

Partien desselben Schnittes sind die Markzellen, im Verhältniss zu den rothen Blutkörperchen, in grösserer Menge vorhanden, als in der hier gezeichneten Partie des Schnittes. (Hartnack Oc. 1, Immers. 10.)

Fig. 30. Gallertartiges Mark. Die stark atrophischen Fettzellen liegen im Innern von runden oder mehr unregelmässigen Hohlräumen. Die in den Hohlräumen befindliche Substanz, sammt der die Höhlungen einschliessenden gallertartigen Substanz, ist in Gestalt eines Netzes feiner Fibrinfäden coagulirt. An einzelnen Stellen ist das Gefüge körnig. In der Mitte des Schnittes erkennt man eine Blutbahn. (Hartnack Oc. 3, Obj. 4.)

Fig. 31. Blutkörperchenhaltige Zelle aus dem Knochenmarke des Menschen. (Hartnack Oc. 2, Obj. 10.)

Fig. 32—36. Kernhaltige rothe Blutkörperchen aus dem Knochenmark eines an perniciöser Anämie gestorbenen Kranken. (Hartnack Oc. 2, Obj. 8.)

---

## IX.

### Ueber Doppelfärbung mit Orcëin.

Von Dr. O. Israel,

Privatdocenten und Assistenten am pathologischen Institut in Berlin.

---

Nachdem Wedl die Orseille zur Färbung von Zellen und Intercellularsubstanz empfohlen (dieses Archiv Bd. 74 S. 143), wurde dieselbe von Weigert zur Färbung der Actinomykose mit Gentianaviolett zu einer Doppelfärbung verbunden (ebenda Bd. 84 S. 285 f.), die wohl unter günstigen Verhältnissen recht gute Präparate giebt; aber die Unsicherheit in der Wirkung des zur Färbung verwandten Materials, wohl eine Folge seines mannichfachen Ursprungs aus den Chromogenen einer ganzen Gruppe von Flechten, sowie die Eigenschaft der Farbe, durch Alkohol mit grosser Leichtigkeit extrahirt zu werden, haben den so brillanten Farbstoff, dem auch unter Umständen eine grosse Echtheit eigen ist, keine weitere Vorbereitung in der mikroskopischen Färbetechnik gewinnen lassen.

Die erwähnte Unsicherheit des Resultats veranlasste mich, für die Färbung der Actinomyceten nach einem Ersatz zu suchen, und ich verwende als solchen seit längerer Zeit das Orcëin ( $C_4H_7NO_6$ ), welches ich aus der Fabrik des Herrn Dr. Theodor

Schuchardt in Görlitz bezogen habe. Nach einer Mittheilung des genannten Herrn ist dasselbe ein chemisch reines Präparat und aus Orcin in der üblichen Weise mittelst Ammoniak, Essigsäure und Alkohol dargestellt, wobei die Ausbeute bald 12 g, bald 16 g aus 100 g Orcin beträgt.

Stellt man sich nun mit einem zur Lösung genügenden Zusatz von Essigsäure eine gesättigte Lösung dieses Farbstoffes her, so nimmt der Strahlenpilz nach längerem Verweilen in derselben eine dunkelbordeauxrothe Färbung an, die so haltbar ist, dass sie noch intensiv genug bleibt, wenn man die Farbe mit Alkohol derartig auszieht, dass das umgebende Gewebe ohne einen Anflug von künstlicher Färbung erscheint. Hierdurch treten die Keulen des Pilzes mit einer Schärfe hervor, wie das mit der Orseillefärbung wegen des mangelnden Contrastes nicht möglich ist. Richtet man nun sein Augenmerk auf diejenigen Durchschnitte von Pilzrasen, welche nicht tangential getroffen sind, sondern ein reiches Mycel in ihren centralen Theilen erkennen lassen, so macht sich, selbst bei einer so weit fortgesetzten Entfärbung durch Alkohol, eine mehr oder weniger tiefgreifende Blaufärbung bemerkbar. Die centralen Theile des Mycels bleiben oft ungefärbt, unterbricht man die Entfärbung früher, resp. verlangsamt sie durch sorgfältiges Auswaschen der Säure aus den der Farblösung entnommenen Schnitten, so kann man den grössten Theil des Mycels blau gefärbt erhalten. Ist dies der Fall, so zeigt auch das umgebende Gewebe eine Färbung und zwar eine meist ganz schwache rothe Farbe des Zellinhaltes und der Inter-cellularsubstanzen, daneben aber eine sehr schöne, nach dem Grade der Entfärbung von lichtblau bis dunkelblau variirende Tinction der Zellkerne, und zwar färben sich die Kerne der Epithelien mit fast gleicher Intensität, wie diejenigen in den Geweben der Bindesubstanzreihe. Man hat es völlig in der Hand, durch Abpassung der Entfärbung die Kernfärbung zu einer mehr oder weniger tiefen zu machen, und zwar sind die übrigen Gewebstheile um so rother, je tiefer blau die Kerne erscheinen. Ueberfärbte Schnitte erscheinen fast gleichmässig roth, so auch solche, welche man auf kurze Zeit in Glycerin gelegt, da dieses die blaue Farbe aus den Kernen auszieht. Man muss daher die fertigen tingirten Schnitte in Balsam aufbewahren.

