zu großem Betrieb wird **jedes einzelne Stück** mit dem ihm zugehörigen **Nummernzettelchen** in ein Stückchen Mull verpackt. Das Nummernzettelchen wird zweckmäßig mit Bleistift geschrieben, um ein Auswaschen der Tinte zu vermeiden. Zum Einpacken wird am besten ein Stück Mullbinde abgeschnitten und hieraus nach Einlegen des Materialstückchens und des Nummernzettels ein kleines Bündelchen gemacht, das mit den sich von der Mullbinde stets abfasernden Fäden umwickelt wird. Auf diese Weise ist eine **Verwechslung** der einzelnen Präparate **ausgeschlossen**, und es können mehrere solcher kleinen Bündel gleichzeitig weiter verarbeitet werden.

Ich selbst arbeite mit kleinen **Tüten**, die ich mir **aus Rundfiltern** falte, auf die ich, ebenfalls mit Bleistift, Nummer und Datum notiere. Mehrere

¹ Sämtliche Namen und Daten frei erfunden.

solcher Tütchen mit kleinen Excisionen stelle ich sorgfältig zugefaltet nebeneinander in die Gefäße mit Fixierungs- und Härtingsflüssigkeiten. Hierbei wird durch die Spitze des Tütchens gleichzeitig verhindert, daß das Präparat völlig auf den Boden des Gefäßes sinkt, was für die vollständige Entwässerung im Alkohol besonders wichtig ist, worauf später noch eingegangen wird. Tütchen: Abb. 1. Besteht das Material aus mehreren Stücken, z. B. bei einer Curette, wobei die Gefahr eintritt, daß das Tütchen sich durch die Fülle öffnet, sichere ich den *Falt-Verschluß* des Tütchens durch eine kleine Drahtklammer, wie sie im Operationssaal bei Hautnähten verwendet werden (*HERFFSche Klammern*). Je nach der Anzahl der eingelegten Tütchen richtet sich die Größe des Gefäßes. In jedem Fall muß ausreichende Flüssigkeitsmenge gewährleistet sein.

Da in dem Mull und noch mehr im Filtrierpapiertütchen Flüssigkeit aufgesaugt wird, welche die nachfolgende Lösung verunreinigt, muß man Bündelchen und Tütchen beim Überführen aus einer Lösung in die andere auf Zellstoff oder einem Tuch gut abtropfen.

Wo es das Material und die Fragestellung der Untersuchung zulassen, fädele ich größere Stücke am Rand auf einen Faden, an den ein mit Bleistift geschriebener Zettel mit Nummer und sonstiger Kennzeichnung des Materials gehängt wird wie ein Fähnchen. (Aus festem Papier, damit es nicht ausreißt!)



Abb. 1. Tütchen zur Kennzeichnung

Bei **Großbetrieb** wird vielfach so gearbeitet, daß die **Präparate**, sofern es sich um kleine Excisionen handelt, in den **Eingangsgefäßen** bleiben, die mit der zugehörigen **Protokollbuchnummer beschriftet** werden. In diese Gefäße kommen dann nach Abgießen der jeweils vorhergehenden Flüssigkeit nacheinander alle zum Arbeitsgang erforderlichen Lösungen. Die einzelnen Lösungen, insbesondere Alkohole, werden aus Sparsamkeitsgründen in Standgefäße zurückfiltriert, um Übertragung von Gewebsbröckeln zu vermeiden, und mehrfach verwendet, bis sie unbrauchbar geworden sind, was an stärkerer Trübung zu erkennen ist.

Zusammenfassung:

Untersuchungsmaterial möglichst bald nach der Entnahme verarbeiten.

Genaue Buchführung über das Material.

Größere Stücke zurechtschneiden lassen.

Gewissenhafte Kennzeichnung.

Besonders zu beachten:

- Autolyse des Untersuchungsmaterials verhüten.
- Verwechslung unmöglich machen.
- Materialstückchen nicht zu groß lassen.

Fixation und Fixationsmittel

Die Fixation

Das Untersuchungsmaterial wird im allgemeinen fixiert.

Die Fixation hat die Aufgabe, das Gewebe in möglichst lebensechtem Zustand zu erhalten, deshalb soll sie **so bald als möglich nach der Gewebentnahme vorgenommen werden**, um nachträgliche Veränderungen weitgehend zu vermeiden. Die durch die Fixierung bedingten Gewebsveränderungen, z. B. die Schrumpfung, sind dem erfahrenen Untersucher bekannt und werden bei der mikroskopischen Betrachtung in Kauf genommen.

