

DAS MIKROSKOPISCHE BILD VON MIT MERCUROCHROM-PYOKTANIN BEHANDELTEN OBERFLÄCHENFILMEN NATÜRLICHER GEWÄSSER

Mit 3 Abbildungen

Von DR. S. VÁGÓ

(Leiter der Bakteriologischen Abteilung des Institut
National des Recherches Station Alès [Gard] France)

Vor kurzer Zeit wurde vom Verfasser in der Schweizer Medizinischen Wochenschrift ein neuer und in seinen Einzelheiten noch immer nicht geklärter Färbungseffekt, welcher beim Zusammenwirken des Mercurochroms (Dinatriumsalz des Dibrom-oxy-mercuri-fluoresceinum) und des Pyoktanins entsteht, beschrieben. Auf diese Färbung wurde die Aufmerksamkeit durch ihre starke Wirkung bei Spirochäten gelenkt. Man erzielt nämlich damit auch bei der Untersuchung schwer färbbarer pathogener Spirochäten (*pallida* und *pertenue*) und bei Leptospiren eine starke und deutliche Färbung.

Es ist selbstverständlich, daß die meisten Arbeiten, die auf die Beschreibung dieses Effektes folgten, sich weiter mit der Erforschung bezüglich der Spirochäten befaßten. Außerdem hat man aber — wohl zufälligerweise — die Beobachtung machen können, daß außer den Spirochäten auch andere Bestandteile der untersuchten Flüssigkeiten eine eigenartige Färbung zeigen. Wenn nämlich auf die Einwirkung einer wässrigen Mercurochromlösung eine Nachbehandlung mit einer wässrigen Pyoktaninlösung folgt, nehmen verschiedene Mikrobenarten bzw. einzelne Körperteile derselben den Gegenfarbstoff in verschiedenem Grade auf, bzw. behalten das Mercurochrom in verschiedenem Grade in sich.

Um diese Färbungsdifferenzen stärker hervortreten zu lassen, wurden verschiedene Modifikationen des Verfahrens vorgenommen. Es wurde festgestellt, daß die Färbungsdifferenzen verschiedener Elemente am besten bei einer langen Mercurochrom- und kurzen Pyoktanineinwirkung hervortreten bzw. — was dasselbe Resultat ergibt — bei Anwendung konzentrierter Mercurochrom- und dünnerer Pyoktaninlösung.

Im allgemeinen wurde gefunden, daß die folgende Modifikation die besten Differenzierungen erzielt:

- Das Objektträgerpräparat wird langsam getrocknet
(Fixierung unnötig).
- Färbung mit Lösung A etwa 5 Minuten.
- Abspülung mit Wasser.
- Färbung mit Lösung B etwa 1 Minute.
- Abspülung mit Wasser.
- Trocknen.
- Untersuchung wie üblich.

Lösung A: Konzentrierte wässrige Lösung des „Mercurochrom“ („Mercurochrom“ ist ein in der mikroskopischen Technik bisher unbekannter Stoff, von HYNSON-WESCOTT-DUNNING in Baltimore für bakterizide Zwecke hergestellt. Seiner Zusammensetzung nach ist es das Doppelnatriumsalz des Dibrom-Oxy-Mercuri-Fluoresceins. In Alkohol mäßig, in Wasser gut löslich, ergibt es eine kirschrote, schwach opalisierende Flüssigkeit).

Lösung B: Zehnfach verdünnte Lösung der konzentrierten wässrigen Lösung von „Pyoktanin“ („Pyoktanin“ ist eine Art von Methylviolett).

Nach vielfach wiederholter Anwendung dieses modifizierten Verfahrens bei verschiedenstem Material konnte das Verhalten vieler Elemente und Mikroorganismen soweit charakterisiert werden, daß in einem Präparat unbestimmten Inhaltes die Feststellung irgendeines dieser Elemente durch seine Färbungseigenschaft in großem Ausmaße unterstützt werden kann. Die Ergebnisse solcher die Mund- und Rachenhöhle betreffender Untersuchungen wurden unlängst veröffentlicht (Wr. Med. Wschr. 4 [1947]).

Die Tatsache, daß das besprochene Verfahren bei verschiedenen Elementen konstante Farbunterschiede hervorruft und dadurch die Differenzierung bzw. Erkennung einzelner Bestandteile eines Präparates erleichtert, läßt darauf schließen, daß die weitere Verwendung des Verfahrens hauptsächlich bei solchen Präparaten eine erhöhte Bedeutung hat, wo Zellen, Grundstoff, Bindestoffe, unorganisierte Bestandteile, verschiedene Mikroorganismen, Reste von höheren pflanzlichen oder tierischen Materialien usw. gemischt auftreten und man eine Sonderung der einzelnen Bestandteile wünscht. Man begegnet solchem Untersuchungsmaterial auf den verschiedensten Gebieten der Mikrobiologie. In der klinischen Mikrobiologie bzw. Bakteriologie wurde das Verfahren zur Analyse verschiedener Körperflüssigkeiten mit Erfolg verwendet. Besonders gute Dienste leistete es bei der Differenzierung deformierter Epithelien. Das charakteristische Benehmen saprophytischer bzw. parasitierender Strahlenpilzarten ist ganz auffallend und bildet das Objekt der vorliegenden Untersuchungen. In der landwirtschaftlichen Mikrobiologie wurden Versuche mit dem Verfahren besonders bei der Differenzierung der Boden- bzw. Düngerflora ausgeführt. Hier gab das äußerst gemischte und mannigfaltig zusammengesetzte Untersuchungsmaterial gute Möglichkeiten zur Differenzierung durch Färbungseffekte.

