II. Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Zur Diagnosefärbung der Malaria Parasiten.

Von Dr. **Reinhold Ruge**, Marine-Oberstabsarzt I. Cl.

Ehe ich die Färbung selbst bespreche, will ich einige Bemerkungen über die Art und Weise der Anfertigung von Blutpräparaten voranschicken. Denn der Untersucher spart durch gut ausgestrichene Blutpräparate viel Zeit und Mühe. Schlecht ausgestrichene Blutpräparate sind aber unter Umständen überhaupt unbrauchbar. Denn die Kernfragmente zerquetschter weisser Blutkörperchen können Malaria Parasiten vortäuschen, oder die von ihren rothen Blutkörperchen losgerissenen Parasiten können Formen annehmen, in denen sie nicht mehr mit Sicherheit zu erkennen sind. Ausserdem färben sich die verschieden dicken Stellen eines solchen Präparates theils zu stark, theils zu schwach.

Gewöhnlich wird das Blut auf Deckgläschen ausgestrichen, und diese Methode ist ja an sich ganz gut, vorausgesetzt, dass die Deckgläschen fettfrei waren. Waren sie das nicht, so häufen sich die rothen Blutscheiben beim Trocknen leicht zusammen. Beim Fettfreimachen der Deckgläschen in der Flamme kommt es aber oft vor, dass sie springen oder sich an den Ecken umbiegen. Ich ziehe es daher vor, das Blut auf Objektträgern auszustreichen. Denn Objektträger kann man ruhig in der Flamme absengen, ohne befürchten zu müssen, dass sie Schaden nehmen. Da es nun ferner darauf ankommt, das Blut so auszustreichen, dass seine zelligen Elemente keinen Druck erleiden, so benutze ich das von Jancsó und Rosenberger¹⁾ angegebene Verfahren. Dies besteht darin, dass man mit der hohen Kante eines gut gereinigten Deckgläschens derart an dem der Fingerkuppe aufsitzenden Blut tropfen entlang streicht, dass die untere Kante vom Blut benetzt wird und sich zugleich an der hinteren (unteren) Fläche des Deckgläschens ein 1—2 mm breiter Blutstreif bildet. Das Deckgläschen wird nun mit der unteren blutbeschickten Kante in einem Winkel von 45° auf den Objektträger aufgesetzt, so dass die hintere (untere) Fläche nach rechts sieht. Das Blut, das der hinteren (unteren) Fläche anhaftet, kommt auf diese Art in Verbindung mit dem Objektträger, das Deckgläschen wird nach links (in der Pfeilrichtung vergl. Figur) auf dem Objektträger entlang geschoben, und das Blut so ohne jeden Druck ausgebreitet.

Fig. 74.

a) Deckgläschen von der hohen Kante gesehen, b) Objektträger, c) (wagerecht schraffirt) Blutschicht auf der hinteren (unteren) Fläche des Deckgläschens, c') die bereits ausgebreitete Blutschicht (senkrecht schraffirt), d) der Punkt, in dem die punktirte Linie den Objektträger (b) trifft, zeigt die Stelle an, auf der das Deckgläschen zuerst aufgesetzt wurde.

Die so angefertigten Präparate fixirt man am besten in dem käuflichen absoluten Alkohol. Man thut aber gut, sie nicht länger

¹⁾ Archiv für klinische Medicin Bd. XXI, S. 449.

als eine halbe Stunde darin liegen zu lassen. Denn Präparate, die stundenlang in Alkohol gelegen haben, verändern ihre Färbbarkeit.

Ich komme nun zur Färbung selbst, und zwar will ich nur diejenige Färbungsart besprechen, die man zur Stellung der Diagnose braucht. Das ist aber die allbekannte Methylenblaufärbung. Manson hat eine stark alkalische¹⁾ Methylenblaulösung angegeben (2% Methylenblau mit 5% Borax), um die Blutpräparate, die sich in nicht alkalischen Methylenblaulösungen oft überhaupt nicht färben, mit Sicherheit färben zu können. Diese Lösung überfärbt aber derartig — selbst wenn sie nur eben aufgegossen und sofort wieder abgespült wird —, dass eine Differenzierung absolut nöthig wird. Differenzirt man nicht und lässt ausserdem noch die Lösung, wie es vor kurzem in einem Aufsatz im Journal of Tropical Medicine empfohlen wurde, zwei Minuten lang auf das Präparat einwirken, so erscheint alles Blau in Blau, die Ringformen der Parasiten verschwinden vollständig, die grossen Tertianformen sind kaum noch zu erkennen, und man kann sich nicht wundern, dass der betreffende Autor im Zweifel darüber war, ob er Sporulationsformen oder Kerne von weissen Blutkörperchen vor sich hatte.²⁾

Präparate also, die nach Manson gefärbt sind, müssen stets differenziert werden. Anfangs benutzte ich mit Essigsäure angesäuertes Wasser dazu. Die Resultate waren nicht besonders gut. Die Parasiten hoben sich zwar etwas besser ab; es behielten aber alle zelligen Elemente des Präparates (gleichgiltig ob Parasiten oder nicht) eine ziemlich gleichmässige blaue Färbung. Sehr viel bessere Bilder erzielte ich bei der Differenzierung mit dem von Kossel empfohlenen Methylal, und zwar sowohl bei alten als bei frischen Präparaten. Man spült dabei die Präparate so lange in einer 2%igen³⁾ Methylallösung, bis die dünnsten Stellen des Präparates fast farblos werden. Dann erscheinen die rothen Blutscheiben gelbgrün, alle ringförmigen und halberwachsenen Parasiten dunkelblau und die grossen erwachsenen Formen der Tertian- und Quartanparasiten graublau.