Die meisten Fixierungsmethoden beruhen auf dem Prinzip der Eiweißkoagulation durch verschiedene chemische Lösungen. Welche der zahlreichen Fixierungsflüssigkeiten man anwendet, hängt von der Art des Gewebes, von der beabsichtigten weiteren Verarbeitung und von der Größe des Präparates ab. Nicht alle Fixierungsmittel sind für jede Färbung geeignet, ihr Diffusionsvermögen ist unterschiedlich, und manche durchdringen große Stücke nicht schnell genug, was zu schlechter Fixierung führen würde. Gute Fixation ist aber Voraussetzung für gutes Schneiden und Färben.

Die Fixierungsflüssigkeit soll nicht zu knapp bemessen sein, weil sie sonst durch das im Gewebe enthaltene Wasser verdünnt wird und nicht voll wirksam bleibt.

Die Menge der Fixierungsflüssigkeit soll etwa das Fünfzigfache des Volumens des zu fixierenden Präparates betragen.

Im allgemeinen wird bei Zimmertemperatur fixiert. Wärme beschleunigt die Fixation, erhöht aber die mit der Fixierung einhergehende Schrumpfung des Gewebes. Auch besteht in der Wärme die Gefahr der Gewebszersetzung im Innern des Präparates, ehe die Fixationsflüssigkeit eingedrungen ist. Dagegen wird die Autolyse weitgehend vermieden, wenn bei niederen Temperaturen im Eisschrank fixiert wird, was besonders bei großen Stücken in Frage kommt.

Die meisten Fixierungsmittel härten das Material zugleich mehr oder weniger. Wo das nicht in ausreichendem Maße der Fall ist, wird in hochprozentigem Alkohol nachgehärtet. Deshalb sollen keine enghalsigen Gefäße, etwa in Flaschenform, verwendet werden, in die

man das frische, noch weiche Präparat wohl hinein- nach Härtung aber nicht wieder herausbekommt, ohne das Gewebe zu beschädigen, was unbedingt vermieden werden muß.

Die Dauer der Fixierung ist je nach Volumen und Beschaffenheit des zu untersuchenden Gewebes sowie des Fixationsmittels verschieden, sie ist bei den einzelnen Lösungen für durchschnittliche Verhältnisse angegeben. Bei abgeschlossener Fixation muß das Präparat vollständig von der Fixationsflüssigkeit durchdrungen sein.

Fixationsmittel

Eines der häufigst angewandten Fixationsmittel ist Formalin.

Formalin oder Formol kommt in etwa 40%iger Konzentration in den Handel und muß in braunen Flaschen aufbewahrt werden, da es sich unter Lichteinwirkung durch Bildung von Ameisensäure zersetzt.

Als Fixierungsflüssigkeit verwendet man eine Verdünnung von

1 Teil Formalin + 3 Teile Leitungswasser (entspricht 10%)

oder besser die schwächere Lösung, bestehend aus

1 Teil Formalin + 9 Teile Leitungswasser (entspricht 4%).

In der 4%igen Formalinlösung können die Präparate beliebig lange aufbewahrt werden, während in der 10%igen Lösung, die zwar schneller fixiert, die Präparate bei längerem Verweilen zu hart werden. Solche durch zu langes Einwirken starker Formalinlösung hart gewordenen Präparate können enthärtet werden durch Einlegen für etwa 2 Wochen in 10%ige Zitronensäurelösung.

Die **Fixierungsdauer im Formalin** beträgt je nach Größe der Objekte etwa 24 Stunden. Große Stücke brauchen längere Zeit bis zur völligen Durchfixierung.

Wenn Eile geboten ist, fixiere ich kleine Excisionen $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde im Thermostaten bei 37—56°. **Langsame Fixierung ist schonender!**

Haben Präparate längere Zeit in Formalinlösung gelegen, bei Verwendung von 10%iger Lösung auch schon nach kürzerer Zeit, werden sie vor der Weiterverarbeitung bis zu 12—24 Stunden möglichst fließend gewässert. Bei täglichen Materialeingängen, bei Verwendung von 4%igem Formalin und bei laufender Weiterbehandlung kann das Wässern fortgelassen werden, jedoch ist es notwendig bei Fett- und Bindegewebsfärbungen. Die Technik des Wässerns wird in einem besonderen Abschnitt beschrieben.

