

XII.

Ueber Chemismus und Technik der Weigert-schen Elastinfärbung.

(Aus dem pathologischen Institut der Universität Bonn.)

Von

Dr. med. Bernhard Fischer,

Assistenten am Institut.

Die von Weigert¹⁾ im Jahre 1898 angegebene Methode zur Färbung elastischer Fasern hat in kurzer Zeit überall Eingang gefunden, und mit Recht darf man sie wohl heute als die beste Methode zur Sichtbarmachung des elastischen Gewebes²⁾ bezeichnen.

Ueber den Chemismus dieser Färbung ist bisher ebenso wenig bekannt, als über die Natur des ihr zu Grunde liegenden Farbstoffs. Schon Weigert (a.a.O.) erwähnte die interessante, von Michaëlis³⁾ weiter verfolgte Thatsache, dass man bei der Darstellung der Weigert'schen Farblösung sowohl das Fuchsin durch eine grosse Reihe anderer Farbstoffe, wie das Resorcin und Eisenchlorid durch eine Anzahl anderer Reagentien ersetzen kann. Man kann auf diese Weise eine grosse Zahl von Farben darstellen, die alle die elastische Faser tingiren, ja Michaëlis zieht daraus den Schluss, dass wir hier eine Gruppe chemisch verwandter Farbstoffe vor uns haben.

¹⁾ C. Weigert, Ueber eine Methode zur Färbung elastischer Fasern. Centralblatt für allgem. Pathologie und pathol. Anatomie, Bd. 9, 1898, No. 8/9 S. 289.

²⁾ Die Literatur über Färbungen elastischer Fasern findet sich zusammengestellt bei V. Pranter, Zur Färbung der elastischen Fasern, Centralblatt für allgem. Pathologie und pathol. Anatomie, Bd. 13, 1902 No. 8/9 S. 292, und besonders bei F. Krzyształowicz, Inwieweit vermögen alle bisher angegebenen spezifischen Färbungen des Elastins auch Elacin zu färben? Monatshefte f. pract. Dermatol., Bd. 30, 1900, No. 6, S. 265.

³⁾ L. Michaëlis, Ueber den Chemismus der Elastinfärbung und seine praktische Anwendung auf Sputumpräparate. Deutsche med. Wochenschrift, Jahrg. 27, 1901, No. 14, S. 219, sowie derselbe, Einführung in der Farbstoffchemie für Histologen, Berlin, 1902, S. 145—147.

Bei einer Nachprüfung der Angaben von Weigert und Michaëlis, die Anfangs nur zum Zwecke der Darstellung verschiedener Elastinfarben vorgenommen wurde, gelang mir die Feststellung verschiedener Thatsachen, die m. E. geeignet sind, auf den Chemismus der Weigert'schen Färbung, wie auf die erwähnten anderen Elastinfarbstoffe einiges Licht zu werfen.

Man stelle die Weigert'sche Farblösung genau nach der Vorschrift, aber unter völliger Fortlassung des Fuchsins dar, d. h. also man löst in einer Porzellanschale 4 g Resorcin in 200 ccm destillirten Wassers unter Kochen, setzt der kochenden Lösung 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. III zu und lässt unter Umrühren noch 2—5 Minuten kochen. Es entsteht hierbei ein brauner, etwas schlammiger Niederschlag. Man lässt hierauf erkalten und filtrirt. Das Filtrat wird fortgegossen, der Niederschlag aber bleibt auf dem Filter, bis das Wasser abgetropft ist. Nun bringt man das Filter mit dem darauf haftenden Niederschlag in dieselbe, inzwischen getrocknete Porzellanschale. Man kocht jetzt den Niederschlag in der Schale unter stetem Umrühren und allmählichem Herausfischen des vom Niederschlag befreiten Filtrierpapiers mit 200 ccm Alkohol von 94 pCt. Dann lässt man erkalten, filtrirt, füllt das Filtrat mit Alkohol wieder auf 200 ccm auf und setzt 4 ccm Salzsäure zu. (Lässt man den Salzsäure-Zusatz fort, so beeinträchtigt dies die Wirkung der Lösung anscheinend nicht.)

Wir erhalten auf diese Weise eine klare, braune, durchsichtige Lösung, die ich der Kürze wegen im folgenden einfach als Ferriresorcin bezeichne. Dieselbe zeigt keine Färbekraft für elastische Fasern. Lässt man sie aber eine halbe bis mehrere Stunden lang auf einen Schnitt einwirken und spült mit Wasser ab, so kann man jetzt ohne Schwierigkeit eine Färbung der elastischen Fasern mit den verschiedensten Farben erhalten, z. B. mit salzsaurer, alkoholischer Fuchsinslösung, mit wässriger Safraninlösung, mit salzsaurer, alkoholischer Vesuvinlösung, ja mit Methylenblau u. a. m. Allerdings reichen die erhaltenen Färbungen nicht an die Weigert'sche heran, besonders sind sie blasser, und zuweilen sind die feineren Fasern nicht deutlich gefärbt, aber trotzdem ist die Färbung gut erkennbar und z. B. bei Fuchsinnachfärbung tritt jede elastische

Faser deutlich rot gefärbt hervor. Selbstverständlich wurden stets Controllpräparate in genau gleicher Zeit gefärbt u. s. w. ohne vorherige Ferriresorcin-Behandlung, und stets waren in diesen die elastischen Fasern völlig ungefärbt.

Mit anderen Worten, es entsteht bei der genannten Darstellung aus Eisenchlorid und Resorcin eine Art Beize, welche die elastischen Fasern der Einwirkung zahlreicher Farbstoffe zugänglich macht. Dass diese Ferriresorcin-Lösung eine besondere Verwandtschaft zum Elastin besitzt, geht auch aus Schnitten hervor, die mehrere Stunden mit ihr behandelt worden sind. Hier ist das ganze Gewebe schwach braun tingirt, nur die an elastischen Fasern reichen Stellen, z. B. die Gefässwände heben sich durch dunkelbraunen Farbenton ab. Erwähnt sei noch, dass weder Eisenchlorid-Lösung, noch Resorcinlösung für sich allein irgend eine Spur ähnlicher Beizwirkung zeigen.

