

# ZIEKTEN & GEZONDHEID



*Deze rubriek wordt verzorgd door de "Studiegroep voor ziekten, optimaal houden en kweken van terrariumdieren" van de belgische terrariumvereniging "Terra". Mocht U vragen hebben, die in het kader van deze rubriek passen, dan kunt U die rechtstreeks stellen aan de voorzitter van de Studiegroep: H. Claessen, A. Sterckstraat 18, B-2600 Berchem, België.*

---

## MIKROSKOPIE, DEEL II.

Door: H. Claessen, A. Sterckstraat 18, 2600 Berchem, België.

Inhoud: Kleuringen - Bakteriologie - Parasitologie  
- Literatuur.

### KLEURINGEN

In dit hoofdstuk zullen wij de meest gebruikelijke kleuringen en technieken behandelen voor bacteriologie en parasitologie. Van de vermelde kleuringen kan men zeer veel variaties vinden, die allen voor- en nadelen vertonen. Wij willen enkel een eenvoudige kleuring geven, die met gunstig gevolg kan gedaan worden. Indien men wat meer geoefend is, kan men de verschillende modifikaties uitproberen, zodat men een inzicht krijgt in de mogelijkheden. Er zijn ook zeer veel specifieke kleuringen, die wij eveneens niet noemen. Mocht er voor een bepaalde kleuring belangstelling bestaan, dan kan men deze op bovenstaand adres aanvragen, wij zullen dan graag daarop ingaan.

## BAKTERIOLOGIE

### I Kristalviolet - Algemene bakteriekleuring

#### Kleuroplossing

- A) Kristalviolet 0,5% in water
- B) 5 g Kopersulfaat in 25 ml water

#### Kleuring

- Kleur gedroogde uitstrijken voor 3 à 4 minuten in A
- Differentieer in oplossing B tot geen kleurstof meer vrijkomt
- Afdeppen en laten drogen.

#### Resultaat

Bakteriekapsels zijn lichtblauw, bacteriën zelf donkerblauw.

### II Breed's kleuring - Algemene bakteriekleuring

#### Kleuroplossing

Methyleenblauw	0,3 g
Alkohol 95%	30 ml
Fenol	2,5 g
Water	100 ml

#### Kleuring

- Kleur de uitstrijken 2 minuten
- Differentieer ze met 90% alkohol
- Laten drogen

#### Resultaat

Bacteriën donkerblauw tegen lichtblauwe achtergrond

### III Eosine - Methyleenblauw - Basisch Fuchsine

#### Algemene kleuring

#### Kleuroplossing

Eosine 2% in alcohol	2,5 ml
Methyleenblauw 3%	7,5 ml
Basisch fuchsine 10%	3,0 ml
Alkohol 95%	12 ml
Water	25 ml

Laat oplossing enkele dagen staan en filtreer dan.

### Kleuring

- Kleur de uitstrijken 1 minuut in kleuroplossing
- Spoelen in water
- Laten drogen

### Resultaat

Bacteriën: *B. typhosus* en paratyphusvormen: rose  
*E. coli*: lila  
*B. diphterine*: rose met lila granulen en staafjes  
*B. influenza* en *leptothrix*: kleurloos met lila granulen en staafjes  
*Meningiocoeci*: violet tot rose

Bloed: Erythrocyten: rose tot oranje  
Leucocyten:  
- Neutrophyles, cytoplasma: rose  
- Lymphocyten, cytoplasma: purper, kern: blauw  
- Basophilen: purper tot donker blauw, kern: donker purper tot zwart  
- Eosinophilen granulen: rose

Polychromatophile cellen: rood

Spirochaeten: rose tot violet

IV Ziehl-Neelsen kleuring - Voor zuurvaste bacteriën.

