

Ueber Verwendung des Formalins zur Conservirung von Bakterienkulturen.

Von Dr. G. Hauser, Privatdozent der pathologischen Anatomie in Erlangen.

Die Demonstration von Bakterienreinkulturen besonders auf Gelatine, sowie von sogenannten Plattengüssen gehört zweifellos mit zu den wichtigsten Hilfsmitteln des bakteriologischen Unterrichts. Es haben sich daher auch schon verschiedene Autoren, wie Soyka,¹⁾ Král,²⁾ Garrè,³⁾ Czaplewski⁴⁾ und andere bemüht, Bakterienkulturen auf verschiedenen festen Nährböden zu conservieren und so aus den sonst vergänglichen Kulturen zur Demonstration jederzeit bereite und geeignete Dauerpräparate herzustellen. Namentlich ist es ein Verdienst Soyka's gewesen, eine Methode angegeben zu haben, durch welche es ermöglicht ist, eine grosse Anzahl von Bakterienarten in der Form von Reinkulturen auf verschiedenen Nährböden, wie Kartoffeln, Agar, Gelatine u. s. w. dauernd zu conservieren und so ein förmliches „bakteriologisches Museum“ anzulegen.

Allein sowohl das Verfahren Soyka's als auch die von anderen Autoren angegebenen Methoden leiden an den sehr empfindlichen Mängeln, dass es nicht gelingt, die Kulturen in jedem beliebigen Entwicklungsstadium zu fixieren und dass es vor allem überhaupt unmöglich ist, Gelatine-Plattengüsse und Gelatine-Stichkulturen in Reagensgläsern von die Gelatine verflüssigenden Bakterienarten zu conservieren.

1) Centralbl. f. Bakt. u. Paras. I. 1887, No. 18. — Zeitschr. f. Hygiene IV. 1888, S. 143.

2) Centralbl. f. Bakt. u. s. w., VI. 1889, S. 251. — Zeitschr. f. Hygiene V. 1889, S. 497.

3) Fortschr. d. Med. IV. 1886, S. 392.

4) Centralbl. f. Bakt. u. s. w., VI. 1889, No. 15.

Nun erscheint es aber doch gerade ganz besonders wünschenswert z. B. die für die Diagnose so höchst wichtigen Plattengüsse und Gelatine-Stichkulturen der Cholera, des Milzbrandes und anderer Arten in jedem beliebigen Entwicklungsstadium zu fixieren und für die Demonstration vorrätig halten zu können, um auf diese Weise ein anschauliches Bild von dem fortlaufenden Entwicklungsgang der Kulturen zu erhalten.

Diesen Ansprüchen dürfte die Conservierung der Kulturen und Plattengüsse durch die Einwirkung von Formalindämpfen in so ausgezeichneter Weise Genüge leisten, dass es wohl gerechtfertigt erscheint, wenn ich die über diese Conservierungs-Methode gemachten Erfahrungen jetzt schon der Oeffentlichkeit übergebe.

Die Formalindämpfe besitzen nämlich, wie namentlich aus den sehr interessanten Mitteilungen Penzoldt's hervorgeht, eine so ausserordentliche desinficierende Kraft, dass durch ihre Wirkung nicht allein die an die Oberfläche heranragenden, sondern auch die in den tieferen Schichten gelegenen Kulturen eines Plattengusses offenbar in kürzester Zeit in ihrer Entwicklung gehemmt und schliesslich abgetötet werden. So gelingt es sehr leicht, auch von verflüssigenden Bakterienarten Plattengüsse in jedem beliebigen Entwicklungsstadium, selbst bei dichtester Durchsetzung der Gelatine, zu fixieren. Hiebei tritt unter andauernder Einwirkung der Formalindämpfe allmählich auch wieder eine völlige Erstarrung der bereits verflüssigten Teile der Gelatine ein, ohne dass jedoch der Eindruck der Verflüssigung für das Auge irgendwie verändert würde; erst durch Berührung der verflüssigten Gelatine mit einer Nadel oder durch Umkehren der Schalen kann man sich davon überzeugen, dass der verflüssigte Bezirk thatsächlich wieder erstarrt ist.

