

Aus der k. k. deutschen dermatologischen Universitätsklinik
von Hofrat Prof. F. J. Pick in Prag.

Bemerkungen zu den Methoden der Mikroorganismenfärbung von Waelsch und von Kraus.

Von

Dr. Richard Fischel (Bad Hall).

In einer vor kurzem ausgeführten Untersuchung¹⁾ habe ich die bei der Kromayerschen (1) Epithelfaserfärbung notwendige Differenzierung mit Anilinxylool mit Erfolg dadurch zu beschleunigen versucht, daß ich das Anilinxyloolgemisch im Paraffinschrank auf ca. 56° erwärmte. Es lag nun der Gedanke nahe, die im Prinzip ebenfalls auf der Weigertschen (2) Fibrinfärbung beruhende Waelsche Mikroorganismenfärbung (3) in gleicher Weise durch Erwärmung der Differenzierungsflüssigkeit, der 1% salzsauerem Anilins wesentlich abzukürzen.

Die in die Lehrbücher der mikroskopischen Technik übergegangenen Angaben, von denen ich nur die den Dermatologen zunächst interessierenden von Ehrmann und Fick (4) und Joseph und Loewenbach (5) erwähnen will, folgen genau den von Waelsch gegebenen Originalvorschriften. Nach einer persönlichen Mitteilung des Autors sind diese ausschließlich für Zelloidinschnitte von 15—20 cm Dicke gültig und so habe ich die Zeitdauer der Differenzierung zuerst an dünneren Paraffinschnitten zu bestimmen versucht.

Als Objekt stand mir ein Favus-Skutulum tragendes Hautstück vom Kopfe einer Maus und eine Acne profunda zur Ver-

¹⁾ Die im Ehrmannschen Laboratorium ausgeführte Arbeit wird demnächst erscheinen.

fügung, von denen 8—12 *cm* dicke Schnitte angefertigt und mit Alkohol und Wasser aa. auf den Objektträger aufgeklebt wurden. Es zeigte sich eine Zeit von 10—15 Minuten ausreichend, um bei gewöhnlicher Temperatur vorzüglich differenzierte Präparate zu erhalten.

War es nun einerseits von vorneherein wahrscheinlich, daß das heiße HCl-Anilinöl eine Abkürzung der Differenzierungszeit gestatten würde, so glaubte ich doch andererseits den Umstand in Betracht ziehen zu müssen, ob durch ein derartiges Verfahren nicht leicht eine Überdifferenzierung eintreten könnte, wodurch die Modifikation der Methode natürlich in Frage gestellt worden wäre.

Die auf den Objektträger mit Alkohol und Wasser aa. aufgeklebten Paraffinschnitte der obgenannten Objekte wurden über Nacht einer Vorfärbung mit Kochenillealaun unterworfen, und nun 5 Minuten im Brutofen, 10—15 Minuten in der Kälte mit Anilinwasser-Gentianaviolett aa. gefärbt, dann mit JK 5% und H_2O_2 aa. durch 1—2 Minuten jodiert, und dann mit auf 56° im Paraffinschrank¹⁾ erwärmten 1% HCl-Anilin übergossen. (1—3mal genügt.) Die Differenzierung ist beendet, wenn der Abgang der blauen Farbwolken vollständig aufgehört hat, was nach 1—2 Minuten vollzogen ist. Xylol, Kanadabalsam. $\frac{1}{2}$ % salzsaueres Anilinöl erfordert 2—3 Minuten, $\frac{1}{10}$ % HCl Anilin 5—7 Minuten, ohne daß die Bilder an Deutlichkeit gewonnen hätten.

Auch für Celloidinschnitte (Bromakne) ergab sich eine Differenzierungszeit mit heißem Öl von ca. 10—15 Minuten, also eine wesentliche Abkürzung der Waelchschen Originalvorschrift gegenüber.

Die Bilder sind denen auf „kaltem Wege“ gewonnenen vollkommen gleich, die Favuspilze in gleicher Menge und Deutlichkeit gefärbt, die Flaschenbazillen bei der Akne ebenfalls klar hervortretend. Staphylokokken konnten in den Präparaten nicht nachgewiesen werden.

Es war nun noch zu untersuchen, wie die übrigen Hyphomycetenpilze sich dem erwärmten Differenzierungsmittel gegenüber verhalten.

