(Aus der stadtkölnischen Auguste Viktoria-Stiftung Volksheilstätte Rosbach-Sieg.
[Chefarzt Dr. Krause].)

Eine Modifikation der Ziehlschen Tuberkelbazillen- färbung.

Von

Dr. K. Kerssenboom,
Assistenzarzt.

(Eingegangen am 26. 7. 1921.)

Seit 2 Jahren wenden wir zur Untersuchung des Auswurfs systematisch nebeneinander das alte Ziehl-Neelsensche Verfahren und die modifizierte Spenglersche Pikrinsäurefärbung an. Wir haben gleich anderen dabei die Erfahrung gemacht, daß die Pikrinsäurefärbung der Ziehlschen Methode bezüglich der im Gesichtsfeld nachweisbaren Bazillen numerisch überlegen ist und infolgedessen in Sputen mit nur spärlichem Bazillengehalt oft noch ein positives Resultat aufweist, in denen nach der Ziehlschen Färbung keine Bazillen gefunden werden. Der Grund hierfür ist bekanntlich der, daß die Pikrinsäure ähnlich dem Antiformin gewisse lytische Fähigkeiten gegenüber den Zell- und Gewebsbestandteilen besitzt. Dadurch werden die Präparate natürlich erheblich durchsichtiger, die an und für sich schon infolge ihrer gelben Färbung durchscheinender sind als die mit der deckenderen Kontrastfarbe des Methylenblaus behandelten.

Ein zweifelloser Nachteil der Pikrinsäuremethode ist aber — besonders bei sehr feinen Ausstrichen mit ihrem zart gelben oft kaum sichtbaren Hintergrund — die nicht einfache Immersionseinstellung. Besonders stellt die Durchsicht sehr zahlreicher Präparate an das Auge des Untersuchers recht erhebliche Anforderungen, die sich bei gewissenhaftem Mikroskopieren bald in Ermüdung und Nachlassen der Leistungsfähigkeit äußern, weshalb die Untersuchung von Spengler-Präparaten auch einen größeren Zeitaufwand erfordert. Wir fanden außerdem bei zahlreichen Prüfungen, daß anscheinend das normale Auge für die blaue Kontrastfarbe empfänglicher ist als für die gelbe. Der zarte gelbe

Farbenton spricht nicht gleich angenehm und mit gleicher Schärfe jede Netzhaut an, was auf die Verschiedenheit der subjektiven Farbensinnempfindung zurückzuführen sein dürfte.

Wir bemühten uns nun zunächst, die Vorteile der größeren Durchsichtigkeit der nach Spengler gefärbten Präparate gegenüber den nach Ziehl behandelten durch starke Verdünnung der verwandten Methylenblaulösung bei feinstem Ausstrich zu erreichen. Als wir damit nicht zum Ziele kamen, versuchten wir, die erwähnten Vorteile der Pikrinfärbung mit der Methylenblaufärbung zu vereinigen. Dabei gingen wir von dem Gedanken aus, die lytischen Eigenschaften der Pikrinsäure zu einer vollkommeneren Aufhellung der Präparate zu verwenden und verfahren dabei folgendermaßen:

1. Färben 1—2 Minuten mit heißem (oder 24 Stunden mit kaltem) Karbolfuchsin.
2. Abspülen mit Wasser.
3. Entfärben mit 20%iger Salpetersäure.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Behandlung mit Pikrinsäure-Alkohol 1—2 Minuten.
6. Entfärben mit 70%igem Alkohol.
7. Abspülen mit Wasser.
8. Kontrastfärbung mit stark verdünnter Methylenblaulösung 1—2 Sekunden.
9. Abspülen mit Wasser $\frac{1}{4}$ Minute.

Den Pikrinsäure-Alkohol benutzten wir zunächst in der von Spengler ursprünglich angegebenen 0,5%igen Konzentration. Später nahmen wir, um eine weitgehendere Auflösung der zelligen Elemente zu erreichen, eine fünffach stärkere, also $2\frac{1}{2}$ %ige Lösung (Acid. picronitr. 5,0, Acid. citric. 10,0, Aq. dest. 85,0, Alkohol absol. 100,0). Ein Abblässen der gefärbten Tuberkelbazillen haben wir dabei nicht beobachtet. Zur Kontrastfärbung bedienten wir uns einer 0,005%igen statt einer 0,5%igen Methylenblaulösung, nahmen also eine 100fache Verdünnung der gebräuchlichen. Bezüglich der Entfärbung der aus dem Karbolfuchsin kommenden Präparate haben wir bei unseren Versuchen auch die von Konrich empfohlene 10%ige Natriumsulfidlösung angewandt, sind aber wieder zur Entfärbung mit mineralischen Säuren zurückgekehrt, da wir entscheidende Vorteile der Konrichschen Modifikation nicht feststellen konnten.

In mehr als 300 Präparaten haben wir nun die Spenglersche Methode mit unserem kombinierten Verfahren verglichen. Der numerische Vergleich zwischen beiden geschah nach Gaffky. In den mit Pikrinsäure vorbehandelten Methylenblaupräparaten trat die erstrebte stärkere Auflockerung oder Aufhellung zweifellos zutage. In allen Präparaten war die Einwirkung der Pikrinsäure an den undeutlichen oder verwaschenen Zellstrukturen erkennbar. Oft sind die Formelemente so verändert, daß man nur noch von Zellschatten sprechen kann, da regelrechte Konturen nicht mehr vorhanden sind. Es ist somit eine ganz erhebliche Aufhellung des Kontrasthintergrundes erreicht. Trotz der Blaufärbung ermöglicht diese Aufhellung ein Sichtbarwerden der Bazillen in verschiedenen Ebenen der Präparate in dem gleichen Gesichtsfelde ebenso wie bei der Spenglerschen Färbung. Auch hinsichtlich des Nachweises der sog. kleinen „Splitter“ bleibt unsere Methode nicht hinter der Spenglerschen zurück im Gegensatz zu den nicht mit Pikrinsäure vorbehandelten Methylenblaupräparaten. Daß der numerische Vergleich des Bazillennachweises mit den

nach Spengler gefärbten Präparaten übereinstimmt, ergibt sich nach vorstehender Schilderung von selbst. Was den roten Farbenton der Tuberkelbazillen anbetrifft, so haben wir bei beiden Methoden keine wesentlichen Unterschiede bemerkt. Auf dem zart-blauen Kontrasthintergrund heben sich die Tuberkelbazillen ebenso gut und deutlich ab wie von dem Gelb der Pikrinsäure.

Wir sehen in der von uns angegebenen Modifikation einen Vorteil gegenüber der ursprünglichen Ziehlschen Färbung darin, daß durch die Behandlung mit Pikrinsäure eine weitgehende Aufhellung der Ausstrichpräparate erzielt wird, so daß auch bei zellreichen Sputen der Bazillennachweis in gleicher Weise wie bei Spengler-Präparaten gelingt. Einen Vorteil gegenüber der letzteren Methode erblicken wir in der mühelosen Immersionseinstellung, der Schonung und verminderten Ermüdbarkeit des Auges des Untersuchers und der sich daraus ergebenden Zeitersparnis, ferner im Sichtbarbleiben aller übrigen mit Methylenblau färbbaren im Sputum vorkommenden Mikroorganismen.