Zuweilen bilden sich dunkelbraune **Formolniederschläge** im Präparat. Diese werden entfernt, indem die ungefärbten Schnitte, bei Paraffinschnitten nach der Entparaffinierung, für 10 Minuten bis 4 Stunden in 70%igen Alkohol gebracht werden, dem 1—4% Salmiakgeist zugesetzt

ist (Kardasewitsch). Ich lasse die Präparate 1 Stunde in der Lösung. Dieser Salmiak-Alkohol wird in einem gutverschlossenen Gefäß gehalten, entweder in einer Kuvette oder bei größerem Betrieb in einem Glaskasten mit aufgeschliffenem Deckel, in den man gleich sämtliche Präparate auf einmal einstellen kann. Anschließend wird gründlich gewässert und beliebig gefärbt.

Die Reaktion des Formalins ist durch die Verdünnung mit Leitungswasser etwa **neutral**, wie es zu den meisten Methoden erforderlich ist. Zur Prüfung der Reaktion wird in eine kleine Versuchsmenge ein Tropfen 0,1% Neutralrotlösung gegeben, wobei sich eine saure Lösung rot färbt, eine alkalische orange-gelb. Im allgemeinen genügt die Prüfung mit Lackmuspapier.

Zum **Neutralisieren des Formalins** kann man es über einem 1—2 cm hohen Bodensatz von Calciumcarbonatpulver halten, wobei anfangs öfter umzuschütteln ist. Vor Gebrauch wird filtriert. Beim erstmaligen Ansetzen des Formols mit Calciumcarbonatzusatz genügt eine etwa 24stündige Einwirkung, um den Säuregehalt abzustumpfen.

Das mit Calciumcarbonat behandelte Formalin wird besonders bei Silberimprägnationsmethoden verwendet zur Darstellung von Neurofibrillen, was bei etwa 3—9wöchiger Fixationszeit am besten gelingt.

Zur Darstellung von Neurofibrillen wird Formol auch mit Pyridin neutralisiert, was den Vorteil hat, daß es keine Formolniederschläge gibt. Auch wirkt das Pyridin hemmend auf eine gleichzeitige Imprägnierung des Bindegewebes.

Formol-Pyridin Burke (pH 7—7,5)

25 ml Formalin

5 ml Pyridin rein

75 ml aq. dest.

In mindestens 20fachem Volumen des Präparates fixieren. **Fixationsdauer** für Neurofibrillen 2—3 Wochen, sonstiges Material 48 Stunden. Danach gründlich **auswaschen** in aq. dest.

Über Magnesiumcarbonat wird das Formalin leicht alkalisch.

Von den zahlreichen weiteren Fixierungsmitteln seien hier einige der bekanntesten genannt:

Alkohol. Soll Material schnell zur Einbettung gelangen, wird es in 96%igem oder absol. Alkohol fixiert. Niedere Konzentrationen fixieren schlecht und verursachen deshalb stärkere Schrumpfung bei der weiteren Bearbeitung. **Der Alkohol** soll reichlich bemessen sein und **muß 2mal gewechselt werden.**

Da das dem Gewebe durch den Alkohol entzogene Wasser zu Boden sinkt, soll das Präparat nicht auf dem Boden des Gefäßes liegen. Das wird vermieden durch Einlage von Glaswolle — Watte

fusselt zu leicht — oder durch Aufhängen des Präparates an dem Fädchen der Kennzeichnung bzw. mit dem das Mullbündelchen umwickelt ist, wobei das Fädchen dann zwischen den Verschuß des Gefäßes geklemmt wird, so daß das Präparat in der Schwebe bleibt, jedoch vom Alkohol bedeckt sein muß. Oder man arbeitet mit Tütchen (Abb. 1).

Da **hochprozentiger Alkohol** zugleich **härtet**, darf das Material nicht zu lange darin bleiben. Wird es nicht gleich weiterverarbeitet, muß es zur längeren Aufbewahrung in 80%igen Alkohol zurückgeführt werden.

Alkoholfixation ist für größere Stücke ungeeignet, weil durch die baldige Härtung des Außenrandes des Präparates das Eindringen in die Tiefe verhindert wird und schlechte Fixierung zur Folge hätte.

