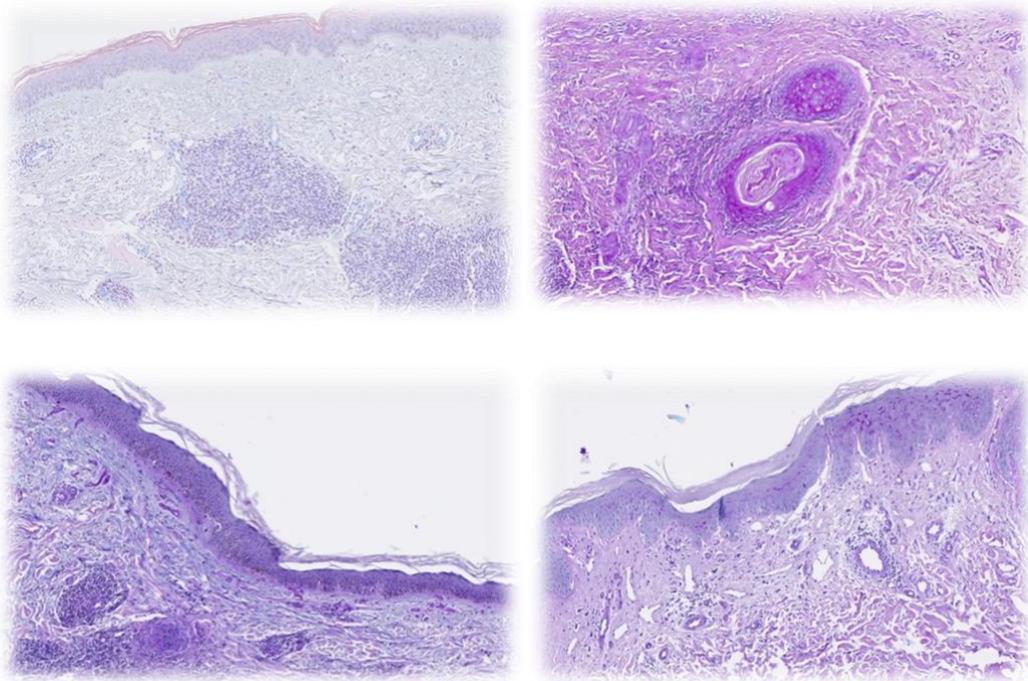


**Praxisorientierte Diplomarbeit**  
**Optimierung von AB und AB-PAS Färbung bei Kempf und Pfaltz**



**Murugadas Harini**

**Careum AG Bildungszentrum für Gesundheitsberufe,  
Höhere Fachschule für biomedizinische Analytik, H22, Juni 2025**

## 1. Vorwort

Die vorliegende Diplomarbeit entstand im Rahmen meines letzten Praktikums der Histologie und befasst sich mit der Optimierung der Alcianblau (AB) und Alcianblau-Perjod-Schiff (AB-PAS)-Färbung, da die derzeitigen Färbetechniken bei Kempf und Pfaltz nicht die gewünschte Qualität bieten und daher verbessert werden müssen. Der Wunsch des Institutsleiters, diese Optimierung voranzutreiben, bildete den Anstoß für diese Arbeit. Ziel war es, die Färbetechniken sowohl methodisch als auch technisch zu verbessern, um die diagnostische Qualität zu steigern und die digitale Analyse zu optimieren.

Die Wahl dieses Themas war für mich besonders spannend, da mich die histologische Diagnostik sehr begeistert und ich die Möglichkeit sehe, einen kleinen Beitrag zur Verbesserung von Effizienz und Präzision in diesem Fachbereich zu leisten. Die zunehmende Nutzung digitaler Scans in der medizinischen Diagnostik betrachte ich zudem als eine zukunftsweisende Entwicklung, an der ich aktiv mitwirken möchte. Diese Diplomarbeit bot mir die Gelegenheit, Theorie und Praxis sinnvoll zu verbinden und dabei an einer konkreten Optimierung mit klinischem Nutzen mitzuwirken.

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich während der Entstehung dieser Diplomarbeit unterstützt und begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Berufsbildnerin Daniela Joseph für ihre engagierte Wegleitung, ihre grosse Geduld und die stetige Motivation, die sie mir während des gesamten Prozesses entgegengebracht hat. Ein herzliches Dankeschön richte ich auch an Sahika Marszewski, die mich in meiner Arbeit unterstützt und für meine Praktischen Arbeiten auch Zeit zur Verfügung gestellt hat.

Den Institutsleitern Herrn Werner Kempf und Katrin Pfaltz danke ich aufrichtig für ihre wertvolle Unterstützung bei den Auswertungen. Ebenso gilt mein Dank Herrn Hazem Juratli und Herrn Jörg Galambos für ihre Mithilfe bei der Auswertung.

Dem Laborteam gilt auch ein grosses Dankeschön für die stetige Unterstützung und die motivierende Begleitung während meiner Arbeit. Ihre Hilfsbereitschaft und ihr positives Wesen haben mir die Diplomarbeit sehr erleichtert und mich stets ermutigt.

Ein Dankeschön geht auch an das IT-Team für die Unterstützung bei der technischen Umsetzung, insbesondere bei der Optimierung der Scans und Frau Sandra Krayl für die Betreuung während der Arbeit.

Meiner Familie danke ich von Herzen für ihre Geduld, ihr Verständnis und ihre kontinuierliche Motivation. Ebenso danke ich meinen Freunden, die mir mit ihrer positiven Energie stets zur Seite standen.

## 2. Abstract/Zusammenfassung

Diese Diplomarbeit befasst sich mit der Optimierung der Alcianblau (AB)- und Alcianblau-Period-Schiff (AB-PAS)-Färbung in der histologischen Diagnostik, insbesondere im Bereich der Dermatopathologie. Ausgangspunkt war die Beobachtung, dass die bisher im Labor Kempf & Pfaltz eingesetzten Färbemethoden in der praktischen Anwendung nicht die gewünschte Färbequalität bieten. Problematisch war insbesondere die geringe Differenzierbarkeit von sauren Muzinen sowie die unzureichende Darstellung von Pilzhyphen in digitalen Scans.

Ziel dieser Arbeit war es, die Färbetechniken sowohl in technischer als auch in digitaler Hinsicht zu verbessern. Dabei wurden mehrere Parameter systematisch getestet: die Schnittstärke der Gewebeprobe, verschiedene Alcianblau-Lösungen (u. a. Morphisto und Diapath), die Dauer der Gegenfärbung mit Kernechtrot sowie die Kombination mit der PAS-Färbung. Ebenso wurde untersucht, wie sich unterschiedliche Scanmodi (5-Fokus- vs. 9-Fokus-Punkte) auf die digitale Erkennbarkeit von Strukturen auswirken. Als Grundlage dienten fünf dermatologische Krankheitsbilder, die sowohl Muzine als auch Pilze histologisch zeigen: Granuloma annulare, Lupus erythematoses, Tinea corporis, Trichophytie und Pityrosporum folliculitis. Ziel war es, eine Färbemethode zu entwickeln, die sowohl saure und neutrale Muzine zuverlässig darstellt als auch Pilzstrukturen in digitalisierten Präparaten erkennbar macht.

Im Verlauf der Arbeit zeigte sich, dass die kombinierte AB-PAS-Färbung für die Darstellung beider Komponenten nicht zuverlässig genug ist. Insbesondere unter Scanbedingungen war die Darstellung der Pilze nicht ausreichend und die Muzine waren häufig schwer abgrenzbar. Daher wurde entschieden, für die Diagnostik auf getrennte Färbungen zurückzugreifen. Die optimierte Alcianblau-Färbung führte zu einer klareren Darstellung saurer Muzine. Die PAS-Färbung wurde separat digital ausgewertet und verbessert. Diese Optimierungen tragen dazu bei, die diagnostische Qualität und Reproduzierbarkeit der Färbungen zu erhöhen, insbesondere im Rahmen der digitalen Pathologie und bei Homeoffice-Anwendungen.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Vorwort.....</b>	<b>2</b>
<i>Danksagung.....</i>	2
<b>2. Abstract/Zusammenfassung .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
3.1 Zielsetzung.....	2
3.2 Fragestellung .....	2
<b>4. Theorieteil .....</b>	<b>3</b>
4.1 Aufbau der Haut .....	3
4.2 Oberhaut (Epidermis) .....	3
4.3 Lederhaut (Dermis) .....	4
4.4 Unterhaut (Subcutis) .....	4
4.5 Bedeutung histologischer Färbungen .....	5
4.6 Alcianblau-Färbung.....	6
4.6.2 Muzine .....	7
4.6.3 Saure Mukosubstanzen.....	7
4.7 Periodic Acid-Schiff-Färbung.....	8
4.7.1 Prinzip der Färbung .....	8
4.7.2 neutrale Mukosubstanzen.....	9
4.7.3 Glykogen.....	10
4.7.4 Kollagen .....	10
4.8 AB-PAS.....	11
4.9 Krankheitsbilder .....	12
4.9.1 Granuloma annulare (GA) – Granulamatöse Entzündung .....	12
4.9.2 Lupus erythematoses (LE) – Interface Veränderung .....	14
4.9.3 Tinea corporis (TC) - Mykose .....	17
4.9.4 Trichophytie (TR) - Mykose .....	18
4.9.5 Pityrosporum folliculitis (PF) - Follikulitis .....	19
<b>5. Empirischer Teil / Praxisteil .....</b>	<b>21</b>
5.1 Material .....	21
5.2 verwendete Geräte.....	22
5.2.1 Medite TST 44 Multifärber.....	22
5.2.2 Scanner - NanoZoomer S360 .....	23
5.3 Vorbereitung .....	24
5.4 Bestimmung der optimalen Schnittdicke .....	25
5.5 Vergleich verschiedener Alcianblau-Lösungen - Version 1 .....	25
5.6 Optimierung von Alcianblau-Färbung .....	26
5.6.1 Version 2 – Anpassung mit Morphisto-Lösung.....	27
5.6.2 Version 3 – Verkürzung der Kernechtrot-Färbung.....	27
5.6.3 Version 4 – Feinabstimmung der Kernechtrot-Dauer .....	28
5.7 Weiterentwicklung zur kombinierten AB-PAS-Färbung.....	28
5.8 Umsetzung der kombinierten AB-PAS Färbung .....	29

5.8 Optimierung der digitalen Darstellung .....	29
5.9 Ergebnisse .....	30
5.9.1 Schnittdicke.....	30
5.9.2 Vergleich verschiedener Alcianblau-Lösungen (Version 1) .....	30
5.9.3 Optimierungsschritte .....	31
5.9.4 Kombination AB-PAS.....	33
5.9.5 Digitalisierung und Scanning.....	33
5.10 Ergebnisse anhand Bilder.....	35
6.7 Diskussion .....	43
6.7.1 Beantwortung der Fragestellung .....	43
6.8 Ausblick.....	43
<b>7. Reflexion .....</b>	<b>45</b>
<b>8. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>47</b>
<b>8.1 Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>49</b>
<b>8.2 Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>51</b>
<b>9. Persönliche Erklärung und Anhang.....</b>	<b>52</b>
<b>10. Anhang .....</b>	<b>53</b>
10.1 Verwendete KI-Tools .....	53
10.2 Weitere Bilder.....	53
10.3 Austestungsmaterial .....	59
10.4 Chemikalienliste.....	60
10.5 Färbeprotokolle .....	61
10.6 Auswertungsblätter.....	71

### 3. Einleitung

Die histologische Färbung ist ein zentrales Instrument in der medizinischen Diagnostik, da sie die gezielte Darstellung zellulärer und extrazellulärer Strukturen in Gewebeproben ermöglicht. Besonders in der Dermatopathologie leisten etablierte Färbemethoden wie die AB- und die kombinierte AB-PAS-Färbung einen wichtigen Beitrag zur Erkennung und Differenzierung spezifischer Bestandteile wie Muzinen und Pilzen.

In der Praxis zeigte sich jedoch, dass die bestehende Färbemethode im Labor bei Kempf & Pfaltz nicht in allen Fällen den gewünschten diagnostischen Ansprüchen entspricht. Zurzeit färben sich das Kollagen und das restliche Bindegewebe ebenfalls hellblau, was den Kontrast zum ebenfalls hellblau erscheinenden Muzin erheblich einschränkt und die Differenzierung unter dem Mikroskop erschwert. Die unzureichende Darstellung von Muzinen sowie die erschwerte Erkennbarkeit von Pilzen in digitalen Scans führten daher dazu, dass der Institutsleiter eine gezielte Überarbeitung und Verbesserung dieser Methoden angeregt hat.

Zusätzlich gewinnt die digitale Mikroskopie, insbesondere im Rahmen der Homeoffice-Arbeit, zunehmend an Bedeutung, was neue Anforderungen an die Färbequalität und Bildverarbeitung stellt. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde daher ein praktisches Optimierungsprojekt durchgeführt, das sich auf konkrete Färbeparameter und digitale Verarbeitungsaspekte konzentriert. Zur Überprüfung und Entwicklung möglicher Verbesserungen wurden Versuche mit verschiedenen Schnittdicken, unterschiedlichen Alcianblau-Lösungen und Färbekombinationen durchgeführt.

Die Untersuchungen erfolgten anhand von Gewebeproben fünfer dermatologischer Krankheitsbilder: Granuloma anulare, Lupus erythematodes, Tinea corporis, Trichophytie und Pityrosporum folliculitis.

Die Arbeit gliedert sich in einen theoretischen Teil, in dem die histologischen Grundlagen, die Funktionsweise der verwendeten Färbemethoden sowie die Charakteristika der ausgewählten Krankheitsbilder erläutert werden.

Für die Beschreibung der dermatologischen Krankheitsbilder wurde hauptsächlich auf ein Fachbuch zurückgegriffen, das von unserem Institutsleiter verfasst wurde und die relevanten pathologischen Grundlagen fundiert darstellt. Ergänzend dazu fanden Herstellerinformationen der verwendeten Färbelösungen sowie technische Dokumentationen der eingesetzten Geräte in Form von Handbüchern und Datenblättern Verwendung, um die methodischen und technischen Details präzise darzustellen. Zur Sicherstellung aktueller und fachspezifisch validierter Informationen wurden zudem renommierte medizinische Fachquellen herangezogen, darunter standardisierte Nachschlagewerke und spezialisierte dermatologische Online-Ressourcen.

Im praktischen Teil werden die einzelnen Schritte des methodischen Vorgehens dargestellt, die Ergebnisse ausgewertet und mögliche Optimierungen für die künftige Anwendung abgeleitet.

### 3.1 Zielsetzung

Ziel dieser Diplomarbeit ist die umfassende Optimierung der AB- und AB-PAS-Färbung bei Kempf und Pfaltz. Dabei wird die Methode sowohl technisch als auch methodisch untersucht, um eine verbesserte Anfärbbarkeit der Muzine, eine höhere Effizienz sowie eine verbesserte Diagnostik und Analyse zu gewährleisten.

Die Ergebnisse sollen zu einer standardisierten, praxistauglichen und qualitativ hochwertigen AB- und AB-PAS-Färbemethode führen, die sowohl die Aussagekraft der Darstellung von Muzinen und Pilzen in der Haut verbessert als auch für den digitalen Einsatz optimiert ist. Dabei wird untersucht, ob Muzine stärker dargestellt werden können, ob und in welchem Umfang die AB-PAS-Kombination eine gleichzeitige Darstellung von Muzinen und Pilzhyphen ermöglicht und inwiefern die PAS-Färbung in digitalen Scans verbessert werden muss, um Pilze zuverlässiger erkennbar zu machen.

Durch die Optimierung der Färbung und des digitalen Workflows soll die diagnostische Aussagekraft erhöht und die Arbeit im Homeoffice erleichtert werden.

### 3.2 Fragestellung

- Wie lässt sich die Alcianblau-Färbung entwickeln, dass sich die Muzine bei Hauterkrankungen gut darstellen lassen?
- Welche Schritte sind nötig, um die Alcianblau- und Pas-Färbung in der Hautdiagnostik in einer AB-Pas Färbung zu kombinieren?
- Welche Maßnahmen können die Qualität des digitalen Scannens verbessern, um die Pilze in den AB-PAS-gefärbten Schnitten auch im Homeoffice optimal analysieren darzustellen?

## 4. Theorieteil

### 4.1 Aufbau der Haut

Die menschliche Haut ist in drei Hauptschichten (Abbildung 1) unterteilt: die Epidermis (Oberhaut), die Dermis (Lederhaut) und die Subcutis (Unterhaut). Jede dieser Schichten hat spezifische Aufgaben und trägt zur gesamten Funktion der Haut bei. Des Weiteren wird die Haut in zwei Typen unterteilt: Leistenhaut und Felderhaut. Die Leistenhaut kommt vor allem an den Handflächen und Fußsohlen vor und enthält ausschließlich Schweißdrüsen, während die Felderhaut zusätzlich Haare, Talg- und Schweißdrüsen enthält (Janqueira et al., 2002, S.312).

### 4.2 Oberhaut (Epidermis)

Die Epidermis (Abbildung 2) ist die äußere Schicht der Haut und besteht aus einem mehrschichtigen verhornten Plattenepithel. Sie enthält keine Blutgefäße, da sie ihre Nährstoffe durch Diffusion aus der darunterliegenden Dermis bezieht. Der Hauptbestandteil der Epidermis sind Keratinozyten, die in einem kontinuierlichen Prozess von der Basalschicht bis zur Hornschicht wandern, dabei verhornen und sich schließlich zu Korneozyten umwandeln, die Keratin produzieren. Dieses Keratin bildet eine schützende Barriere, die der Haut Festigkeit verleiht und sie vor äußeren Einflüssen schützt (Janqueira et al., 2002, S.312, 313).

Die Epidermis umfasst mehrere Schichten:

**Basalzellschicht (Stratum basale):** Diese Schicht besteht aus einer einzigen Reihe von Zellen, die sich ständig teilen und neue Zellen bilden. Diese neuen Zellen wandern nach oben und differenzieren sich zu Zellen der darüber liegenden Schichten. Hier befinden sich auch Melanozyten, die Melanin produzieren und die Haut vor schädlicher UV-Strahlung schützen (Janqueira et al., 2002, S.313, 314)

**Stachelzellschicht (Stratum spinosum):** Diese Schicht enthält Zellen, die durch ihre stachelige Form miteinander verbunden sind und ein stabiles Gerüst für die Epidermis bilden. In dieser Schicht finden sich ebenfalls dendritische Zellen, die für die Immunabwehr zuständig sind (Janqueira et al., 2002, S.314).

**Körnerschicht (Stratum granulosum):** Diese Schicht besteht aus 3-5 Reihen flacher Zellen, die Keratohyalin produzieren, eine Substanz, die für die Bildung des Hornes (Keratin) notwendig ist. Die Zellen beginnen hier, ihre Zellkerne aufzugeben und sich in Hornzellen zu verwandeln (Janqueira et al., 2002, S.314, 315).

**Glanzschicht (Stratum lucidum):** Diese Schicht ist nur an besonders stark beanspruchten Hautstellen wie der Handfläche und Fußsohle vorhanden. Sie enthält flache, transparente Zellen, die eine Schutzbarriere gegen mechanische Belastung bilden (Janqueira et al., 2002, S.315).

**Hornschicht (Stratum corneum):** Die äußerste Schicht der Epidermis besteht aus 25-30 Schichten flacher Zellen, die vollständig mit Keratin gefüllt sind. Diese Zellen sind abgestorben und bieten einen effektiven Schutz gegen Austrocknung und schädliche Umwelteinflüsse (Janqueira et al., 2002, S.315).

### 4.3 Lederhaut (Dermis)

Die Dermis, auch Lederhaut genannt, liegt direkt unter der Epidermis und ist die mittlere Hautschicht. Sie ist deutlich dicker als die Epidermis und besteht aus Bindegewebe, das hauptsächlich aus Kollagenfasern und Elastin besteht. Diese Fasern verleihen der Haut ihre Festigkeit und Elastizität und ermöglichen ihr, sich nach Dehnung wieder in ihre ursprüngliche Form zurückzuziehen (Janqueira et al., 2002, S.318).

In der Dermis befindet sich zudem eine Vielzahl von Blutgefäßen, Nervenendigungen und Hautanhangsgebilden, die für verschiedene Funktionen der Haut zuständig sind, wie die Nährstoffversorgung, die Wärmeregulation, die Haarproduktion und die Sensibilität. (Janqueira et al., 2002, S.318, 319, 323, 324)

Die Dermis lässt sich in zwei Hauptschichten unterteilen:

#### **Papillarschicht (Stratum papillare):**

Diese Schicht liegt direkt unter der Epidermis und besteht aus lockeren Bindegewebe-fasern, die in Papillen(Fortsätze) verlaufen und die Verbindung zwischen Epidermis und Dermis verstärken. Die Papillen sind in der Regel reich an Kapillaren, die für die Nährstoffversorgung der Epidermis sorgen, da die Epidermis selbst keine Blutgefäße besitzt. In der Papillarschicht befinden sich auch Meissner-Tastkörperchen, die für den Tastsinn zuständig sind (Janqueira et al., 2002, S.318).

#### **Retikulärschicht (Stratum reticulare):**

Diese Schicht besteht aus dichtem, kollagenreichem Bindegewebe, das der Haut ihre Festigkeit und Elastizität verleiht. Sie enthält die größeren Blutgefäße und Nervenfasern, die für die Reizweiterleitung und die Wärmeregulation verantwortlich sind. Hier befinden sich auch die Haarfollikel, Schweißdrüsen und Talgdrüsen, die Hautanhangsgebilde, die für die Haarproduktion, die Schweißsekretion und die Sebumproduktion zuständig sind. Diese Drüsen haben wichtige Funktionen bei der Hautpflege, der Schweißregulation und dem Schutz der Haut vor Austrocknung (Janqueira et al., 2002, S.318, 319).

### 4.4 Unterhaut (Subcutis)

Die Subcutis, auch als Unterhautgewebe bekannt, bildet die tiefste Schicht der Haut und verbindet die Haut mit den darunter liegenden Muskeln und Knochen. Sie besteht hauptsächlich aus Fettgewebe, das als Polsterung dient und die Haut vor Stoßbelastungen schützt. Darüber hinaus spielt die Subcutis eine wichtige Rolle bei der Wärmeregulierung und als Energiespeicher (Janqueira et al., 2002, S.319).

Die Unterhaut ist unterteilt in:

#### **Fettgewebe:**

Die Subcutis besteht aus adipozytären Zellen, die Fett speichern. Dieses Fettgewebe dient nicht nur als Energiespeicher, sondern auch als Dämmmaterial, das den Körper vor Kälte schützt, indem es als Isolator wirkt. Fettgewebe in der Subcutis kann als Energiereserve bei Bedarf mobilisiert werden, um den Energiebedarf des Körpers zu decken (Janquiera et al., ,2002, S.319).

#### **Bindegewebe:**

In der Subcutis sind auch dicke Bindegewebsstränge zu finden, die die Haut mit tiefen liegenden Geweben verbinden. Diese Bindegewebsstrukturen helfen, die Haut in ihrer Position zu stabilisieren und sichern eine gewisse Elastizität und Beweglichkeit der Haut (Janqueira et al., 2002, S.319).