Die Kulturen in der noch starren Gelatine, und zwar nicht allein die an der Oberfläche, sondern auch die in der Tiefe gelegenen, bewahren sowohl makroskopisch als mikroskopisch vollständig ihr charakteristisches Ansehen; nur bei sehr rapid verflüssigenden Arten kann, wenn die einzelnen Kolonien bei zu weit fortgeschrittener Entwicklung schon einen umfangreicheren und tieferen Trichter bilden, innerhalb des von den Bakterien getriebenen verflüssigten Gelatinebezirkes eine Sedimentierung eintreten, wodurch die verflüssigte Gelatine unter Concentrierung der Bakterienmassen gegen die Mitte hin klar wird und so die

Kulturen an ihrem charakteristischen Ansehen einbüßen können. Man wird daher gut thun, bei solchen Arten auch die stärkeren Verdünnungen eines Plattengusses zu fixieren, bevor die einzelnen Kulturen einen Durchmesser von 6 bis 8 mm überschritten haben.

Das mikroskopische Ansehen, sowie die Färbbarkeit der Bakterien selbst zeigte auch nach wochenlanger Einwirkung der Formalindämpfe nicht die geringste Veränderung.

Geradezu überraschend schöne Resultate erhielt ich so namentlich bei der Conservierung von Choleraplatten von der dichtesten Durchsetzung bis zur stärksten Verdünnung und in jedem beliebigen Entwicklungsstadium; die fixierten Platten unterscheiden sich in Nichts von lebendem Material. Nicht minder gute Resultate wurden mit *Milzbrand*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*, *Sarcina*, sowie bei quantitativen Wasseranalysen erzielt, bei welchen ebenfalls zahlreiche verflüssigende Arten zur Entwicklung gelangten; dass auch Plattengüsse von nicht verflüssigenden Arten, wie *Bakt. coli commune*, Typhus, *Bakterium Zopfi* und anderen sich unter der Einwirkung von Formalindämpfen unverändert erhalten, bedarf wohl keiner weiteren Ausführung.

Besonders wichtig ist es aber, dass auch Reagensglas-Stichkulturen von verflüssigenden Arten sich mittelst Formalins fixieren lassen. So gelang es mir, Cholerakulturen mit dem so charakteristisch eingezogenen Verflüssigungstrichter (Luftblase), *Milzbrand* mit der charakteristischen federbartähnlichen Ausstrahlung im Impfstich bei beginnender Verflüssigung an der Oberfläche, ja selbst eine Stichkultur von Finkler'schen Spirillen mit bis zur Tiefe reichender strumpfförmiger Verflüssigung völlig unverändert zu conservieren. Bei allen Kulturen ist hiebei die verflüssigte Gelatine in für das Auge nicht wahrnehmbarer Weise wieder starr geworden, wovon man sich durch Umkehrung des Reagensglases überzeugen kann; bei der Finkler-Kultur ist allerdings auch hier in Folge von Sedimentierung die verflüssigte Gelatine wesentlich klarer geworden.

Ein weiterer Vorzug dieser Art der Conservierung ist der, dass sowohl Plattengüsse als auch Reagensglaskulturen von dem Momente an, als man sie den Formalindämpfen aussetzt, vor jeder Verunreinigung durch Luftkeime selbstverständlich geschützt sind.

Die Ausführung der Methode ist in hohem Grade einfach. Plattengüsse in Petrischalen erhalten unter den Deckel eine Ein-

lage von Filtrierpapier, auf welches man 10—15 Tropfen Formalin träufelt; hierauf bringt man die geschlossenen Schalen in eine mit stark angefeuchtetem Fliesspapier ausgekleidete, gut schliessende feuchte Kammer; in diese stellt man gleichzeitig noch ein kleines offenes Schälchen, in welches man mit Formalin angefeuchtete Watte (etwa 15 Tropfen auf 1000 ccm Rauminhalt der feuchten Kammer) legt.