Vor einiger Zeit wurde in limnologischen Kreisen der Gedanke erwogen, ob nicht die Mercurochrom-Pyoktanin-Färbung, die in den oben beschriebenen Verwendungsgebieten durch ihre starke Differenzierungsfähigkeit gute Dienste leistet, in der Limnologie auch bei den schwierigen Differenzierungen der Oberflächenfilme ebenfalls neue Möglichkeiten erschließe? Der Gedanke ist wohl begründet. Die Oberflächenfilme gehören zu den am stärksten gemischten natürlichen Gebilden, an deren Zusammensetzung Mikroorganismen beteiligt sind. Die Limnologen umfassen nämlich unter dem Begriffe: „Ober-

flächenfilm“ eine Formation, die sich auf der Oberfläche verschiedener Gewässer aus nicht lebenden Materien anorganischer und organischer Herkunft und aus Lebewesen (hauptsächlich Mikroorganismen) in Form von Häutchen bildet („Kahmhaut“, wenn nur aus Bakterien bestehend). Der Grund zur Bildung dieses Häutchens ist eigentlich auf physikalische Faktoren zurückzuführen. Das spezifische Gewicht der unbelebten Materie und der Lebewesen gegenüber dem des Wassers und die — meist unterschätzte — Kraft der 73 dyn/qcm messenden Oberflächenspannung des Wassers sind dabei die wichtigsten Komponenten. Durch das Zusammenwirken dieser Kräfte werden viele Materien und Mikroorganismen in eine dünne Schicht auf der Wasseroberfläche zusammengedrängt. Diese Schicht erscheint dann dem Betrachter als ein dünnes Häutchen, das von englischen Autoren die heute allgemein gebrauchte Benennung „Film“ erhielt. Die Limnologen unterscheiden den ziemlich scharf abgegrenzten Lebensraum der in diesem Film befindlichen Mikroorganismen von andern Lebensräumen der Gewässer durch die Bezeichnung „Neuston“ gegenüber „Pleuston“, „Plankton“ usw.

Dieser Lebensraum bleibt hinsichtlich der Mannigfaltigkeit seiner Lebewelt nicht hinter den anderen Lebensräumen der Gewässer zurück. Der grundlegende Unterschied zwischen den anderen Lebensräumen der Gewässer und dem Neuston besteht darin, daß jene auch aus einer reichen makroskopisch sichtbaren Lebewelt zusammengestellt sind, während dieses nur Mikroorganismen enthält.

Man möchte glauben, daß die Untersuchungen, die an Oberflächenfilmen durchgeführt worden sind, in erster Linie die Differenzierung der einzelnen Mitglieder des Lebensraumes erzielt hätten, da dies die große Mannigfaltigkeit zuerst verlangt. In Wirklichkeit begegnen diese Untersuchungen aber solch erheblichen Schwierigkeiten, wie sie der mikrobiologischen Forschung im allgemeinen eigen sind und von allen bakteriologischen Untersuchungen, welche eine Artdifferenzierung verlangen, gut bekannt sind.

Im Falle der Mikroorganismen der Wasseroberfläche sind die Schwierigkeiten der Artdifferenzierung sogar noch größer. Der Grund ist einfach, daß jene Bakterien, welche in den Oberflächenfilmen vorkommen können, viel weniger bekannt sind als diejenigen der klinischen Untersuchungen, Lebensmittelkontrollen usw. Bei einem hohen Prozent der Neuston-Untersuchungen stößt man auf Arten, welche nur unter sehr großen Schwierigkeiten wenigstens annähernd bestimmt werden können. Danach darf es uns nicht wundern, wenn wir sehr wenigen Neuston-Untersuchungen begegnen, die Analysen und Differenzierungen im engeren Sinne sind. Die meisten Arbeiten befassen sich nur mit einem Bestandteil oder einem Mikroorganismus des Films, welcher als sehr charakteristisch gerade auffallend ist. Solche sind etwa die aus unzähligen Beschreibungen bekannten Pollen-Oberflächenfilme, die von Protozoen bzw. Algen verursachten Verfärbungen der Wasseroberfläche u. dgl. Hier kann man auch jene Arbeiten einreihen, welche aus Abwässern bzw. von deren Oberfläche stammende Fäulnisbakterien als charakteristisches Merkmal des betreffenden Abwassers nachwiesen.

Erst seit kurzer Zeit kann man dann Forschungen begegnen, die bezwecken, einen Film als eine Einheit unter Analyse zu stellen und sämtliche Mikroorganismen, die darin vorhanden sind, zu agnoszieren. Die Mehrzahl dieser Untersuchungen arbeitet mit Kulturmethoden und befaßt sich nur mit den Bakterienstämmen. Es ist erst der neuen biosoziologischen Forschungsrichtung zu verdanken, daß man immer mehr und mehr auch ökologische Beziehungen festzustellen versucht. Einfache Artaufzählungen aus einem bestimmten Gebiet werden als wenig wertvoll betrachtet, Pflanzen, Tiere, Mikroorganismen, ja unbelebte Elemente müssen in Betracht gezogen und ihre Verhältnisse zueinander erforscht werden.