### Blutgefäße und Nerven:

Die Subcutis enthält größere Blutgefäße, die für die Versorgung der Dermis mit Nährstoffen und den Abtransport von Abfallprodukten verantwortlich sind. Ebenso verlaufen dort Nervenfasern, die für die Schmerz- und Temperaturempfindung zuständig sind (Janqueira et al., 2002, S.323).

Aufbau der Epidermis

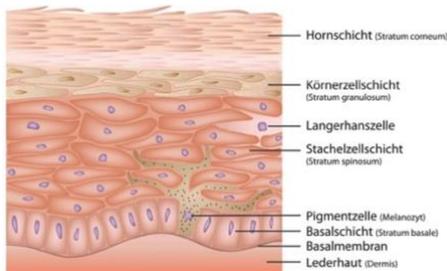


Abbildung 1: Aufbau der Haut

(Quelle: <https://www.sanubiom.com/haut-wissen/>, Zugriff am 06.06.2025)

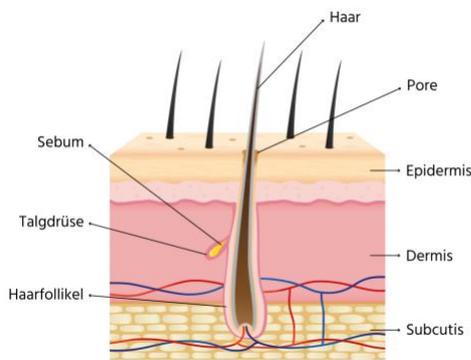


Abbildung 2: Aufbau der Epidermis

(Quelle: <https://smetics.com/aufbau-und-funktionen-deiner-haut-das-musst-du-wissen/>, Zugriff am 06.06.2025)

## 4.5 Bedeutung histologischer Färbungen

Die histologische Färbung spielt eine zentrale Rolle in der Diagnostik, da sie spezifische Gewebebestandteile sichtbar macht und eine differenzierte Beurteilung ermöglicht. Durch gezielte Anfärbungen werden nicht nur strukturelle sowie funktionelle Besonderheiten verschiedener Gewebetypen hervorgehoben, sondern auch pathologische Veränderungen wie Mikroorganismen (z. B. Pilze oder Bakterien), Ablagerungen (z. B. Glykogen, Lipofuszin oder Eisen) sowie degenerative oder entzündliche Prozesse zuverlässig nachgewiesen. Dies macht histologische Färbungen zu einem unverzichtbaren Werkzeug in der pathologischen Routinediagnostik.

Zwei etablierte Spezialfärbungen, die in der Routinehistologie häufig eingesetzt werden, sind die Alcianblau- (AB-) und die PAS-Färbung (Periodic Acid-Schiff). Beide Verfahren ermöglichen den gezielten Nachweis unterschiedlicher Kohlenhydratstrukturen jedoch mit unterschiedlicher Zielstruktur im Gewebe und leisten somit einen wesentlichen Beitrag zur präzisen Diagnostik pathologischer Veränderungen (Leica Biosystems, o.J.).

## 4.6 Alcianblau-Färbung

Die Alcianblau-Färbung ist eine histologische Spezialfärbung, die gezielt saure Mukopolysaccharide und Glykosaminoglykane in Geweben sichtbar macht. Sie wird in spezialisierten Laboren wie Kempf & Pfaltz, die auf Hautdiagnostik spezialisiert sind, routinemäßig angewendet. Dort ermöglicht sie die präzise Beurteilung von mukoiden Veränderungen, wie sie bei Erkrankungen wie Lupus erythematodes, Granuloma annulare oder kutanen Muzin-produzierenden Tumoren auftreten. Darüber hinaus ist die Alcianblau-Färbung in der allgemeinen Histologie von Bedeutung, um saure Schleimsubstanzen in verschiedenen Geweben wie dem Magen-Darm-Trakt oder den Atemwegen differenziert darzustellen (Leica Biosystems, o.J.b)

### 4.6.1 Prinzip der Färbung

Die Alcianblau-Färbung basiert auf der elektrostatischen Bindung des kationischen Farbstoffs Alcianblau an die negativ geladenen funktionellen Gruppen saurer Mukosubstanzen, insbesondere Carboxyl- und Sulfatgruppen binden wie auf der Abbildung 3 zusehen ist. Der Farbstoff enthält positiv geladene Isothiouroniumgruppen, die mit den sauren Seitenketten der Zielmoleküle reagieren (Leica Biosystems, o.J.b).

Ein zentraler Aspekt der Methode ist die pH-abhängige Selektivität der Färbung, die eine differenzierte Analyse der Schleimtypen ermöglicht:

- **pH 2,5:** Es werden sowohl sulfatierte als auch carboxylierte saure Mukopolysaccharide gefärbt.
- **pH 1,0:** Es erfolgt eine selektive Färbung hauptsächlich sulfathaltiger Strukturen. (Leica Biosystems, o.J. b)

Die AB-Färbung (Tabelle 1) bei Labor Kempf und Pfaltz wird maschinell durchgeführt:

	<b>Schritte</b>	<b>Reaktion</b>
1	Entparaffinieren bis Aqua demin.	Paraffin entfernen
2	Essigsäure	Beize für Alcianblau
3	Alcianblau	Färbt saure Mukosubstanzen
4	Wasserbad	Entfärbt überschüssige Farblösung
5	Kernechtrot	Kernfarbstoff
6	Wasserbad	Entfernt überschüssige Farblösung
7	Ottix Shaper	entwässern
8	Ottix Shaper	entwässern
9	Ottix Plus	Intermedium
10	Diamount	Eindeckmittel (Schutz)

Tabelle 1: Alcianblau Färbetechnik bei Kempf und Pfaltz maschinell (Quelle: Kempf und Pfaltz, 2023)

Resultat:

saure Mukosubstanzen: blau

Kerne: rot

(Abbildung 3) (Kempf und Pfaltz, 2023)

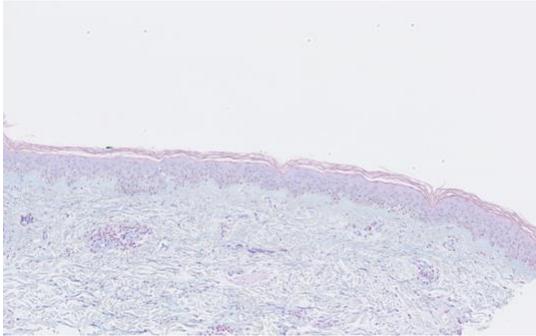


Abbildung 3: Alcianblau-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

#### 4.6.2 Muzine

Muzine gehören zur umfassenden Gruppe der Kohlenhydrate, die sich strukturell in Einfachzucker (Monosaccharide), Vielfachzucker (Polysaccharide) und Mukopolysaccharide unterteilen lassen. Bei Muzinen handelt es sich um spezielle Glykoproteine, bei denen der Proteinanteil stark mit langen Ketten aus Zuckerbausteinen (Oligo- und Polysacchariden) modifiziert ist. Aufgrund dieser Zusammensetzung zählen sie funktionell zu den Mukopolysacchariden (Leica Biosystems, o.J.b).

Diese Moleküle sind in zahlreichen Geweben des Körpers anzutreffen und übernehmen vielfältige Aufgaben. Sie tragen zur Aufrechterhaltung der strukturellen Integrität von Haut, Knorpel, elastischem Bindegewebe, Knochen und biologischen Membranen bei. Darüber hinaus spielen sie eine essenzielle Rolle in der Regulation des Nährstofftransports zwischen Kapillaren und Zellen, was insbesondere für Zellwachstum und Zellüberleben von Bedeutung ist (Leica Biosystems, o.J.b).

Man unterscheidet grundsätzlich zwischen:

**Sekretorischen Muzinen:** Sekretorische Muzine sind Hauptbestandteil von Schleim und kommen z. B. in Bronchien, Darm und Genitaltrakt vor. Sie sind reich an verzweigten Kohlenhydraten, was ihnen ihre schleimige Konsistenz verleiht. Die Zucker sind O-glykosidisch an Serin oder Threonin gebunden. Sie enthalten Sialinsäure und Sulfatgruppen was zu Alcianblau-positiv wird. Durch ihren hohen Zuckeranteil sind sie auch PAS-positiv (Lang, 2013, S.26).

**Membrangebundenen Muzinen:** Diese Muzine sind in die Zellmembran eingebaut. Sie besitzen ähnliche Zuckerstrukturen wie die sekretorischen Formen (O-glykosidisch gebunden, basophil), sind aber nicht im Schleim gelöst, sondern übernehmen zusätzlich Schutz-, Signal- und Transportfunktionen an der Zelloberfläche. Sie enthalten sowohl Sulfat- als auch Carboxylgruppen. (Lang, 2013, S.26).

#### 4.6.3 Saure Mukosubstanzen

Saure Mukosubstanzen bilden eine zentrale Zielstruktur der Alcianblau-Färbung. Ihre Unterscheidung basiert auf der Art der negativ geladenen funktionellen Gruppen in ihren Zuckerketten. Histochemisch lassen sich zwei Haupttypen differenzieren: schwach saure und stark saure Mukosubstanzen, was insbesondere durch die Anpassung des pH-Werts bei der Färbung sichtbar gemacht werden kann (Leica Biosystems, o.J.b).

Schwach saure Mukosubstanzen

Diese besitzen Carboxylgruppen ( $-\text{COOH}$ ) als Ladungsträger. Diese ermöglichen eine Anfärbung mit Alcianblau bei einem pH-Wert von 2,5, jedoch nicht bei einem pH-Wert von 1,0. Sie sind typisch für das kutan-dermatologische Gewebe und finden sich beispielsweise im Rahmen von Erkrankungen wie Lupus erythematodes oder Granuloma annulare. Ein

typisches Beispiel für diese Gruppe ist die Hyaluronsäure, ein Bestandteil der extrazellulären Matrix in der Dermis (Leicabiosystems o.J.a) (Morphisto, 2019a).

#### Stark saure Mukosubstanzen

Hingegen diese tragen Sulfatgruppen ( $-\text{SO}_3\text{H}$ ), die eine stärkere negative Ladung bewirken. Diese Strukturen lassen sich mit Alcianblau sowohl bei pH 2,5 als auch bei pH 1,0 anfärben. Stark saure Mukosubstanzen kommen überwiegend in Atemwegsepithelien, im Magen-Darm-Trakt sowie in muzinproduzierenden Tumoren vor. (Leica Biosystems o.J.a) (Morphisto, 2019a).

Die pH-abhängige Differenzierung der Färbung ist ein entscheidendes diagnostisches Werkzeug zur Unterscheidung verschiedener Schleimarten, insbesondere bei entzündlichen und neoplastischen Veränderungen der Haut und anderer Organe (Leica Biosystems o.J.a) (Morphisto, o.J.b).

## 2.7 Periodic Acid-Schiff-Färbung

Die Periodic Acid-Schiff (PAS)-Färbung ist eine etablierte histologische Spezialfärbung, die zur Darstellung kohlenhydrathaltiger Gewebekomponenten dient. Sie ermöglicht den Nachweis von Strukturen wie Glykogen, neutralen Mukopolysacchariden, Glykoproteinen sowie der Basalmembran, einer dünnen, extrazellulären Grenzstruktur zwischen Epithelien und Bindegewebe. Auch Pilze lassen sich mit dieser Methode zuverlässig darstellen, da ihre Zellwände aus polysaccharidreichen Komponenten bestehen, die PAS-positiv reagieren (Leica Biosystems, o.J.b).

Durch ihre breite Anwendbarkeit hat sich die PAS-Färbung als unverzichtbares diagnostisches Werkzeug in der Routinediagnostik etabliert.

Neben ihrer Relevanz in der Hautdiagnostik findet die PAS-Färbung auch in anderen medizinischen Fachbereichen Anwendung, etwa in der Nephropathologie, Gastroenterologie oder Mykologie, insbesondere zum Nachweis von Pilzen in Geweben oder Organen. (Leica Biosystems, o.J.b).

### 4.7.1 Prinzip der Färbung

Die PAS-Färbung beruht auf der Oxidation von 1,2-glykosidisch gebundenen Zuckern (insbesondere von Glykogen) durch periodische Säure, die den Zucker oxidiert und aldehydische Gruppen freisetzt. Diese aldehydischen Gruppen reagieren mit der Schiff-Reagenz, das eine rote bis magentafarbene Färbung erzeugt (Morphisto, 2022c).

Der Ablauf der PAS-Färbung umfasst mehrere Schritte: Zunächst wird das Gewebe mit periodischer Säure behandelt, die den Zuckermolekülen aldehydische Gruppen verleiht. Im nächsten Schritt reagiert das Schiff-Reagenz mit diesen aldehydischen Gruppen und färbt die betroffenen Strukturen. Die Spezifität der Färbung hängt von der Anwesenheit von freien Aldehydgruppen in den Zuckermolekülen ab, was den Nachweis von Glykogen, Schleimstoffen und einigen Glykoproteinen ermöglicht (Morphisto, 2022c)

Die PAS-Färbung (Tabelle 2) erfolgt im Labor Kempf und Pfaltz maschinell:

	Schritte	Reaktion
1	Entparaffinieren bis Aqua demin.	Überschüssiges Paraffin entfernen
2	Perjodsäure 0.5%	oxidiert Gewebestruktur zu Aldehyden, werden freigesetzt
3	Aqua demin	überschüssige Perjodsäure wird abgespült, stoppt Oxidation
4	Schiff's Reagenz	lagert sich an die Aldehyd Gruppen an
5	Natrium disulfit 0.52%	entfernt überschüssiges Schiff's, verhindert falsch positive Ergebnisse
6	Wasserbad	entfernt überschüssiges Natrium disulfit
7	Hämalaun nach Mayer	Kernfarbstoff
8	Wasserbad	entfernt überschüssiges Hämalaun, bläuen, pH - Umschlag
9	Wasserbad	entfernt überschüssige Differenzierungslösung
10	Ottix Shaper	entwässern
11	Ottix Shaper	entwässern
12	Ottix Plus	Intermedium
13	Diamount	Eindeckmittel (Schutz)

Tabelle 2: Perjodic-Acid-Schiff Färbetechnik bei Kempf und Pfaltz maschinell (Quelle: Kempf und Pfaltz, 2023)

Resultat:

Kerne: blau

Pas Positive Substanzen: purpur

(Pilze, Basalmembran, neutrale Mukosubstanzen, Glykogen, neutrale Glykolipide und Glykoproteine)

(Abbildung 4) (Kempf und Pfaltz, 2023)

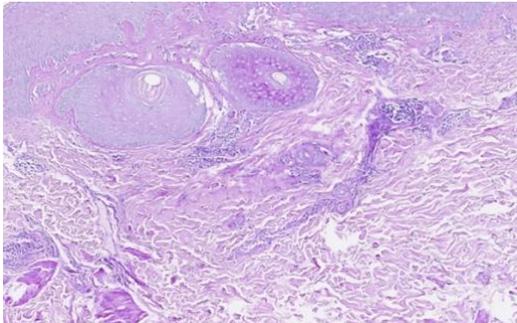


Abbildung 4: Perjodic-Acid-Schiff-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

#### 4.7.2 neutrale Mukosubstanzen

Die neutralen Muzine hingegen besitzen keine ionisierbaren funktionellen Gruppen und sind daher ungeladen. Sie kommen vor allem in der Magenschleimhaut, den Brunner-Drüsen des Duodenums sowie im Prostataepithel vor. Dort schützen sie die Schleimhäute vor aggressiven Substanzen wie Magensäure, schaffen ein günstiges pH-Milieu für enzymatische Aktivitäten im Dünndarm und fungieren als Gleitmittel in verschiedenen Geweben, etwa im Darmtrakt und in der Prostata (Leica Biosystems, o.J.b).

### 4.7.3 Glykogen

Glukose stellt die primäre Energiequelle der meisten Zellen dar. Überschüssige Glukose, die nicht unmittelbar zur Energiegewinnung benötigt wird, wird in Form von Glykogen gespeichert, hauptsächlich in Leber- und Muskelzellen. Dieses verzweigt-kettige Polysaccharid dient als rasch mobilisierbarer Energiespeicher, der bei Bedarf durch Glykogenolyse wieder in Glukose umgewandelt wird, insbesondere in Phasen des Fastens oder gesteigerten Energiebedarfs (Leica Biosystems, o.J.b).

### 4.7.4 Kollagen

Kollagen ist das häufigste Strukturprotein im menschlichen Körper und spielt eine zentrale Rolle im Bindegewebe. Es verleiht Geweben wie Haut, Sehnen, Bändern, Knorpel und Knochen ihre mechanische Festigkeit, Zugbelastbarkeit und strukturelle Integrität. Kollagen ist ein faserbildendes Glykoprotein, das aus drei polypeptidischen  $\alpha$ -Ketten besteht, die zu einer stabilen, tripelhelikalen Struktur verwunden sind, der sogenannten Kollagenhelix. Diese Tripelhelix ist äußerst zugfest und kaum dehnbar (Lang, 2013, S.26).

#### **Kollagen Typ IV in der Basalmembran**

Die Basalmembran enthält unter anderem Kollagen Typ IV, ein nicht-fibrilläres Kollagen, das keine klassischen Fasern bildet, sondern ein Netzwerk innerhalb der Basallamina. Dieses Kollagen ist PAS-positiv, da es stark glykosyliert ist und somit auf die Reaktion mit dem Schiff-Reagenz anspricht (Lang, 2013, S.32).

## 4.8 AB-PAS

Die Alcianblau-PAS-Färbung ist eine kombinierte histochemische Färbemethode, mit der verschiedene Kohlenhydratkomponenten im Gewebe abhängig vom pH-Wert und der Elektrolytkonzentration differenziert dargestellt werden können (Morphisto, 2022b).

Durch die Kombination beider Verfahren lassen sich unterschiedliche Schleimtypen kontrastreich und präzise im gleichen Präparat differenzieren.

Diese Färbetechnik ist vor allem in der Diagnostik von Lungentumoren, Lungenmetastasen und Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts von besonderer Bedeutung. Sie wird jedoch auch bei weiteren Karzinomen und schleimproduzierenden Krankheitsbildern routinemäßig eingesetzt (Morphisto, 2022b).

Im Labor Kempf und Pfaltz wird die AB-PAS-Färbung (Tabelle 3) maschinell durchgeführt:

	<b>Schritte</b>	<b>Reaktion</b>
1	Entparaffinieren bis Aqua demin.	Paraffin entfernen
2	Essigsäure 3%	Beize für Alcianblau
3	Alcianblau	Färbt saure Mukosubstanzen
4	Essigsäure 3%	Entfernt überschüssige Farblösung und senkt den pH-Wert → verstärkt die Anfärbung der sauren Mukosubstanzen
5	Wasserbad	Entfernt überschüssige Farblösung
6	Perjodsäure 0.5%	oxidiert Gewebestruktur zu Aldehyden, werden freigesetzt
7	Wasserbad	Entfernt überschüssige Säure
8	Schiff's Reagenz	Lagert sich an Aldehydgruppen an → bewirken eine pink-violette Farbe
9	Natriumdisulfit 0.52%	entfernt überschüssiges Schiff's, verhindert falsch positive Ergebnisse
10	Wasserbad	entfernt überschüssiges Natrium disulfit
11	Hämalaun	Kernfarbstoff
12	H2O fliessend	Überschüssiges Hämalaun wegwaschen
13	Ottix Shaper	entwässern
14	Ottix Shaper	entwässern
15	Ottix Plus	Intermedium
16	Diamount	Eindeckmittel

Tabelle 3: AB-PAS Färbetechnik bei Kempf und Pfaltz (Quelle: Kempf und Pfaltz, 2023)

Resultat:

PAS-positive Substanzen: pupur

Saure Mukosubstanzen: blau

Kerne: blau

(Abbildung 5 und 6) (Kempf und Pfaltz, 2023)

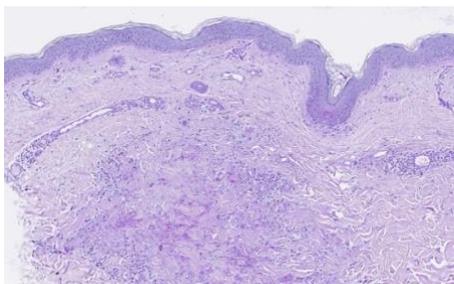


Abbildung 5: AB-PAS-Färbung 1, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

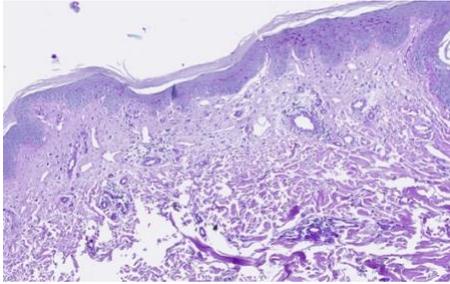


Abbildung 6: AB-PAS Färbung 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

## 4.9 Krankheitsbilder

### 4.9.1 Granuloma annulare (GA) – Granulamatöse Entzündung

#### Ursache:

Es ist nicht infektiös. Die genaue Ursache ist unbekannt, jedoch wird vermutet, dass es sich um eine Reaktion des Immunsystems handelt (MSD Manuel, 2024).

#### Betroffene Personen:

Kinder und junge Erwachsene (Kempf et al., 2011, S. 76).

#### Klinisches Bild:

Das Granuloma annulare ist eine gutartige, entzündliche Hauterkrankung, die sich klinisch durch ringförmig angeordnete, hautfarbene bis rötliche Papeln (Abbildung 7) und Plaques (Abbildung 8) manifestiert. Diese Läsionen treten häufig an den Extremitäten auf. Die Erkrankung ist meist asymptomatisch (Kempf et al., 2011, S. 76).



Abbildung 7: Papeln

Quelle: <https://online-hautarzt.net/granuloma-annulare/> Zugriff am 06.06.2025



Abbildung 8: Plaque

Quelle: <https://advancedskinlaser.com/granuloma-annulare/> Zugriff am 06.06.2025

### Was ist der Unterschied zwischen Papeln und Plaques?

Papeln auch Knoten genannt sind kleine, gut abgrenzbare, erhabene Hautveränderungen, welche einen Durchmesser von 1mm bis 10 cm sein können. Sie entstehen durch eine lokale Zellvermehrung oder -infiltration in der Epidermis oder oberen Dermis (MSD Manual, 2024).

Plaques hingegen sind flache oder leicht erhabene Hautläsionen, die größer als 10 mm im Durchmesser sind. Sie entstehen oft durch die Konfluenz mehrerer benachbarter Papeln, die sich zu einem größeren, zusammenhängenden Areal vereinigen. (MSD Manual, 2024).

Beide Hautveränderungen sind eher rötlich können jedoch auch von der Farbe variieren (MSD Manual).

### Histopathologie:

Histologisch zeigt das Granuloma annulare charakteristische palisadierende Granulome. Diese bestehen aus Histiozyten, die sich ringförmig um zentral gelegene nekrobiotische Kollagenfasern anordnen. Zusätzlich finden sich häufig mehrkernige Riesenzellen vom Langhans-Typ sowie ein perivaskuläres lymphozytäres Infiltrat in der oberen und mittleren Dermis. Ein weiteres typisches Merkmal sind Muzinablagerungen (Abbildung 9) in der Dermis.. Die Epidermis bleibt in der Regel intakt (Kempf et al., 2011, S. 76).