Eine kleine Schwierigkeit der Methode beruht in der für die Einbettung in Balsam erforderlichen völligen Entwässerung des Präparates; wenn man zwei Portionen Alkohol in der zur Entwässerung nothwendigen Zeitdauer anwenden würde, so würde die Farbe nahezu vollständig aus den Schnitten verloren gehen. Ich bediene mich, um dies zu vermeiden, eines sehr einfachen Verfahrens, das ich schon seit Jahren bei der Färbung mit Anilinfarben für diejenigen Bakterienarten anwende, aus denen die Farbe durch Alkohol besonders leicht extrahirt wird.

Der dunkelweinroth gefärbte Schnitt wird, nachdem er in Aq. destill. abgewaschen und das überschüssige Wasser mit Fliesspapier von dem Spatel auf dem das Präparat ausgebreitet ist, fortgesogen, nur für so lange in Alcohol absolut. gebracht, bis die Kerne deutlich blau erscheinen, was meist schon nach wenigen Secunden der Fall ist. Dann wird der Schnitt schnell auf einen Objectträger gebracht und durch kräftiges Aufdrücken von dickem Fliesspapier der Alkohol entfernt, der Schnitt selber am Objectträger festgeklebt. Entfernt man den Alkohol nicht vollständig, so bleibt das Präparat leicht am Papier hängen und es sind zerbrechliche Schnitte dann für die weitere Behandlung meist verloren. Der Schnitt ist nun zwar noch nicht hinreichend wasserfrei, wird es jedoch sehr bald durch die Eintrocknung an der Luft, die man allerdings nicht so weit treiben darf, dass das Präparat sich vom Glase ablöst und zerbröckelt. Vielmehr muss man im rechten Moment ein ätherisches Oel, welches die Farbe nicht auszieht, hinzusetzen, und dieses durchdringt den Schnitt fast augenblicklich, wenn er hinreichend wasserfrei ist. Ich verwende hierzu das Cedernholzöl und zwar nehme ich bis zur Zähflüssigkeit eingedicktes Material, welches die Anwendung eines Balsams überflüssig macht, da es in kurzer Zeit vollständig verharzt. Während das gewöhnliche im Handel vorkommende Ol. lign. Cedri sehr unsauber ist, da es sich am Glase fortzieht und selbst auf die Deckgläser kommt, hat das eingedickte Oel diese Eigenschaft durchaus nicht und ist in der Handhabung viel bequemer, als irgend einer der gebräuchlichen Balsame. Derartig hergestellte Objecte, die ich seit nahezu 5 Jahren aufbewahre, haben sich vortrefflich gehalten.

Was nun die Verwendbarkeit des Orcëin zu Doppelfärbungen

betrifft, so ist dieselbe eine sehr ausgedehnte, da sich, wie die Kerne auch die meisten Mikrophyten verhalten, ohne dass allerdings ein anderes Moment, als die grosse Bequemlichkeit für dieses Färbungsverfahren bei Bakterien in Betracht kommt, weil die Gram'sche Methode mit der gänzlichen Entfärbung der Kerne ein für diese Zwecke vollkommenes Resultat liefert. Dagegen bietet die Tinction für die verschiedensten Gewebe ganz Vorzügliches. Obenan steht die Musculatur und die Haut. Alle chemisch differenten Theile der letzteren zeigen verschiedene Nuancen des Roth. Ich kann hier nur in Umrissen auf die Eigenthümlichkeiten der Färbung eingehen. Während die contractile Substanz der Muskelfasern bei richtiger Entfärbung leuchtend roth erscheint, zeigen sich die Kerne derselben ebenso wie die der Capillaren und des fibrillären Bindegewebes lichtblau. Ebenso erscheint in der Haut der verhornte Theil der Epidermis stark roth gefärbt, während das Rete Malpighi sich blasser tingirt. Noch blasser erscheint das Bindegewebe der Cutis, dunkler das elastische Material derselben. Die Epithelien der Schweissdrüsen zeigen eine relativ intensive Röthe. Dabei sind alle Kerne schön blau.

Ein besonderes Verhalten zeigt auch die amyloide Substanz, welche sich stärker, als die nicht derartig veränderten Theile der betreffenden Organe roth tingirt, etwa in gleicher Nuance, wie die contractile Substanz der Muskelfasern. Gut tingiren sich die Wucherungen des *Actinomyces musculor. suis*, jedoch viel schwächer, als die vom Rinde. Die Leberzellen und das Nervenmark nehmen nur eine schwach rothe Färbung an, während die Axencylinder sich gut roth tingiren.

Für den Ausfall der Färbung ist es ohne Belang, ob die Härtung des Organs nur durch Alkohol oder mit vorgängiger Conservirung in Müller'scher Lösung bewirkt ist.

Der beschriebenen Doppelfärbung kommt ein grosses theoretisches Interesse zu, weil sich das Orcëin als ein Pflanzenfarbstoff darstellt, der in sich die hauptsächlichsten tinctoriellen Eigenschaften der sogenannten basischen, wie der sauren Anilinfarben vereinigt und zwar eine glückliche Combination zweier Contrastfarben, welche dem Farbstoffe eine ausgedehnte Anwendung gewährleisten.

---