Schon bei den makroskopischen Lebewesen begegnen diese Forschungen großen Schwierigkeiten. Es ist nur natürlich, daß diese bei den Mikroorganismen in noch erhöhtem Ausmaße auftreten. So ist es erklärlich, daß die Forschungen, welche den Oberflächenfilm als „Einheit“ betrachten und alle seine lebenden und unbelebten Komponenten bzw. ihre gegenseitigen Beziehungen aufklären wollen, sich noch im allerersten Stadium befinden. Das Problem ist einstweilen, den Film in seine Bestandteile zu zerlegen.

Zu diesem Zwecke dient vor allem das mikroskopische Präparat des Films. Man kann den Film mit einem Objektträger oder Deckglas ohne irgendeine Schädigung seiner Struktur bequem auffangen und unter dem Mikroskop direkt betrachten. Wieweit dabei neue Einblicke gewonnen werden können, hängt — wie bei allen mikroskopischen Untersuchungen — davon ab, inwieweit die einzelnen Teilchen bzw. Mikroorganismen sichtbar und untereinander differenzierbar gemacht werden können.

Diese Aufgabe erfüllen die verschiedensten Färbungsmethoden, unter welchen die zusammengesetzten besonders wichtig sind. Da fast ein jedes Verfahren einen anderen Bestandteil bzw. eine Bestandteilgruppe der Präparate heraushebt, ist die Differenzierung um so vollkommener, je mehr Methoden angewandt werden.

Im Interesse dieses Zieles wurde auch die Mercurchrom-Pyoktanin-Methode herangezogen. Mittels der folgenden Untersuchungen versuchte der Verfasser ein Bild von der Brauchbarkeit der Methode zur Differenzierung des Oberflächenfilms zu erhalten bzw. das Benehmen einzelner Elemente des gefärbten Films zu charakterisieren.

Zu diesem Zwecke wurden mit 247 Oberflächenfilmen Untersuchungen durchgeführt. Die Filme wurden, um ein möglichst mannigfaltiges Arbeitsmaterial zu erzielen, absichtlich aus den verschiedensten Ländern, Klimaten, Höhen und Gewässern entnommen. Die Mehrzahl der Präparate stammt aus der Bodenseegegend, und zwar sowohl von der österreichischen wie von der schweizerischen Seite, aus den Buchten des oberen Rheines entlang den Grenzen von Liechtenstein, aus der Schweiz selbst und aus den stehenden Gewässern beiderseits des Rheines. Ferner aus den Gewässern der französi-

schen Alpen, der unteren Rhonegegend, den Nebengewässern der Garonne, aus Steiermark, vom Plattensee, aus den Debrecener Heißquellen und aus der Freiburger Gegend. Was den Charakter der Gewässer anlangt, so stammen die untersuchten Präparate aus offenen Seen, aus stillen Einbuchtungen großer Flüsse und kleinerer Bäche, aus Sümpfen, aus Abwässern, aus verschiedenen — der Temperatur nach abgestuften — Stellen von Heißquellenbächen, ebenso von Überschwemmungen wie aus künstlichen Bassins.

Aus den einzelnen Filmen wurden kleine Flächen mit einem Objektträger oder Deckglas unbeschädigt aufgefangen und getrocknet eingesandt. Färbung nach Vorschrift mit Mercurochrom-Pyoktanin. Untersuchung mit Immersion bei einer Vergrößerung von 1200:1.

Wie der Zweck der Untersuchung es verlangt, wurde die Färbung des ganzen Filmes, die Differenzierbarkeit der Struktur, die Färbbarkeit der einzelnen organischen und anorganischen Bestandteile und Mikroorganismen und endlich die Differenzierbarkeit der einzelnen Elemente beurteilt.

Die Färbung des Films war in allen Fällen rein und ohne Niederschläge. Die Konturen der Formelemente scharf gezeichnet.

Aus den untersuchten 247 Filmen wurden bei 195 Farbdifferenzen festgestellt. 21% der Filme waren sehr homogen (oft Reinkultur einer Bakterienart), so daß natürlicherweise keine Farbdifferenzen auftreten konnten.

Die Differenzfarben sind meist Rot und Schwarzblau. Doch findet man Übergangsfarben bzw. auch völlige Resistenz gegen beide Farbstoffe, wenn auch in weit geringerer Zahl. Es ergeben sich so verschiedene Möglichkeiten zur charakteristischen Differenzierung in zwei, drei und noch mehr Farben. Die Häufigkeit der verschiedenen Arten der Farbdifferenzen ist aus dem Graphikon auf S. 233 zu entnehmen (Abb. 1).

Abb. 1. Quantitative Analyse der in verschiedenen Oberflächenfilmen durch die Mercurochrom-Pyoktanin-Methode hervorgerufenen Farbdifferenzen.

Gesamtzahl der untersuchten Präparate: 247.