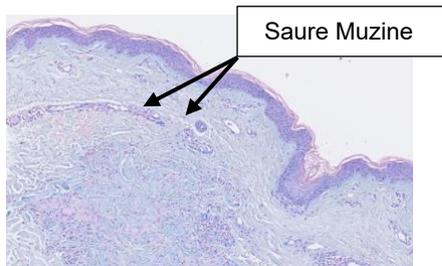


Abbildung 9: Granuloma annulare Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

### Zusatzuntersuchungen:

Im Frühstadium können Granuloma annulare und Necrobiosis lipoidica ähnliche histologische Merkmale zeigen. Da eine frühe Borreliose sich ebenfalls wie ein Granuloma annulare präsentieren kann, sollten bei klinischem Verdacht und dem Nachweis von Plasmazellen zusätzliche serologische Tests und molekularebiologische Untersuchungen (PCR aus Gewebe) durchgeführt werden (Kempf et al., 2011, S. 76).

### Behandlung/Therapie:

Grundsätzlich ist keine Behandlung nötig, weil es auch zu den spontanen Rückbildungen gehört, kann aber Jahre dauern (MSD Manual, 2024).

Bei lokal begrenzten Läsionen kommen hochwirksame lokale oder intraläsionale Kortikosteroide, lokales Tacrolimus, Kryotherapie sowie verschiedene Formen der Phototherapie zum Einsatz. Bei ausgedehnten Läsionen können systemische Therapien wie Antimalariamittel, Retinoid, Immunsuppressiva und vieles mehr erfolgreich angewendet werden (MSD Manual, 2024).

### Differenzialdiagnose:

Wichtige Differenzialdiagnosen umfassen die Necrobiosis lipoidica, das rheumatoide Granulom, Mykobakteriose, Interstitielle granulomatöse Dermatitis und die kutane Sarkoidose. Die Unterscheidung erfolgt histologisch durch die spezifische Anordnung der Histiozyten und das Vorhandensein von nekrobiotischem Kollagen (Kempf et al., 2011, S. 76).

#### 4.9.2 Lupus erythematoses (LE) – Interface Veränderung

**Ursache:**

Es handelt sich um eine Autoimmunerkrankung, bei der Autoantikörper gegen körpereigene Zellstrukturen gerichtet sind. Es handelt sich um eine multifaktorielle Erkrankung, beeinflusst durch genetische Prädisposition, hormonelle Einflüsse oder Umweltfaktoren (z. B. UV-Licht) (MSD Manual, 2025).

**Betroffene Personen:**

Frauen (im gebärfähigen Alter) mehr betroffen als Männer (MSD Manual, 2025).

**Klinisches Bild:**

Lupus erythematoses (LE) ist eine chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung mit vielseitigen kutanen Manifestationen und wird klinisch in unterschiedliche Subtypen eingeteilt (Kempf et al., 2011, S.60)

Die chronisch-diskoide Form (CDLE) zeigt sich meist in Form erythematöser, schuppender Plaques mit zentraler Atrophie (Abbildung 10). Diese Veränderungen treten bevorzugt im Gesicht sowie am Kappilitium auf. Die subakut-kutane Variante (SCLE) hingegen manifestiert sich häufig mit annulären oder papulosquamösen Läsionen, die vor allem sonnenexponierte Areale betreffen (Abbildung 11). Beide Formen sind durch eine entzündlich bedingte Gewebeveränderung geprägt, wobei bei CDLE häufig Narbenbildung im Zentrum der Läsionen beobachtet wird (Kempf et al., 2011, S. 60).



Abbildung 10: chronisch-diskoide Lupus erythematoses

Quelle: <https://www.huidziekten.nl/zakboek/dermatosen/ctxt/CDLE-chronische-discoide-LE.htm>, Zugriff am 06.06.2025



Abbildung 11: subakut-kutane Lupus erythematoses

Quelle: [https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult?img=PMC3937495\\_IDOJ-5-7-q005&query=&req=4](https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult?img=PMC3937495_IDOJ-5-7-q005&query=&req=4), Zugriff am 06.06.2025

Die Lupusspannikulitis (auch Lupus profundus) ist eine seltene Manifestation des kutanen Lupus erythematoses und betrifft vorwiegend das subkutane Fettgewebe. Klinisch zeigt sich die Erkrankung durch livid-gerötete Plaques sowie ulzerierende Knoten (Abbildung 12),

die bevorzugt und an den proximalen Abschnitten der Extremitäten etwa an Oberarmen oder Oberschenkeln auftreten. Charakteristisch sind schmerzhafte Ulzerationen, die im Verlauf oft mit einer ausgeprägten Narbenbildung abheilen (Kempf et al., 2011, S.128)



Abbildung 12: Lupuspannikulitis

Quelle: <https://dermnetnz.org/imagetail/5120-lupus-panniculitis>, Zugriff am 06.06.2025

Der systemische Lupus erythematoses (SLE) kann sich ebenfalls mit Hautveränderungen präsentieren. Besonders typisch ist das sogenannte Schmetterlingserythem, eine symmetrische, erythematöse Veränderung über Nasenrücken (Abbildung 13), beide Wangen und Stirn. Diese kutanen Erscheinungsbilder sind häufig erstes sichtbares Zeichen einer systemischen Beteiligung. Multiorganbeteiligung ist auch bekannt (Medizinische Immunologie Skript, 2023, S.11) (USZ, 2025).



Abbildung 13: systemische Lupus erythematoses

Quelle: <https://dr-dragonas.gr/de/systematikos-eruthematodes-lukos.html>, Zugriff am 06.06.2025

Ein weiterer kutaner Subtyp ist der LE tumidus, der sich durch das Fehlen signifikanter epidermaler Veränderungen auszeichnet. Klinisch präsentiert er sich mit unspezifischen, häufig schmerzlosen erythematösen Plaques, meist ohne Schuppung (Abbildung 14). Die Hautveränderungen treten bevorzugt im Gesicht und an anderen sonnenexponierten Arealen auf (DermNet NZ, 2024).



Abbildung 14: Lupus erythematoses tumidus

Quelle: <https://actasdermo.org/en-lupus-erythematosus-tumidus-a-clinical-articulo-S1578219011001053>, Zugriff am 06.06.2025

## Histopathologie:

### Chronisch-diskoider und subakut-kutaner LE (CDLE & SCLE)

Histologisch zeigt sich eine deutliche Hyperparakeratose mit betonten Follikelostien („follicular plugs“) sowie eine epidermale Atrophie. In der Basalschicht finden sich apoptotische Keratinozyten. Typisch ist eine Interface-Dermatitis mit Vakuolen in der Junktionszone und verbreiteter Basalmembran. Lymphozytäre Infiltrate um Gefäße und Hautanhangsgebilde sind manschettentartig angeordnet. Muzinablagerungen zwischen den kollagenen Fasern sowie Teleangiektasien im oberen Korium runden das Bild ab. (Kempf et al., 2011, S.60).

### LE tumidus

Beim LE tumidus fehlen typische epidermale Veränderungen fast vollständig. Die Epidermis zeigt keine oder nur minimale Schädigung. Auffällig sind hingegen dichte, tiefreichende perivaskuläre und periadnexielle lymphozytäre Infiltrate in der Dermis. Ein zentrales Merkmal ist die interstitielle Muzinablagerung zwischen den kollagenen Fasern, die ohne begleitende Epidermisveränderung diagnostisch bedeutsam ist (Kempf et al., 2011, S.60).

### Lupuspannikulitis

Histopathologisch findet sich ein dichtes, lobuläres Infiltrat, das sich aus kleinen Lymphozyten zusammensetzt. Diese sind typischerweise perischnurartig um die Adipozyten gruppiert. Häufig sind auch Plasmazellen beigemischt. In den paraseptalen Anteilen des Fettgewebes können reaktive Lymphfollikel beobachtet werden. Zudem zeigen sich Kerntrümmer von Lymphozyten (sog. „nuclear dust“) – jedoch ohne Hinweise auf eine Vaskulitis. Neutrophile Granulozyten fehlen in der Regel. Typisch ist außerdem eine hyaline Degeneration im Bereich der lymphozytären Infiltrate. Im Spätstadium dominieren dichte histiozytäre Infiltrate das Bild. (Kempf et al., 2011, S.128).

### Systemischer Lupus erythematoses (SLE)

Histologisch liegt eine Interface-Dermatitis mit Vakuolisierung vor. Zusätzlich findet man eine leukozytoklastische Vaskulitis mit neutrophilen Granulozyten im oberen Korium, ein Hinweis auf systemische Krankheitsaktivität. (Kempf et al., 2011, S.60)

Allgemeines mikroskopisches Bild zu LE (Abbildung 15):

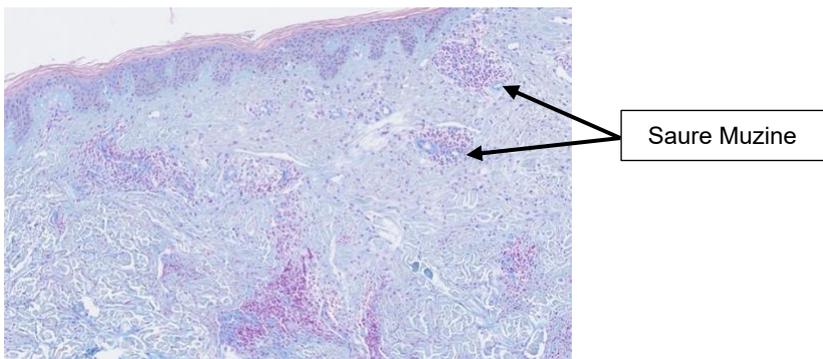


Abbildung 15: Lupus erythematoses Mikroskopisch (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

### Zusatzuntersuchung:

- **PAS-Färbung:** Verbreiterung der Basalmembran
- **DIF:** Bandförmige Ablagerungen von Immunglobulinen und C3 in läsionaler Haut bei CDLE, auch in nichtbefallener und lichtexponierter Haut beim SLE („Lupusband“)
- **Immunhistochemie:** Lymphozytäre Infiltrate bestehen überwiegend aus CD4+-T-Zellen, ergänzt durch CD20+-B-Zellen und CD123+ plasmacytoide dendritische Zellen

- Zur klinischen Abklärung und Diagnosestellung des SLE werden die ARA-Kriterien herangezogen
- Lupuspanikulitis: Infiltrate aus CD79a positiven B-Zellen und Plasmazellen. Im Spätstadium Infiltrate CD68 positiven Hostozyten.

(Kempf et al., 2011, S.60, 128)

#### **Behandlung/Therapie:**

Es gibt keine Heilung der Krankheit aber die Symptome können gelindert werden (MSD Manual, 2025).

Obwohl sich die therapeutischen Grundprinzipien, insbesondere die Anwendung von Antimalariamitteln und konsequenter Lichtschutz in allen Verlaufsformen wiederfinden, variiert das Behandlungskonzept je nach klinischer Ausprägung erheblich. Während bei kutanen Formen wie CDLE oder SCLE topische Maßnahmen im Vordergrund stehen, erfordern systemische Verlaufsformen wie der SLE oder die Lupuspanikulitis eine intensivere systemische Immunsuppression (MSD Manual, 2025).

#### **Differenzialdiagnose:**

Zu den Differenzialdiagnosen zählen verschiedene Interface-Dermatitiden wie die Dermatomyositis sowie die akute Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD). Insbesondere beim LE tumidus sollten auch die lymphozytäre Infiltration nach Jessner-Kanof, das REM-Syndrom (retikuläre erythematöse Muzinose), Erythema nodosum, Erythema induratum Bazin und nodöse Vaskulitis sowie artifizielle Pannikulitis berücksichtigt werden,. (Kempf et al., 2011, S.60, 128).

### **4.9.3 Tinea corporis (TC) - Mykose**

#### **Ursache:**

Die Erkrankung wird typischerweise durch Dermatophyten wie *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* oder *Microsporum canis* hervorgerufen (MSD Manual, 2023).

#### **Betroffene Personen:**

Alle Altersgruppen können betroffen sein (MSD Manual, 2023).

#### **Klinisches Bild:**

Anuläre, erythematöse Läsionen mit oft randständiger Schuppung. Bei Kindern kann es pustulöse Stellen geben. Häufig zeigt sich Rötung und Mazeration, besonders in intertriginösen Hautbereichen (Abbildung 16) (Kempf et al., 2011, S. 24).



Abbildung 16: Tinea coporis

Quelle: <https://www.healthline.com/health/tinea-corporis>, Zugriff am 06.06.2025

#### **Histopathologie:**

Die Epidermis zeigt eine leichte Verdickung (Akanthose) sowie vereinzelte Spongiose und Parakeratose. Neutrophile Granulozyten wandern in die Epidermis ein und sammeln sich teils im Stratum corneum. Dort sind auch Pilzhyphen (Abbildung 17) an den Übergangsstellen zwischen ortho- und parakeratotischer Schicht sichtbar. Im oberen

Dermisbereich findet sich ein entzündliches Infiltrat aus Lymphozyten sowie neutrophilen und eosinophilen Granulozyten. (Kempf et al., 2011, S. 24).

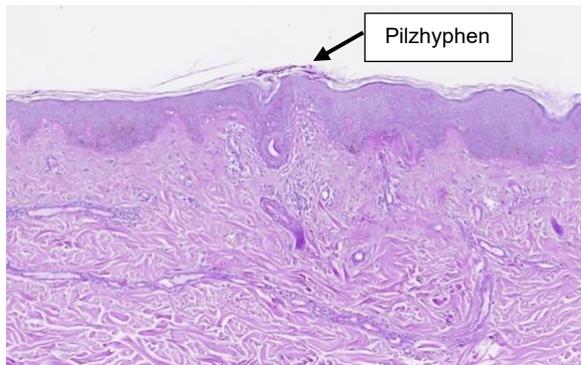


Abbildung 17: Tinea corporis Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

**Zusatzuntersuchungen:**

Grocott-Färbung (Kempf et al., 2011, S.24).

**Therapie/Behandlung:**

Lokale oder orale Antimykotika.

Braucht ca. 2-3 Wochen, bis es verheilt ist (MSD Manual, 2023).

**Differenzialdiagnose:**

Differenzialdiagnostisch müssen Psoriasis, akutes und subakutes Ekzem, Impetigo contagiosa und Follikulitis ausgeschlossen werden. Die histologische Untersuchung und der Nachweis von Pilzhypfen sind entscheidend für die Diagnose (Kempf et al., 2011, S.24).

#### 4.9.4 Trichophytie (TR) - Mykose

**Ursache:**

Versursacht durch Trichophyten spp. (Kempf et al., 2011, S. 24).

**Betroffene Personen:**

Alle Altersgruppen können betroffen sein. Personen mit Vorerkrankungen sind eher anfälliger (Kempf und Pfaltz).

**Klinisches Bild:**

Pustulös-follikulitische Läsionen, häufig durch Befall der Haarfollikel gekennzeichnet.

Typisch sind entzündliche, pustelbildende Hauterscheinungen (Abbildung 18) (Kempf et al., 2011, S. 24).



Abbildung 18: Trichochphytie

Quelle: <https://www.doccheck.com/de/detail/photos/600-trichophytie>, Zugriff am 06.06.2025

### Histopathologie:

Die Haarfollikel sind durch ein entzündliches Infiltrat durchsetzt und teilweise zerstört. Das Follikel­epithel zeigt eine akant­hotische (ver­dickung) Ver­änderung. Rund um die Follikel findet sich ein dichtet, gemischtzelliges Infiltrat aus Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie Plasmazellen. Zudem sind Abszessherde vorhanden. Pilzhyphen (Abbildung 19) lassen sich in den Haarschäften und gelegentlich auch im Stratum corneum der benachbarten Epidermis nachweisen (Kempf et al., 2011, S. 24).

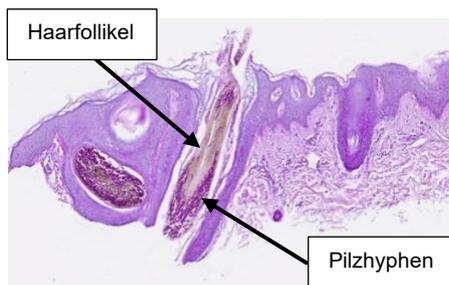


Abbildung 19: Trichophytie Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

### Zusatzuntersuchungen:

Gleich wie bei Tinea corporis.

### Behandlung/Therapie:

Gleich wie bei Tinea corporis

### Differenzialdiagnose:

Gleich wie bei Tinea corporis

## 4.9.5 Pityrosporum folliculitis (PF) - Follikulitis

### Ursache:

Verursacht durch eine Überwucherung von lipophilen Hefepilzen der Gattung Malassezia, insbesondere M. globosa, M. sympodialis und M. restricta (DermNet NZ, 2020).

### Betroffene Personen:

Häufig immunsupprimierten Patienten (DermNet NZ, 2020).

### Klinisches Bild

Die Pityrosporum-Follikulitis auch bekannt unter Malassezia-Follikulitis zählt zu den entzündlichen Erkrankungen des Haarfollikels, die durch verschiedene Erreger verursacht

werden. Klinisch zeigt sie sich in folliculär gebundenen, geröteten Papeln (Abbildung 20) und Pusteln (Kempf et al. 2011, S.116).



Abbildung 20: Pityrosporum folliculitis

Quelle: <https://www.healthline.com/health/pityrosporum-folliculitis>, Zugriff am 06.06.2025

### Histopathologie:

Typisch sind gemischtzellige Infiltrate in und um die Haarfollikel, mit zahlreichen neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie Plasmazellen. In fortgeschrittenen Fällen können auch Abszesse auftreten. Zusätzlich kommt es zur spongiotischen Auflockerung oder Zerstörung des Follikelepithels. In ausgeprägten Fällen lassen sich Pilzsporen (Abbildung 21) oder Demodex-Milben auch innerhalb der entzündlichen Infiltrate nachweisen (Kempf et al. 2011, S.116).

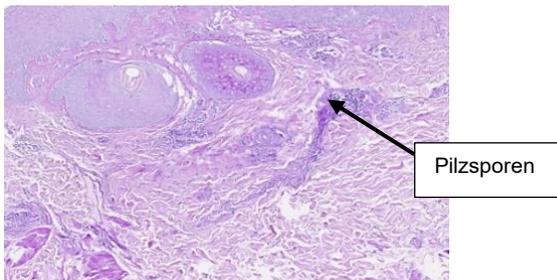


Abbildung 21:Pityrosporum folliculitis Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

### Zusatzuntersuchungen:

Gram-Färbung von Bakterien in der Histologie

Bei Bedarf für ätiologische Zuordnung von Follikulitiden: mikrobiologisch-kultureller Untersuchung (Kempf et al., 2011, S.116)

### Behandlung/Therapie:

Die Dauer hängt von der Art und Schweregrad der Infektion ab.  
Lokale und orale Antimykotika (DermNet NZ, 2020).

### Differenzialdiagnose:

Zur Abgrenzung der Pityrosporum-Follikulitis dienen vor allem die eosinophile Follikulitis Ofuji (mit vielen eosinophilen Granulozyten), Rosazea (lymphozytäre und granulomatöse Infiltrate, Ödem, Teleangiektasien) sowie die Trichophytie (perifollikuläres Infiltrat, Hyphennachweis in Haarschäften) (Kempf et al., 2011 S.116).

## 5. Empirischer Teil / Praxisteil

### 5.1 Material

#### Geräte

- Mikrotom HM 355S Automated Microtom epre dia histocom AG
- Färbeautomat Medite TST 44 Multifärber
- Eindeckautomat G2 Systemex
- Scanner NanoZoomer S360 Hamamatsu Photonics

#### Lösungen

- Essigsäure >99% Ph.Eur. Artechemis
- Alcianblau 1% in Essigsäure 3% Artechemis
- Alcianblau 1% (pH 2.5% in Essigsäure) Morphisto
- Alcianblau pH 2.5 acc. Mowry
- Kernechtrot-Aluminiumsulfat Waldeck
- Perjodsäure 0.5% Artechemis
- Schiffs Reagenz Artechemis
- Natrium disulfit 0.52% Artechemis
- Hämalaun nach Meyer verstärkt Artechemis
- Ottix Plus Diapath
- Ottix Shaper Diapath
- Ethanol absolut Biosystems
- Diamount Diapath

#### Verbrauchsmaterial

- Standard Objektträger Pink und Blau
- Deckgläser

#### Verwendete Krankheitsbilder zur Austestung:

- Granula anulare
- Lupus erythematodes
- Tinea corporis
- Trichophytie
- Pityrosporum folliculitis

## 5.2 verwendete Geräte

### 5.2.1 Medite TST 44 Multifärber

Der programmierbare Multifärber TST 44 (Abbildung 22), zeichnet sich durch hohe Flexibilität und effiziente Arbeitsweise aus. Er ist sowohl für die histologische Routinediagnostik als auch für Spezialfärbungen geeignet. Die Möglichkeit, bis zu zwölf Färbeprotokolle parallel abzuwickeln, erhöht die Bearbeitungskapazität erheblich und reduziert Standzeiten im Labor (Medite, o.J., S. 2).

Das Gerät verfügt über 44 Stationen, darunter 30 Färbestationen, Wasserbäder sowie jeweils vier Be- und Entladestationen. Dadurch ist ein kontinuierlicher Betrieb mit großen Objektträgermengen möglich. Pro Arbeitsgang können bis zu zwölf Körbe mit je 30 Objektträgern gleichzeitig verarbeitet werden (Medite, o.J. S. 2).

Die vollautomatische Durchführung unterschiedlicher Färbeprotokolle erfolgt ohne Zwischenschritte außerhalb des Geräts, wie Reagenzienwechsel oder Entparaffinierung. Dies beschleunigt den Arbeitsablauf und minimiert Fehlerquellen. Zur Sicherstellung des Prozessablaufs bei Stromausfall ist eine integrierte Notstromversorgung vorhanden. Sie schützt das Probenmaterial und gewährleistet einen ununterbrochenen Arbeitsfluss (Medite, o.J. S. 2).

Das System erlaubt die Speicherung von bis zu 20 Färbeprotokollen mit jeweils bis zu 40 Einzelschritten. Für zusätzliche Flexibilität sind Varianten mit integrierter Trockenstation erhältlich, die eine temperaturgeregelte Trocknung der Objektträger ermöglichen (Medite, o.J. S. 4).

Der Färbeprozess beginnt mit der Entparaffinierung der Gewebeschnitte in Xylol oder Ersatzstoffen, gefolgt von einer stufenweisen Rehydratation über Alkoholgradienten bis hin zu Wasser. Die Färbung erfolgt durch sequenzielle Eintauchvorgänge in Reagenzlösungen mit definierter Einwirkzeit. Eine integrierte Agitation unterstützt die gleichmäßige Verteilung der Farbstoffe. Zwischen den einzelnen Schritten finden automatisierte Spülungen in Wasserbädern statt, um überschüssige Reagenzien zu entfernen. Abhängig vom gewählten Protokoll können Differenzierungs- und Gegenfärbeschritte integriert werden. Nach Abschluss der Färbung durchlaufen die Präparate eine automatisierte stufenweise Dehydrierung und Klärung (Medite, o.J. S. 2).



