VI. Aus dem städtischen Krankenhause Gitschinerstrasse 104-105 in Berlin.

(Dirigirender Arzt: Prof. Dr. M. Litten.)

Ueber den Chemismus der Elastinfärbung und seine praktische Anwendung auf Sputumpräparate.¹⁾

Von Dr. Leonor Michaelis.

Da eine exakte Methode zum Nachweis der elastischen Fasern auch praktisch eine grosse Bedeutung haben musste, so machte ich es mir zur Aufgabe, den Chemismus der Elastinfärbung zu studiren. Die erste wirklich brauchbare Elastinfärbung war die von Unna-Taenzer angegebene mit Orcein. Ihr folgte als eine ebenbürtige Methode die Weigert'sche. Dieser Methode liegt ein Farbstoff zu Grunde, welchen man durch Kochen von Fuchsin, Resorcin und Eisenchlorid als einen in Alkohol gut löslichen Niederschlag erhält. Neuerdings hat Roetig (Archiv für mikroskopische Anatomie, 1900) die Färbung der elastischen Fasern mit einem von Spiegel dargestellten Farbstoff, Kresofuchsin, beschrieben.

Da die Constitution des Orceins nicht genau bekannt ist und das Kresofuchsin mir noch nicht zur Verfügung stand, so suchte ich das Wesen der Weigert'schen Methode zu ergründen, indem ich die Rolle eines jeden der drei Componenten: Fuchsin, Resorcin, Eisenchlorid, durch andere, ähnliche Körper vertauschte.

Zunächst stellte ich fest, dass das Eisenchlorid nur die Rolle eines Oxydationsmittels spielt, da es mir gelang, dasselbe durch einen Körper zu ersetzen, welcher mit dem Eisenchlorid nichts weiter gemein hat, als die Fähigkeit, zu oxydiren: Ammoniumpersulfat. Der aus Fuchsin, Resorcin und Ammoniumpersulfat durch Kochen hergestellte Farbstoff färbt ebenfalls Elastin.

Ferner versuchte ich, das Resorcin, $C_6H_4(OH)_2$ (1:3) durch andere Phenole zu ersetzen. Schon Weigert hatte angegeben, dass man es durch Phenol ersetzen kann. Ich erhielt mit anderen Phenolen (Orcin, Pyrogallol, Orthokresol) ebenfalls positive Resultate. Mit Parakresol erhält man zwar auch einen Niederschlag, dieser färbt aber kein Elastin. Dagegen sind Amine nicht brauchbar.

Am interessantesten ist die Substitution des Fuchsins durch andere Körper. Ich versuchte es zunächst durch andere basische Farbstoffe zu ersetzen und erhielt ein positives Resultat mit Thionin, Toluidinblau (weniger gut), Kresylviolett RR (Mühlheim), gewöhnlichem Methylviolett und reinem Hexamethylparaxosanilin; Safranin und besonders schön Dimethylsafranin („Methylenviolett“, Farbwerk Mühlheim). Dagegen giebt Methylenblau zwar einen Niederschlag, der aber nicht elastische Fasern färbt.

Aber nicht nur basische Farbstoffe, sondern auch andere ungefärbte aromatische Basen gaben ein positives Resultat. So erhielt ich aus salzsaurem Anilin, Dimethylanilin und Paratoluidin sehr schöne Elastinfarbstoffe.

Die Anwendung dieser sämtlichen Farbstoffe, deren ich bisher 18 verschiedene dargestellt habe (die sich beliebig vermehren lassen), muss aus HCl-alkoholischer Lösung geschehen.

Die wässrige Lösung dieser Farbstoffe hat meist eine etwas

andere Farbe, als die alkoholische, und die elastischen Fasern färben sich meist mit noch anderer Nuance.

Folgende Tabelle zeigt die Nuance an, welche die elastischen Fasern annehmen.

Fuchsin + Resorcin	blauschwarz,
Thionin + Resorcin	graugrün,
Kresylviolett RR + Resorcin . .	grau,
Safranin + Resorcin	roth,
Dimethylsafranin + Resorcin . .	rothviolett,
Methylviolett + Resorcin . . .	grün,
Fuchsin + Orcin	rothviolett,
Fuchsin + Pyrogallol	dunkelroth.
Paratoluidin + Resorcin	braunschwarz,
Anilin + Resorcin	grau,
Dimethylanilin + Resorcin . . .	blauschwarz.

Die chemische Constitution dieser Farbstoffe ist noch nicht bekannt. Ihre Untersuchung möchte ich mir noch vorbehalten.

Was nun die Anwendung dieser Farbstoffe auf das Sputum betrifft, so möchte ich diese beschreiben unter Benutzung des ersten, von Weigert¹⁾ angegebenen Farbstoffes dieser Klasse.

Man breite verdächtige Stellen des Sputums in dicker Schicht, unter Verwendung reichlichen Materials, durch wiederholtes Abziehen gleichmässig zwischen zwei Objektträgern aus und lasse an der Luft trocknen. Dann stelle man die Objektträger in ein cylindrisches Gefäss, welches mit der Weigert'schen Lösung gefüllt, vorrätig gehalten wird. (Sie kann immer wieder benutzt werden.) Der Alkohol dieser Farblösung wirkt gleichzeitig als Fixationsmittel. Jede andere Fixation ist eher schädlich als nützlich. Besonders ist die Fixation in Formalin ganz ungeeignet, weil man danach verschwommene Bilder erhält und sich nach dieser Fixation einige pflanzliche Gebilde etwas mitfärben, was bei Alkoholfixation nie der Fall ist. Nach einer halben Stunde nehme man den Objektträger aus der Farblösung, spüle mit Wasser kurz ab und behandle ihn solange mit 3%igem Salzsäurealkohol, bis er fast farblos ist. Dann lasse man ihn wieder trocknen und breite einen grossen Tropfen Cedernöl in dünner Schicht (am besten mit dem Finger) auf dem ganzen Objektträger aus. Die Schicht Cedernöl ersetzt das Deckglas. Man suche erst mit schwacher Vergrösserung. Die elastischen Fasern sind dunkelviolet. Alle anderen Gebilde, welche ohne Färbung zur Verwechselung mit elastischen Fasern Anlass geben können, sind ungefärbt: Wolle, Baumwolle, Leinwand, pflanzliche Fasern aus genossenem Obst oder Gemüse.

Natürlich muss man darauf achten, dass das zur Untersuchung gelangende Sputum nicht zu einer Zeit entleert wird, wo sich aus der Nahrung elastische Fasern in der Mundhöhle befinden könnten.

Auf diese Weise gelingt es, elastische Fasern selbst im Frühstadium der Tuberkulose sehr häufig nachzuweisen, sodass die Methode als diagnostisches Hilfsmittel bei der Initialtuberkulose herangezogen zu werden verdient. Ich brauche kaum noch zu erwähnen, dass bei Bronchitis keine Bestandtheile im Sputum vorhanden sind, welche dieselbe Farbreaktion geben.

¹⁾ Mitgetheilt im Verein für innere Medizin in Berlin am 4. März 1901.