Wie unterscheiden sich nun diese Beizfärbungen von der Weigert'schen Färbung? Dass bei der letzteren nicht etwa das Fuchsin einfach auf die gebeizte Faser einwirkt, geht schon daraus hervor, dass bei der Beize-Fuchsinfärbung sich die elastische Faser leuchtend roth färbt, während sie bei der Weigert'schen Färbung blauschwarz tingirt ist. Auch wenn man auf 100 ccm salzsaurer alkoholischer Ferriresorcin-Lösung 1 g Fuchsin zusetzt, erhält man mit dieser Farbe leuchtend roth gefärbte elastische Fasern. Aber es besteht noch ein weiterer, wie wir weiter sehen werden, sehr wichtiger Unterschied. Im Gegensatz zur Weigert'schen Färbung sind die Beizfärbungen durchweg nicht alkoholfest. Bei einzelnen zerstört der Alkohol in wenigen Secunden die ganze Färbung, bei anderen erst in Minuten, so dass es bei diesen letzteren gelingt, die Färbung einigermaassen festzuhalten, wenn man den Schnitt sehr schnell den Alkohol passiren lässt.

Bei der Weigert'schen Färbung muss also ausser der Beize noch ein anderer Factor wirksam sein, und zwar entsteht bei der Darstellung der Farblösung, wie dies auch von Weigert schon behauptet worden ist, aus dem Fuchsin ein neuer Farbstoff.

Man stelle die Weigert'sche Farblösung genau nach Vorschrift, aber unter völliger Fortlassung des Resorcins dar, d. h. also man löst in einer Porzellanschale 2 g Fuchsin

in 200 ccm destillirten Wassers unter Kochen, setzt der kochenden Lösung 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. III zu und lässt unter Umrühren 2—5 Minuten kochen. Es entsteht hierbei ein blaurother, dunkler, mässig dicker Niederschlag. Man lässt hierauf erkalten, filtrirt u. s. w., wie oben angegeben, und setzt schliesslich der alkoholischen Lösung des Niederschlags 4 ccm Salzsäure zu. Man erhält so eine Farblösung, die genau die Farbe der Weigert'schen Lösung, nur einen etwas helleren Ton zeigt. Schnitte in dieser Ferrifuchsin-Lösung, wie wir sie der Kürze halber nennen wollen, etwa eine halbe Stunde lang, — und zwar ohne vorherige Beizung —, gefärbt, zeigen eine sehr schöne, differenzirte, dunkelblaue Färbung aller elastischen Elemente, die sich nur dadurch von der Weigert'schen Färbung unterscheidet, dass der Farbenton etwas heller ist. Die Färbung ist alkoholfest.

Lässt man auf die Schnitte vorher die beschriebene Beize und dann erst das Ferrifuchsin einwirken, oder färbt man Schnitte in einer Mischung von salzsaurer alkoholischer Ferriresorcin-Lösung und Ferrifuchsin-Lösung zu gleichen Theilen, so erhält man Präparate, die sich fast in Nichts von der Weigert'schen Färbung unterscheiden. Man kann demnach die Weigert'sche Farbe auch einfach durch Auflösen der entsprechenden Mengen von Ferriresorcin und Ferrifuchsin in 94 pCt. Alkohol und Zusatz von Salzsäure darstellen, doch ist die Färbekraft dieser Lösung nicht ganz so stark, wie die der Weigert'schen Lösung, weshalb ich auch bei der Darstellung der Farbe Weigert's Methode stets vorziehe. Mit dem Gesagten ist es natürlich auch nicht bewiesen, dass die Weigert'sche Farbe eine einfache Mischung der beiden besprochenen Componenten ist, es könnten ja immerhin bei der Lösung in Alkohol noch chemische Umsetzungen vor sich gehen. Im Wesentlichen scheint mir allerdings durch die Weigert'sche Darstellung nur eine Verstärkung sowohl der Beizwirkung, wie der Färbekraft herbeigeführt zu werden.

Mehr lässt sich über die Rolle, die die einzelnen Componenten bei der Darstellung der Weigert'schen Farblösung spielen, vorläufig noch nicht sagen. Wie schon erwähnt, kann allerdings sowohl das Eisenchlorid, wie das Resorcin bei der

Darstellung durch einige andere Substanzen ersetzt werden, doch ist dies keineswegs immer irrelevant. Ersetzt man z. B. nach Michäelis (l. c.) das Resorcin durch Orcin, so erhält man einen Farbstoff, der bedeutend schwächer und auch weniger alkoholfest ist, als der Weigert'sche. Durch Pyrogallol konnte ich das Resorcin allerdings ohne Schaden ersetzen.

Andere Farbstoffe erhalten wir nun, wenn wir bei der Weigert'schen Darstellung an Stelle des Fuchsins andere Farbstoffe verwenden, und ich habe solche Farben dargestellt aus Safranin, Dimethylsafranin, Vesuvin, Thionin, Gentianaviolett u. a. und dieselben einer genauen Untersuchung unterzogen. (Andere Versuche zur Darstellung solcher Farben, die ein negatives Resultat hatten, bleiben hier unberücksichtigt.)

Nachdem durch vorliegende Untersuchungen gezeigt ist, dass wir aus Fuchsin und Eisenchlorid allein schon den Farbstoff darstellen können, der der Weigert'schen Färbung im Wesentlichen zu Grunde liegt, dürfen wir natürlich den Weigert'schen Farbstoff nicht als Kresofuchsin¹⁾ oder Resorcinfuchsin²⁾ bezeichnen. Unter letzteren Namen sind Farbstoffe in den Handel gebracht, die der färbenden Substanz der Weigert'schen Lösung entsprechen sollen, und ich verstehe daher im folgenden unter diesen Namen nur diese, in den Handel gebrachten Farbstoffe. Der Kürze wegen, um nicht bei jedem der zahlreichen Farbstoffe die ganze Darstellung angeben zu müssen, und um Verwechslungen zu vermeiden, bezeichne ich im Folgenden jeden, genau nach der Weigert'schen Methode dargestellten Farbstoff einfach durch Anfügung der Silbe -el an den Farbstoff, also z. B. Safranelin, Gentianaviolettelin, Fuchselin (d. i. der Weigert'sche Farbstoff) u. s. w. Wurde dagegen bei der Darstellung das Resorcin weggelassen, so bezeichne ich den Farbstoff einfach als Ferrifuchsin, Ferrivesuvin u. s. w.

Die Erwartung, bei all' diesen gemäss der Weigert'schen Methode dargestellten Farbstoffen dieselben Verhältnisse vorzufinden, wie bei dem Fuchselin selbst, täuschte mich.

¹⁾ P. Röthig: Ueber einen neuen Farbstoff, Namens „Kresofuchsin“. Archiv für mikrosk. Anatomie und Entwicklungsgeschichte, 1900, Bd. 56, S. 354.

²⁾ Pranter: a. a. O.