Abbildung 22: Medite TST 44 Multifärber (Quelle: Murugadas, 2025: Medite TST 44 Multifärber, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

### 5.2.2 Scanner - NanoZoomer S360

Der NanoZoomer S360 (Abbildung 23) der Firma Hamamatsu Photonics ist ein automatisierter digitaler Objektträgerscanner, der auf die hochdurchsatzfähige Digitalisierung großer Mengen mikroskopischer Proben ausgelegt ist. Das System kann bis zu 360 Standardobjektträger pro Scanvorgang verarbeiten und eignet sich damit für Anwendungen in klinischen Laboren, der diagnostischen Pathologie sowie der biomedizinischen Forschung (Hamamatsu, o.J. S. 2).

Die Digitalisierung erfolgt auf Basis der Durchlicht-Hellfeldmikroskopie mit einem linearen CCD-Zeilensensor. Zur Auswahl stehen optische Vergrößerungen von 20X und 40X, wobei eine maximale Bildauflösung von 0,23  $\mu\text{m}/\text{Pixel}$  erreicht wird. Die durchschnittliche Dauer eines vollständigen Scans pro Objektträger liegt bei rund 30 Sekunden, wodurch ein effizienter Probendurchsatz gewährleistet ist (Hamamatsu, o.J. S. 4).

Zur Optimierung des Fokussierungsprozesses wird eine sogenannte Pre-Focus-Map-Technologie verwendet. Vor dem eigentlichen Scan erstellt das System eine digitale Fokusebenenkarte, die auf einer Analyse definierter Messpunkte über die gesamte Trägerfläche basiert. Dadurch kann auf eine Echtzeit-Autofokussierung verzichtet werden, was die Scan-Zeit verkürzt und gleichzeitig eine konstante Bildschärfe sicherstellt (Hamamatsu, o.J. S. 2, 4).

Das methodische Vorgehen umfasst zunächst das Einlegen der Objektträger in bis zu zwölf Scankassetten, jeweils mit einer Kapazität von 30 Trägern. Nach der automatischen Erkennung der Objektträger und ihrer Barcodes erfolgt ein Übersichtsscan zur Lokalisierung relevanter Geweberegionen. Anschließend beginnt der zeilenweise Hochauflösungs-Scan im gewählten Vergrößerungsmodus. Die erzeugten Bilddaten werden im herstellereigenen NDPI-Dateiformat abgespeichert (Hamamatsu, o.J. S. 2, 4).

Optional kann eine Z-Stack-Funktion aktiviert werden, bei der mehrere Fokusebenen pro Scanregion erfasst werden. Diese Funktion dient der besseren Darstellung von Gewebestrukturen mit variabler Dicke oder unregelmäßiger Schneidequalität. Es erfolgt dabei keine 3D-Rekonstruktion, jedoch wird eine Analyse in mehreren Schärfenebenen ermöglicht (Hamamatsu, o.J. S. 3).

Die Betrachtung und Analyse der digitalisierten Präparate erfolgt über spezialisierte Softwarelösungen wie NDP.view2. Eine Einbindung in bestehende Laborinformations- oder Archivsysteme ist vorgesehen und unterstützt standardisierte digitale Arbeitsabläufe in der histopathologischen Diagnostik (Hamamatsu, o.J. S. 8, 9).



Abbildung 23: Scanner-NanoZoomer S360 (Quelle: Murugadas, 2025: Scanner- NanoZoomer, S360, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

### 5.3 Vorbereitung

Die vorliegende praktische Arbeit bezieht sich ausschließlich auf histologische Untersuchungen von Hautproben, da das Institut Kempf & Pfaltz auf Dermatopathologie spezialisiert ist und dementsprechend fast ausschließlich dermatologische Proben bearbeitet.

Für die Vorbereitung der praktischen Arbeiten wurden spezifische Krankheitsbilder ausgewählt, bei denen eine Darstellung von Muzinen oder Pilz Strukturen im Gewebe histologisch relevant ist. Die Auswahl umfasste folgende Diagnosen:

- ⇒ Granuloma anulare
- ⇒ Lupus erythematoses
- ⇒ Pilzinfektionen der Haut, mit Schwerpunkt auf Tinea corporis

Da die Anzahl der archivierten Fälle mit Tinea corporis begrenzt war, wurden ergänzend zwei weitere Diagnosen aus dem Bereich der Dermatophyten und Hefepilzinfektionen aufgenommen: Trichophytie (TR) und Pityrosporum folliculitis (PF). Diese Pilzkrankungen zeigen ebenfalls charakteristische histologische Merkmale, die sich durch PAS- oder kombinierte Färbemethoden gut darstellen lassen.

Die Auswahl geeigneter Fälle erfolgte durch eine umfassende Recherche im digitalen Archivsystem des Instituts. Es wurden Patientenakten mit entsprechenden Diagnosen gesichtet und das vorhandene Paraffinblock-Material überprüft. Dabei war es notwendig, zahlreiche Patientendossiers zu lesen und die entsprechenden Proben im Paraffinblock-Archiv zu organisieren. In dieser Phase wurde ich tatkräftig durch mein Team unterstützt. Beim Paraffinblock war es wichtig, dass genügend Material vorhanden war für die Diplomarbeit sowie auch für allfällige zukünftige Nachverordnungen.

Ein entscheidender Vorteil bestand darin, dass das erforderliche Gewebematerial bereits in Paraffin eingebettet vorlag. Dadurch konnten zeitaufwändige vorbereitende Arbeitsschritte wie Fixierung, Entwässerung und Einbettung übersprungen werden. Die Arbeitszeit konnte somit verstärkt für das Einlesen in die Patientenakten und die genaue Planung der Färbungen genutzt werden.

Nach Sichtung und Auswahl der Blöcke erfolgte die Herstellung der Schnittpräparate. Diese wurden mithilfe eines Mikrotoms geschnitten, im Wasserbad auf Objektträger (OT) aufgezogen, auf einer Heizplatte gestreckt und anschließend im Ofen bei 63°C für 30 Minuten getrocknet.

Begleitend zur Probenaufbereitung wurden verschiedene histologische Labore hauptsächlich Dermatopathologien kontaktiert, um Färbeprotokolle für Alcianblau und AB-PAS zu erhalten und mit dem hausinternen Protokoll zu vergleichen. Da die Unterschiede zwischen den Protokollen gering waren und das interne Protokoll bereits praxiserprobt war, wurde dieses als Grundlage beibehalten und gezielt angepasst.

Darüber hinaus wurden zwei alternative Alcianblau-Lösungen von den Herstellern Morphisto und Diapath bestellt. Ziel war es, den Einfluss unterschiedlicher Herstellerlösungen auf Färbeergebnis und Qualität der Muzindarstellung in einem praktischen Vergleich (vgl.) zu untersuchen.

Insgesamt wurden 100 Objektträger angefertigt, mehr als ursprünglich geplant, da zusätzliche Tests und Optimierungsreihen vorgesehen waren.

## 5.4 Bestimmung der optimalen Schnittdicke

Zur Ermittlung der optimalen Schnittdicke für die Alcianblau-Färbung wurden insgesamt zehn Objektträger (Abbildung 24) im sogenannten On-Slide-Verfahren vorbereitet. Dieses Verfahren erlaubt einen direkten Vergleich unterschiedlicher Schnittdicken auf demselben Objektträger, was die Beurteilung der Färbequalität erheblich erleichtert.

Jeder Objektträger wurde mit zwei Hautschnitten versehen, einem Schnitt mit einer Dicke von 3  $\mu\text{m}$  und einem mit 5  $\mu\text{m}$ . Auf diese Weise konnten beide Dicken unter identischen Färbebedingungen direkt miteinander verglichen werden.

Es wurden insgesamt fünf Objektträger mit Lupus erythematodes Gewebe und fünf Objektträger mit Granuloma anulare-Gewebe verwendet. Für die Färbung kam die derzeit im Institut verwendete Alcianblau-Lösung (L1) zum Einsatz, die nach dem Standardprotokoll von Kempf und Pfaltz angewendet wurde (siehe Anhang S. 53).

Die Färbung erfolgte an dem Färbeautomat Medite TST 44 und an einem Tag wo die Färbelösungen frisch ausgewechselt wurde. Anschliessend wurden die Schnitte im Ofen getrocknet und eingedeckt.



Abbildung 24: Schnittdicke-On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Ziel dieser Maßnahme war es, diejenige Schnittdicke zu identifizieren, die eine optimale Balance zwischen Färbeintensität, Strukturklarheit und Differenzierbarkeit feiner histologischer Details bietet.

Die Auswertung erfolgte mikroskopisch und die gewonnenen Erkenntnisse dienten als wichtige Grundlage für Nachfolgende Austestungen.

## 5.5 Vergleich verschiedener Alcianblau-Lösungen - Version 1

Zur Evaluierung der Effizienz verschiedener Alcianblau-Präparate wurden drei kommerziell erhältliche Lösungen getestet. Ziel war es, mögliche Unterschiede in Färbequalität, Intensität und Hintergrundkontrast zu ermitteln, um die bestmögliche Darstellung saurer Muzine zu gewährleisten.

Für jede der drei getesteten Lösungen wurden jeweils zehn On-Slide Objektträger (Abbildung 25) angefertigt:

- **Lösung 1 (L1):** Aktuell im Labor verwendete Lösung der Firma Artechemis
- **Lösung 2 (L2):** Firma Morphisto
- **Lösung 3 (L3):** Firma Diapath

Jeder Objektträger enthielt gezielt zwei verschiedene Krankheitsbilder, Granuloma anulare (GA) und Lupus erythematodes (LE). Diese Kombination wurde bewusst gewählt, um ein möglichst breites diagnostisches Spektrum abzudecken und die Aussagekraft der Ergebnisse zu erhöhen. Beide Krankheitsbilder sind durch ein vermehrtes Vorkommen saurer Muzine gekennzeichnet und eignen sich daher hervorragend zur Beurteilung der Färbeintensität und -qualität bei Alcianblau.



Abbildung 25: Alcianblau-Färbung On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Die Färbung erfolgte nach dem aktuellen Standardprotokoll von Kempf & Pfaltz an einem Tag, an dem die Färbelösungen frisch angesetzt wurden (siehe Anhang S. 53). Um den Ist-Zustand zu dokumentieren und eine zuverlässige Vergleichsbasis zu schaffen, wurde die momentan verwendete Lösung (L1) bewusst erneut getestet. In einer gezielten Modifikation wurden dieser Lösung zusätzlich drei Tropfen Essigsäure zugesetzt, um die Farbintensität weiter zu steigern und die Differenzierung zu optimieren.

Die eigentliche Färbung erfolgte automatisiert mit dem Färbeautomaten Medite. Anschließend wurden die Schnitte erneut für einige Minuten im Ofen getrocknet, bevor sie schließlich eingedeckt wurden.

#### Untersuchungsparameter:

- ⇒ **Färbeintensität der Muzine:** Wie stark und deutlich die sauren Muzine im Gewebe sichtbar gemacht wurden
- ⇒ **Hintergrundfärbung:** Beurteilung der Kontrastverhältnisse und ob störende Hintergrundverfärbungen auftraten

Ws wurde mikroskopisch ausgewertet. Die Ergebnisse dieser vergleichenden Färbereihe lieferten wichtige Hinweise für die spätere Optimierung des Färbeprotokolls und bildeten die Grundlage für die darauffolgenden Anpassungsschritte in der Optimierungsphase. (siehe Anhang S. 62).

Diese Austestung galt als Version 1.

## 5.6 Optimierung von Alcianblau-Färbung

Basierend auf den Ergebnissen des Vergleichs dreier verschiedener Alcianblau-Lösungen wurde in einem nächsten Schritt die Färbemethode gezielt weiterentwickelt. Ziel dieser Optimierungsphase war es, die Färbeintensität saurer Muzine zu erhöhen, die Hintergrundfärbung zu reduzieren und die Gesamtqualität der histologischen Darstellung zu verbessern. Dazu wurden drei unterschiedliche Optimierungsversionen systematisch getestet. Alle Färbungen wurden an einem Tag durchgeführt, an dem der Färbeautomat frisch gewechselt und vollständig gereinigt worden war, um gleichbleibende Bedingungen sicherzustellen.

Da die Diapathe-Lösung (L3) im vorangegangenen Vergleich eine deutlich zu schwache Färbung zeigte, wurde sie für die weiteren Optimierungsschritte nicht mehr berücksichtigt. Die Entscheidung fiel zugunsten der Morphisto-Lösung (L2), welche im direkten Vergleich durch intensivere Färbung und geringere Hintergrundanlagerung überzeugte. Diese Lösung diente als Basis für die nachfolgenden Testreihen.

### 5.6.1 Version 2 – Anpassung mit Morphisto-Lösung

Aufbauend auf den Erkenntnissen aus dem initialen Lösungsvergleich wurde die Morphisto-Lösung (L2) modifiziert, um die Darstellung der sauren Muzine weiter zu verbessern. In dieser Version wurde die Zugabe von Essigsäure bewusst weggelassen, da angenommen wurde, dass deren Entfernung die Anfärbung verstärken könnte. Zusätzlich wurde vor der Alcianblau-Färbung ein kurzes Wasserbad eingeführt, um die Gewebereaktion mit dem Farbstoff gleichmäßiger zu gestalten.

Für diese Testreihe wurden erneut zehn On-Slide-Objektträger mit jeweils den Krankheitsbildern Granuloma anulare (GA) und Lupus erythematodes (LE) vorbereitet. Die Schnitte wurden vor der Färbung 30 Minuten im Ofen getrocknet und anschließend mit der modifizierten Lösung gefärbt (siehe Anhang S. 62).

Nach der Färbung erfolgte erneut eine kurze Ofentrocknung, bevor die Schnitte eingedeckt wurden.

#### Troubleshooting – Zweiter Färbelauf erforderlich

Beim ersten Durchlauf der Färbung wurde versehentlich die Alcianblau-Lösung (L1) aus dem ursprünglichen Protokoll verwendet, anstatt die neue Morphisto-Lösung (L2) einzusetzen. Da dies die Aussagekraft des Tests erheblich beeinträchtigte, musste ein zweiter Lauf mit der korrekten Lösung durchgeführt werden. Für diesen Wiederholungsversuch wurden erneut zehn On-Slide-Objektträger mit identischen Krankheitsbildern (GA und LE) präpariert.

Die Beurteilung erfolgte erneut mikroskopisch, wobei besonderes Augenmerk auf die Färbintensität der Muzine sowie die Hintergrundfärbung gelegt wurde. Die Ergebnisse aus dem zweiten Lauf mit der korrekten Lösung konnten anschließend in die Optimierungsstrategie einfließen und dienten als valide Grundlage für den weiteren Verlauf der Arbeit (siehe Anhang S. 65).

### 5.6.2 Version 3 – Verkürzung der Kernechtrot-Färbung

Im nächsten Optimierungsschritt wurde die Dauer der Gegenfärbung mit Kernechtrot reduziert:

- ⇒ **Verkürzte Färbedauer:** Die Einwirkzeit des Kernechtrots wurde von ursprünglich vier auf zwei Minuten gesenkt. Diese Änderung zielte darauf ab, den Kontrast zugunsten der Muzine zu verschieben und störende Hintergrundfärbungen zu verringern.

Die Verkürzung sollte insbesondere bei schwächer angefärbten Präparaten zu einer besseren Differenzierung führen.

Auch hier wurden zehn Objektträger (jeweils GA und LE kombiniert) im On-Slide-Verfahren verwendet und gefärbt mit der angepassten Version (siehe Anhang S. 63).

Nach der Färbung wurden die Objektträger für ein paar Minuten im Ofen getrocknet und eingedeckt.

Ebenfalls wurde hier unter dem Mikroskop ausgewertet

### 5.6.3 Version 4 – Feinabstimmung der Kernechtrot-Dauer

Auf Empfehlung des Institutsleiters wurde eine weitere Variante getestet:

- ⇒ **Verlängerung auf drei Minuten:** Im Gegensatz zur vorherigen Verkürzung wurde diesmal die Einwirkzeit des Kernechtrots leicht verlängert auf drei Minuten. Ziel war es, einen möglichen optimalen Mittelweg zu finden, der sowohl einen klaren Hintergrund als auch eine ausreichende Sichtbarkeit der Muzine bietet.

Auch bei dieser modifizierten Variante wurden zehn Objektträger mit GA- und LE-Gewebe parallel angefertigt. Die Schnitte wurden ebenfalls 30 Minuten im Ofen getrocknet, anschließend mit dem abgeänderten Protokoll gefärbt (siehe Anhang S. 63). Danach erneut für einige Minuten im Ofen getrocknet und abschließend eingedeckt. Die Auswertung erfolgte mikroskopisch.

## 5.7 Weiterentwicklung zur kombinierten AB-PAS-Färbung

Auf Grundlage der Ergebnisse aus den vorhergehenden Einzelfärbungen wurde die kombinierte Alcianblau-PAS-Färbung (AB-PAS) in einem weiteren Schritt in die praktische Arbeit integriert. Ziel war es, die Vorteile beider Färbemethoden zu vereinen und somit eine differenzierte Darstellung sowohl saurer als auch neutraler Muzine sowie pilztypischer Strukturen im Gewebe zu ermöglichen.

Zur Unterstützung dieser Erweiterung wurden zehn PAS-Referenzschnitte (Abbildung 26) nach dem On-Slide-Verfahren angefertigt, jeweils mit zwei Schnitten der gleichen Krankheit (Tinea corporis, Trichophytie oder Pityrosporum folliculitis). Diese dienten gezielt der Darstellung neutraler Mukopolysaccharide sowie pilztypischer Zellwände.

Die Referenzschnitte bildeten eine wichtige Grundlage zur mikroskopischen Gegenüberstellung und halfen, die Aussagekraft der kombinierten Färbemethode besser beurteilen zu können. Die Färbungen erfolgten an einem Tag, an dem die Färbelösungen im Färbeautomaten Medite TST 44 frisch ausgewechselt wurden (siehe Anhang S. 64).



Abbildung 26: Perjodic-Acid-Schiff-Färbung On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Die Schnitte wurden gefärbt und anschließend kurz im Ofen getrocknet und danach eingedeckt.

Die aktuell in der Routine bei Kempf und Pfaltz eingesetzte PAS-Färbung wurde dabei unverändert übernommen. Diese Methode hat sich in der täglichen Praxis als äußerst zuverlässig und qualitativ hochwertig erwiesen. Aufgrund der konstant guten Färbeergebnisse sowie der klaren Darstellung diagnostisch relevanter Strukturen bestand keinerlei Anlass, das bestehende Protokoll anzupassen oder zu modifizieren.

Vor der kombinierten Alcianblau-PAS-Färbung wurden die Schnitte mikroskopisch kurz angeschaut, um sicherzustellen, dass die Färbung wie üblich reibungslos funktioniert hatte. Anschließend wurden die Schnitte für die AB-PAS-Färbung aufbewahrt.

## 5.8 Umsetzung der kombinierten AB-PAS Färbung

In diesem Arbeitsschritt wurde die zuvor optimierte Alcianblau-Färbung Version 4 mit dem bewährten Standardprotokoll der PAS-Färbung kombiniert (siehe Anhang S. 65).

Das Ziel war es, durch diese Kombination eine möglichst differenzierte Darstellung saurer und neutraler Muzine sowie pilztypischer Zellstrukturen innerhalb eines einzigen Schnittes zu ermöglichen. So sollte die diagnostische Aussagekraft erhöht und die visuelle Trennschärfe zwischen unterschiedlichen Gewebekomponenten verbessert werden.

Hierfür wurden 10 AB-PAS-Kombinationsschnitte (Abbildung 27), bei denen auf jedem Objektträger drei unterschiedliche Gewebeschnitte gleichzeitig aufgezogen wurden: je einer mit Granuloma anulare, Lupus erythematodes und einem Pilznachweis (Tinea corporis, Trichophytie oder Pityrosporum folliculitis).



Abbildung 27: AB-PAS-Färbung On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Die Auswertung erfolgte ebenfalls mikroskopisch.

Da die angefärbten AB-PAS-Schnitte keine verwertbaren Ergebnisse lieferten und die Pilzhyphen in den Scans allgemein auch bei der PAS-Färbung nur unzureichend sichtbar waren, wurde für die weitere Optimierung der digitalen Darstellung gezielt mit einzelnen, besser geeigneten PAS-Schnitten gearbeitet.

## 5.8 Optimierung der digitalen Darstellung

Im Verlauf der Arbeit wurde gemeinsam mit dem IT-Team an der Anpassung der digitalen Scanparameter gearbeitet, um die Darstellung feiner Gewebestrukturen, insbesondere pilztypischer Elemente zu verbessern. Dabei lag der Fokus auf der Überprüfung und Anpassung von Kontrast, Auflösung sowie den Nachbearbeitungsoptionen.

Ein zentrales Thema war die Auswahl des geeigneten Fokusmodus. Standardmäßig arbeitet der Scanner mit fünf Fokuspunkten (5FP), wobei in diesem Modus erste Strukturen gut erkennbar, feine Details jedoch teilweise leicht unscharf dargestellt werden. Alternativ steht ein erweiterter Modus mit neun Fokuspunkten (9FP) zur Verfügung, der insbesondere für spezielle Anforderungen, wie z. B. bei Bildmaterial für Publikationen, eingesetzt wird. Dieser liefert eine höhere Detailgenauigkeit, geht jedoch mit einem erhöhten Zeitaufwand beim Scanvorgang einher.

In Absprache mit dem IT-Team wurden die unterschiedlichen Modifikationen geprüft und hinsichtlich ihrer Eignung für die Bearbeitung histologischer Hautschnitte bewertet. Die Entscheidung zur Wahl des Scanmodus wurde unter Berücksichtigung von Bildqualität und Zeitaufwand situationsabhängig getroffen. Der 9FP-Modus bringt jedoch einen deutlich erhöhten Zeitaufwand mit sich, was insbesondere bei grösseren Probenserien berücksichtigt werden muss.

Die gescannten PAS-Schnitte wurden am Computer sowohl gleichzeitig auch mikroskopisch ausgewertet um gute Vergleiche zu haben (siehe Anhang S. 70).

Die folgende Übersicht (Tabelle 5) zeigt die durchschnittlichen Scan-Zeiten je nach Grösse des Gewebes und gewähltem Fokusmodus:

Gewebegrösse	5 Fokuspunkte (5FP)	9 Fokuspunkte (9FP)
Klein	ca. 1 Minute	mehr als 1 Minute
Mittel	ca. 1.5 Minuten	ca. 2 Minuten
Gross	ca. 2.5 Minuten	ca. 3 Minuten

Tabelle 4: Scan Auflösung und Zeit (Quelle Kempf und Pfaltz, 2025)

## 5.9 Ergebnisse

### 5.9.1 Schnittdicke

Die Bestimmung der optimalen Schnittdicke für die Alcianblau-Färbung zeigt, dass 3 µm-Schnitte eine deutlich bessere mikroskopische Beurteilbarkeit ermöglichen als 5 µm-Schnitte (vgl. Abbildungen 29, 39, 41). Dünnere Schnitte erlauben eine präzisere Darstellung der Zell- und Gewebestrukturen, insbesondere bei der Färbung von Muzinen (vgl. Abbildungen 28, 38, 40). Die dünneren Schnitte führen zu einer höherwertigen Färbequalität und präziseren Erkennbarkeit feingeweblicher Details, was für die dermatopathologische Routinepraxis von großer Bedeutung ist. Aufgrund dieser Ergebnisse werden alle weiteren Testreihen mit 3 µm-Schnitten durchgeführt. In der bisherigen Routine kommt standardmäßig eine Schnittdicke von 5 µm zum Einsatz (vgl. Anhang S. 72).