Da ich betreffende Hautstücke nicht erlangen konnte, habe ich Schuppen von Pityriasis versicolor, Herpes tonsurans und Erythrasma verwendet. Hier wurde der mit dem Untersuchungsmaterial beschickte Objektträger nach der üblichen Färbung und Jodierung mit dem HCl-Anilin übergossen und durch mehrere Minuten mit einer Pinzette über der Flamme

¹⁾ Es genügt übrigens, das Öl in der Eprouvette über dem Bunsenbrenner „heiß“ zu machen.

eines Bunsenbrenners erhitzt. Schon nach 5—10 Minuten war die Entfärbung der Schuppen vollendet und auf blaßvioletterm Grunde traten die Trichophytonpilze, das Mikrosporon furfur, Mikrosporon minutissimum in dunkelviolett gesättigtem Farbenton deutlich kontrastierend hervor.

Haare eines Favuskranken differenzierten sich ebenso rasch, waren aber zufällig pilzfrei.

Staphylokokkenreinkulturen ergaben bezüglich der Schnellfärbung ein positives Resultat.

Das Ergebnis dieser Versuche ist: die von Waelsch auf 2—8 Stunden für 15—20 cm. dicke Celloidinschnitte angegebene Differenzierungszeit läßt sich durch Erwärmung des HCl-Anilins für dünne Paraffinschnitte auf 1—2 Minuten, für Celloidinschnitte auf ca. 10 Min., auf 5—10 Min. für Schuppen und Haare herabsetzen, so daß die Waelsche Methode jetzt nicht mehr die durch die Differenzierung notwendige Unterbrechung von 2—8 Stunden erfährt, sondern in Kontinuo und in toto in 10—15 Minuten an Paraffinschnitten und 15—20 Minuten an Schuppen und Haaren ausgeführt werden kann.

Kraus (5) hat an der hiesigen Klinik eine vorzügliche Resultate ergebende Methode für Pilzfärbungen in Schuppen und Haaren ausgearbeitet. Es seien der von mir modifizierten Waelschfärbung gegenüber ihre Vorzüge rückhaltlos anerkannt: der Farbstoff, das Methylenazur, bezüglich dessen chemischen Zusammensetzung ich auf die Kraussche Arbeit verweise, bedarf erst nicht der Herstellung, wie sie das Anilinwassergentrianviolett erfordert. Das M.-Azur ist unzersetzlich, das An.-gent.-Gemisch muß nach 3—4 Wochen frisch hergestellt werden. Die Färbung erfordert trotz Herstellung klarer Bilder nur 5—7 Minuten.

Für Schnitte aber erweist sich die Waelsche Färbung ihr überlegen, da sie eine Doppelfärbung gestattet und im Gewebe der Kontrast der rot gefärbten Zellkerne (Kochenillaun, Alaunkarmin etc.) und der tiefblau violett gefärbten Pilze die Auffindung der letzteren erleichtert und die Beziehungen der Pilzlagerung zu den zelligen Elementen zu studieren gestattet.

Wie mir Kraus mitteilt, sind auch bei seiner Methode Doppelfärbungen möglich, doch betreffen sie im Gegensatz zur Waelschen das kollagene Gewebe. (V. Gieson, Methylorange, Eosin, Orcein etc.)

So hat jede der beiden Methoden ihre bestimmten Indikationen, ganz abgesehen davon, daß es stets angenehm ist, für jede Methode noch eine kontrollierende zur Verfügung zu haben.

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, dem Vorstande der Klinik Herrn Hofrat Prof. Ph. J. Pick, für die Überlassung des Materials und die Förderung dieser Arbeit meinen besten Dank zu sagen.

L i t e r a t u r.

1. Die Protoplasmafaserung der Epithelzellen. Arch. für mikr. Anatomie Bd. XXXIX.
 2. Fortschritte der Medizin 1887.
 3. Arch. für Dermat. u. Syph. Bd. XXXI. 1895, pag. 49.
 4. Einführung in das mikr. Studium der normalen und kranken Haut. Wien. 1905. Hölder.
 5. Dermathistologische Technik. Berlin 1905.
 6. Zentralblatt für Bakteriologie. XXXVII, Bd. Org. Heft. 1. 1904.
-