Das Safranelin ist ein ausgezeichneter Farbstoff für elastische Fasern. Man kann nun ebenso wie beim Fuchsin aus Safranin und Eisenchlorid ein Ferrisafranin darstellen, dasselbe zeigt aber keinerlei Färbekraft für Elastin. Zwar erhält man nach vorheriger Beizung mit Ferriresorcin auch mit Ferrisafranin eine Färbung der elastischen Fasern, aber diese wird durch Alkohol sehr rasch zerstört und lässt sich nur durch Abtupfen und Differenzieren in Anilinxylool festhalten. Auch dann ist sie nicht scharf differenziert und nicht schön, mit anderen Worten, man erhält nach vorheriger Beizung mit einfacher Safraninlösung eine bessere Färbung als mit Ferrisafranin. Löst man andererseits in 100 ccm salzsaurer, alkoholischer Ferriresorcinlösung 1 g Safranin auf, so färbt diese Lösung zwar die elastischen Fasern roth, die Färbung hält sich aber nicht im Alkohol.

Nach alledem liegen beim Safranelin die Verhältnisse schon wesentlich anders, als beim Fuchselin; trotzdem ist auch beim Safranelin der Vorgang, wie wir sahen, nicht einfach der, dass das Safranin gleichzeitig mit der Beize auf die elastische Faser einwirkt. Hier finden anscheinend noch andere Umsetzungen bei der Darstellung der Farbe statt. Bei der Fuchselinfärbung dagegen wirken zweifellos Beize und specifische Farbe gleichzeitig ein. Die Vermuthung von Michaëlis¹⁾, dass wir bei den von ihm nach der Weigert'schen Methode dargestellten Farbstoffen eine besondere „Farbstoff-Classe“ vor uns haben, scheint schon hiernach nicht ganz zutreffend zu sein. Das Gemeinsame all' dieser Farbstoffe liegt nur in dem überall vorhandenen Ferriresorcin, welches durch eine Art Beizung die Färbung mit den verschiedensten Farben ermöglicht, und wir werden weiter unten sehen, dass man bei einigen der von Michaëlis angegebenen Farbstoffe eine Farblösung von genau denselben Wirkungen erhält, wenn man den unveränderten Farbstoff einfach in alkoholischer salzsaurer Ferriresorcin-Lösung auflöst.

Die einzige Farbe, die ich in ihren Componenten als analog der Weigert'schen fand, war eine genau nach der Weigert'schen Vorschrift aus Vesuvin, Resorcin und Eisenchlorid dargestellte. Diese Vesuvelinlösung färbt elastische Fasern braun,

¹⁾ a. a. O.

gut differenzirt und alkoholfest. Eine gleich gut wirkende Farblösung erhält man, wenn man bei der Darstellung der Farbe das Resorcin einfach weglässt, wenn man also Ferrivesuin darstellt. Auch diese Färbung ist alkoholfest.

Das verschiedene Verhalten der Elastinfarbstoffe gegen Alkohol war mir zwar schon im Anfang meiner Versuche aufgefallen, aber erst im weiteren Verlaufe derselben stellte ich fest, dass die verschiedene Alkoholfestigkeit der Elastinfarbstoffe nicht allein theoretisch von grösstem Interesse, sondern auch für die praktische Verwerthbarkeit der Farbstoffe von ausschlaggebender Bedeutung sei. Eine hierher gehörige Erfahrung hatte ich allerdings schon lange vor dieser Feststellung gemacht, nehmlich die, dass bei der Weigert'schen Färbung nur die Differenzirung in Alkohol eine scharfe und sichere Scheidung der elastischen Fasern von zahlreichen anderen Gebilden ermöglicht. Fast bei allen Autoren (Weigert¹⁾, Pranter¹⁾, Schmirl²⁾ findet man angegeben, dass bei der Weigert'schen Färbung eine Differenzirung im Allgemeinen nicht nöthig sei, ja, es wird zuweilen gerathen, die gefärbten Schnitte nur im Alkohol abzuspülen. Ich muss dem ganz entschieden widersprechen. Alle genannten Farbstoffe, alle auf Grund der Weigert'schen Methode dargestellten, die Kresofuchsine, das Fuchsinresorcin, die von Michaëlis angegebenen, färben nicht allein das Elastin, sondern noch eine ganze Reihe anderer Stoffe, auch der meinen Erfahrungen nach beste aller Elastinfarbstoffe, der Weigert'sche, ist hiervon nicht ausgenommen. Als solche sich mitfärbende Gewebsbestandtheile, die bald weniger, bald gerade so stark, wie die elastischen Fasern den Farbstoff annehmen, nenne ich vor allem Chondrin, Mucin, Hornsubstanzen; bei einzelnen Farben und fehlender Differencirung habe ich sogar Zellprotoplasma, Bindegewebe und Fibrin mitgefärbt gesehen. Allerdings, wo es nur darauf ankommt, einen allgemeinen Ueberblick über das elastische Gewebe eines Organs zu erhalten, da ist die Differenzirung — wenigstens bei der Fuchselinfärbung —, nicht unbedingt nöthig. Wo es aber, wie so häufig bei feineren histo-

¹⁾ a. a. O.

²⁾ G. Schmirl: Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 2. Aufl. 1901 bei C. W. Vogel, Leipzig S. 100.

logischen Untersuchungen, von grösster Wichtigkeit ist, festzustellen, ob ein Fäserchen, ein Körnchen elastischer Natur ist oder nicht, da ist eine sorgfältige Differenzirung das einzige Mittel, um zu einem wirklich sicheren Resultat zu gelangen. Als bestes und zuverlässigstes Differenzierungsmittel hat sich mir hierbei reiner Alkohol erwiesen, und ich glaube darum berechtigt zu sein, die zahlreichen angegebenen Elastinfarbstoffe nach ihrer Alkoholfestigkeit in 2 Gruppen zu scheiden, in die alkoholechten und die alkoholunechten Elastinfarbstoffe; unecht nenne ich die nicht alkoholfesten Farbstoffe auch aus dem Grunde, weil sie gerade am meisten ausser den elastischen Fasern noch andere Substanzen mitsärben, und weil bei ihnen mir überhaupt eine scharfe und sichere Differenzirung der elastischen Fasern bisher nicht völlig gelungen ist.