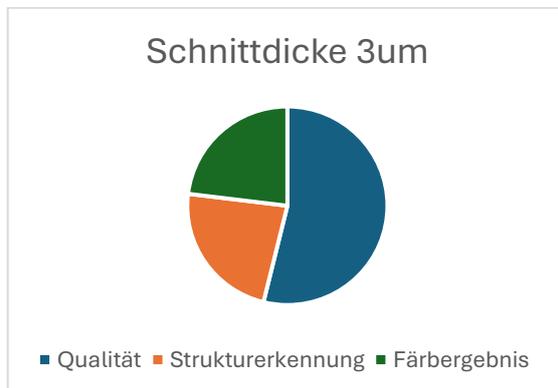


Abbildung 28: Schnittdicke 3µm (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstellte Grafik, Zürich)

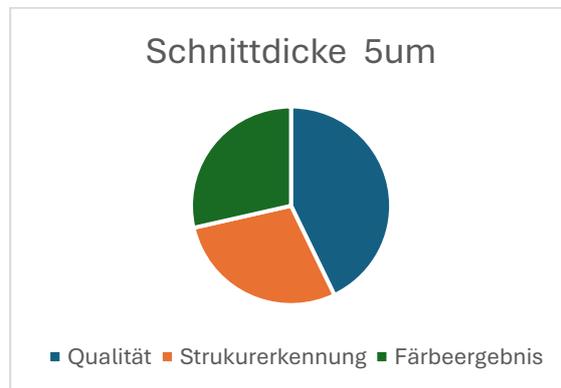


Abbildung 29: Schnittdicke 5µm (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)

### 5.9.2 Vergleich verschiedener Alcianblau-Lösungen (Version 1)

Zur Evaluierung der Färbequalität wurden drei unterschiedliche Alcianblau-Lösungen untersucht: Artechemis (L1), Morphisto (L2) und Diapath (L3). Die Morphisto-Lösung zeigte das günstigste Verhältnis zwischen spezifischer Muzinfärbung und minimaler Hintergrundfärbung. Während die Artechemis-Lösung eine gute Muzinfärbung erzielte, war der Hintergrund jedoch störend gefärbt (vgl. Abbildungen 30, 42, 43). Die Diapath-Lösung hingegen zeigte insgesamt eine zu schwache Färbeintensität (vgl. Abbildungen 31, 46, 47). Die Morphisto-Lösung bietet eine akzeptable Muzinfärbung bei nahezu klarem Hintergrund (Abbildungen 32, 44, 45). Aufgrund dieser Resultate wird Lösung 2 als aussichtsreichster Kandidat für weitere Optimierungsschritte ausgewählt. Auf Basis dieser Ergebnisse wurde die Morphisto-Lösung als vielversprechender Kandidat für weitere Optimierungen ausgewählt. Diese Testreihe diente als Grundlage zur Definition eines neuen Standardverfahrens (vgl. Anhang S. 73).



Abbildung 30: Anfärbung Version 1 Lösung 1 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)



Abbildung 31: Anfärbung Version 1 Lösung 2 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)



Abbildung 32: Anfärbung Version 1 Lösung 3 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)

### 5.9.3 Optimierungsschritte

#### Version 2 – Anpassung der Morphisto-Lösung

Die Alcianblau-Färbung ohne Vorbehandlung mit Essigsäure und mit anschließender Wasserbad-Inkubation führte zu einer homogeneren, aber weiterhin schwachen Muzinfärbung. Ein technischer Fehler bei dem die falsche AB- Lösung (vgl. Abbildungen 52, 53), im ersten Lauf verwendet wurde, beeinträchtigte das Ergebnis nicht wesentlich. Der Hintergrund zeigte weiterhin starken Kontrast, was die Sichtbarkeit der Muzine erschwerte (vgl. Abbildungen 33, 48, 49, 50, 51). Im Vergleich zur ersten Version verringerte sich die Färbeintensität (vgl. Anhang S. 74).



Abbildung 33: Anfärbung Version 2 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)

**Version 3 – Verkürzung der Kernechtrot-Färbung**

Die Verkürzung der Gegenfärbung mit Kernechtrot von vier auf zwei Minuten verbesserte die Differenzierung der Muzine deutlich. Diese erschienen kräftiger und kontrastreicher, während der Hintergrund abgeschwächt wurde, jedoch teilweise zu blass wirkte (vgl. Abbildungen 34, 54, 55, 56, 57) Dies verdeutlicht die wichtige Rolle der Gegenfärbung für das histologische Gesamtbild (vgl. Anhang S. 75).



Abbildung 34: Anfärbung Version 3 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)

**Version 4 – Feinabstimmung der Kernechtrot-Dauer**

Eine Verlängerung der Kernechtrot-Färbung auf drei Minuten führte zu einer optimalen Balance zwischen sichtbaren Muzinen und einem weitgehend frei von störenden Hintergrund bleibt (Abbildungen 35, 48, 49, 60, 61). Diese Variante erzielte die besten Gesamtergebnisse und wurde als neues Standardprotokoll etabliert. Version 4 bildete zudem die Grundlage für die nachfolgende Kombination mit der PAS-Färbung (vgl. Anhang S. 76).



Abbildung 35: Anfärbung Version 4 Diagramm (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstelltes Bildmaterial)

#### 5.9.4 Kombination AB-PAS

Die optimierte Alcianblau-Färbung (Version 4) (Abbildungen 65, 67) wird mit dem etablierten PAS-Protokoll (Abbildung 62, 63, 64, 69) kombiniert, um saure und neutrale Muzine sowie Pilze simultan darzustellen. Die mikroskopische Beurteilung zeigte jedoch, dass die Darstellung saurer Muzine und Pilze unzuverlässig bleibt: Beide sind nicht ausreichend gefärbt, und der Hintergrund erscheint zu dunkel, wodurch die Muzine schwer erkennbar sind (Abbildungen 66, 68). Die PAS-Färbung zeigt zudem keine stabile Qualität (Abbildung 70). Aufgrund der mangelhaften mikroskopischen Darstellung, insbesondere der Pilze und des zu dunklen Hintergrunds (Abbildung 36), wurde die kombinierte AB-PAS-Färbung nicht für die Scanoptimierung herangezogen. Selbst bei digitaler Erfassung wäre die diagnostische Aussagekraft eingeschränkt, da Pilzstrukturen kaum zuverlässig dargestellt würden (siehe Anhang S. 79).

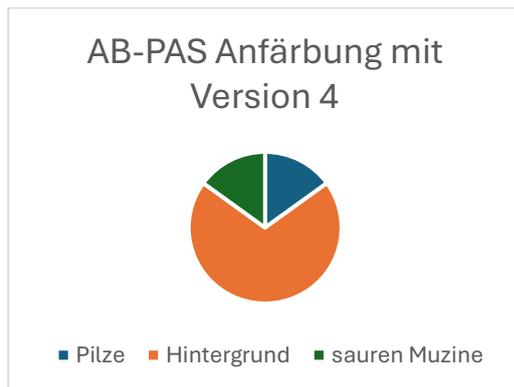


Abbildung 36: AB-PAS Anfärbung mit Version 4 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)

Rückfragen bei anderen dermatopathologischen Laboren bestätigen, dass dort AB- und PAS-Färbungen ebenfalls getrennt durchgeführt werden, insbesondere in der Hautdiagnostik. Die AB-PAS-Kombination erzielt vor allem im gastrointestinalen Bereich zufriedenstellende Ergebnisse. Dies führt zur Entscheidung, zukünftig wieder auf getrennte Färbungen zu setzen.

#### 5.9.5 Digitalisierung und Scanning

Die Optimierung der digitalen Darstellung fokussierte sich auf einzelne PAS-Schnitte, da die kombinierte AB-PAS-Färbung keine zufriedenstellende mikroskopische Qualität zeigte. In Zusammenarbeit mit dem IT-Team wurden Scanparameter angepasst und der Vergleich zwischen dem 5FP- (vgl. Abbildungen 71, 73) und dem erweiterten 9FP-Modus (vgl. Abbildungen 72, 74) durchgeführt. Der 9FP-Modus zeigte eine deutlich verbesserte Erkennbarkeit feiner Gewebestrukturen, insbesondere von Pilzhyphen. Aufgrund der längeren Scan-Zeit (vgl. Abbildung 37) wird der 9FP-Modus jedoch nur gezielt für PAS-Färbungen eingesetzt, während für Routineaufnahmen der 5FP-Modus genutzt wird. Das ärztliche Team bestätigt, dass die digitalen Scans nun auch im Homeoffice zuverlässig beurteilbar sind. Dennoch bleibt die klassische Mikroskopie für die genaue Erkennung kleiner Pilzstrukturen weiterhin überlegen (siehe Anhang S. 80).

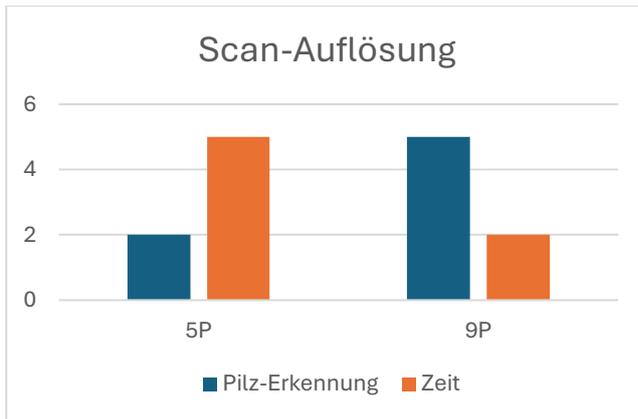
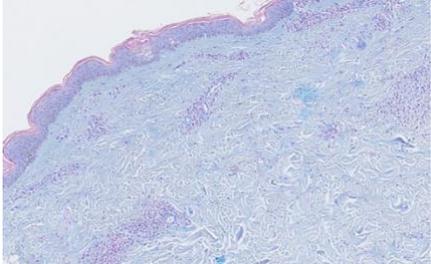
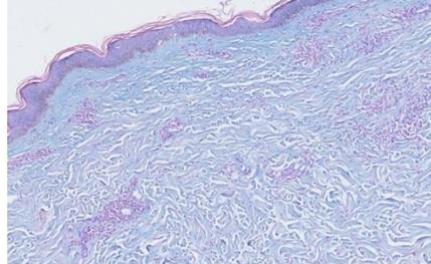
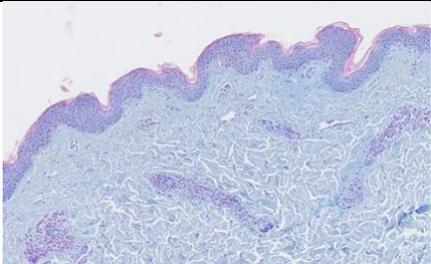
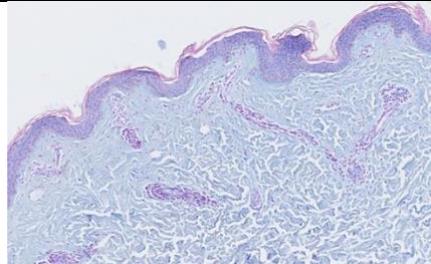


Abbildung 37: Scan Auflösung (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)

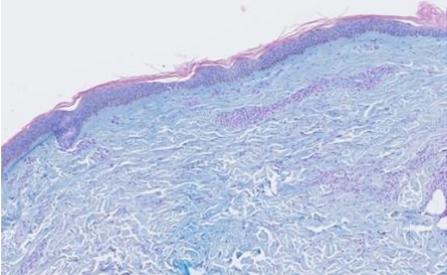
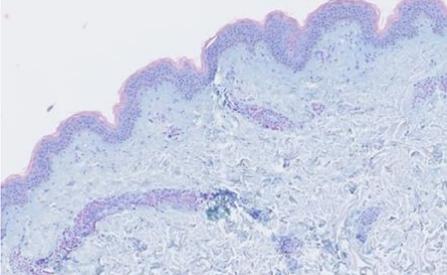
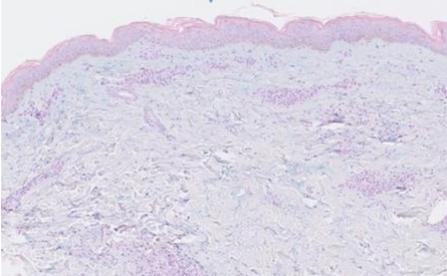
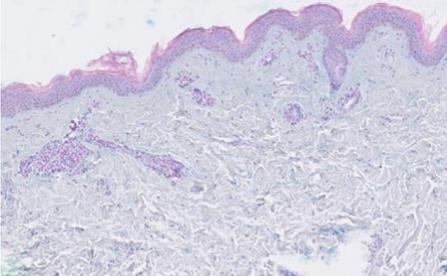
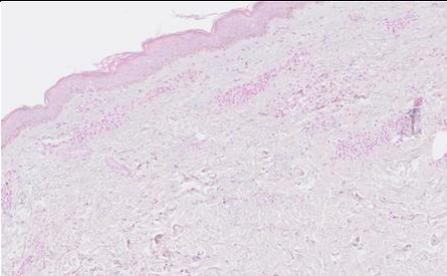
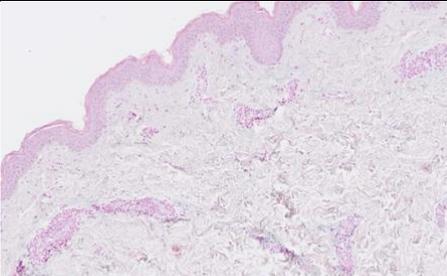
Als praktikabler Kompromiss findet der 9FP-Modus gezielt nur für PAS-Färbungen Anwendung, während für Routineaufnahmen weiterhin der 5FP-Scan genutzt wird. Rückmeldungen aus dem ärztlichen Team bestätigen, dass die digitalen Scans nun auch im Homeoffice zuverlässig beurteilbar sind. Dennoch bleibt die klassische Mikroskopie, insbesondere für die genaue Erkennung kleiner Pilzstrukturen, weiterhin überlegen.

5.10 Ergebnisse anhand Bilder

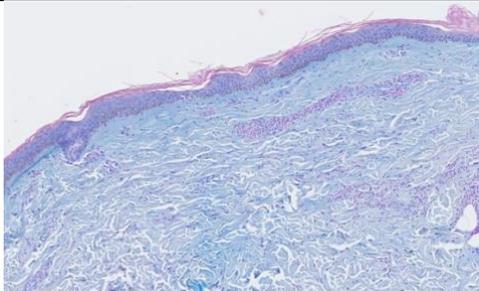
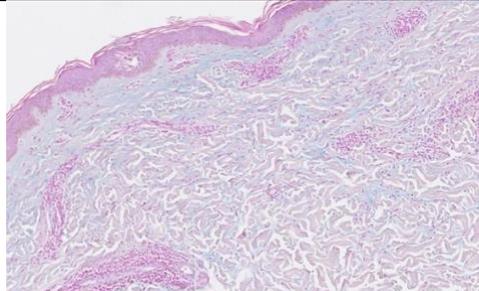
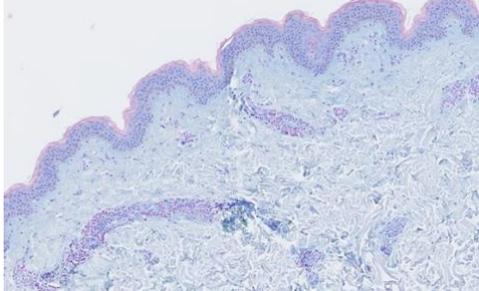
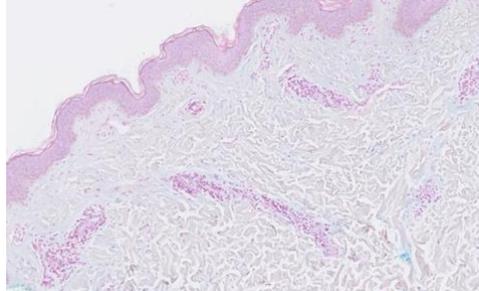
**Schnittdicke**

	3um	5um
<b>GA</b>	 <p>Abbildung 38: Granuloma anulare 3um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 39: Granuloma anulare 5um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Abbildung 40: Lupus erythematoses 3um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 41: Lupus erythematoses 5um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

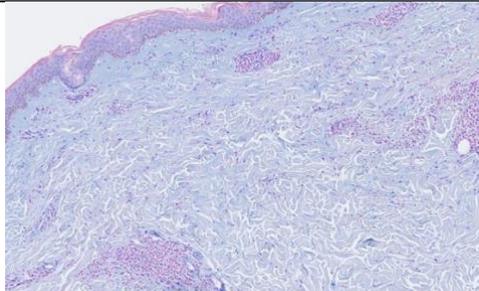
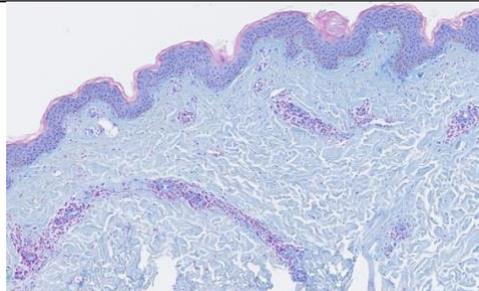
**Version 1**

	<b>GA</b>	<b>LE</b>
<b>Artechemis Lösung (aktueller Stand)</b>	 <p>Abbildung 42: Granuloma anulare Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 43: Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>Morphisto Lösung</b>	 <p>Abbildung 44: Granuloma anulare, Version 1 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 45: Lupus erythematoses, Version 1 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>Diapath Lösung</b>	 <p>Abbildung 46: Granuloma anulare, Version 1 Diapath AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 47: Granuloma anulare, Version 1 Diapath AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

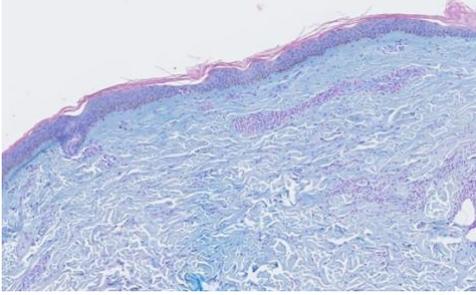
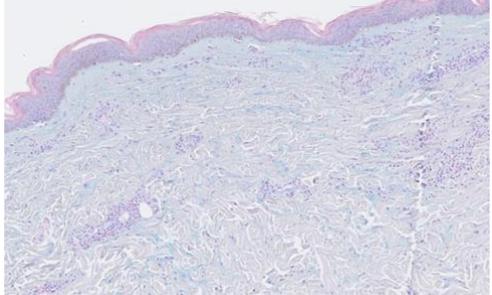
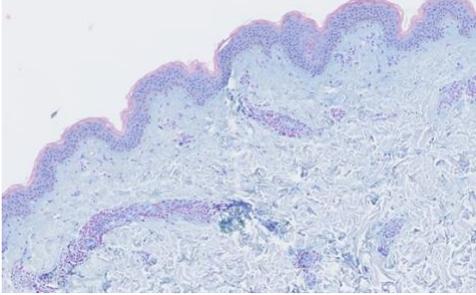
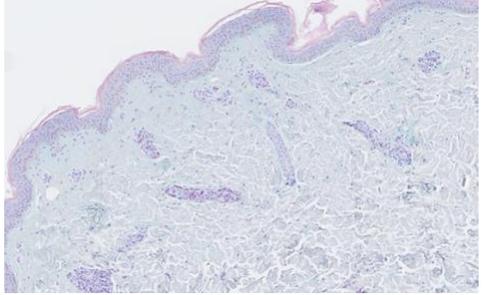
**Version 2 – Morphisto Lösung**

	<b>Aktueller Stand</b>	<b>Nach Optimierung</b>
<b>GA</b>	 <p>Abbildung 48: Granuloma anulare Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 49: Granuloma anulare, Version 2 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Abbildung 50: Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 51: Lupus erythematoses Version 2 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

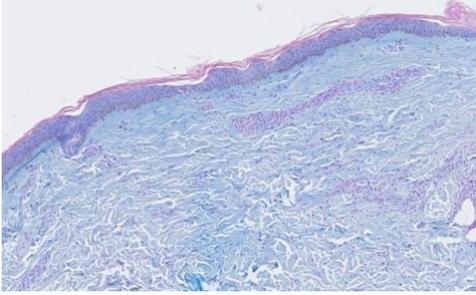
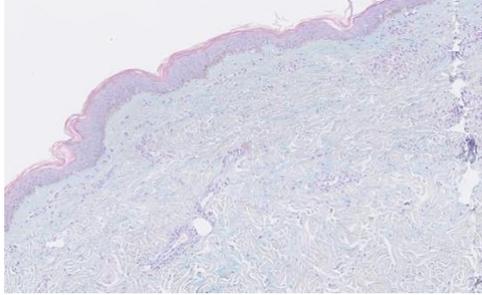
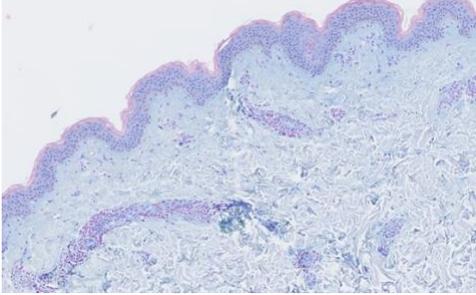
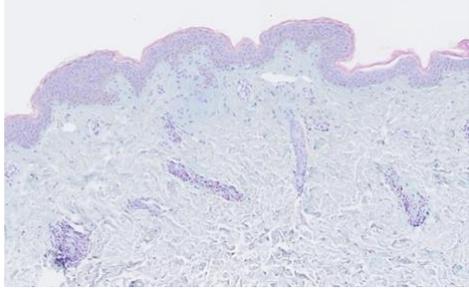
**Falsche AB-Lösung**

<b>GA</b>	<b>LE</b>
 <p>Abbildung 52: Granuloma anulare, falsche AB Lösung Version 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 53: Lupus erythematoses, falsche AB Lösung Version 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

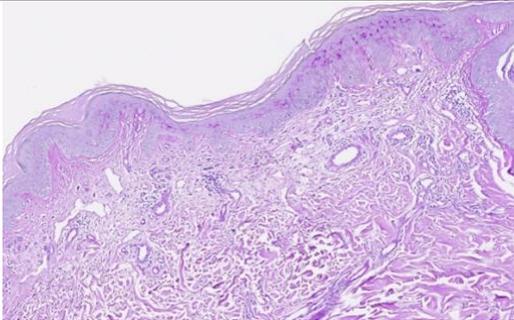
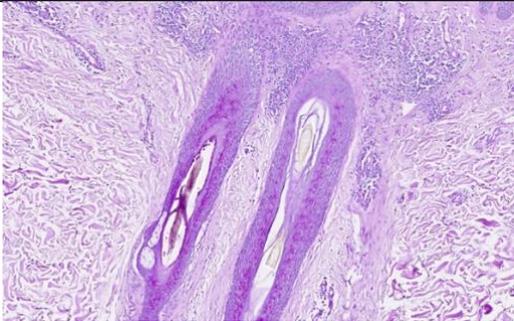
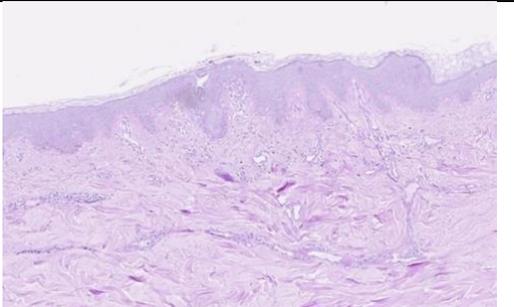
**Version 3 – Morphisto-Lösung**