Aus diesen

A Einfärbig

A einfärbig	21 %
B zweifärbig	64,8%
C dreifärbig	10,1%
D mehrfarbig (bzw. Übergangsfarben)	4 %

a rot	7,7 %
b schwarzblau	00,3 %
c Übergangsfarben	1,9 %

B Zweifärbig

C Dreifärbig

a rot—schwarzblau	80 %
b rot—Übergangsfarben	1,3 %
c rot—ungefärbt	0,6 %
d schwarzblau—Übergangsfarben	2,5 %
e schwarzblau—ungefärbt	3,8 %
f Übergangsfarben—ungefärbt	0 %
g Tonusunterschiede derselben Farbe	11,8 %

a rot—schwarzblau—ungefärbt	40%
b rot—schwarzblau—Übergangsfarben	48%
c schwarzblau—ungefärbt—Übergangsfarben	8%
d rot—ungefärbt—Übergangsfarben	i %

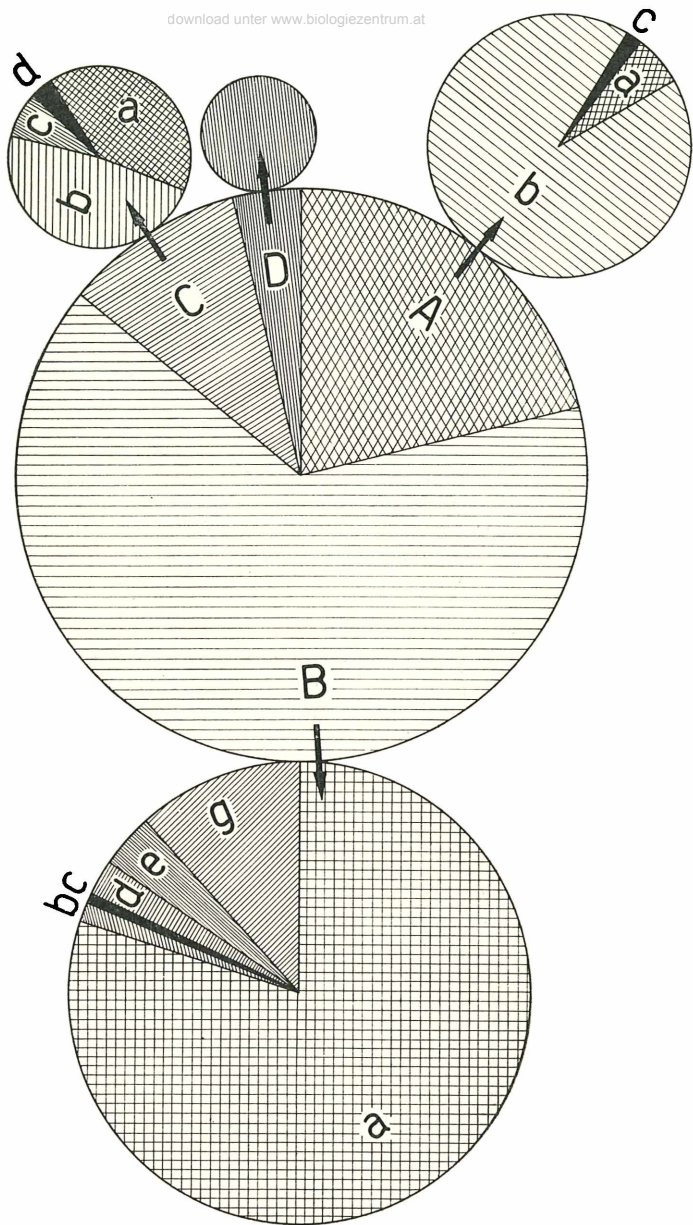


Abb. 1.

Im folgenden werden Auszüge der Teilergebnisse mitgeteilt. Sie wurden so zusammengestellt, daß die zu besprechenden Filme gleichzeitig verschiedene Typen, wie sie im Laufe der 247 Untersuchungen festgestellt wurden, darstellen.

Es ist zu betonen, daß diese Beobachtungen keine Analysen der betreffenden Oberflächenfilme sind und nicht bezwecken, einzelne Mikroorganismen zu beschreiben oder sämtliche Bestandteile des Films zu charakterisieren. Sie behandeln die einzelnen Bestandteile und Mikroorganismen nur insoweit, als sie an einem Färbungseffekt teilnehmen.

Am oberen Rhein, Rechtes Ufer. Sumpfbgebiet mit periodisch steigendem und sinkendem Wasserstand.

Schleimiger, grünlichgrauer Belag auf der Wasseroberfläche. Nicht elastisch, aber zusammenhaltend.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit der Mercurochrom-Pyoktanin-Methode:

Der Grund ist ungefärbt. Entweder ist gar kein Grundmaterial vorhanden oder ein Stoff, welcher weder das Mercurochrom noch das Pyoktanin aufnimmt. Das erstere scheint wahrscheinlicher zu sein, da bei Färbungen nach anderen Methoden ebenfalls kein Grundstoff festzustellen war. Das Bild wird durch die cintönige, schwarzblaue Farbe verschiedener Mikroben, Kokken und Bazillen beherrscht. Aus dieser Farbe heben sich scharf in kleineren Gruppen rein rot gefärbte Fäden. Sie treten meist bündelartig auf. Die einzelnen Fäden sind verschieden lang, man findet Formen von der Länge eines Kolibazillus bis zu langen Geflechten. Bei näherer Betrachtung fällt es auf, daß neben den sich rot färbenden Fäden auch ganz gleiche Fäden in schwarzblauer Farbe vorhanden sind. Es sind sogar Bündel zu finden, wo rote und schwarzblaue Fäden gemischt vorkommen. Farbübergänge wurden in keinem Falle beobachtet. Die Bestimmung dieser Fäden führte zur Gruppe der Strahlenpilze. Dafür spricht auch das Verhalten der Fäden gegenüber Gram und Jod. Es gibt Beobachtungen, aus denen sich das unregelmäßige Verhalten von Strahlenpilzarten gegenüber Färbungen ergibt, die scharfe Differenzierung in zwei entgegengesetzte Farben ist aber ein charakteristisches Verhalten gegenüber der Mercurochrom-Pyoktanin-Methode. Die Ursache dieser Erscheinung ist nicht geklärt. Nach Ergebnissen der Kulturversuche muß man annehmen, daß wir nicht einer Symbiose verschiedener Arten gegenüberstehen, sondern eine Art vor uns haben, die zweierlei Fäden bildet.

Am Bodensee. Ufer bei Lochau. Kleine Einbuchtung mit schlammigem Boden.

Die ganze Bucht von einer matten Oberflächenschichte bedeckt, welche in der Nähe des Ufers gleichmäßig dicker wird und eine weiße Farbe annimmt.

a) Etwa 3 m vom Ufer. Dünne, fast durchsichtige Schicht.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin:

Gleichmäßiger strukturloser Grundstoff in hellrosa Farbe. Dieser Grundstoff ist kaum zu sehen, da er von den sich schwarzblau färbenden Mikroben völlig bedeckt ist. Doch erlaubt die rosa Farbe, die zum Dunkelblau in starkem Gegensatz steht, das Vorhandensein ganz minimaler Mengen Grundstoff festzustellen. Die Mikroben bestehen aus wenigen Kokken und etwa 80% Bazillen. Sie heben sich von dem Grundstoff gut ab. Im Nativpräparat oder in mit Methylenblau od. dgl. nach Gram, Giemsa, May-Grünwald gefärbten Präparaten ist das Vorhandensein eines Grundstoffes und folglich die Differenzierung der Mikroorganismen von ihm nicht festzustellen.

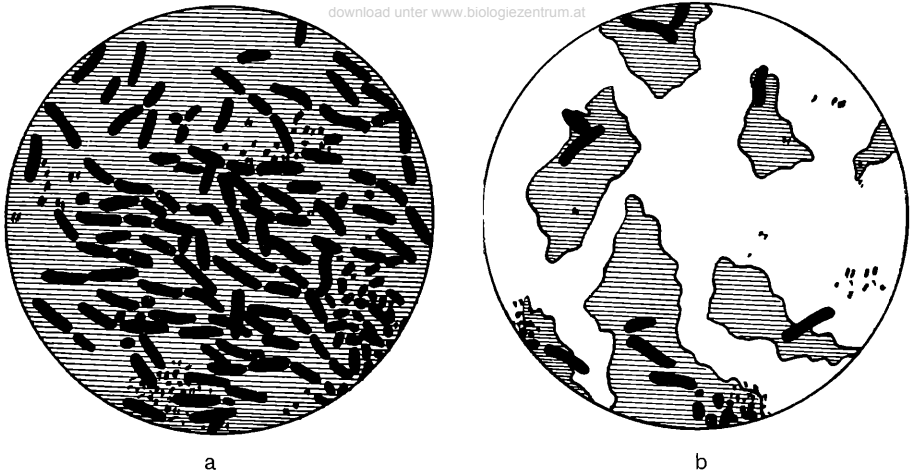


Abb. 2. Junges (a) und fortgeschrittenes (b) Stadium desselben Oberflächenfilms, dargestellt durch die Mercurchrom-Pyoktanin-Methode. 1200:1.

≡ rot ■ schwarzblau

b) Gleich am Ufer. Verdickte, grauweiße Schichte.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurchrom-Pyoktanin:

Das Präparat wird von der starken roten Farbe des dicken strukturlosen Grundstoffes beherrscht. Man findet meistens fleckenartige, abgerissene Teile, die sich als rote, metallähnliche Plättchen präsentieren. Diese Eigentümlichkeit erlaubt auf das Alter des Films zu schließen, da die unbelebten, meistens von den Mikroben erzeugten Bindestoffe erst nach langer Zeit sich so anhäufen und ihre Elastizität allmählich verlierend in poröse Plättchen zerfallen. Da der Grundstoff sich mit den meisten Färbemethoden nur sehr schwach oder überhaupt nicht färbt, ist die Erkennung porösen Zerfalles viel schwieriger als mit der Mercurchrom-Pyoktanin-Methode, die, wie erwähnt, die zerfallenen Teilchen als stark abgegrenzte Plättchen darstellt. Die Richtigkeit der Beurteilung des Alters nach dem Vorhandensein der Plättchen wurde dadurch bewiesen, daß sich in diesem Falle aus dem roten Untergrund ziemlich wenige Mikroben abheben, das heißt, die Vermehrung der Mikroorganismen ist im Abklingen. Dieser Umstand ist durch den Farbenunterschied rot gegen dunkelblau ebenfalls leicht festzustellen (Abb. 2).