Solche unechte Elastinfarbstoffe finden sich auch unter den von Michaëlis angegebenen, z. B. der aus Methylviolett, Resorcin und Eisenchlorid, desgl. der aus Thionin u. s. w. dargestellte Farbstoff. Hierher gehören all' die oben angeführten einfachen Beizfärbungen, ja ich glaube, dass es sich bei den unechten Elastinfarben in den meisten Fällen nur um eine Färbung der gebeizten Faser mit dem unveränderten Farbstoff, z. B. Methylviolett, Gentianaviolett handelt. Es geht dies unter Anderem daraus hervor, dass man z. B. aus Gentianaviolett und Eisenchlorid zwar einen in Alkohol löslichen Farbstoff, — Ferri-Gentianaviolett —, erhält, der aber keine Spur Färbevermögen für Elastin besitzt — auch dann nicht, wenn die elastische Faser vorher einer Beizung durch Ferriresorcin unterworfen wurde. Andererseits erhält man aber eine genau gleich wirkende (unechte) Farblösung, wenn einer salzsauren alkoholischen Ferri-resorcin-Lösung 1 pCt. Gentianaviolett in Substanz zugesetzt wird, als wenn man genau nach der Weigert'schen Vorschrift eine Farblösung aus Gentianaviolett, Resorcin und Eisenchlorid — also Gentianaviolettin — darstellt.

Ganz anders bei den echten, d. i. alkoholfesten Elastinfarbstoffen. Hier erhält man, z. B. beim Vesuvin, durch einfachen Zusatz des Farbstoffs zu salzsaurer alkoholischer Ferri-resorcin-Lösung keine Spur von Elastinfärbung, wohl aber tritt Kernfärbung ein; bei anderen Farbstoffen (z. B. Fuchsin, Safranin)

tritt in diesem Falle wohl eine Färbung der elastischen Fasern ein, die aber weder klar, noch specifisch, noch vor Allem alkoholfest ist, mithin alle Zeichen der unechten Färbung an sich trägt.

Einen echten Elastinfarbstoff erhält man häufig bereits aus dem Farbstoff und Eisenchlorid ohne Zusatz von Resorcin; es ist dies z. B. beim Fuchsin und Vesuvin der Fall: Ferrifuchsin und Ferrivesuvin sind echte Elastinfarben. Das Thionin hingegen giebt sowohl bei der Weigert'schen Darstellung, wie bei völliger Fortlassung des Resorcins unechte Farbstoffe. Sowohl Thionelin, wie Ferrithionin tingiren die elastischen Fasern schön blau, aber nicht alkoholfest; vorhergegangene Beizung mit Ferriresorcin ändert daran Nichts.

Kurzum wir sehen, dass bei den einzelnen Gliedern der Michaëlis'schen Farbstoff-Classe recht verschiedene Verhältnisse vorliegen. Bei den echten Elastinfarben entstehen bei der Weigert'schen Darstellung neue, specifische, alkoholfeste Farbstoffe; bei den unechten entstehen wohl zum Theil neue Farben, die aber entweder nicht alkoholfeste Elastinfarben sind oder überhaupt nicht die geringste Färbekraft für elastische Fasern besitzen. Bei den anderen unechten Elastinfarbstoffen entstehen bei der Weigert'schen Darstellung keinerlei neue Farben, sondern es wirken hier einfach die ursprünglichen Farbstoffe auf die durch Ferriresorcin gebeizten Fasern. Auch diese letzteren Färbungen sind durchweg nicht alkoholfest.

Zuletzt sei noch als theoretisch interessant folgender Färbeversuch erwähnt: Bringt man einen Schnitt in eine Mischung von salzsaurer, alkoholischer Fuchsinlösung und salzsaurer, alkoholischer Rosolsäure-Lösung (zu gleichen Theilen), so erhält man eine scharfe, ziemlich gut differenzierte blaue Färbung der elastischen Fasern, die sogar einen mässigen Grad von Alkoholfestigkeit besitzt. Zusatz von Ferriresorcin-Lösung zu dieser Farblösung ändert Nichts. Dieser Versuch ist auch deshalb interessant, weil man aus der Rosolsäure einen Elastinfarbstoff nicht darstellen kann.

Es tritt nun an uns die wichtige Frage heran, welche aus der grossen Reihe dieser Elastinfarbstoffe für die Histologie wirklich zu verwerthen sind. Ausscheiden müssen wir natürlich

vor Allem alle unechten Elastinfarbstoffe, auch das von Michaelis noch besonders empfohlene Thionelin. Damit soll nicht gesagt sein, dass diese Farbstoffe überhaupt werthlos sind, ja verschiedene Versuche, die ich damit anstellte, aber noch nicht zum Abschluss bringen konnte, deuten darauf hin, dass auch diese Farbstoffe zu bestimmten Zwecken für uns von Nutzen sein können. Trotzdem müssen wir sie dort, wo es sich um die specifische Färbung der elastischen Fasern handelt, vollständig ausschliessen; das dürfte oben bereits zur Genüge begründet worden sein.

Aber auch die echten Elastinfarbstoffe sind keineswegs alle gleichwerthig. Gute Resultate erhält man nach meinen Erfahrungen mit Fuchselin, Ferrifuchsin, Fuchsin-Pyrogallol-Eisenchlorid, Safranelin, Dimethyl-Safranelin, Vesuvelin, Ferri-vesuvin und Resorcinfuchsin-Grübler, wobei jedoch der erste, d. h. der Weigert'sche allen anderen überlegen ist. Trotzdem möchte ich die anderen nicht missen. Bei der Anwendung dieser Farbstoffe frägt es sich eben vor Allem, was wir von der Färbe-methode verlangen. Die ersten und bei Weitem wichtigsten Anforderungen an jede Elastinfärbung sind die, dass

1. alle, auch die feinsten elastischen Fäserchen scharf und deutlich gefärbt sind, und
2. dass die Färbung specifisch ist, d. h. nur die elastischen Fasern betrifft, so dass Verwechslungen ausgeschlossen sind.

Diese wichtigsten Anforderungen scheinen von manchen wenig beachtet zu werden. Methoden, die eine Mitfärbung des Mucins herbeiführen (z. B. Pranter¹⁾), muss ich als zu feineren histologischen Untersuchungen ungeeignet verwerfen, obgleich dies in den meisten Fällen weniger an dem verwendeten Farbstoff, als an der mangelnden Alkoholdifferenzirung liegt, wie wir noch sehen werden. Farbstoffe hingegen, bei denen sogar „eine Mitfärbung des Bindegewebes in der Regel auftritt“ (Kresofuchsin II und III, Pranter¹⁾) verdienen überhaupt keine Anwendung als Elastinfarben.