	<b>Aktueller Stand</b>	<b>Nach Optimierung</b>
<b>GA</b>	 <p>Abbildung 54 Granuloma anulare, Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 55: Granuloma anulare, Version 3 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Abbildung 56: Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 57: Lupus erythematoses Version 3 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

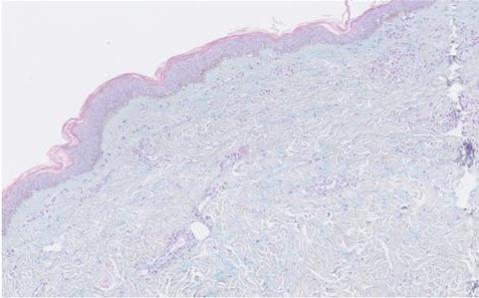
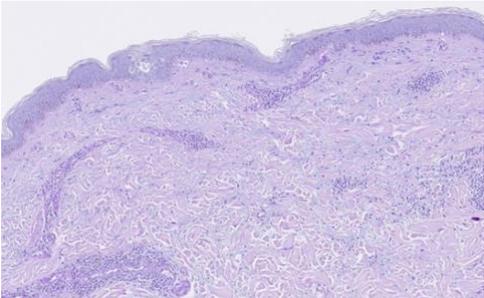
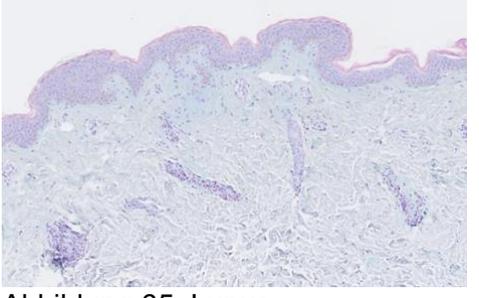
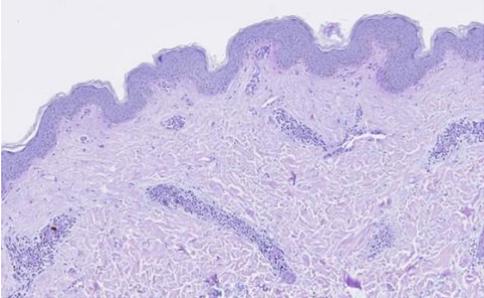
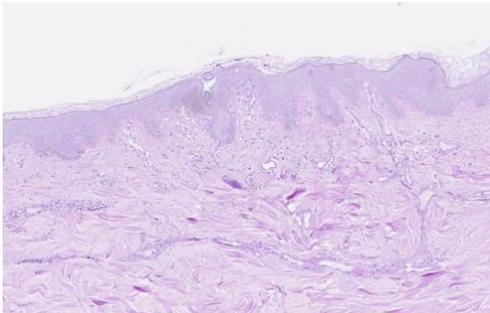
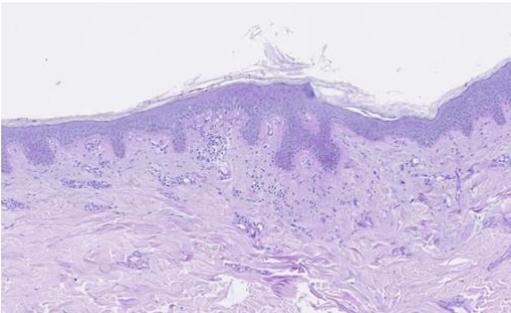
**Version 4 – Morphisto – Lösung**

	<b>Aktueller Stand</b>	<b>Nach Optimierung</b>
<b>GA</b>	 <p>Abbildung 58: Granuloma anulare, Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 59: Granuloma anulare, Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Abbildung 60: Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 61: Lupus erythematoses Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

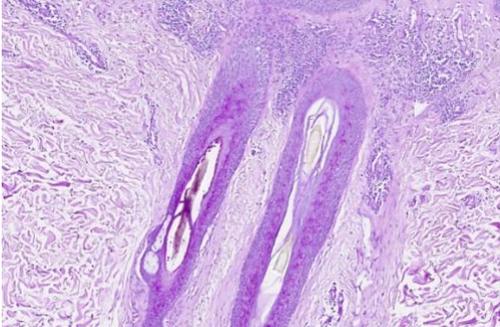
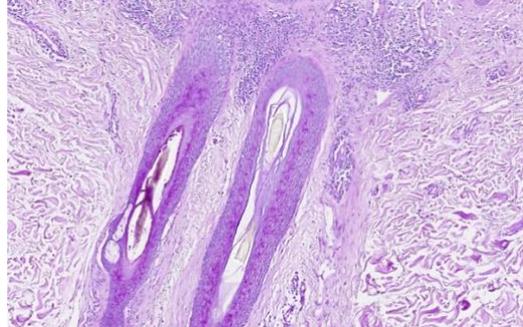
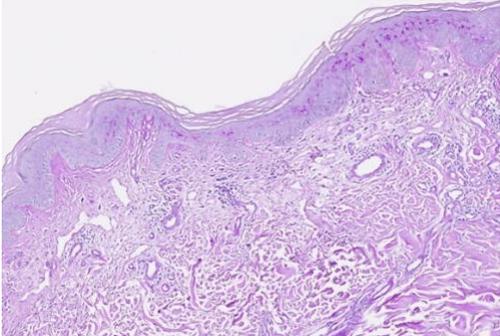
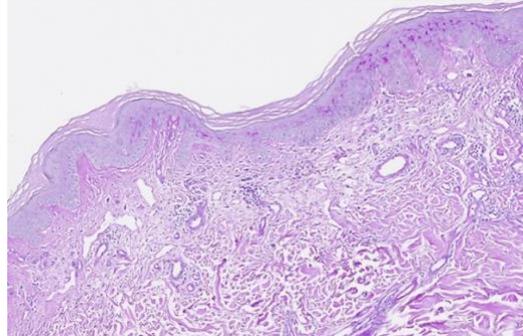
**PAS-Färbung (Standardprotokoll)**

<b>PF</b>	 <p>Abbildung 62: Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>TR</b>	 <p>Abbildung 63: Trichophytie, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>TC</b>	 <p>Abbildung 64: Tinea corporis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

**AB-PAS-Färbung**

	<b>AB Version 4</b>	<b>AB Version 4 + aktuellem PAS</b>
<b>GA</b>	 <p>Abbildung 63: Granuloma anulare, Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 64: Granuloma anulare, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Abbildung 65: Lupus erythematosus Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 66: Lupus erythematosus, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
	<b>Aktueller PAS</b>	<b>AB Version 4 mit aktuellem PAS</b>
<b>TC</b>	 <p>Abbildung 67: Tinea corporis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 68: Tinea corporis, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

## Scan Optimierung

	5 Fokuspunkte	9 Fokuspunkte
TR	 <p>Abbildung 69: Trichophyie, PAS-Färbung, 5P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 70: Trichophyie, PAS-Färbung, 9P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
PF	 <p>Abbildung 71: Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 5P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Abbildung 72: Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 9P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

(Der Unterschied zwischen 5 Fokuspunkte und 9 Fokuspunkte ist auf den Fotografien nicht so deutlich erkennbar wie auf den Scans.)

## 6.7 Diskussion

### 6.7.1 Beantwortung der Fragestellung

Auf Grundlage der im Praxisteil gewonnenen Ergebnisse lassen sich hier nun die Fragestellungen beantworten.

#### **1. Wie lässt sich die Alcianblau-Färbung entwickeln, damit sich die Muzine bei Hauterkrankungen gut darstellen lassen?**

Die Ergebnisse zeigen, dass die Optimierung der Alcianblau-Färbung durch eine systematische Anpassung von Schnittdicke, Färbelösung und Gegenfärbung möglich ist. Insbesondere die Verwendung von 3 µm dünnen Schnitten in Kombination mit der Morphisto-Lösung und einer fein abgestimmten Kernechtrot-Färbung führt zu einer klareren und selektiveren Darstellung saurer Muzine, wie sie bei Erkrankungen wie Granuloma annulare (GA) und Lupus erythematodes (LE) vorkommen. Diese Optimierung basiert auf theoretischen Grundlagen zur Gewebedarstellung und bestätigt deren praktische Umsetzbarkeit im Labor. Die entwickelte Methode ist praxistauglich und verbessert die diagnostische Sicherheit.

#### **2. Welche Schritte sind nötig, um die Alcianblau- und PAS-Färbung in der Hautdiagnostik in einer AB-PAS-Färbung zu kombinieren?**

Die Kombination beider Färbungen erfordert eine präzise Abstimmung der Protokolle. Trotz einer theoretisch möglichen Integration zeigte die praktische Umsetzung, dass die kombinierte AB-PAS-Färbung in der Hautpathologie nicht durchgehend eine zuverlässige Darstellung von sauren Muzinen und Pilzen gewährleistet. Hintergrundfärbungen und unzureichende Kontraste beeinträchtigten die mikroskopische Beurteilung. Rückmeldungen aus anderen dermatopathologischen Laboren bestätigen, dass getrennte Färbungen weiterhin Standard sind. Die Ergebnisse legen nahe, dass eine weitere methodische Entwicklung notwendig ist, bevor die Kombinationsfärbung in der Routine eingesetzt werden kann.

#### **3. Welche Maßnahmen können die Qualität des digitalen Scannens verbessern, um die Pilze in den AB-PAS-gefärbten Schnitten auch im Homeoffice optimal analysieren darzustellen?**

Da die kombinierte AB-PAS-Färbung mikroskopisch nicht überzeugte, wurde die digitale Optimierung auf einzelne PAS-Schnitte fokussiert. Die Anpassung der Scanparameter, insbesondere der Einsatz des erweiterten 9-Fokus-Punkte-Modus (9FP), ermöglichte eine deutlich bessere Erkennbarkeit feiner Pilzstrukturen wie Hyphen. Die längere Scan-Zeit dieses Modus erfordert jedoch einen gezielten Einsatz, z.B. nur bei Proben mit Pilzverdacht. Die enge Zusammenarbeit mit dem IT-Team ist dabei entscheidend. Die Kombination von digitaler Bildgebung und klassischer Mikroskopie bleibt essenziell, um auch im Homeoffice eine diagnostisch hochwertige Analyse sicherzustellen.

## 6.8 Ausblick

Die optimierte Alcianblau-Färbung wird im Praktikumsbetrieb als Standardverfahren etabliert. Zukünftige Arbeiten sollten sich auf die methodische Verbesserung der AB-PAS-Kombination fokussieren, um eine zuverlässige diagnostische Anwendung in der Hautdiagnostik zu ermöglichen. Zudem ist die fortlaufende Optimierung digitaler Scanverfahren und die interdisziplinäre Zusammenarbeit mit der IT-Gruppe wichtig, um die Diagnostik im digitalen Umfeld, auch im Homeoffice, weiter zu verbessern. Die Übereinstimmung der entwickelten Methode mit etablierten Protokollen bestätigt die praktische Relevanz und unterstützt eine breite Akzeptanz.

Bemerkenswert ist zudem, dass ein vom neu ins Team aufgenommenen Arzt mit dermatopathologischer Spezialisierung eingebrachtes Alcianblau-Protokoll in allen wesentlichen Punkten mit dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Verfahren übereinstimmt. Dies bestätigt nicht nur die Qualität und Praxistauglichkeit der optimierten Lösung, sondern unterstreicht auch deren Übereinstimmung mit etablierten Standards in der dermatopathologischen Diagnostik.

## 7. Reflexion

Die Erarbeitung dieser Diplomarbeit war für mich eine sehr lehrreiche und prägende Erfahrung. Es war spannend, den gesamten Prozess von der Themenfindung bis hin zur Umsetzung und Auswertung eigenständig mitverfolgen und aktiv mitgestalten zu dürfen. Besonders bereichernd war für mich die Möglichkeit, im praktischen Teil selbstständig zu experimentieren, Lösungen auszutesten und methodische Optimierungen vorzunehmen, die letztlich auch im Team weiterverwendet wurden. Der Gedanke, mit meiner Arbeit einen kleinen Beitrag im Laborwesen geleistet zu haben, erfüllt mich mit Freude und Stolz.

Die Unterstützung durch mein ganzes Team, insbesondere durch meine Berufsbildnerin war über die gesamte Dauer hinweg sehr wertvoll. Ich wurde sowohl fachlich als auch menschlich eng begleitet, und die Hilfsbereitschaft sowie die Offenheit im Laboralltag haben wesentlich dazu beigetragen, dass ich mich wohl, sicher und motiviert gefühlt habe.

Den Einstieg in die Diplomarbeitsphase empfand ich zunächst als herausfordernd, da ich mich intensiv mit dem Thema und den fachlichen Hintergründen auseinandersetzen musste. Besonders der Einstieg in das Schreiben der Diplomarbeit fiel mir anfangs schwer, da es mir nicht leichtfiel, meine Gedanken klar zu strukturieren und schriftlich auszudrücken. Mit der Zeit gewann ich jedoch mehr Sicherheit, konnte einen roten Faden entwickeln und fand zunehmend Freude am Ausformulieren der einzelnen Kapitel. Die Orientierung im Thema fiel mir ebenfalls leichter. Besonders hilfreich war, dass wir im Labor Zugang zu sehr guter Fachliteratur hatten. So hatte ich keine Mühe, passende Bücher zu finden, um meine Fragestellungen theoretisch zu untermauern und geeignete Lösungsmöglichkeiten zu formulieren.

Im Verlauf der praktischen Umsetzung kam es auch zu kleineren Verzögerungen. Das Durchsehen der Patientendossiers zur Auswahl geeigneter Fälle gestaltete sich als herausfordernd. Die Menge an zu sichtenden Dossiers war groß, und der reguläre Laboralltag ließ aufgrund der hohen Arbeitsauslastung oft wenig Zeit für diese zusätzliche Aufgabe. Dadurch verzögerte sich dieser Schritt etwas. Dennoch war es für mich wichtig, gezielt geeignete Krankheitsbilder auszuwählen, um eine fundierte Basis für die praktische Umsetzung zu schaffen.

Ebenfalls wurde einmal versehentlich die Alcianblau-Lösung im Automaten nicht rechtzeitig gewechselt. Dadurch musste ein ganzer Färbedurchlauf wiederholt werden, was einen zusätzlichen Arbeitstag in Anspruch nahm. Diese Erfahrung hat mir die Bedeutung von sorgfältiger Protokollkontrolle und klaren Abläufen im histologischen Alltag nochmals deutlich gemacht.

Herausfordernd war es teilweise auch, die praktischen Arbeiten in den regulären Laboralltag zu integrieren. Da es tagsüber oft sehr arbeitsintensiv war, musste ich viele dieser Arbeiten durchführen, wenn die Routine fertig war. Trotz dieser Belastung war ich froh, auf ein unterstützendes Team zählen zu können, das mir Raum und Rückhalt gegeben hat.

Ein wichtiger Wendepunkt in der Diplomarbeitsphase war mein längerer krankheitsbedingter Ausfall. Zum Glück hatte ich die meisten praktischen Arbeiten bereits vor dieser Phase abgeschlossen. Trotzdem war es nicht einfach, nach der Unterbrechung wieder in den Arbeitsrhythmus zurückzufinden. Mit Unterstützung meines Teams und einer klaren Struktur gelang es mir jedoch, rasch wieder Anschluss zu finden und die schriftlichen Arbeiten konzentriert fortzuführen.

Ein zusätzlicher, zeitintensiver Aspekt war die Auswahl und Dokumentation der Scans. Obwohl es sehr spannend war, die Bilder im Detail zu analysieren, erforderte es viel Zeit, geeignete Aufnahmen exemplarisch auszuwählen und möglichst an denselben Stellen zu fotografieren. Die Schwierigkeit lag vor allem darin, dass die Färbungen insbesondere der

Muzine bei jedem Ansatz unterschiedlich ausfielen. Dadurch war es oft nicht einfach, vergleichbare Schnitte mit guter Darstellung zu finden. Dennoch konnte ich aus diesem Prozess viel über Genauigkeit, Standardisierung und Dokumentation lernen.

Im Verlauf der Diplomarbeit entwickelte ich noch mehr Begeisterung für den Fachbereich Histologie. Zu Beginn hatte ich gewisse Bedenken, ob mir Tätigkeiten wie das Schneiden liegen würden. Doch mit wachsender Sicherheit entwickelte ich Freude und Interesse an diesen Aufgaben. Ich konnte einen vielfältigen Einblick in die verschiedenen Bereiche bekommen und sehr viel Neues dazulernen. Besonders bereichernd war auch die interdisziplinäre Zusammenarbeit mit ärztlichem Fachpersonal, die mir den diagnostischen Wert unserer Arbeit nochmals deutlich machte.

Für mein zukünftiges berufliches Handeln nehme ich aus dieser Zeit mit, wie wichtig Selbstständigkeit, strukturiertes Arbeiten und Verantwortungsbewusstsein im medizinischen Labor sind. Die Fähigkeit, theoretisches Wissen mit praktischer Umsetzung zu verknüpfen, sowie die Offenheit für Teamarbeit und interdisziplinären Austausch, sind für mich essenziell geworden. Ich habe gelernt, mit Herausforderungen flexibel umzugehen und trotz Rückschlägen lösungsorientiert weiterzuarbeiten. Ich bin sehr dankbar, ein Teil der Laborwelt zu sein.

## 8.Literaturverzeichnis

- Aaron, *MSD Manual: Tinea corporis (Körperringflechte)*. 2023, <https://www.msmanuals.com/de/profi/erkrankungen-der-haut/hautinfektionen-durch-pilze/tinea-corporis-korperringflechte> , Zugriff am: 15.05.2025
- Benedetti: *MSD Manual. Beschreibung von Hautflecken, Wucherungen und Farbveränderungen*. 2024, <https://www.msmanuals.com/de/heim/hauterkrankungen/biologie-der-haut/beschreibung-von-hautflecken-wucherungen-und-farbveränderungen>, Zugriff: 02.06.2025
- Benedetti: *MSD Manual. Granuloma anulare*. 2024, <https://www.msmanuals.com/de/profi/erkrankungen-der-haut/überempfindlichkeit-und-reaktive-hauterkrankungen/granuloma-anulare>, Zugriff am: 15.05.2025
- Doan: *Leica Biosystems. Spezialfärbungen – Welche, warum und wie? Teil 1: Muzine und Glykogen*. O.J. a, <https://www.leicabiosystems.com/de-ch/knowledge-pathway/special-stains-which-one-why-and-how/>, Zugriff am: 26.04.2025
- Hamamatsu Photonics: *NanoZoomer series*. 2023, S. 2, 3, 4, 8, 9. [https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99\\_SALES\\_LIBRARY/sys/SBIS0126E\\_NanoZoomer\\_Lineup.pdf](https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99_SALES_LIBRARY/sys/SBIS0126E_NanoZoomer_Lineup.pdf), Zugriff am: 01.06.2025
- Junqueira et al.: *Histologie*. Springer-Verlag GmbH, 2002 , 5.Aufl., S. 312, 313, 314, 315, 318, 319, 323 324.
- Kempf et al.: *Dermatopathologie*. Springer-Verlag GmbH , 2011, 2. Aufl., S. 24, 60, 76, 116, 128.
- Lang: *Histotechnik*. Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytik. Springer-Verlag GmbH, 2012, 2. Aufl., S 26
- Medite: *TST 44 Multifärber*. O.J., S. 2, 4. <https://pdf.medicaexpo.de/pdf/medite-medical/tst-44/76772-89517-2.html>, Zugriff am: 19.05.2025
- Morphisto: *Färbekit: Alcianblau 1% (pH 2.5 % in Essigsäure)*, 2019a, [https://www.morphisto.de/shop/detail/d/Alcianblau\\_1\\_%28pH\\_2\\_5\\_in\\_Essigsäure%29/6/](https://www.morphisto.de/shop/detail/d/Alcianblau_1_%28pH_2_5_in_Essigsäure%29/6/), Zugriff am: 27.04.2025
- Morphisto: *Färbekit: Alcianblau-PAS*, 2022b, S.1. [https://www.morphisto.de/uploads/tx\\_aimeos/gebrauchsanweisungen/Gebrauchsanweisung\\_Alcianblau-PAS\\_11388.pdf](https://www.morphisto.de/uploads/tx_aimeos/gebrauchsanweisungen/Gebrauchsanweisung_Alcianblau-PAS_11388.pdf), Zugriff am 27.04.2022
- Morphisto: *Färbekit: PAS-Reaktion*, 2022c, S. 1. [https://www.morphisto.de/uploads/tx\\_aimeos/gebrauchsanweisungen/Gebrauchsanweisung\\_PAS-Reaktion\\_12153.pdf](https://www.morphisto.de/uploads/tx_aimeos/gebrauchsanweisungen/Gebrauchsanweisung_PAS-Reaktion_12153.pdf), Zugriff am: 27.04.2025
- Myers: *Leica Biosystems. Spezielle Färbetechniken für die Bewertung von Muzinen*, o.J. b, [https://www.leicabiosystems.com/de-ch/knowledge-pathway/special-stain-techniques-for-the-evaluation-of-mucins/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.leicabiosystems.com/de-ch/knowledge-pathway/special-stain-techniques-for-the-evaluation-of-mucins/?utm_source=chatgpt.com), Zugriff am : 27.2025
- Oakley: *DermNet NZ. Cutaneous lupus erythematosus*.2024, <https://dermnetnz.org/topics/cutaneous-lupus-erythematosus>, Zugriff am: 01.05.2025

Oakley: DermNet NZ. Malassezia (pityrosporum) folliculitis. 2020,  
<https://dermnetnz.org/topics/malassezia-folliculitis>, Zugriff am: 01.05.2025

Universitätsspital Zürich: *Systemischer Lupus Erythematodes*. 2025,  
<https://www.usz.ch/krankheit/systemischer-lupus-erythematodes/> , Zugriff am: 30.04.2025

Vogel: *Medizinische Immunologie*, 2023, Unveröffentlichte Unterrichtsunterlagen. Zürich:  
Careum AG Bildungszentrum für Gesundheitsberufe.