Diese Färbemethode ist gut und durchaus zu empfehlen. Da es mir aber darauf ankam, die Diagnosefärbung für Bordzwecke möglichst einfach zu gestalten, weil an Bord wenig Platz ist und alle Reagentien aufs äusserste beschränkt werden müssen, so versuchte ich andere Methylenblaulösungen und fand schliesslich, dass die nachstehend angegebenen ebenso gute Bilder wie die zuletzt genannte Methode lieferten, ohne dass eine Differenzierung nöthig geworden wäre.

Zu 100 ccm Wasser setzt man 0,2 Soda und erhitzt. In die kochende Flüssigkeit schüttet man 0,3 Methylenblau med. pur. Höchst, lässt erkalten, filtrirt 48 Stunden später, und die Lösung ist zum Gebrauch fertig. Sie sieht in dünnen Schichten violett aus. Man giesst etwas von der Mischung auf das Präparat und spült sofort mit Wasser wieder ab. Das Präparat erscheint dann makroskopisch mattviolett.

Die rothen Blutkörperchen färben sich bei dieser Methode gelbgrün bis blaugrün, die Ringformen der Malaria Parasiten schwarzblau, die grossen Parasitenformen graublau bis dunkelblau, je nachdem man die Farblösung etwas kürzer oder länger einwirken lässt, die Kerne der weissen Blutkörperchen intensiv blau. Die basophilen Körnchen (blaugefärbt) in den rothen Blutscheiben treten ebenso deutlich hervor wie die metachromatisch (grau) gefärbten rothen Blutkörperchen.⁴⁾

Die eben angegebene Methode giebt aber nur gute Resultate bei frischen Blutpräparaten und solchen, die nicht älter als vier Wochen sind. Will man eine Farblösung haben, mit der man frische und alte Präparate färben kann, so muss man sich eine 1%ige Methylenblaulösung + 0,2% Soda in der oben angegebenen Weise herstellen. Wer eine starke Färbung der rothen Blutscheiben beim Untersuchen vorzieht, kann die 1%ige Methylenblaulösung selbst bei frischen Präparaten unverdünnt anwenden. Eine zarte gelbgrüne Färbung der rothen Blutkörperchen bei intensivem

Schwarzblau der Ringformen erzielt man dadurch, dass man der 1%igen Lösung ein gleiches Volumen Wasser zusetzt. Bei Präparaten aber, die zwar hier in Deutschland angefertigt waren, aber 2, resp. 4 Monate alt waren, musste ich die 1%ige Methylenblaulösung auf das Achtfache ihres ursprünglichen Volumens verdünnen, um gute Resultate ohne Differenzierung zu erzielen.¹⁾ Man sieht es solchen Präparaten schon mit blossen Auge an, dass sie sich verändert haben. Das Glas erscheint an den freien Stellen matt und sieht aus wie mit einem grauen Schleier überzogen.

Auf der anderen Seite musste ich bei Präparaten, die aus Kamerun, bezw. Zanzibar stammten und ein Jahr alt waren, die 1%ige Methylenblaulösung in der oben angegebenen Weise unverdünnt anwenden, um die Malaria Parasiten gut darstellen zu können. Alte Blutpräparate verändern sich also in einer unberechenbaren Art und Weise.

Bei der Färbung dieser alten Präparate legt sich für gewöhnlich — bei frischen Präparaten ist das selten — ein blauer Schleier zwischen die rothen Blutscheiben, sodass diese als leuchtende gelbe Scheiben auf blauem Grunde erscheinen. In diesen hellgelben Scheiben liegen dann deutlich abgehoben die blauschwarzen, resp. graublauen Parasiten. Derartige Präparate sind nicht elegant, aber leicht zu untersuchen, denn die Parasiten fallen sofort ins Auge.

Die 1%ige Methylenblaulösung hält sich in unseren Breiten zwar monatelang, muss aber ungefähr alle 14 Tage einmal filtrirt werden. Sie verändert sich insofern, als ihre Färbekraft mit der Zeit etwas zunimmt, und man thut daher gut, diejenige Menge einer vier Wochen alten Lösung, die man zum Färben benutzen will, vor dem Gebrauch auf das Doppelte ihres ursprünglichen Volumens mit Wasser zu verdünnen. Wie sich die 0,3%igen und die 1%igen Methylenblaulösungen in den Tropen verhalten, muss durch Versuche noch festgestellt werden.

¹⁾ R. Koch hat schon vor 20 Jahren darauf hingewiesen, dass Alkalizusatz die Färbekraft von Methylenblaulösungen wesentlich erhöht.

²⁾ S. Preston Maxwell, A contribution to the diagnosis and treatment of aestivo-autumnal malaria. The Journ. of Trop. Med. 1900, p. 180.

³⁾ Das käufliche Methylal ist 100%.

⁴⁾ Basophile Körnung und metachromatisch gefärbte Blutscheiben treten am deutlichsten hervor, wenn man die 1%ige Methylenblaulösung auf das Acht- bis Zehnfache verdünnt und diese verdünnte Lösung so lange auf dem Präparat erwärmt, bis eine Spur Dampfentwicklung eintritt.