Inwieweit nun die angegebenen Farbstoffe diese wichtigsten Anforderungen erfüllen, wird bei den einzelnen erwähnt werden. In einem Punkte allerdings versagen sie alle: das Chondrin färbt

¹⁾ a. a. O.

sich stets mit, wie auch schon von den Autoren angegeben ist. Aber dieser Fehler ist leicht zu ertragen, da die morphologischen Unterschiede zwischen Knorpel und elastischer Faser ja stets so grosse sind, dass nur selten eine Verwechslung überhaupt im Bereiche der Möglichkeit liegt. Dass trotzdem solche Fälle vorkommen können, erfuhr ich an einem Sarkom, das zahlreiche mit Fuchselin sich tief blauschwarz färbende Körnchen enthielt, über deren Natur, — ob Chondrin, ob Elastin —, man ohne Weiteres keinen Aufschluss geben konnte. Erst mit Hülfe der Feststellung, dass Thionelin ein für Elastin unechter, für Chondrin echter, d. h. alkoholfester Farbstoff ist, gelang es mir, auch in diesem Falle eine sichere Entscheidung zu treffen.

Eine weitere Anforderung, die wir an eine specifische Färbe-methode zu stellen berechtigt sind, ist die der absoluten Zu-verlässigkeit, d. h. wir müssen in jedem Falle sicher sein, bei genauer und peinlicher Einhaltung der gegebenen Vorschriften auch eine sichere, isolirte Färbung aller elastischen Elemente und nur dieser zu erhalten. Dies erreichte keine der bisher angegebenen Methoden wegen der mangelnden Alkoholdifferen-zirung, wie bereits angegeben. In neuester Zeit hat Pranter¹⁾ eine Färbe-Methode mit Resorcinfuchsin angegeben, welche sich ganz besonders „durch Einfachheit der Handhabung und Sicherheit des Resultats auszeichnen“ soll. Das letztere wenigstens kann diese Methode in keiner Weise beanspruchen. Einerseits erhält man bei ihrer Anwendung eine sehr störende dunkelblaue Mitfärbung der collagenen Bindegewebsfasern der Haut und zwar trotz Carmingegefärbung, während bei meiner unten angegebenen Methode die Fasern mehr roth gefärbt, also von den elastischen scharf geschieden sind. Zum Theil liegt dies an der bei Pranter fehlenden Alkoholdifferenzirung, zum grössten Theil aber an der Farblösung selbst. Andererseits konnte ich mich an einigen Präparaten, die eine halbe Stunde lang in der von Pranter angegebenen zweiten (stärkeren) Resorcinfuchsin-Lösung gefärbt waren, sowohl durch directe Beobachtung unter dem Mikroskop, als auch durch andere nach meiner Methode behandelte Controlpräparate davon überzeugen, dass bei der Nachbehandlung mit Alkohol die Färbung stark

¹⁾ a. a. O.

abblasste, ja einzelne Fäserchen die Farbe gänzlich verloren (und zwar solche, deren elastische Natur zweifellos war). Mit anderen Worten die Färbung war nicht alkoholfest. Wenn man also auch, wie wir noch sehen werden, das Resorcinfuchsin für die Färbung der elastischen Fasern anwenden kann, so darf dies nicht in der von Pranter angegebenen Weise geschehen, vorausgesetzt, dass man wirklich sichere Resultate erhalten will. Alle genannten Fehler lassen sich bei der Weigert'schen Farblösung durch genügende Differenzirung in absolutem Alkohol vollkommen vermeiden.

Ein weiterer Nachtheil aller bisher angegebenen Elastinfärbemethoden, ist der, dass man bei keiner mit wirklicher Sicherheit auf eine tadellose, scharfe Kerngegenfärbung rechnen kann. Wohl können eine Reihe von Präparaten gut gerathen, dann aber versagt die Kernfärbung wieder, ohne dass man immer einen Grund ausfindig machen kann. In dieser Beziehung waren alle angegebenen Methoden, wie ich aus jahrelangen Erfahrungen unseres Laboratoriums sowie eigener Arbeiten versichern kann, mehr oder minder unzuverlässig. Und doch ist dies von grösster Wichtigkeit. Wir färben die elastischen Fasern heute nicht mehr allein ihrer selbst willen, sondern die Elastinfärbung hat sich uns immer mehr in hervorragender Weise als eine topographisch-histologische Methode zur Orientirung in den Geweben und Organen bewährt. Zu diesem Zwecke kann sie aber nicht verwandt werden, wenn nicht gleichzeitig eine sichere Kernfärbung ermöglicht wird.

Die Methoden, die ich im Folgenden näher beschreibe, insbesondere die beiden ersten der Fuchselin- und Safranelinfärbung, sind von so absoluter Zuverlässigkeit, dass ich in vielen Hunderten von Präparaten nie eine schlechte Färbung der Kerne oder elastischen Fasern gesehen habe; ja auch den Studierenden, die in unserem Laboratorium ohne Erfahrung in histologischer Technik nach den ihnen gegebenen Vorschriften ihr erstes Präparat anfertigen, misslingt nie eine Färbung.

So weit meine Erfahrungen reichen, schliesst keine Härtung und Fixirung eine gute Elastinfärbung aus. Am schärfsten vielleicht differenziren sich die elastischen Fasern bei reiner Alkoholhärtung. Für feinere Arbeiten möchte ich nur vor der Formol-

fixirung warnen; hiebei tingirt sich auch das Grundgewebe besonders stark, und man ist, wie mir scheint, auch bei sehr sorgfältiger Alkoholdifferenzirung nie ganz sicher, dass nun jedes kleinste gefärbte Körnchen und Fäserchen auch elastischer Natur ist. In der Literatur ist ferner fast stets angegeben, dass sich die in Frage kommenden Elastinfarbstoffe monate- ja jahrelang hielten. Dem muss ich entschieden widersprechen. Allerdings halten sie sich, färben aber, wenn sie zu alt geworden sind, das Grundgewebe so stark mit, dass von einer scharfen Differenzirung der elastischen Fasern kaum mehr die Rede sein kann. Man muss dann zum wenigsten kürzere Zeit färben und länger in Alkohol differenziren. Ich vermeide dies dadurch, dass ich Farblösungen, die älter als 6 Wochen sind, nicht benutze.

Ich gebe nun im Folgenden die speciellen Vorschriften unter kurzer Erläuterung, indem ich von zahlreichen Färbeversuchen nur diejenigen anfüre, die sich als besonders werthvoll erwiesen haben.

Das Fuchselin (der Weigert'sche Farbstoff) ist an und für sich, was Schärfe und Klarheit der Färbung anbelangt, allen anderen Elastinfarbstoffen vorzuziehen. Es färbt sich nur der Knorpel mit; alle anderen Angaben¹⁾), daran zweifle ich jetzt nach zahlreichen in dieser Richtung angestellten Färbeversuchen nicht mehr, beruhen auf mangelnder Alkoholdifferenzirung. Die collagenen Bindegewebsfasern nehmen einen blassgrauen (bei Carmingegenfärbung rothen) Farbenton an, während die elastischen Fasern bis in ihre kleinsten Fäserchen und Körnchen blauschwarz gefärbt sind. Mucin wird bei guter Alkoholdifferenzirung nicht mitgefärbt; auch ich habe es allerdings zuweilen sehr schön blauschwarz gefärbt gesehen, aber nur dann, wenn ich eine genügende Alkoholbehandlung unterlassen hatte. Ich konnte mich davon stets leicht durch Wiedereinlegen der Schnitte in absoluten Alkohol überzeugen: binnen wenigen Minuten war das Mucin völlig entfärbt.