Yaseen: MSD Manual. Systemic Lupus Erythematosus (SLE), 2025,  
<https://www.msmanuals.com/professional/musculoskeletal-and-connective-tissue-disorders/systemic-rheumatic-diseases/systemic-lupus-erythematosus-sle>, Zugriff am:  
30.04.2025

## 8.1 Abbildungsverzeichnis

Titelbild: oben links, *Alcianblau Färbung GA* (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Titelbild: oben rechts, *Perjodic-Acid-Schiff PF* (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Titelbild: unten links, *AB-PAS Färbung LE* (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

Titelbild: unten, rechts, *AB-PAS Färbung PF* (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)

<i>Abbildung 1: Aufbau der Haut</i> .....	5
<i>Abbildung 2: Aufbau der Epidermis</i> .....	5
<i>Abbildung 3: Alcianblau-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	7
<i>Abbildung 4: Perjodic-Acid-Schiff-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	9
<i>Abbildung 5: AB-PAS-Färbung 1, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	11
<i>Abbildung 6: AB-PAS Färbung 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	12
<i>Abbildung 7: Papeln</i> .....	12
<i>Abbildung 8: Plaque</i> .....	12
<i>Abbildung 9: Granuloma anulare Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	13
<i>Abbildung 10: chronisch-diskoide Lupus erythematodes</i> .....	14
<i>Abbildung 11: subakut-kutane Lupus erythematodes</i> .....	14
<i>Abbildung 12: Lupuspannikulitis</i> .....	15
<i>Abbildung 13: systemische Lupus erythematodes</i> .....	15
<i>Abbildung 14: Lupus erythematodes tumidis</i> .....	15
<i>Abbildung 15: Lupus erythematodes Mikroskopisch (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	16
<i>Abbildung 16: Tinea corporis</i> .....	17
<i>Abbildung 17: Tinea corporis Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	18
<i>Abbildung 18: Trichochphytie</i> .....	19
<i>Abbildung 19: Trichophytie Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	19
<i>Abbildung 20: Pityrosporum folliculitis</i> .....	20
<i>Abbildung 21:Pityrosporum folliculitis Mikroskopisch, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	20
<i>Abbildung 22: Medite TST 44 Multifärber (Quelle: Murugadas, 2025: Medite TST 44 Multifärber, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	22
<i>Abbildung 23: Scanner-NanoZoomer S360 (Quelle: Murugadas, 2025: Scanner- NanoZoomer, S360, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	23
<i>Abbildung 24: Schnittdicke-On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	25
<i>Abbildung 25: Alcianblau-Färbung On-Slide Objekträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	26
<i>Abbildung 26: Perjodic-Acid-Schiff-Färbung On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	28
<i>Abbildung 27: AB-PAS-Färbung On-Slide Objektträger (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	29
<i>Abbildung 28: Schnittdicke 3um (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstellte Grafik, Zürich)</i> .....	30
<i>Abbildung 29: Schnittdicke 5um (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)</i> .....	30
<i>Abbildung 30: Anfärbung Version 1 Lösung 1 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)</i> .....	31
<i>Abbildung 31: Anfärbung Version 1 Lösung 2 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich)</i> .....	31

Abbildung 32: Anfärbung Version 1 Lösung 3 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich).....	31
Abbildung 33: Anfärbung Version 2 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich).....	31
Abbildung 34: Anfärbung Version 3 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich).....	32
Abbildung 35: Anfärbung Version 4 Diagramm (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstelltes Bildmaterial).....	32
Abbildung 36: AB-PAS Anfärbung mit Version 4 (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich).....	33
Abbildung 37: Scan Auflösung (Quelle: Murugadas, 2025, selbsterstellte Grafik, Zürich).....	34
Abbildung 38: Granuloma anulare 3um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	35
Abbildung 39: Granuloma anulare 5um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	35
Abbildung 40: Lupus erythematodes 3um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	35
Abbildung 41: Lupus erythematodes 5um, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	35
Abbildung 42: Granuloma anulare Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	36
Abbildung 43: Lupus erythematodes Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	36
Abbildung 44: Granuloma anulare, Version 1 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	36
Abbildung 45: Lupus erythematodes, Version 1 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	36
Abbildung 46: Granuloma anulare, Version 1 Diapath AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	36
Abbildung 47: Granuloma anulare, Version 1 Diapath AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	36
Abbildung 48: Granuloma anulare Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	37
Abbildung 49: Granuloma anulare, Version 2 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	37
Abbildung 50: Lupus erythematodes Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	37
Abbildung 51: Lupus erythematodes Version 2 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	37
Abbildung 52: Granuloma anulare, falsche AB Lösung Version 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	37
Abbildung 53: Lupus erythematodes, falsche AB Lösung Version 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	37
Abbildung 54 Granuloma anulare, Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	38
Abbildung 55: Granuloma anulare, Version 3 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	38
Abbildung 56: Lupus erythematodes Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	38
Abbildung 57: Lupus erythematodes Version 3 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	38
Abbildung 58: Granuloma anulare, Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	39
Abbildung 59: Granuloma anulare, Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	39
Abbildung 60: Lupus erythematodes Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	39
Abbildung 61: Lupus erythematodes Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	39
Abbildung 62: Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich).....	40

<i>Abbildung 63: Granuloma anulare, Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	41
<i>Abbildung 64: Granuloma anulare, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	41
<i>Abbildung 65: Lupus erythematoses Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	41
<i>Abbildung 66: Lupus erythematoses, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	41
<i>Abbildung 67: Tinea corporis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	41
<i>Abbildung 68: Tinea corporis, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	41
<i>Abbildung 69: Trichophytie, PAS-Färbung, 5P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	42
<i>Abbildung 70: Trichophytie, PAS-Färbung, 9P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	42
<i>Abbildung 71: Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 5P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	42
<i>Abbildung 72: Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 9P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</i> .....	42

## 8.2 Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Alcianblau Färbetechnik bei Kempf und Pfaltz maschinell (Quelle: Kempf und Pfaltz, 2023)</i> .....	6
<i>Tabelle 2: Perjodic-Acid-Schiff Färbetechnik bei Kempf und Pfaltz maschinell (Quelle: Kempf und Pfaltz, 2023)</i> .....	9
<i>Tabelle 3: AB-PAS Färbetechnik bei Kempf und Pfaltz (Quelle: Kempf und Pfaltz, 2023)</i> .....	11
<i>Tabelle 4: Scan Auflösung und Zeit (Quelle Kempf und Pfaltz, 2025)</i> .....	30

## 9. Persönliche Erklärung und Anhang

„Ich bestätige, die vorliegende Diplomarbeit mit dem Thementitel:  
Optimierung von AB und AB-PAS Färbung bei Kempf und Pfaltz selbständig verfasst zu  
haben.

Sämtliche Inhalte, die nicht von mir stammen, sind als Zitate gekennzeichnet und mit  
genauer Quellenangabe versehen, die im Literaturverzeichnis vollständig aufgeführt sind.“

Vorname: Harini

Name: Murugadas

Kurs: BM H22

Ort / Datum / elektronische Unterschrift: Zürich, 23.06.2025



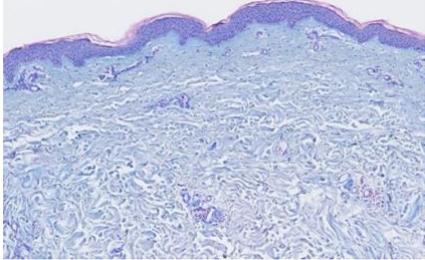
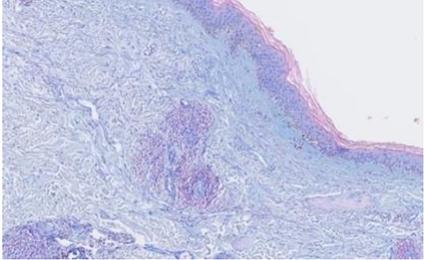
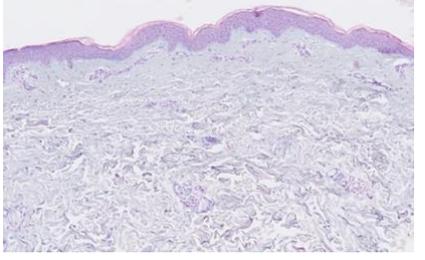
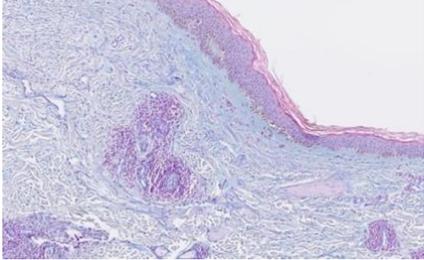
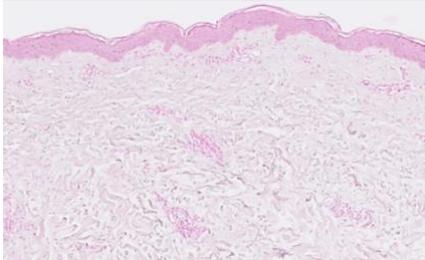
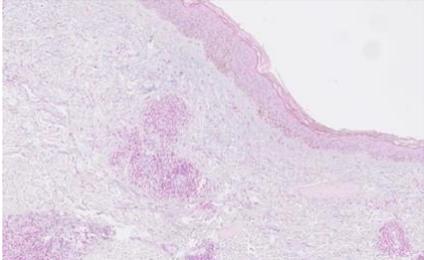
## 10.Anhang

### 10.1 Verwendete KI-Tools

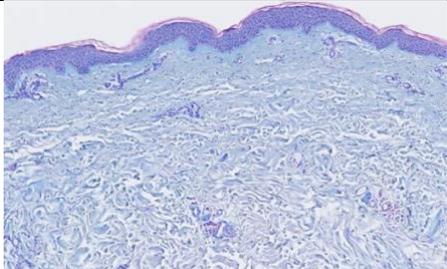
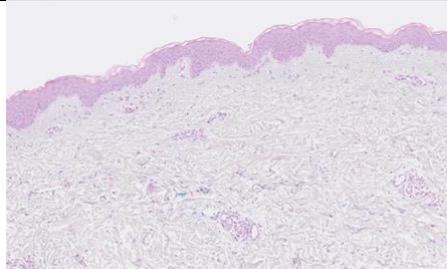
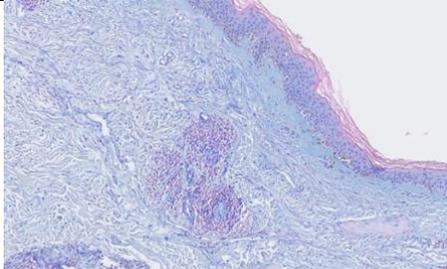
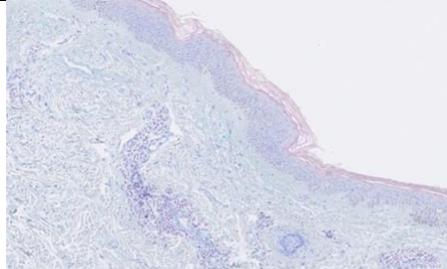
KI-Instrument	Verwendung	Betroffenes Kapitel der Diplomarbeit
ChatGPT <a href="https://chatgpt.com">https://chatgpt.com</a>	Hilfestellung bei der Formulierung	Allgemein Arbeit
Perplexity AI <a href="https://www.perplexity.ai">https://www.perplexity.ai</a>	Finden von Quellen	Kapitel Theorieteil

### 10.2 Weitere Bilder

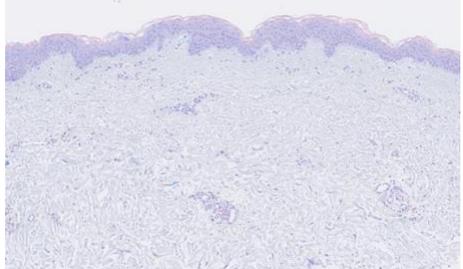
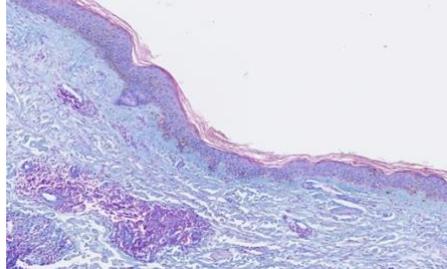
#### Version 1 Morphisto-Lösung

	GA	LE
Artechemis Lösung (aktueller Stand)	 <p>Granuloma anulare Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
Morphisto Lösung	 <p>Granuloma anulare, Version 1 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses, Version 1 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
Diapath Lösung	 <p>Granuloma anulare, Version 1 Diapath AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Granuloma anulare, Version 1 Diapath AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

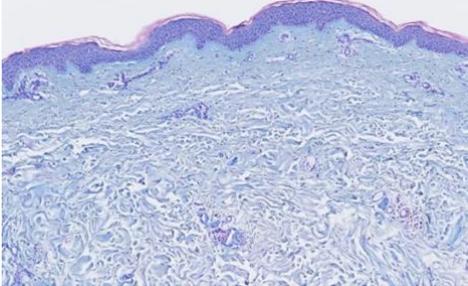
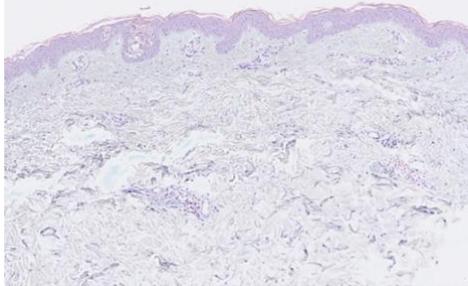
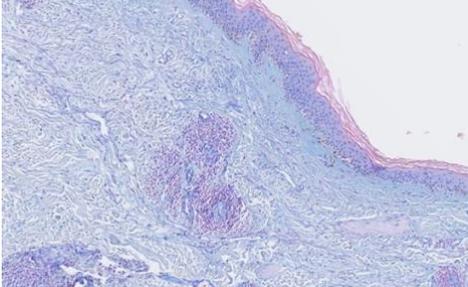
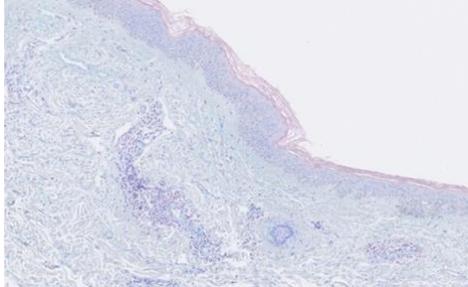
**Version 2 – Morphisto Lösung**

	<b>Aktueller Stand</b>	<b>Nach Optimierung</b>
<b>GA</b>	 <p>Granuloma anulare Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Granuloma anulare, Version 2 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses Version 2 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

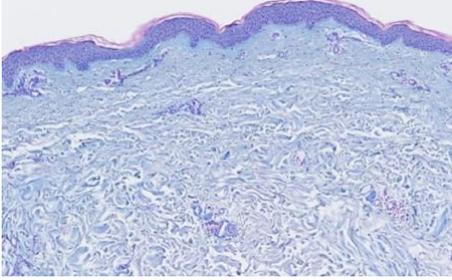
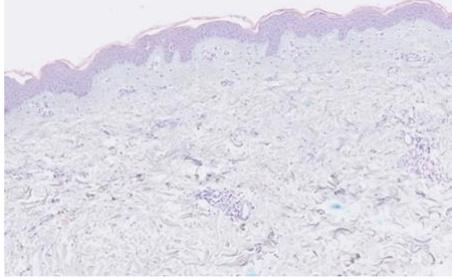
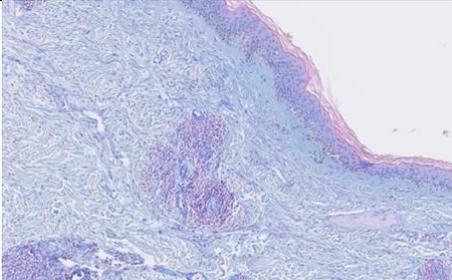
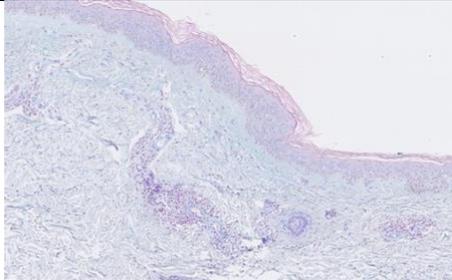
**Falsche AB-Lösung**

<b>GA</b>	<b>LE</b>
 <p>Granuloma anulare, falsche AB Lösung Version 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses, falsche AB Lösung Version 2, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

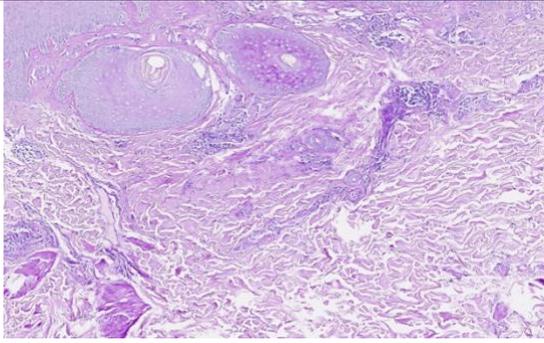
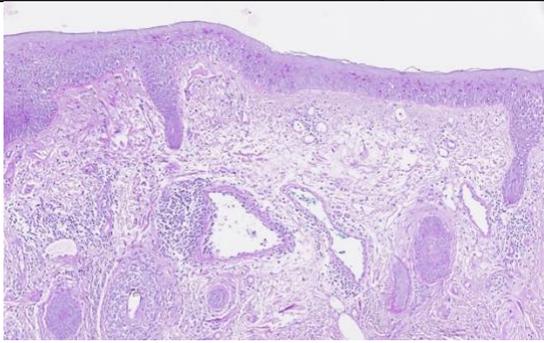
**Version 3 – Morphisto-Lösung**

	<b>Aktueller Stand</b>	<b>Nach Optimierung</b>
<b>GA</b>	 <p>Granuloma anulare, Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Granuloma anulare, Version 3 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses Version 3 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

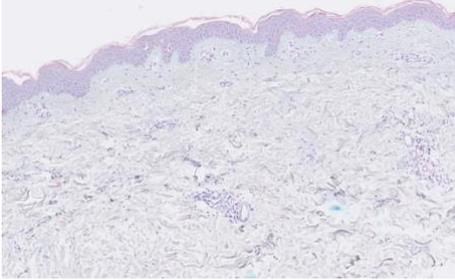
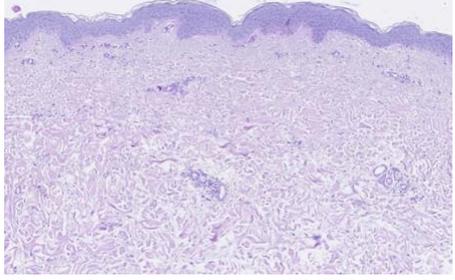
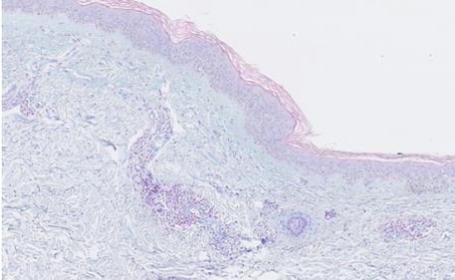
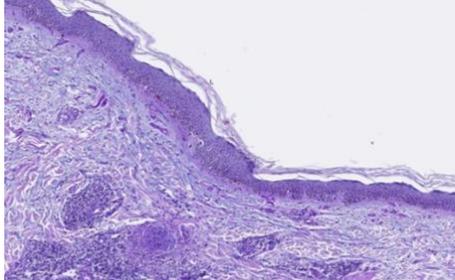
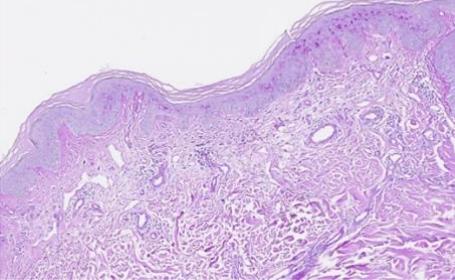
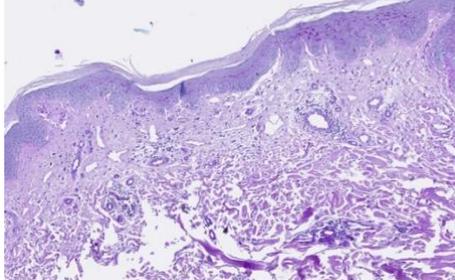
**Version 4 – Morphisto – Lösung**

	<b>Aktueller Stand</b>	<b>Nach Optimierung</b>
<b>GA</b>	 <p>Granuloma anulare, Version 1 Artechemis AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Granuloma anulare, Version 4 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Lupus erythematoses Version 1 Artechemis AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses Version 4 Morphisto AB- Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

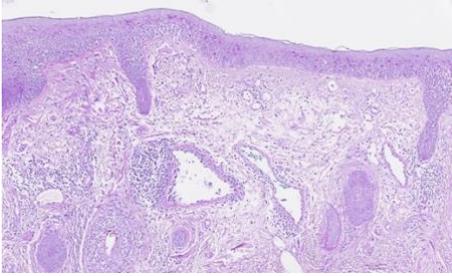
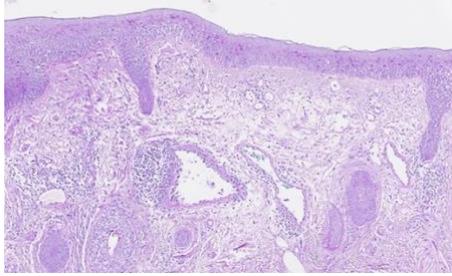
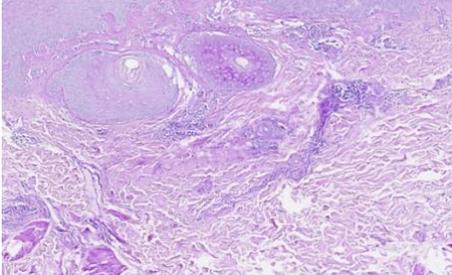
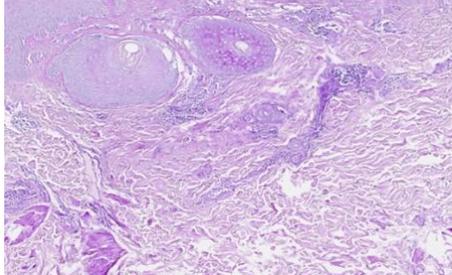
**PAS-Färbung (Standardprotokoll)**

<b>PF</b>	 <p data-bbox="292 600 836 678">Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>TR</b>	 <p data-bbox="292 1021 836 1099">Trichophytie, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

**AB-PAS-Färbung**

	<b>AB Version 4</b>	<b>AB Version 4 + aktuellem PAS</b>
<b>GA</b>	 <p>Granuloma anulare, Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Granuloma anulare, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>LE</b>	 <p>Lupus erythematoses Version 4 Morphisto AB-Lösung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Lupus erythematoses, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
	<b>Aktueller PAS</b>	<b>AB Version 4 mit aktuellem PAS</b>
<b>TC</b>	 <p>Tinea corporis, PAS-Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Tinea corporis, AB-PAS Färbung, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

**Scan Optimierung**

	5 Fokuspunkte	9 Fokuspunkte
<b>TR</b>	 <p>Trichophytie, PAS-Färbung, 5P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Trichophytie, PAS-Färbung, 9P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>
<b>PF</b>	 <p>Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 5P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>	 <p>Pityrosporum folliculitis, PAS-Färbung, 9P, 10x Vergrößerung (Quelle: Murugadas, 2025, Selbsterstelltes Bildmaterial, Zürich)</p>

(Der Unterschied zwischen 5 Fokuspunkte und 9 Fokuspunkte ist auf den Fotografien nicht so deutlich erkennbar wie auf den Scans.)

Weitere Bilder könne über die IT Abteilung oder Praktikumsausblidnerin von Kempf und Pfaltz angeschaut werden.