Reagensglas-Stichkulturen werden mit einem lockeren Wattlepfropf versehen, welcher mit etwa 8—10 Tropfen Formalin an seinem unteren Ende angefeuchtet wird; man stellt dann die Kulturen in senkrechter Haltung in ein entsprechend hohes cylindrisches Glas, auf dessen Boden man mit Formalin angefeuchtete Watte bringt (etwa 50—60 Tropfen auf 1000 ccm Rauminhalt). Hierauf wird das Glas durch einen flach aufliegenden Deckel mittelst Vaselins luftdicht verschlossen.

Da die Formalindämpfe auf die tieferen Schichten der Gelatine doch nur langsamer einzuwirken vermögen, so ist es zweckmässig, bei sehr energisch verflüssigenden Arten die Reagensgläser nicht höher als bis zu 4 cm mit Gelatine zu füllen; es erfolgt sonst in den tieferen Schichten noch weiteres Wachstum unter Verflüssigung der Gelatine, wodurch dann die charakteristische Form der Verflüssigung gestört wird.

Besonders wichtig ist es, stets nur ganz frisches Formalin zu verwenden; namentlich schlecht verschlossenes Formalin verliert sehr bald ganz wesentlich an Wirksamkeit: nur von der Anwendung eines frischen, unzersetzten Formalins sind aber gute Resultate zu erwarten. Aus diesem Grunde mögen wohl auch Buchner und Segall¹⁾ bei der Prüfung des Desinfektionsvermögens einer 10proc. Formaldehydlösung, welche ja nur 4fach verdünntem Formalin gleichkommt, nur unbefriedigende Resultate erzielt haben.

Es ist daher auch zweckmässig, namentlich bei der Conservierung von Reagensglas-Stichkulturen, anfangs täglich einmal noch einige Tropfen frischen Formalins in die feuchte Kammer zu bringen.

Ueber die Grenzen der Haltbarkeit der mit Formalin fixierten Kulturen vermag ich bei der Kürze der Beobachtungsdauer noch

1) Münchener med. Wochenschr. 1889. No. 29.

keine bestimmten Angaben zu machen. Jedenfalls lassen sich Plattengüsse und Stichkulturen von Cholera, Milzbrand, Staphylococcus u. s. w. in jedem beliebigen Stadium viele Monate makroskopisch und mikroskopisch unverändert conservieren und es ist, da bei dem Verfahren eine Abtötung der Bakterien erfolgt, wahrscheinlich, dass man bei geeignetem Verschluss sowohl Plattengüsse als auch Stichkulturen wird dauernd conservieren können.

Doch ist nach meiner Ansicht auf eine derartige dauernde Conservierung an und für sich weniger Gewicht zu legen, ich halte es für richtiger, auch in den theoretischen Vorlesungen über Bakteriologie sich nicht an einmal vorhandene stereotype Schablonen zu halten, sondern auch hier stets immer wieder mit dem lebenden Material in Verbindung mit dem Experiment zu arbeiten. Dabei genügt es schon, Plattengüsse und Kulturen auf wenige Wochen unverändert fixieren zu können; man wird dann leicht in der Lage sein, für jeden Vortrag die jeweilig erforderlichen Plattengüsse und Kulturen in den verschiedenen charakteristischen Entwicklungsstadien auch sicher zur Verfügung zu haben, ohne mehr von Witterungsverhältnissen und sonstigen Zufälligkeiten abhängig zu sein. In diesem Sinne aber kann das Formalin jetzt schon als ein ganz vorzügliches Hilfsmittel für den bakteriologischen Unterricht bezeichnet werden.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Physikalisch-Medizinischen Sozietät zu Erlangen](#)

Jahr/Year: 1892-1894

Band/Volume: [26](#)

Autor(en)/Author(s): Hauser Gustav

Artikel/Article: [Ueber Verwendung des Formalins zur Conservirung von Bakterienkulturen. 106-110](#)