### Kleuroplossing

A) Basisch fuchsine 10% in alcohol	10 ml
Fenol	5 g
Water	95 ml

B) Zoutzuur (37% HCl)	3 ml
Alkohol 95%	97 ml
C) Methyleenblauw	1 g
Alkohol 95%	30 ml
Kaliumhydroxide (KOH)	10 mg
Water	100 ml

### Kleuring

- Uitstrijken kleuren 3 à 5 minuten met A onder verwarming 80-90°C of kleuren bij kamertemperatuur 60 minuten
- Spoelen met water
- Differentieren met B tot lichtrose
- Spoelen met water
- Kleuren met C voor 10-30 sec.
- Spoelen met water
- Drogen

### Resultaat

Zuurvaste bacteriën, Mycobacteriën: rood

Andere bacteriën: blauw

Ondergrond kleurloos tot lichtblauw

V Gram kleuring - Differentiatie tussen gram positief en gram negatief

### Kleuroplossing

- |                                  |        |
|----------------------------------|--------|
| A) Gentiaanviolet 10% in alkohol | 10 ml  |
| Fenol                            | 2 g    |
| Alkohol 95%                      | 20 ml  |
| Water                            | 100 ml |
| B) Jodium (I <sub>2</sub> )      | 1 g    |
| Kaliumjodide (KI)                | 2 g    |
| Water                            | 100 ml |
- Eerst voorzichtig jodium en kaliumjodide mengen, dan voorzichtig water erbij gieten onder goed roeren.
- C) Fuchsine kleurmiddel volgens Ziehl-Neelsen (A)  
De oplossing 10 maal verdunnen met water

## Kleuring

- Uitstrijken 2 à 3 minuten kleuren met A
- Spoelen met B voor 1 minuut
- Laten drogen
- Differentieer met alcohol of aceton
- Spoel met water
- Kleur 30 sec. met C
- Spoel met water
- Laten drogen

## Resultaat

Gram-positieve organismen: blauw

Gram-negatieve organismen: rood met rose kern

## VI Azur L - Kleuring voor schimmels

### Kleuroplossing

Azur L 0,5% in water

Carnoy's fixeermiddel:	Alkohol absoluut	60 ml
	Chloroform	30 ml
	Azijnsuur 100%	10 ml

## Kleuring

- Stukje schimmel op voorwerpglasje
- 10 Minuten in Carnoy's fixeermiddel
- Drogen door verwarming
- Kleur 2 à 3 minuten in Azur L
- Spoelen met water
- Laten drogen

## Resultaat

Schimmelcellen: donkerblauw

Achtergrond: Lichtblauw

## VII Malachiet groen - Basisch Fuchsine - bacteriën en gisten

### Kleuroplossing

Basisch fuchsine 10% in alcohol	0,5 ml
Malachiet groen 0,5% in water	100 ml

### Kleuring

- Uitstrijk 1 minuut kleuren onder verwarming, regelmatig nieuwe kleurstof toevoegen.
- Spoelen met water.
- Drogen

### Resultaat

Sporen en bacteriën: blauw groenachtig  
Gisten: violet tot rose

Nadat de uitstrijken gekleurd zijn en gedroogd, kunnen ze onderzocht worden.

Men verkrijgt het beste resultaat met een olie immersie objektief (100 x), zodat een totale vergroting ontstaat van 1000 of 1500 maal. De uitstrijken kunnen ook direkt ingesloten worden met euralpal. Zo blijven ze onbeperkt houdbaar. Een goede etikettering is ook hier beslist nodig.

Men kan ze bewaren in hiervoor geschikte plastic of houten preparaat dozen waar ongeveer 100 preparaten in bewaard kunnen worden. Het beste maakt men van het onderzoek of dissectie een kort verslag en verwijst naar de genummerde preparaten, zodat men altijd opnieuw weet wat en waarom men toen deze preparaten gemaakt heeft.

## PARASITOLOGIE

In het parasitologisch onderzoek moet men verwachten, dat men de beste resultaten verkrijgt met levende vormen. Het feit, dat de parasieten leven en bewegen, is op zichzelf het beste middel om ze te herkennen. Men zal daarom altijd eerst een levend preparaat onderzoeken. Dit is niet het geval met

bloed, daar moet men steeds kleuren. Men kan evenwel op levend materiaal een vitaalkleuring doen, dat wil zeggen een kleuring waarbij de parasieten niet dood gaan. In een eerder artikel over faeces onderzoek is zo een kleuring opgegeven. Alle volgende kleuringen zijn op dood gefixeerd materiaal.