Bei Debrecen (Ungarn). Nebenabfluß (60 cm breit) einer Heißquelle, von der Quelle 140 m entfernt. Wassertemperatur 48° C.

Kaum wahrnehmbare Bildung auf der Wasseroberfläche, doch eine auf Objektträger auffangbare Schichte vorhanden.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurchrom-Pyoktanin:

Sich schwach rosa färbender, ungleichmäßiger, lückenhafter Grundstoff. Wahrscheinlich nicht organischer Herkunft. Schwarzblau gefärbte Bestandteile. Mikroorganismen fehlen. Aus dem Grund erheben sich gänzlich ungefärbte(!) unregelmäßige Gebilde. Sie nehmen weder das Mercurchrom noch das Pyoktanin an. Der Lichtbrechung nach sind sie mineralischer Herkunft, meistens Quarz. Sie

stammen aller Wahrscheinlichkeit nach aus der Luft und werden durch die Oberflächenspannung des Wassers in der Filmschicht festgehalten. Sie differenzieren sich bei Anwendung des Mercurochrom-Pyoktanin-Verfahrens sehr gut von allen anderen Bestandteilen des Filmes.

Bei Debrecen (Ungarn). Nebenabfluß (120 cm breit) derselben Heißquelle, von der Quelle 1600 m entfernt. Wassertemperatur 26° C.

Gelbbraunliche, schaumartige Oberflächenschicht von mattem Glanz. Der Film ist von bedeutender Elastizität.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin:

Das Bild wird von roten, ring- bzw. blasenartigen Gebilden beherrscht, die runde, kugelförmige ungefärbte Stellen umschließen. Diese Struktur des Grundstoffes ist an allen Stellen des Filmes gleich und verrät das Vorhandensein eines elastischen Bindematerials, welches eine beträchtliche Oberflächenspannung hat. Die Färbungsversuche mit Methyleneblau, Fuchsin, nach Gram, Giemsa usw. lassen diese Struktur nicht deutlich hervortreten, da die große Anzahl von Mikroben und anderen Bestandteilen sich auch in derselben Farbe färben wie der Grundstoff selbst und es verhindern, der regelmäßigen Linie der Blasen zu folgen. Bei der Mercurochrom-Pyoktanin-Färbung hebt sich die Mehrzahl der Mikroorganismen in blauschwarzer Farbe ab. Unter denselben herrschen die Bazillenformen vor, doch lassen sich zahlreiche Formen tierischen Charakters erkennen. Auffallend waren die Vorticellen, bei denen eine interessante Färbungseigenschaft festzustellen ist. Diese Protozoen nehmen nämlich das Mercurochrom ziemlich stark auf und geben die rote Farbe bei der Einwirkung des Pyoktanins nicht gänzlich ab. So entstehen ungleichmäßige Nuancen von Rot bis Blau. Die einzelnen Organellen dieser Protozoen unterscheiden sich voneinander nicht durch verschiedene Farbtöne, sondern der ganze Körper hat eine violette Farbe. Durch diese, die sonst im Mercurochrom-Pyoktanin-Präparat selten ist, entsteht eine ziemlich deutliche Differenzierung.

Fürstentum Liechtenstein. Abwasser in einem Landgut. Dicke, schleimartige Oberflächenschicht von weißgelber Farbe.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin:

Das ganze Präparat besteht aus eng aneinandergesetzten und angehäuften Bazillen, die sich ohne Ausnahme schwarzblau färben. Außer diesen Gebilden sind keine anderen Elemente zu finden. Ein Grundstoff, der sich hellblau färbt (im Gegensatz zu den meisten Bindestoffen, die die rote Farbe behalten), ist vorhanden. Chemische Untersuchungen, die Verschiedenheit der mercurochromfesten und -labilen Bindestoffe betreffend, sind im Gange.

Grenoble (Frankreich). Runder, periodischer Kleintümpel von 15 cm Durchmesser auf feuchtem Moosboden in gemischtem Wald.

Über dichtem Algengeflecht dünner, hauchartiger, farbloser Film. Das Vorhandensein des Filmes ist durch Betrachten von oben her überhaupt nicht wahrzunehmen. Erst beim Berühren der Wasseroberfläche wird die elastische zusammenhängende Schicht wahrnehmbar.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin:

Einige sich schwarzblau färbende Kokken und Bazillen liegen zerstreut. Grundmaterial ist nicht festzustellen. In Gruppen, selten einzeln liegende runde Gebilde von etwa 3—4 μ Durchmesser. Nach Feststellungen durch Kulturversuche sind es Sporen von verschiedenen Hyphomyceten, hauptsächlich Penicilliumarten. Sie weisen ein interessantes Verhalten gegenüber beiden Farbstoffen auf. Meh-

rere Sporen erscheinen in schwarzblauer Farbe, ähnlich anderer Mikroben. Außer diesen Sporen sind wieder andere in sämtlichen Farbnuancen bis zu Rot zu finden. Um diese Erscheinung näher zu erforschen, wurden, unabhängig von den limnologischen Untersuchungen, Färbungsversuche mit verschiedenen Hyphomyceten-sporen durchgeführt. Dabei konnte festgestellt werden, daß bei Sporen verschiedener Arten nur unbedeutende Abweichungen der Farbe vorkommen. Einen viel ausschlaggebenderen Faktor bildet der Entwicklungsgrad der Sporen. Der verschiedene Grad der Aufnahme des Mercurochroms, bzw. Pyoktanins ändert sich, je nachdem ob die betreffende Spore noch eine lockere Konsistenz oder schon eine verstärkte Wandbildung aufweist. Die Methode differenziert die aufgesprungenen Sporenhäute durch Farbenunterschiede. Diese ähneln denjenigen, die durch die Methylenblau-Mercurochrom-Sporenfärbungsmethode (Vágó: Schweiz. Z. Pathol. 1947) hervorgerufen werden, nur sind sie bedeutend weniger deutlich.