¹⁾ Pranter, a. a. O., L. Jores, Zur Kenntniss der Regeneration und Neubildung elastischen Gewebes. Zieglers Beiträge zur Pathol. Anatom. und Allgem. Pathol. Bd. 27. 1900. S. 403 ff.; Jores u. Laurent, Zur Histologie und Histogenese der Pachymeningitis haemorrhagica interna, ebenda, Bd. 29. 1901. S. 499 ff.

Bei der unten angegebenen Methode kann man nun an Stelle des Fuchselins auch Ferrifuchsin, Dimethylsafranelin (auch dieses färbte bei meinen Versuchen — mit Alkoholbehandlung — die elastische Faser stets blau, nicht, wie Michaëlis¹⁾ angiebt, rothviolett), Resorcinfuchsin oder Kresofuchsin I anwenden (natürlich alle in salzsaurer alkoholischer Lösung), doch muss man dann meist länger färben, zum Theil sind die Färbungen sehr blass, und ich ziehe den Weigert'schen Farbstoff all' diesen Ersatzfarben bei Weitem vor. Will man sich nicht der Mühe unterziehen, den Weigert'schen Farbstoff selbst darzustellen, so kann man ihn von Grübler u. Co. in Leipzig fertig beziehen, oder an Stelle desselben eine Lösung von

Resorcinfuchsin (Grübler)	1,0
94% Alkohol	100,0
Acid. hydrochlor.	2,0

anwenden (vor der Färbung filtriren!). Mit dieser letzteren Lösung erhält man ganz schöne exacte Färbungen, — aber man wird nach den oben gemachten Mittheilungen über das Resorcinfuchsin ein geringes Misstrauen meinerseits auch gegen diese sonst gute Farblösung wohl verstehen. Ausserdem bleibt auch dieser Farblösung im Vergleich zu der Weigert'schen ein bedeutender Nachtheil stets anhaftan, das ist die zu starke Mitfärbung der collagenen Bindegewebsfasern, wodurch die Bilder an Schärfe bedeutend verlieren (obwohl dies hier weit geringer der Fall ist, als bei der Pranter'schen Art der Anwendung des Resorcinfuchsins). Die Lösung zeigt demnach die Nachtheile einer zu alt gewordenen Weigert'schen Farblösung. Ich ziehe also, und wie ich glaube mit Recht, auch dieser Farbe die Weigert'sche stets vor, von deren Sicherheit und Exactheit ich mich stets habe überzeugen können. Ueberhaupt sollten wir uns freuen, dass uns Weigert einen so vorzüglichen specifischen Elastin-Farbstoff gegeben hat; alle bisher angegebenen Verbesserungen seiner Farblösung haben sich mir als wesentliche Verschlechterungen erwiesen. Die Vorzüge der Weigert'schen Farbe sind so grosse, dass die geringe Mühe ihrer Darstellung nicht ins Gewicht fallen dürfte.

Da die elastischen Fasern bei dieser Methode blauschwarz

¹⁾ a. a. O. Deutsch. med. Wochenschr. 1901. S. 219.

erscheinen, so empfiehlt sich, sie mit einer rothen Kernfärbung zu verbinden; man kann eine solche durch Safranin erzielen. Sicherer und zuverlässiger hat sich mir das Lithioncarmin erwiesen, wenn man gewisse Vorsichtsmaassregeln nicht ausser Acht lässt. Im anderen Falle kann man häufig Enttäuschungen erleben. Ob man die Carminfärbung vor oder nach dem Fuchselin anwendet, ist gleichgültig, nur darf der Schnitt nach der Carminfärbung nicht mehr mit Wasser in Berührung kommen. Wasser zerstört die Carminfärbung auffallend schnell, und wenn auch meist einmaliges Eintauchen in Wasser noch nicht viel schadet, so ist doch in anderen Fällen die Kernfärbung schon dadurch mehr oder minder missglückt. Eine ausgezeichnete Differenzirung der Carminfärbung erhält man durch 1 procent. Salzsäure-Alkohol. Lässt man die Carminfärbung vorausgehen, so ist natürlich eine weitere Differenzirung in Salzsäure-Alkohol unnöthig, da ja die Fuchselinlösung einen 2 procent. Salzsäure-Alkohol darstellt. Nach alledem kann ich folgende Methoden der Fuchselinfärbung, vor Allem die erste, als in jeder Hinsicht sicher und zuverlässig empfehlen. Die (aufgeklebten Paraffin-) Schnitte kommen der Reihe nach in

I. Xylol.

Alkohol.

Fuchselin¹⁾ (d. i. die Weigert'sche Farblösung) 25—30 Minuten.

Abspülen in Wasser.

Alkohol. absolut. 10 Minuten.

Abspülen in Wasser.

Lithioncarmin 12—15 Minuten.

1 procent. Salzsäure-Alkohol 15 Minuten.

Abspülen in Alkohol.

Alkohol. absolut. 2—18 Stunden.²⁾

Xylol-Balsam.

oder:

II. Xylol-Alkohol-Wasser.

Lithioncarmin 20 Minuten.

Abspülen in Alkohol.

¹⁾ An dieser Stelle kann auch die oben angegebene Resorcin-Fuchsinlösung angewandt werden.

²⁾ Auch die Alkoholfestigkeit der Fuchselinfärbung ist anscheinend keine unbegrenzte.

Fuchselin 25 Minuten.
 Abspülen in Alkohol.
 Alkohol, absol. 2—18 Stunden.
 Xylool-Balsam.

Elastische Fasern und Knorpel sind blauschwarz gefärbt, die Kerne (Kernkörperchen und Kerngerüst gut differenzirt) leuchtend roth, das Grundgewebe farblos oder rosa. Die Bilder sind bei genauer Einhaltung der gegebenen Vorschriften von überraschender Schönheit. Wenn es nicht auf sehr scharfe Differenzirung der elastischen Fasern ankommt, so kann man die Alkohol-Behandlung natürlich auf einige Minuten abkürzen.

