

Karbofuchsin nach Ziehl-Neelsen

Arbeitsablauf :

1. Ausstriche staubfrei lufttrocknen und anschließend **hitzefixieren** (3x den Objektträger mit Probe nach oben langsam durch die Flamme ziehen)
2. **Färben**: auf Ausstriche Färbelösung auftropfen und den Objektträger durch die Bunsenbrennerflamme ziehen, bis Dämpfe aufsteigen, 3 mal, zwischendurch abkühlen lassen!
3. **Spülen** in fließendem Wasser
4. **Differenzieren** in Salzsäurealkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen (wenige Sek.)
5. **Gegenfärben** mit saurer? Methylenblaulösung 1 min., bzw. mit alkalischer² oder **neutraler**³ Methylenblaulösung
6. **Spülen** in Aqua dest.
7. Deckglas auflegen und Mikroskopieren (oder lufttrocknen, + Immersionsöl)

Ergebnis :

Säurefeste Bakterien fuchsinrot, Hintergrund bläulich

1) <http://www.aeisner.de> – Farbstoffe & Färbemethoden

2) Vogt, K. et. Al. (2013) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, Springer Berlin Heidelberg, S. 892

3) Mulisch, M., and Welsch, U. (2015) *Romeis - Mikroskopische Technik*, Springer Berlin Heidelberg

Ziehl-Neelsen-Färbung Phenol-frei

Arbeitsablauf :

1. **Ausstriche** staubfrei **lufttrocknen** und anschließend hitzefixieren (3x den Objektträger mit Probe nach oben durch die Flamme ziehen)
2. **Färben**: auf Ausstriche 5-7 Tropfen Farbstofflösung auftropfen und den Objektträger durch die Bunsenbrennerflamme ziehen, bis Dämpfe aufsteigen, 3 mal, zwischendurch abkühlen lassen!
3. **Spülen** in fließendem Wasser
4. **Differenzieren** in Salzsäurealkohol 0.4%ig, bis keine Farbwolken mehr abgehen (5-10 s)
5. **Gegenfärben** mit Löfflers Methylenblau für 1 min.
6. **Spülen** in Aqua dest.
7. Deckglas auflegen und **Mikroskopieren** (oder lufttrocknen, + Immersionsöl) oder einbetten in Euparal (1-2h bei 50 °C auf der Wärmeplatte oder über Nacht im Trockenschrank)

Ergebnis :

säurefeste Bakterien fuchsinrot

Karbolfuchsin nach Ziehl-Neelsen

Ansätze :

- **Karbolfuchsinlösung:** (auch für die Heine-Färbung)
1g basisches Fuchsin in 10-15 ml abs. Ethanol lösen
5g Phenol unter gutem Schütteln in 95 ml Aqua dest. lösen
Beide Lösungen vermischen.
Die Farblösung ist haltbar
- **Saure Methylenblaulösung:** (oder Löfflers Methylenblau)
1g Methylenblau werden in 100 ml Aqua dest., das mit 1 ml Eisessig versetzt wurde, gelöst
- **Salzsäurealkohol (keinesfalls mit Brennspritus) 3%ig:**
97ml 70%iges Ethanol werden mit 3 ml konz. (32%) Salzsäure (10 mol/l) oder
mit 4 ml 24% Baumarkt-Salzsäure (ca. 7,23 mol/l) versetzt

Variante Ziehl-Neelsen Phenol-frei

Ansätze:

- **Fuchsinlösung:**

- 160 mg basisches Fuchsin (CI 42510) in 3.4 ml 96%ig Ethanol
- 1.2 ml Benzylalkohol in 1 ml Wasser lösen + 19.4 ml dest. Wasser
- beide Lösungen vermischen

Die Farblösung ist nicht so lange haltbar (Phenol-frei), ggf. vor Gebrauch filtrieren

- **Saure Methylenblaulösung:** (oder Löfflers Methylenblau)

1g Methylenblau werden in 100 ml Aqua dest., das mit 1 ml Eisessig versetzt wurde, gelöst

- **Salzsäurealkohol (keinesfalls mit Brennspritus) 0.4%ig:**

97 ml 70%iges Ethanol werden mit 3.125 ml 24% Baumarkt-Salzsäure (ca. 7,23 mol/l) versetzt. Zum Gebrauch 1:1 mit dest. Wasser verdünnen (*ist dann 0.4%ig*)

Variante Ziehl-Neelsen Phenol-frei

- Ersatz des Phenols im Färbereagens durch 2-Phenylethanol und/oder Benzylalkohol (2-4 Vol.-%). Cave: **kein Phenol zur Keimabtötung mehr vorhanden**
- **Färbelösung** (pro 25 ml):
 - 160 mg Fuchsin (CI 42510)
 - 3.25 ml Ethanol (absolut) **oder 3.4 ml 96%ig**
 - 21 ml Wasser (vollentsalzt) mit 0.6 ml Benzylalkohol (für 2%ige Lsg.) **besser 2 od. 3x**
- Die zur Entfärbung typischerweise verwendete herkömmliche HCl-Ethanol-Lösung erwies sich bei der Verwendung erfindungsgemäßer Färbelösungen als zu stark. Daher wurde sie für viele Anwendungen 1:1 mit vollentsalztem Wasser verdünnt.
Entfärbelösung: HCl (0,75%) / Ethanol (Salzsäure-Alkohol für die Mikroskopie). Diese Lösung wird zum Gebrauch 1 :1 mit Wasser verdünnt.
(97ml 70%iges Ethanol werden mit 3 ml 24%iger Salzsäure (ca. 7.23 mol/l) versetzt, dann zum Gebrauch 1 :1 mit Wasser verdünnt)
- Gegenfärbelösung: Malachitgrün-Oxalat (CI 42000) oder Methylenblau