Fixationsdauer im Alkohol

kleine Stücke, 1—3 mm, 1—3 Stunden,
größere Stücke 6—12 Stunden

Bei Alkoholfixierung sollen die Präparate möglichst nicht dicker als 5 mm sein. Wärme beschleunigt die Fixation.

Sublimathaltige Fixationsmittel:

Zur Fixierung feiner Gewebsstrukturen verwendet man gern **sublimathaltige Fixationsmittel**. Sublimat wirkt stark eiweißfällend, daher eignen sich sublimathaltige Lösungen nur für kleine Stücke, denn sie dringen zwar anfangs schnell ein, bilden aber eine Hülle von koaguliertem Eiweiß, die tieferes Eindringen erschwert.

Beim Arbeiten mit Sublimatlösungen dürfen keine Metallinstrumente verwendet werden; man arbeitet mit Glasnadel oder Bakelitpinzette. **Sublimatfixierte Präparate werden vor der Weiterbehandlung nicht mit Wasser, sondern mit 70%igem Alkohol ausgewaschen**, etwa 24 Stunden, wobei der Alkohol 2—3mal zu wechseln ist.

Zum Entwässern sublimatfixierter Präparate wird eine besondere Alkoholreihe benutzt.

Alle sublimatfixierten Präparate müssen von Sublimatniederschlägen befreit werden; das geschieht an den ungefärbten Schnitten. Diese kommen über Nacht oder 24 Stunden, falls ein Sonntag dazwischen ist ruhig 2 Tage, in Jodalkohol. Das ist 94—96%iger Alkohol, dem so viel alkohol. Jodlösung (Jodtinktur) zugesetzt ist, daß er cognakbraun gefärbt ist. Nach der Jod-Alkohol-Behandlung werden die Schnitte 5 Minuten, aufgezoogene Schnitte möglichst fließend, gewässert und für 1 Stunde in 0,25—0,5%ige Natriumthiosulfatlösung gebracht. Danach wieder 1 Stunde möglichst fließend wässern und beliebig färben.

Die 0,25%ige Natriumthiosulfatlösung wird durch Verdünnung 1 : 10 aus einer 2,5%igen Stammlösung hergestellt. Die verdünnte Lösung ist öfter zu erneuern.

Sublimataalkohol nach Schaudinn

42 g reines Sublimat werden in einem Literkolben in 600 ml kochendem aq. dest. unter ständigem Rühren mit einem Glasstab gelöst.

Vor der Zugabe des Sublimats die Flamme abdrehen und das Sublimat vorsichtig zugeben (wallt auf, deshalb großer Kolben).

Nach dem Erkalten werden 300 ml 96%iger Alkohol zugesetzt.

Fixationsdauer: 12—24 Stunden,
danach **Auswaschen** in 70%igem Alkohol.

Sublimat-Formol-Eisessig-Gemisch nach Stieve

76 ml gesättigte wäßrige Sublimatlösung

20 ml Formol

4 ml Eisessig

Die gesättigte wäßrige Sublimatlösung wird aus 60 g Sublimat und 1000 ml aq. dest. in einem 2-Liter-Kolben unter gleichen Vorsichtsmaßnahmen hergestellt wie bei SCHAUDINN.

Das Stieve-Gemisch dringt sehr schnell ein und eignet sich daher auch zur Fixation größerer Stücke besonders gut.

Nach der Fixierung kommen die Präparate **gleich in 90%igen Alkohol**.
Fixationsdauer: 12—24 Stunden, kleine Stücke eventuell kürzer

Zenkersches Gemisch:

Kaliumbichromat	2,5 g	} Dieses Gemisch wird MÜLLERSche Flüssig- keit genannt.
Natriumsulfat	1,0 g	
aq. dest.	100,0 ml	
+ Sublimat	5,0 g	} wird erst kurz vor Gebrauch zuge- geben.
Eisessig	5,0 ml	

An Stelle von Eisessig setzt HELLY kurz vor Gebrauch 5 ml Formol zu. MAXIMOW gibt statt Eisessig 10 ml Formol zu. HELLY- und MAXIMOW-Fixierungen eignen sich besonders für nachfolgende Celloidin-einbettung.

Fixationsdauer: 6—24 Stunden
Anschließend gründlich wässern, bis das Wasser farblos bleibt, etwa 24 Stunden.