Das Safranelin färbt die elastischen Fasern schön roth mit schwach gelblichem Anflug. Die Färbung ist nicht ganz so specifisch, wie die vorige. Vor Allem färben sich ausser Knorpel auch Horn- und Schleimsubstanzen häufig mit, besonders bei mangelnder Alkoholdifferenzirung. Wird letztere nicht sorgfältig ausgeführt, so wird auch das Grundgewebe (Bindegewebe, Protoplasma) rosa bis roth gefärbt, was natürlich sehr störend ist und mitunter ein Präparat werthlos machen kann. Aus demselben Grunde darf die zu benutzende Farblösung unter keinen Umständen älter als 6 Wochen sein (s. oben); es ist dies hier noch weit schädlicher, als beim Fuchselin. Beachtet man alle diese Punkte genau, so erhält man mit Hämatoxylin-Gegenfärbung sehr schöne Bilder, die vor der Fuchselin-Färbung den Vortheil haben, dass die Färbung eine zartere, nicht so grelle ist und deshalb für dicke Schnitte sich besser eignet. Am zweckmässigsten hat es sich mir erwiesen, die Schnitte mit Hämatoxylin stark vorzufärben. Sodann kommen sie in Safranelin, das in Folge seines starken Salzsäuregehaltes zugleich eine gute Differenzirung der Kerne besorgt. Die Kerne werden hierbei durch die noch anhaftende Salzsäure sehr blass, doch treten dieselben wieder scharf und deutlich hervor, wenn man den Schnitt auf kurze Zeit in eine alkalische Lösung bringt. Die Färbung gestaltet sich also folgendermaassen:

Xylool-Alkoholwasser.
 Hämatoxylin-Alaun (Böhmer) 20 Minuten¹⁾ überfärben.

¹⁾ Hier wie bei den folgenden Angaben ist natürlich die Färbekraft der vorliegenden Hämatoxylinlösung genau zu berücksichtigen.

Abspülen in Wasser.
 Safranelin 12 Minuten.
 Abspülen in Alkohol, dann in Wasser.
 Verdünnte Lösung von Lithion carbon. 3—5 Minuten (1 Theil concentr.
 Lösung auf 10 Theile Wasser).
 Fliessendes Wasser 5 Minuten.
 Alkohol absol. 1½—3 Stunden.
 Xylol-Balsam.

Die elastischen Fasern sind gelbroth, die Kerne blau gefärbt (Kernkörperchen und -gerüst sehr deutlich). Das Grundgewebe ist farblos oder mattrosa, das Protoplasma der Zellen überall deutlich zu erkennen, es hat einen grauen oder schwach röthlichen Hauch. Die Bilder sind so hübsch, dass ich diese Methode seit längerer Zeit auch zu Diagnosenpräparaten verwende an Stelle der Hämalaun-Eosinfärbung.

Andere Methoden als die genannten möchte ich, falls es sich nur darum handelt, elastische Fasern und Kerne deutlich gefärbt zu erhalten, nicht empfehlen. Allerdings kann man mit Vesuvelin und mit Ferrivesuvin, wenn man mit Lithioncarmin gegenfärbt, auch ganz gute Bilder erhalten, doch sind die beiden genannten Methoden dieser letzteren dadurch weit überlegen, dass bei ihnen die elastischen Fasern schärfer und deutlicher hervortreten. Das Braun der elastischen Fasern, vor Allem der feineren, bei der Vesuvelin-Färbung ist, besonders bei gleichzeitiger Kernfärbung, nicht grell genug, um scharfe und schöne Bilder zu geben; es verschwindet zu leicht unter den anderen Farben.

Es kann nun weiter für manche Untersuchung von Wichtigkeit oder Vortheil sein, ausser den elastischen Fasern und Kernen auch noch andere Gewebsbestandtheile zugleich gefärbt zu erhalten. Ich nenne hier in erster Linie das Bindegewebe. Einfache Fuchselin- oder Safranelinpräparate geben über das Bindegewebe nur sehr ungenügenden Aufschluss. Und doch ist gerade das Verhältniss von Bindegewebe und elastischen Fasern häufig von grösstem Interesse. Zu diesem Zwecke verbindet man am besten die Fuchselinfärbung mit einer Gieson-Färbung. Ich empfehle jedoch, hierbei eine etwas modifizierte Gieson-Lösung anzuwenden, die mir stets sehr gute Resultate gab. Die Schnitte kommen in

I. Xylool-Alkohol-Wasser.

Hämatoxylin-Alaun (Böhmer) 30 Minuten. Ueberfärben.

Abspülen in Wasser.

Fuchselin 25 Minuten.

Abspülen in Wasser.

Verdünnte Lithion carbon.-Lösung (s. oben) 3 Minuten.

Fliessendes Wasser 3 Minuten.

Absol. Alkohol 2—18 Stunden.

Verstärkte Gieson-Lösung 1 Minute (auf 50 ccm Gieson-Lösung 1 ccm concentr. wässer. Säurefuchsin-Lösung).

Abspülen in Wasser } schnell.
Abspülen in Alkohol }

Xylool-Balsam.

oder:

II. Xylool-Alkohol.

Fuchselin 25 Minuten.

Abspülen in Wasser, dann in Alkohol.

Alkoh. absolut. 2—18 Stunden.

Hämatoxylin-Alaun 5 Minuten.

Abspülen in Wasser.

Verstärkte Gieson-Lösung 1 Minute.

Abspülen in Wasser } schnell.
Abspülen in Alkohol }

Xylool-Balsam.

Die zuerst aufgeführte Methode ist die bessere und sicherer in der Färbung; bei der zweiten ist grössere Aufmerksamkeit erforderlich, um keine zu starken Färbungen zu erhalten. Die elastischen Fasern sind blauschwarz, das Bindegewebe leuchtend roth, die Kerne braun u. s. w. wie bei der Gieson-Färbung. Besonders bei Untersuchungen an Gefässen und Lungen habe ich diese Methoden sehr bewährt gefunden.

Weiterhin kann man die Färbung der elastischen Fasern sehr gut mit einer Fibrinfärbung combiniren. Von theoretischem Interesse ist es vielleicht, dass man eine solche combinirte Färbung ohne Weiteres bei der Färbung mit Methyl- oder Gentiana-Violettelin erhält. Wir sahen oben bereits, dass dies unechte Elastinfarbstoffe sind. In Folge dessen dürfen die Schnitte nach der Färbung nicht mehr in Alkohol kommen; man kann aber auf andere Weise die Färbung festhalten, indem man die Schnitte aus der Farblösung in Gram'sche Jod-jodkalium-Lösung bringt, dann abtrocknet und in Anilin-Xylool

differenzirt. Die elastischen Fasern sind grün, das Fibrin blau gefärbt. Vorfärbung mit Lithioncarmin ist möglich. Die Färbung ist jedoch wenig schön, unsicher u. s. w. (vgl. das über die unechten Elastinfarbstoffe Gesagte) und darum für die praktische Anwendung nicht zu empfehlen.