Grenoble (Frankreich). Abfluß eines periodischen, kleinen Sumpfbereiches.

Dichter, gelblichweißer Belag, in seiner ganzen Fläche gleichmäßig, sehr elastisch und zusammenhaltend trotz der ständigen Bewegung des Wassers.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin:

Zusammenfließende Menge von sich schwarzblau färbenden Bazillen. Binde-stoff kaum bemerkbar, schwach bläulich. In den Präparaten, die von der Nähe des Ufers stammen, fallen beim ersten Blick leuchtend rote Gebilde auf, die aus der gleichmäßig schwarzblauen Menge der Bazillen „hervorspringen“. Bei näherer Betrachtung konnte man feststellen, daß diese Gebilde Epithelzellen tierischer Herkunft sind. Sie befinden sich im Zustande des Zerfalles; ihre charakteristische Färbung ist aber so stark, daß selbst kleinste Epithelzellenteile durch sie zu erkennen sind. Besonders schöne Differenzierungen sieht man bei denjenigen Epithelzellen, welche von Bakterien besiedelt sind. Die schwarzblauen Bazillen liegen auf dem hellen Rot der Epithelzellen. Später wurde festgestellt, daß sich der ganze Film in Zusammenhang mit den tierischen Zellen von einer Hundeleiche gebildet hat (Abb. 3).

St. Gallen (Schweiz). Regenwasser in Felsenvertiefung.

Hauchartiger, irisierender Film.

Mikroskopisches Bild nach Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin:

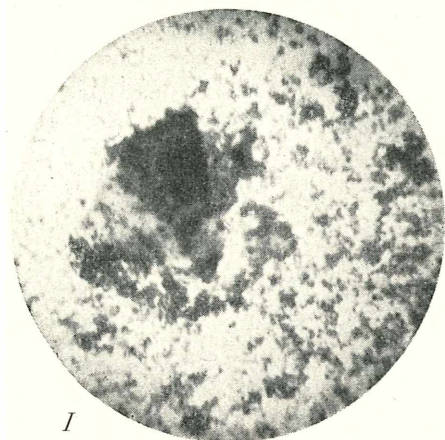
Schwarzblaue Bakterien und Kokken und der sich hellblau färbende Binde-stoff geben dem ganzen mikroskopischen Bild einen blauen Ton. Von dieser Farbe sondern sich häufig vorkommende, immer dieselbe Struktur aufweisende Plättchen mit unscharfen Rändern ab. Sie sind durch aderartig verlaufende Linien in Vielecke geteilt. Die Plättchen sind von gelbroter Farbe, die Ader mehr rot. Wie es die charakteristische Struktur leicht erkennen läßt, sind diese Plättchen Bruchteile von Blättern bzw. anderen Pflanzenteilen. Wie aus der obigen Beschreibung der Färbungseigenschaft ersichtlich ist, ermöglicht die Mercurochrom-Pyoktanin-Methode eine sehr deutliche und scharfe Absonderung dieser Bruchstücke, die häufig vorkommende Bestandteile verschiedener Filme bilden. Noch schöner ist das durch die Mercurochrom-Pyoktanin-Färbung erzielte mikroskopische Bild, wenn man auf Bruchteile stößt, welche noch unzersetztes Chlorophyll enthalten. Weder das Mercurochrom noch das Pyoktanin greifen in kurzer Zeit das Chlorophyll an, so daß wir unter schwarzblauen Bakterien (ev. in hellblauem Binde-stoff) grüne Plättchen mit roten Aderungen erhalten.

Als Zusammenfassung der oben angeführten Teilergebnisse kann festgestellt werden, daß die Mercurochrom-Pyoktanin-Methode in den Ober-

flächenfilmen Farbdifferenzen hervorruff. Die einzelnen Formelemente und Mikroorganismen des Films erscheinen a) in roter Farbe, b) in schwarzblauer Farbe, c) in Übergangsfarben zwischen Rot und Blau.

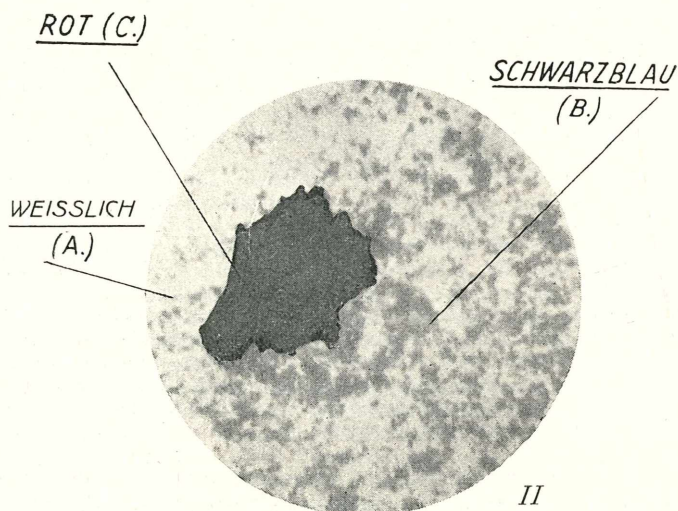
Die Farbe einzelner Elemente ist konstant und charakteristisch.

