Correspondenzen und Erwiderungen.

Ans der II. medizinischen Universitätsklinik in Berlin.
(Direktor: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gerhardt.)

Ueber den Zusatz von Essigsäure zur Eosin-Methylenblaulösung bei Färbung von Blutpräparaten.

Von Dr. Ernst Becker, Assistenten der Klinik.

In No. 4 dieser Wochenschrift veröffentlicht v. Willebrand in Helsingfors eine Methode der Universalfärbung von Bluttrockenpräparaten mit Eosin und Methylenblau, bei der das in der Farblösung nur in sehr geringer Concentration vorhandene Eosin durch den Zusatz von 1% Essigsäure zu intensiverer Färbekraft gebracht wird. Ich bemerke hierzu, dass ich bereits seit ca. $\frac{3}{4}$ Jahren ebenfalls die Essigsäure als Zusatz zu Farblösungen von Säurefuchsin-Methylenblau und Eosin-Methylenblau benutze. Ich bin durch folgende Erwägungen zu dem Essigsäurezusatz gelangt.

Die idealste Färbeflüssigkeit für das Blut wäre zweifellos eine solche, welche aus einem sauren und einem gleich starken alkalischen Farbstoff besteht und welche zugleich den aus beiden Farbstoffen entstehenden neutralen Farbstoff in Lösung erhielte. Dann könnten die einzelnen Elemente des Blutes sich nach ihrer chemischen Affinität mit dem sauren, dem neutralen oder dem basischen Farbstoff verbinden. Nun ist aber der beim Mischen eines sauren und eines basischen Farbstoffs, z. B. beim Mischen von Eosin und Methylenblau, Säurefuchsin und Methylenblau etc. entstehende Niederschlag in Wasser äusserst schwer löslich. Dagegen sind, wie Ehrlich nachgewiesen hat, bestimmte Reihen der neutralen Farbstoffe in einem Ueberschuss der sauren Farbstoffe leicht löslich, und durch diese Entdeckung wurde die Herstellung beliebig concentrirter und leicht haltbarer Lösungen ermöglicht. Eine solche Lösung ist das Triacid, bei dem zwei saure Farbstoffe im Ueberschuss vorhanden sind. Diese Flüssigkeit hat aber, so vorzüglich sie für die Darstellung der neutrophilen Granulationen ist, den Nachtheil, dass der basische Farbstoff, das Methylgrün, nur in verhältnissmässig geringer Stärke in ihm enthalten ist, sodass die Kerne nur eine ziemlich schwache Färbung annehmen und die basophilen Granulationen der Mastzellen sowie die neuerdings beschriebenen basophilen Körnelungen der Erythrocyten überhaupt nicht gefärbt werden. Die Mastzellen treten zwar „durch negative Färbung als eigenthümlich helle, fast weisse Zellen mit blassgrün gefärbter Kernsubstanz deutlich hervor“, man kann jedoch mit Triacid das Verhältniss der Mastzellen zu den anderen Leukocyten nicht mit Sicherheit feststellen. Denn wenn man Controllzählungen an Präparaten macht, die mit Dahlia gefärbt sind, so erhält man, wenigstens nach der mündlichen Mittheilung zweier Collegen und auch nach meinen eigenen Erfahrungen vollständig verschiedene Resultate.

Auch die bisher beschriebenen Universalfärbungsmethoden mit Eosin-Methylenblau haben gewisse Nachtheile. Die Chenzinsky'sche

Mischung enthält so gut wie gar keinen neutralen Farbstoff und lässt daher die neutrophilen Granulationen fast ganz ungefärbt. Die Färbungen von Romanowski und deren Modifikationen von Ziemann und neuerdings Michaelis basieren darauf, dass die Färbung in der jedesmal frisch hergestellten Mischung in einem Zeitpunkt erfolgt, möglichst kurz bevor sich der Niederschlag bildet, resp. in dem Moment, wo sich der Niederschlag bildet. Der Vorgang bei diesen Färbungen ist nicht ganz klar. Es ist meines Erachtens nicht möglich, dass die neutrophilen Granulationen sich mit den ganz minimalen Quantitäten neutralen Farbstoffs genügend färben können, der vor der Bildung des Niederschlags in der Färbeflüssigkeit gelöst ist. Ich halte es auch für durchaus unwahrscheinlich, dass die neutrophilen Granulationen aus dem Gemisch des sauren und basischen Farbstoffs selbständig den neutralen Farbstoff herstellen. Ich bin vielmehr der Ansicht, dass sich die neutrophilen Granulationen bei diesen Färbemethoden mit dem Niederschlag in statu nascenti imbibieren. Das ist wohl auch der Grund, dass bei diesen Methoden trotz aller angewandten Kautelen, wie Lagerung des Deckgläschens in ein Blockschälchen mit konkavem Boden mit der Präparatenseite nach unten, Farbniederschläge kaum zu vermeiden sind.

Bei diesen Färbemethoden wird also der Niederschlag nicht in Lösung zu halten gesucht, sondern es wird die Färbung eben vor oder gleichzeitig mit der Bildung des Niederschlags zu erzielen gesucht, oder es wird die Bildung des Niederschlags möglichst aufgehalten. Ziemann sagt sogar: „Unsere Aufgabe bleibt es nun, auf rein empirischem Wege eine Mischung zu finden, wo der dritte neutrale Farbkörper weder in dem Methylenblau, noch in der Eosinlösung der Mischung sich auflöst.“

Demgegenüber ist es meines Erachtens richtiger, nach einem Lösungsmittel des Niederschlags zu suchen, welches auch die Färbekraft der beiden ursprünglichen Farben nicht beeinträchtigt. Ich habe nun den Niederschlag dargestellt und gefunden, dass er in Säuren löslich ist. Von diesen schien mir die Essigsäure am geeignetsten zu sein, weil sie die Färbekraft des Methylenblau nicht wesentlich beeinträchtigt, andererseits soviel Niederschlag löst, dass eine genügende Färbung der neutrophilen Granula zu Stande kommt.

Ich habe mit dem Essigsäurezusatz oft recht schöne Präparate erzielt, es ist mir indessen bisher nicht gelungen, eine wirklich zuverlässige und einigermaßen haltbare Mischung ausfindig zu machen. Dies ist auch der Grund, weshalb ich, andauernd mit weiteren Versuchen beschäftigt, das Verfahren bisher nicht veröffentlicht habe. Ob die von v. Willebrand angegebene Mischung diese Forderungen erfüllt, weiss ich nicht, jedenfalls ist aber der Zusatz von Essigsäure zu der Eosin-Methylenblaulösung nach meinen Erfahrungen sehr vorteilhaft.