**10.3 Austestungsmaterial**

Patienten	Granuloma anulare (GA)	Lupus erythematodes (LE)	Trichophytie (TR)	Pityrosporum folliculitis (PF)	Tinea corporis (TC)
1	x	x	x	x	x
2	x	x	x	x	
3	x	x	x	x	
4	x	x	x	x	
5	x	x	x		
6	x	x			
7	x	x			
8	x	x			
9	x	x			
10	x	x			

## 10.4 Chemikalienliste

Bezeichnung	Hersteller	Menge	Verfalldatum	Referenznummer	Lot Nummer
Alcianblau 1% in Essigsäure 3%)	Artechemis	1L	10.02.2027	US 056	ZH 7435
Alcianblau 1% (pH2.5% in Essigsäure)	Morphisto	1L	01.2027	12696.01000	53365-22
Alcian Blue pH 2.5 acc. Mowry	Diapath	500ml	30.09.2026	C0052	2024X12750
Alkohol absolut A15-A, denat	Bio-systems	4500ml	04.2027	-	250428487390
Alkohol 94% F25-A, denaturiert	Bio-systems	4500ml	03.2026	-	220328277540
Diamount	Diapath	500ml	01.2027	030400	2025X00073
Essigsäure > 99% Ph. Eur.	Artechemis	1L	03.04.2027	US 066	ZH 5541
Hämalaun nach Mayar verstärkt	Artechemis	1L	20.12.2026	US 020	ZH 7289
Kernechtrot-Aluminiumsulfat	Waldeck	1L	30.09.2026	2E-012	32687
Natriumbisulfit 0.52%	Artechemis	1L	16.05.2027	US 073	ZH 7683
Pejodsäure 0.5%	Artechemis	1L	27.01.2027	US 075	ZH 7400
Ottix Plus	Diapath	5000ml		X0076	2024X14860
Ottix Shaper	Diapath	5000ml	10.2026	X0096	2024X14861
Schiffs Reagenz	Artechemis	1L	06.03.2026	US 187	ZH7501

## 10.5 Färbeprotokolle

**Alcianblau Färbung Version 1 (aktuelles Protokoll)**

<b>1.</b>	<b>Ottix Plus</b>	<b>5 Minuten</b>
<b>2.</b>	Ottix Plus	3 Minuten
<b>3.</b>	Alkohol absolut	1 Minute
<b>4.</b>	Alkohol abs.	1 Minute
<b>5.</b>	Ottix Shaper	1 Minute
<b>6.</b>	Ottix Shaper	1 Minute
<b>7.</b>	Aqua demin.	1 Minute
<b>8.</b>	Essigsäure 3%	3 Minuten
<b>9.</b>	Alcianblau	35 Minuten
<b>10.</b>	Wasserbad	3 Minuten
<b>11.</b>	Kernechtrot	4 Minuten
<b>12.</b>	Wasserbad	1 Minute 30 Sekunden
<b>13.</b>	Ottix Shaper	1 Minute 30 Sekunden
<b>14.</b>	Ottix Shaper	1 Minute
<b>15.</b>	Ottis Plus	1 Minute
<b>16.</b>	Ofen trocknen	5 Minuten
<b>17.</b>	Eindecken mit Diamount	

**Alcianblau Färbung Version 2**

<b>1.</b>	<b>Ottix Plus</b>	<b>5 Minuten</b>
<b>2.</b>	Ottix Plus	3 Minuten
<b>3.</b>	Alkohol abs.	1 Minute
<b>4.</b>	Alkohol abs.	1 Minute
<b>5.</b>	Ottix Shaper	1 Minute
<b>6.</b>	Ottix Shaper	1 Minute
<b>7.</b>	Aqua demin.	1 Minute
<b>8.</b>	<b>Wasserbad</b>	<b>3 Minuten</b>
<b>9.</b>	Alcianblau	35 Minuten
<b>10.</b>	<b>Wasserbad</b>	<b>3 Minuten</b>
<b>11.</b>	Kernechtrot	4 Minuten
<b>12.</b>	Wasserbad	1 Minute 30 Sekunden
<b>13.</b>	Ottix Shaper	1 Minute 30 Sekunden
<b>14.</b>	Ottix Shaper	1 Minute
<b>15.</b>	Ottis Plus	1 Minute
<b>16.</b>	Ofen trocknen	5 Minuten
<b>17.</b>	Eindecken mit Diamount	

**Alcianblau Färbung Version 3**

1.	<b>Ottix Plus</b>	<b>5 Minuten</b>
2.	Ottix Plus	3 Minuten
3.	Alkohol abs.	1 Minute
4.	Alkohol abs.	1 Minute
5.	Ottix Shaper	1 Minute
6.	Ottix Shaper	1 Minute
7.	Aqua demin.	1 Minute
8.	Wasserbad	3 Minuten
9.	Alcianblau	35 Minuten
10.	Wasserbad	3 Minuten
11.	<b>Kernechtrot</b>	<b>2 Minuten</b>
12.	Wasserbad	1 Minute 30 Sekunden
13.	Ottix Shaper	1 Minute 30 Sekunden
14.	Ottix Shaper	1 Minute
15.	Ottis Plus	1 Minute
16.	Ofen trocknen	5 Minuten
17.	Eindecken mit Diamount	

**Alcianblau Färbung Version 4**

1.	<b>Ottix Plus</b>	<b>5 Minuten</b>
2.	Ottix Plus	3 Minuten
3.	Alkohol absolut.	1 Minute
4.	Alkohol absolut	1 Minute
5.	Ottix Shaper	1 Minute
6.	Ottix Shaper	1 Minute
7.	Aqua demin.	1 Minute
8.	Wasserbad	3 Minuten
9.	Alcianblau	35 Minuten
10.	Wasserbad	3 Minuten
11.	<b>Kernechtrot</b>	<b>3 Minuten</b>
12.	Wasserbad	1 Minute 30 Sekunden
13.	Ottix Shaper	1 Minute 30 Sekunden
14.	Ottix Shaper	1 Minute
15.	Ottis Plus	1 Minute
16.	Ofen trocknen	5 Minuten
17.	Eindecken mit Diamount	

**PAS-Färbung**

	<b>Ottix Plus</b>	<b>5 Minuten</b>
	Ottix Plus	3 Minuten
	Alkohol absolut	1 Minute
	Alkohol absolut	1 Minute
	Ottix Shaper	1 Minute
	Ottix Shaper	1 Minute
	Aqua demin	1 Minute
	Perjodsäure 0.5%	10 Minuten
	Aqua demin	1 Minute
	Schiff's Reagenz	4 Minuten
	Schiff's Reagenz	4 Minuten
	Natriumbisulfit 0.52%	4 Minuten
	Natriumbisulfit 0.52%	3 Minuten
	Wasserbad	8 Minuten
	Hämalaun nach Mayer	2 Minuten
	Wasserbad	5 Minuten
	Wasserbad	1 Minute 30 Sekunde
	Ottix Shaper	1 Minute 30 Sekunden
	Ottix Shaper	1 Minute
	Ottix Plus	1 Minute
	Ofen trocknen	5 Minuten
	Eindecken mit Diamount	

**AB-PAS mit Version 4 und beibehaltenen PAS-Protokoll**

	<b>Ottix Plus</b>	<b>5 Minuten</b>
	Ottix Plus	3 Minuten
	Alkohol absolut	1 Minute
	Alkohol absolut	1 Minute
	Ottix Shaper	1 Minute
	Ottix Shaper	1 Minute
	Aqua demin	1 Minute
	Wasserbad	3 Minuten
	Alcianblau	35 Minuten
	Wasserbad	3 Minuten
	Perjodsäure 0.5%	10 Minuten
	Aqua demin	1 Minute
	Schiff's Reagenz	4 Minuten
	Schiff's Reagenz	4 Minuten
	Natriumbisulfit 0.52%	4 Minuten
	Natriumbisulfit 0.52%	3 Minuten
	Wasserbad	8 Minuten
	Hämalaun nach Mayer	2 Minuten
	Wasserbad	5 Minuten
	Wasserbad	1 Minute 30 Sekunde
	Ottix Shaper	1 Minute 30 Sekunden
	Ottix Shaper	1 Minute
	Ottix Plus	1 Minute
	Ofen trocknen	5 Minuten
	Eindecken mit Diamount	

kempf und pfaltz		histologische diagnostik ag	
<b>FV – Alcianblau maschinell</b>	erstellt:	20.10.2015, QMA	
	geprüft:	03.07.2023, QM	
	freigegeben:	07.07.2023, LAB-L	
	Version:	005	
	Dokument-Nr.:	21.F.01	

Dieses Dokument ist geistiges Eigentum von kempf und pfaltz und darf ohne Einwilligung der Institutsleitung weder kopiert noch anderweitig vervielfältigt werden.

### Alcianblau (AB) maschinell

zum Nachweis von sauren Mukosesubstanzen

#### Vorbereitung

Schnittdicke:	5µm
Kontrollblock	Nein
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin (wird maschinell gemacht)

#### Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Ottix +	5 min	
2.	Ottix +	3 min	
3.	Alkohol abs.	1 min	
4.	Alkohol abs.	1 min	
5.	Ottix Shaper	1 min	
6.	Ottix Shaper	1 min	
7.	Aqua demin.	1 min	
8.	Essigsäure 3%	3 min	
9.	Alcianblau	35 min	
10.	Wasserbad	3 min	
11.	Kernechtrot	4 min	
12.	Wasserbad	3 min	
13.	Ottix Shaper	1 min 30 sek	
14.	Ottix Shaper	1 min 30 sek	
15.	Ottix +	1 min	
16.	Ofen trocknen	5 min	
17.	Eindecken mit Diamount		

**Resultat**

Saure Mucopolysaccharide: blau  
Kerne: rot

**Lösungen / Reagenzien****Herstellung****Lagerbedingungen**

Alcianblau 1% in Essigsäure 3%

gebrauchsfertig

Raumtemperatur

Kernechrot nach Romeis 0.1%

gebrauchsfertig

Raumtemperatur

Essigsäure 3%

30ml Essigsäure99%

Raumtemperatur

970ml Aqua demin

kempf und pfaltz	histologische diagnostik ag
<b>FV – Färbung Periodic-acid-Schiff-Reaktion (PAS) maschinell</b>	erstellt: 25.01.2012, ncl
	geprüft: 03.07.2023, api
	freigegeben: 07.07.2023, LAB-L
	Version: 005
	Dokument-Nr.: 21.F.17

Dieses Dokument ist geistiges Eigentum von kempf und pfaltz und darf ohne Einwilligung der Institutsleitung weder kopiert noch anderweitig vervielfältigt werden.

### Periodic-acid-Schiff-Reaktion (PAS) maschinell

zum Nachweis von Pilzen, Basalmembran, neutrale Mucopolysaccharid, Glykogen,  
neutrales Glykolipid und Glykoprotein

#### Vorbereitung

Schnittdicke/OT:	2-3µm/Blau Normal
Kontrollblock	Nein
Schnitte entparaffinieren bis:	(wird maschinell gemacht)

#### Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Ottix +	5 min	
2.	Ottix +	3 min	
3.	Alkohol abs.	1 min	
4.	Alkohol abs.	1 min	
5.	Ottix Shaper	1 min	
6.	Ottix Shaper	1 min	
7.	Aqua demin	1 min	
8.	Perjodsäure 0.5%	10 min	
9.	Aqua demin	1 min	
10.	Schiff's Reagenz	4 min	
11.	Schiff's Reagenz	5 min	
12.	Natriumbisulfit 0.52%	4 min	
13.	Natriumbisulfit 0.52%	3 min	
14.	H <sub>2</sub> O	8 min	
15.	Hämalaun	2 min	
16.	H <sub>2</sub> O	5 min	
17.	Ottix Shaper	1 min 30 sek	
18.	Ottix Shaper	1 min 30 sek	
19.	Ottix +	1 min	
20.	Ofen trocknen	5 min	
21.	Eindecken		

**Resultat**

Kerne: blau  
PAS-positive Substanzen: purpur  
(Pilze, Basalmembran, neutrale Mucopolysaccharide, Glykogen, neutrale Glykolipide und Glykoproteine)

<b><u>Lösungen / Reagenzien</u></b>	<b><u>Herstellung</u></b>	<b><u>Lagerbedingungen</u></b>
Perjodsäure 0.5%	gebrauchsfertig	Raumtemperatur
Schiff's Reagenz	gebrauchsfertig	Kühlschrank
Natriumbisulfit 0.52%	gebrauchsfertig	Raumtemperatur
Hämalaun nach Mayer verstärkt	vor dem Gebrauch filtrieren+ 4Tropfen Essigsäure pro Färbeküvette	Raumtemperatur

kempf und pfaltz		histologische diagnostik ag	
<b>FV – Alcianblau-PAS maschinell</b>	erstellt:	25.01.2012, ncl	
	geprüft:	03.07.2023, api	
	freigegeben:	07.07.2023, Lab-L	
	Version:	007	
	Dokument-Nr.:	21.F.02	

Dieses Dokument ist geistiges Eigentum von kempf und pfaltz und darf ohne Einwilligung der Institutsleitung weder kopiert noch anderweitig vervielfältigt werden.

### Alcianblau-PAS (AB-PAS)

zum Nachweis von Basalmembran, Polysaccharide, neutrale Mukopolysaccharide, Muko- und Glykoproteine,

Glykolipide, ungesättigte Fette und Phospholipide

### Vorbereitung

Schnittdicke:	2-3µm
Kontrollblock	Nein
Schnitte entparaffinieren bis:	Aqua demin (wird maschinell gemacht)

### Färbeprotokoll

Nr.	was	wie	Bemerkung, Hinweis
1.	Essigsäure 3%	3 min	
2.	Alcianblau	35 min	
3.	Essigsäure 3%	spülen	
4.	Wasserbad	1 min	
5.	Perjodsäure 0.5%	10 min	
6.	Wasserbad	1 min	
7.	Schiffsch's Reagenz	2x 10 min	
8.	Natriumbisulfit 0.52 %	2x 3 min	
9.	Wasserbad	1 min	
10.	Hämalaun	1 min	
11.	H <sub>2</sub> O fließend	5 min	
12.	Ottix Shaper	1 min 30 sek	
13.	Ottix Shaper	1 min 30 sek	
14.	Ottix +	1 min	
15.	Ofen trocknen	5 min	
16.	Eindecken		

**Resultat**

PAS positive Substanzen :	purpur
Saure Mucopolysaccharide:	blau
Kerne :	blau

**Lösungen / Reagenzien****Herstellung****Lagerbedingungen**

Perjodsäure 0.5%	gebrauchsfertig	Raumtemperatur
Schiff's Reagenz	gebrauchsfertig	Kühlschrank
Natriumbisulfit 0.52%	gebrauchsfertig	Raumtemperatur
Hämalaun nach Mayer	gebrauchsfertig	Raumtemperatur
Alcianblau 1% in Essigsäure 3%	gebrauchsfertig	Raumtemperatur
Essigsäure 3%	30ml Essigsäure99%	Raumtemperatur
	970ml Aqua demin	

10.6 Auswertungsblätter

Auswertung  
Schnittdicke

Objekträger On Slide (2x50T)	Schnittdicke	Granuloma anulare Patient	Auswertung	Lupus erythematoses Patient	Auswertung	Bemerkung
1	Oben: 3um Unten: 5um	Oben: B 24.113205 Unten: B 24.113205	+ -	Oben: B 24.18388 4,1 Unten: B 24.18388	+ -	} Summ gewäss whe besser, deutlicher Abgrenzbar AP 3.25
2	Oben: 3um Unten: 5um	Oben: B 24.121823 Unten: B 24.121823	+ -	Oben: B 24.18389 2,1 Unten: B 24.18389	+ -	
3	Oben: 3um Unten: 5um	Oben: B 24.136244 Unten: B 24.136244	+ -	Oben: B 24.28259 5,1 Unten: B 24.28259	+ -	
4	Oben: 3um Unten: 5um	Oben: B 24.136399 Unten: B 24.136399	+ -	Oben: B 24.91021 4,1 Unten: B 24.91021	+ -	
5	Oben: 3um Unten: 5um	Oben: B 24.136599 Unten: B 24.136599	- -	Oben: B 24.126261 5,1 Unten: B 24.126261	+ -	

Auswertung Verschiedene AB-Lösungen

Objekträger (3x10 OT)	Patienten Oben: GA Unten: LE	Jetziger Lösung: Lösung 1 (L1)	Morphohisto: Lösung 2 (L2)	Diapathie Mowry: Lösung 3 (L3)	Bemerkung
1	O: B 24.113205 U: B 24.18388	Schwierig in Adenokarzinom mit Hämatoxylin (HG)	Spezifischer aber regenerativ schwach (V.a. GA)	Spezifischer aber schwach	
2	O: B 24.121823 U: B 24.18389				
3	O: B 24.136244 U: B 24.28259				
4	O: B 24.136399 U: B 24.91021		Spezifischer aber schwach		
5	O: B 24.136599 U: B 24.126261				
6	O: B 24.136924 U: B 24.132922				
7	O: B 24.138241 U: B 24.139207				
8	O: B 24.141353 U: B 24.142555				
9	O: B 24.142784 U: B 24.144351				
10	O: B 25.8154 U: B 25.9250	kurzweiliger HG	spezifisch, gute Färbung		

Zusammenfassung:  
 L1: Nuclea gut ausgefärbt, aber viel Hintergrund → schwierig in Adenokarzinom  
 L2: Nuclea ausgefärbt, aber wenig Hintergrund, gute Färbung, aber in schwach  
 L3: " " aber zu schwach, oft HG  
 ↳ Stäbchen  
 Nuclea-Färbung

4/13/25  
WDE/KMP

Auswertung Morphhisto AB-Lösungen Version 2

Objektträger (1x10 OT)	Patienten Oben: GA Unten: LE	Morphhisto: Lösung 2 (L2) Ohne Essigsäure vor AB-LE und Pflanzendextrin vor + nach AB-LE	Bemerkung
1	O: B 24.113205 U: B 24.18388	zu schwach + Kernreaktion	
2	O: B 24.121823 U: B 24.18389	zu schwach + Kernreaktion	
3	O: B 24.136244 U: B 24.28259	+	
4	O: B 24.136399 U: B 24.91021	zu schwach + Kernreaktion	
5	O: B 24.136599 U: B 24.126261		
6	O: B 24.136924 U: B 24.132922		
7	O: B 24.138241 U: B 24.139207		
8	O: B 24.141353 U: B 24.142555		
9	O: B 24.142784 U: B 24.144351		
10	O: B 25.8154 U: B 25.9250		

→ insgesamt 1. Lauf bessere Aufklärung d. Nuclei

Auswertung Morphisto AB-Lösungen Version 3

Objektträger (1x10 OT)	Patienten Oben: GA Unten: LE	Morphisto: Lösung 2 (L2) Kurzes Kennedhrat 2i	Bemerkung
1	O: B 24.113205 U: B 24.18388	++ <i>kurze signif. Verkürzung</i>	
2	O: B 24.121823 U: B 24.18389	++ <i>i.o.</i>	
3	O: B 24.136244 U: B 24.28259	++ <i>Keine Grundverengung</i>	
4	O: B 24.136399 U: B 24.91021	++ <i>"</i>	
5	O: B 24.136599 U: B 24.126261	++ <i>"</i>	
6	O: B 24.136924 U: B 24.132922	++ <i>"</i>	
7	O: B 24.138241 U: B 24.139207	++ <i>"</i>	
8	O: B 24.141363 U: B 24.142555	++ <i>"</i>	
9	O: B 24.142784 U: B 24.144351	++ <i>"</i>	
10	O: B 25.8154 U: B 25.9250	++ <i>"</i>	

→ <sup>alt</sup> länger Kennedhrat verwenden

Auswertung Morphisto AB-Lösungen Version 4

Objekträger (1x10 OT)	Patienten Oben: GA Unten: LE	Morphisto: Lösung 2 (L2) <i>3' Kernmethode</i>	Bemerkung
1	O: B 24. 113205 U: B 24. 18388	++	
2	O: B 24. 121823 U: B 24. 18389	++	
3	O: B 24. 136244 U: B 24. 28259	++ <i>relativ schnelle Färbung</i>	
4	O: B 24. 136399 U: B 24. 91021	++	
5	O: B 24. 136599 U: B 24. 126261	++	
6	O: B 24. 136924 U: B 24. 132922	++	
7	O: B 24. 138241 U: B 24. 139207	++	
8	O: B 24. 141353 U: B 24. 142555	++	
9	O: B 24. 142784 U: B 24. 144351	++	
10	O: B 25. 8154 U: B 25. 9250	++ <i>relativ schnelle Färbung</i>	

*aber Kern als Lauf 3*

V4 in Routine übernehmen

PAS-Färbung (+ AB-PAS - Vergleich)

Objektträger (1x10 OT)	Patient	Auswertung	Bemerkung
1	TR O: B 24.1101 U: B 24.1101	Plz ++	Sehr schöne deutliche Färbung
2	TR O: B 24.48016 U: B 24.48016	Plz ++	-- u --
3	TR O: B 24.49591 U: B 24.49591	Plz ++	-- u --
4	TR O: B 24.108846 U: B 24.108846	Plz ++	-- u --
5	TR O: B 25.2605 U: B 25.2605	Plz ++	-- u --
6	PF O: B 24.41683 U: B 24.41683	Plz ++	-- u --
7	PF O: B 24.41984 U: B 24.41984	Plz ++	-- u --

8	PF O: B 24.59836 U: B 24.59836	<u>Pfz</u> : ++	Schv deckliche schöne Färbung
9	PF O: B 24.98232 U: B 24.98232	<u>Pfz</u> : ++	- " -
10	TC O: B 25.5870 U: B 25.5870	<u>Pfz</u> : ++	- " -

Auswertung AB-PAS Färbung

Objektträger On Slide (1x10 OT)	Patient Oben: GA Mitte: LE Unten: Pilz: TR, PF oder TC	AB Lösung 1 mit Version 4 + PAS	Bemerkung
1	O: B 24.113205 M: B 24.18388 U: B 24.1101 (TR)	<del>GA: kein Ruern</del> <del>LE: Ruern +</del> <del>Pilz: +</del> D: Ruern (+) R: Ruern + U: Pilz +	Wartezeit auf Ruern zu 1/2 Pap.
2	O: B 24.121823 M: B 24.18389 U: B 24.48016 (TR)	D: Ruern + R: Ruern ++ U: Pilz +	
3	O: B 24.136244 M: B 24.28259 U: B 24.49591 (TR)	D: Ruern + R: Ruern ++ U: Pilz +	
4	O: B 24.136399 M: B 24.91021 U: B 24.108846 (TR)	D: Ruern (+) R: Ruern + U: Pilz ++	Wartezeit auf Ruern zu 1/2 Pap.
5	O: B 24.136599 M: B 24.126261 U: B 25.2605 (TR)	D: Ruern + R: Ruern (+) U: Pilz wieder weniger sichtbar / nicht mehr vorhanden	
6	O: B 24.136924 M: B 24.132922 U: B 24.41683 (PF)	O: Ruern + M: Ruern + U: Pilz ++	
7	O: B 24.138241 M: B 24.139207 U: B 24.41984 (PF)	D: Ruern + M: Ruern + U: Pilz +	

14/4/25

⇒ Ruern wird zuverlässiger  
PAS-Färbung als in Lösungsfärbung  
AB-PAS: kein Wechsel