Die bisher beobachteten stärksten Färbungseffekte der Differenzierung sind die rote und blaue Farbe der Bindestoffe, die schwarzblaue Färbung der verschiedenen Kokken und Bazillen, die verschiedenen Farben zweier Strahlenpilzfäden, die Farbübergänge der Hyphomyceten-



I

Abb. 3. Mikroskopisches Bild (I) mit Farbenschema (II) eines Oberflächenfilmes, der auf kaum merkbarem Bindestoff (A.) reichlich Mikroben, hauptsächlich Staphylokokken (B.) und sich im Zertallen befindliche tierische Epithelzellen (C.) enthält. Färbung mit Mercurochrom-Pyoktanin. Abbildungsmaßstab 1200:1.



II

sporen und verschiedener Algengebilde sowie das charakteristische Benehmen von Körperzellen höherer pflanzlicher und tierischer Organismen.

Die Rolle dieser Färbungsunterschiede in der Analyse der Oberflächenfilme kann wie folgt gekennzeichnet werden:

Die Mercurochrom-Pyoktanin-Differenzierung färbt einerseits Elemente, die durch andere Differenzierungsmethoden (GRAM, ZIEHL-NEELEN, MAY-GRÜNWALD, GIEMSA, LEISHMAN, TRIBONDEAU, NEISER usw.) verschieden gefärbt sind, gleich.

Sie ruft andererseits unter Elementen, die durch die oben genannte andere Differenzierungsmethode nicht differenziert werden können, Unterschiede hervor.

Durch diese Eigenschaften ermöglicht sie neue Differenzierungen in der Analyse der Oberflächenfilme.

Es sei auf die Notwendigkeit weiterer Versuche hingewiesen, um durch Feststellung konstanter Färbungseigenschaften von weiteren Elementen, hauptsächlich in Filmen, die von Algen und Pollenkörnern gebildet werden, weitere Anhaltspunkte zur Oberflächenfilm-Differenzierung geben zu können.

Literatur

- Angerer*, Die Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung. Abderhalden, Methoden IV.
- Behning*, Das Leben der Wolga, zugleich eine Einführung in die Flußbiologie. Stuttgart, 1928.
- Beyer*, Biologie der Trink- und Brauchwasseranlagen. Jena, 1928.
- Eckstein*, Z. hyg. Zool. 1939.
- Haupt*, Laboratory dir. General Biology. New York, 1940.
- Hochholzer*, Mikroskopie. Wien, 1947.
- Jakobs*, Das Schweben der Mikroorganismen. Berlin, 1935.
- Kol*, Arch. Protistenk. 1929.
- Magyar. Biol. Kut. Int. Munk, 1931.
- Kolkwitz*, Handb. path. Microorg. X. 1930.
- Koschucharoff*, Zentralbl. Bakt. Parasitenk. u. Infektionskrankh. 1937.
- Köppen*, Ann. Hydrogr. 1921.
- Luntz*, Zool. Jb. Phys. 1929.
- Minder*, Arch. Hydrobiol. 1918.
- Naumann*, Arch. Bot. 1925.
- Int. Rev. ges. Hydrobiol. 1934.
- Rylov*, Anleitung zur Untersuchung des Limnoneustons. Abderhalden, Methoden IX.
- Stiller*, Magyar. Biol. Kut. Int. Munk. 1931.
- Stundl*, Zentralbl. Bakt. Parasitenk. Infektionskrankh. 1941.
- Tillmans-Ohnesorge*, Praktikum der klinischen usw. Untersuchungsmethoden. Wien, 1946.
- Vágó*, Tisia VI. 1943.
- Untersuchungen über die bewegungsökologische Wirkung der wasser-oberflächlichen Bakterienhäutchen. Debrecen, 1943.
- Die Wirkung des Neustonhäutchens von *Bacterium coli commune* Esch. usw. Tisia, 1944.
- Journ. Suisse de Médecine. 1947.
- Wr. Med. Wsch. I. 1947.
- Wr. Med. Wsch. II. 1947.
- Magyar. állatorv. lapja. 1947.
- Schweiz. Z. Path. u. Bakteriologie. 1947.
- Varga*, Magyar. Biol. Kut. Int. Munk, 1931.
- Wasmund*, Palaeontol. Z. 1930.
- Welch*, Lymnology. New York, 1935.
- Wiesmann*, Schweiz. Med. Wsch. 1946.
- Zih*, Magyar. Biol. Kut. Int. Munk, 1928.
- Zuelzer*, Zentralbl. Bakt. 105.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1949

Band/Volume: [4](#)

Autor(en)/Author(s): Vágó S.

Artikel/Article: [Das mikroskopische Bild von mit Mercurochrom-spyoktanin behandelten Oberflächenfilmen natürlicher Gewässer. 228-239](#)