Schöne und zuverlässige Resultate dagegen erhält man, wenn man die Safranelin-Färbung mit der Weigert'schen Fibrinfärbung verbindet. Wir müssen natürlich verlangen, dass Kerne, elastische Fasern und Fibrin verschieden gefärbt sind. Daher kann die Fuchselinfärbung, die ja die elastischen Fasern in ähnlicher Farbe tingirt, wie die Fibrinfärbung das Fibrin, nicht zur Anwendung kommen. Die Schnitte kommen also in

Xylol-Alkohol.

Safranelin¹⁾ 30 Minuten.

Alkoh. absolut. 1—2 Stunden.

Abspülen in Wasser.

Anilinwasser-Gentiana-Violett 8 Minuten.

Abspülen in Wasser.

Abtrocknen mit Fliesspapier.

Jodjodkalium-Lösung (1 : 3 : 300) 3 Minuten.

Abtrocknen mit Fliesspapier.

Differenziren in Anilin-Xylol 2 : 1.

Auswaschen in Xylol.

Balsam.

Die elastischen Fasern sind roth, das Fibrin blau, die Kerne violett gefärbt (besondere Kernfärbung also unnötig).

Ebenfalls brauchbare Bilder erhält man, wenn man die Fibrinfärbung genau wie oben angegeben mit der Vesuvelinfärbung verbindet. Die elastischen Fasern sind dann braun, das Fibrin blau und die Kerne violett gefärbt, doch kann man auch durch starke Vorfärbung mit Lithioncarmin die Kerne roth färben.

Selbstverständlich kann man die Elastinfärbungen auch mit Bakterien-Färbungen combiniren; es ist unnötig, dies im Einzelnen aufzuführen. Dass man die Elastinfärbung gleichzeitig mit der Gram'schen Färbung, sowie der Weigert'schen Modification derselben verbinden kann, dürfte schon aus der für

¹⁾ An Stelle des Safranelins kann man auch Vesuvelin oder Ferrivesuvin $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang einwirken lassen.

die gleichzeitige Fibrinfärbung angegebenen Methode hervor-
gehen.

Eine Methode, mit den elastischen Fasern gleichzeitig die Tuberkelbacillen im Gewebe zu färben, ist bereits von Wechsberg¹⁾ angegeben worden. Dieselbe ist jedoch in mehrfacher Hinsicht verbesserungsbedürftig. Zunächst erhält man sicherere Resultate, wenn man das Carbolfuchsin statt 1 Stunde lang bei 37° 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur einwirken lässt. Sodann ist es absolut überflüssig, die Schnitte nach der Carbolfuchsin-Färbung, wie Wechsberg es thut, in Salzsäure-Alkohol zu differenziren. Die Fuchselinlösung, in die die Schnitte nachher kommen, ist ein 2 procent. Salzsäure-Alkohol, und ein solcher dürfte wohl während einer Einwirkungszeit von 25 Minuten (bei Wechsberg gar eine Stunde) die Differenzirung der Carbol-Fuchsinfärbung genügend bewirken. Vor Allem aber ist es sehr unzweckmässig, mit dieser Färbung eine Carmin-Kernfärbung zu verbinden. Dann sind Kerne und Bacillen roth gefärbt, das Auffinden der letzteren, welches im Gewebe ja ohnedies meist viel Geduld erfordert, sehr erschwert, und Verwechslungen nur zu leicht möglich. Ich verzichte also lieber auf die Kernfärbung und die Schnitte kommen in

I. Xylol-Alkohol-Wasser.

Carbolfuchsin 24 Stunden.

Abspülen in 70 procent. Alkohol.

Fuchselin 25 Minuten.

Abspülen in Wasser, dann in Alkohol.

Alkohol. absolut. 2 Stunden.

Xylol-Balsam.

Legt man nun aber Werth darauf, gleichzeitig die Kerne gefärbt zu erhalten, so muss man einen anderen Weg einschlagen. Ich färbe dann die elastischen Fasern mit Vesuvelin, die Kerne mit Hämatoxylin. Die Schnitte kommen also entweder in

II. Xylol-Alkohol-Wasser.

Carbolfuchsin 24 Stunden.

Abspülen in 70 procent. Alkohol.

Vesuvelin (oder Ferrivesuvin) 1 Stunde.

¹⁾ Wechsberg, Beitrag zur Lehre von der primären Einwirkung des Tuberkelbazillus. Ziegler's Beiträge, 29. Bd. S. 203. 1901.

Abspülen in Wasser.
 Alkoh. absolut. 1 Stunde.
 Abspülen in Wasser.
 Hämatoxylin-Alaun 3—5 Minuten.
 Abspülen in Wasser.
 Alkohol-Xylol-Balsam.
 oder in

III. Xylol-Alkohol-Wasser.
 Hämatoxylin-Alaun 30 Minuten. Ueberfärben.
 Auswaschen in Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde.
 Carbolfuchsin 24 Stunden.
 Abspülen in 70 procent. Alkohol.
 Vesavelin (oder Ferrivesuvin) 1 Stunde.
 Abspülen in Wasser.
 Verdünnte Lithion carb.-Lösung (s. oben) 5 Minuten.
 Fliessendes Wasser 5 Minuten.
 Alkoh. absolut. 1 Stunde.
 Xylol-Balsam.

Besonders die letztere Methode giebt vorzügliche Bilder.
 Die Kerne sind blau gefärbt, die elastischen Fasern braun, die Bacillen roth.

Ich hoffe, durch vorliegende Mittheilungen eine Reihe von Methoden angegeben zu haben, die es ermöglichen, stets sichere und zuverlässige Resultate bei den Elastinfärbungen zu erzielen.

XIII.

Die Geminität in ihren erblichen(?) Beziehungen.

Historische Kritik falscher Angaben.

Von

Dr. med. H. Naegeli-Åkerblom.

II.

Goehlert.	v. Speyr.	Historisch.
Theilweise	III. Partielle	Sich auf den Volksglauben zu stützen,
Unfruchtbar- keit der	Unfruchtbar- keit der	ist etwas Gefährliches, denn derselbe
Zwillinge.	Zwillinge.	ändert sich oft. Um nur von ältesten
Schon im Volks- munde ist die	Schon der Volks- mund spricht Zwil-	Zwillingen zu reden, so sehen wir die
theilweise Un- lingen eine gerin-	ge	Dioskuren in der Odysse (11, 299) als
		Söhne des Tyndareos und der Leda,
		bei Hesiod hingegen schon als Söhne