### I Noland kleuring - Algemene protozoa kleuring

#### Kleuroplossing

Gentiaanviolet 2% in water	1 ml
Fenol verzadigd in water	80 ml
Formaline 37%	20 ml
Glycerine	4 ml

#### Kleuring

- Meng een druppel suspensie en een druppel kleurstof op een zeer schoon voorwerpglasje
- Meng met een naald en strijk uit
- Laat drogen

#### Resultaat

Flagellaten: violet

### II Nijl Blauw sulfaat - Algemene protozoa/gist kleuring

#### Kleuroplossing

Nijl Blauw sulfaat 0,1% in water

#### Kleuring

- Uitstrijk 5 à 10 minuten kleuren afhankelijk van kleurintensiteit die men wenst.
- Spoelen met water en drogen

#### Resultaat

- Organismen worden donker blauw tot licht blauw gekleurd.

Kleuring is te gebruiken voor levende amfibieën eieren en grotere protozoa.

### III Haematoxyline Mallory - Amoeba kleuring

#### Kleuroplossing

Haematoxyline 10% in alcohol	1 ml
Fosforwolframaanzuur 10% in water	20 ml
Water	80 ml

Laat kleurstof ongeveer 1 maand staan, regelmatig schudden, anders 0,5 ml waterstofperoxide bijvoegen.

#### Kleuring

- Kleur uitstrijk 30 minuten
- Spoelen in leidingwater
- Laten drogen

#### Resultaat

Kern: donker blauw

Cytoplasma: licht blauw

### IV Giemsa kleuring - Algemene bloedkleuring

#### Kleuroplossing

Giemsa kleurmiddel - te kopen	
Gebufferd water: Natriumdihydrogeenfosfaat	4 g
Dinatriumfosfaat	6,5 g
Water	1000 ml

#### Kleuring

- Gefixeerde (methanol) uitstrijken 5 minuten  
kleuren met Giemsa 4 maal verdund met gebufferd water
- Wassen met gebufferd water
- Laten drogen

#### Resultaat

Chromatine: helder rood

Cytoplasma: helder blauw

Spirochaeten: rood violet

Leukocyten: kern purper rood

Erythrocyten: geel rose



V Haematoxyline Eosine kleuring - Algemene histologische kleuring

Kleuroplossing

- A) Haematoxyline 3,5% in alcohol 100 ml  
Ammoniumaluin 6,5% in water 380 ml  
Glycerine 80 ml  
Laat oplossing minimaal 3 maanden staan, filter dan
- B) Eosine 1% in water

Kleuring

- Kleur uitstrijken 10 minuten met A
- Spoelen met leidingwater tot blauwkleuring
- Kleur 2 minuten met B
- Spoel in water - drogen

Resultaat

Kernen: blauw  
Cytoplasma: rose tot rood  
Spier en collageenvezels: rose  
Erythrocyten, keratine: helder rood

LITERATUUR

- Adam, K.M.G. et al., 1971. Medical and Veterinary Protozoology. Churchill Livingstone, London.
- Buttiaux, R. et al., 1962. Manuel de Techniques Bactériologiques. Editions Medicales Flammarion, Paris.
- Claessen, H., 1982. Microscopisch onderzoek van faeces. Litteratura Serpentina, Vol. 2 (4): 184-192.
- Gurr, E., 1955. Medical and Biological Staining Techniques. London (328 kleursystemen).
- Reichenbach-Klinke & Elkan, 1974. Color atlas of the Diseases of Fishes, Amphibians and Rep-

tiles. t.t.h. Publications N.Y.

Smith, A. & J. Bruton, 1978. A colour atlas of  
Histological staining Techniques. Wolfe Medi-  
cal Publications LTD, London.

Welsch, U. & V. Storch, 1975. Comparative Animal  
Cytology and Histology. Sidgwick Jackson,  
London.