

Bakteriologisches Taschenbuch

Bearbeitet von

PROF. DR. HORST HABS
HYGIENE-INSTITUT
DER UNIVERSITÄT HEIDELBERG

37., unveränderte Auflage



1 9 5 6

JOHANN AMBROSIOUS BARTH / VERLAG / LEIPZIG

1. Auflage . . . 1889	19. Auflage . . . 1916
2. Auflage . . . 1891	20. Auflage . . . 1917
3. Auflage . . . 1894	21. Auflage . . . 1918
4. Auflage . . . 1898	22. Auflage . . . 1919
5. Auflage . . . 1900	23. Auflage . . . 1920
6. Auflage . . . 1901	24. Auflage . . . 1921
7. Auflage . . . 1903	25. Auflage . . . 1922
8. Auflage . . . 1904	26. Auflage . . . 1923
9. Auflage . . . 1905	27. Auflage . . . 1925
10. Auflage . . . 1906	28. Auflage . . . 1927
11. Auflage . . . 1907	29. Auflage . . . 1931
12. Auflage . . . 1908	30. Auflage . . . 1940
13. Auflage . . . 1909	31. Auflage . . . 1942
14. Auflage . . . 1910	32. Auflage . . . 1943
15. Auflage . . . 1911	33. Auflage . . . 1944
16. Auflage . . . 1912	34. Auflage . . . 1948
17. Auflage . . . 1913	35. Auflage . . . 1951
18. Auflage . . . 1914	36. Auflage . . . 1954
37. Auflage . . . 1956	

1. und 2. Aufl. herausgegeben von H. Bernheim
3. bis 26. Aufl. bearbeitet von R. Abel
27. und 28. Aufl. bearbeitet von O. Olsen
29. Aufl. bearbeitet von O. Olsen und C. Prausnitz
30. bis 37. Aufl. bearbeitet von H. Habs

Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der foto-
mechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten
Copy. 1940/1956 by Johann Ambrosius Barth, Leipzig

Printed in Germany Lizenz 285/125/23/55
Satz und Druck: Carl Marquart, Leipzig Auftr.-Nr. G 55 1101

Vorwort

Als die Bearbeitung des Bakteriologischen Taschenbuches mit der 30. Auflage von mir übernommen wurde, habe ich den Text völlig neu gestaltet. Der erste Teil enthält die allgemeine bakteriologische Methodik mit einer elementaren Darstellung der wichtigsten Untersuchungsverfahren. Im zweiten Abschnitt wird ein Überblick über das System der pathogenen Mikroorganismen in Form einer Differentialdiagnose gegeben. Es folgen dann die besonderen Untersuchungsverfahren für die einzelnen Infektionskrankheiten. Die Vorschriften für die Nährbodenküche sind herausgenommen und im Schlußabschnitt zusammengestellt worden.

Der knappe Raum zwingt zu einer Beschränkung des Stoffes und zu einer Auswahl aus der Vielzahl der Methoden und der Unzahl der Modifikationen, die weitgehend subjektiv sein muß, die sich aber außer auf eingehendes Studium des Schrifttums auf vielfache Aussprachen mit Fachgenossen und vor allem auf die Erfahrungen stützt, die die tägliche Laboratoriumspraxis vermittelt. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, diejenigen Verfahren darzustellen, die für die klinisch-bakteriologische Diagnose von Bedeutung sind. Aber auch für das Seuchenlaboratorium und das Medizinaluntersuchungsamt wird ein handliches Hilfsbüchlein willkommen sein.

In seiner neuen Form hat das Taschenbuch bereits wieder in 6 Auflagen seiner alten Aufgabe gedient, den Medizinstudierenden Grundlage und Erweiterung des bakteriologisch-serologischen Kurses zu bieten; daneben hat es sich für den Unterricht an den Lehranstalten für medizinisch-technische Assistentinnen eingeführt. Von Auflage zu Auflage habe ich mich bemüht, allen Fortschritten der Methodik Rechnung zu tragen.

Mein Dank gilt außer der Verlagsbuchhandlung Johann Ambrosius Barth vor allem meinen Mitarbeitern am Hygienischen Institut der Universität Heidelberg.

Horst Habs

Heidelberg, im Mai 1953

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Allgemeine bakteriologische Technik . . .	1
1. Vorsichtsmaßregeln im bakteriologischen Laboratorium	1
2. Die mikroskopische Untersuchung	4
Färbeverfahren	10
Virusfärbungen	16
Schnittpräparate	17
3. Die kulturelle Untersuchung	21
Technik der Übertragung und Züchtung	23
Anaerobenzüchtung	26
Prüfung von Stoffwechselleistungen	28
4. Die serologische Untersuchung	33
Toxin-Antitoxinreaktion	34
Präzipitinreaktion	34
Agglutinationsreaktion	35
Komplementbindungsreaktion	40
5. Der Tierversuch	42
B. Bakteriologische Differentialdiagnose . . .	47
1. Vorbemerkungen	47
Klassifizierung	47
Variabilität	52
Bestimmung von Bakterienreinkulturen	53
2. Die gramnegativen Kokken	55
3. Die Gruppe der grampositiven Mikrokokken	57
4. Die Streptokokken	59
5. Die Pneumokokken	63
6. Die aeroben Sporenbildner	64
7. Die anaeroben Sporenbildner	65
8. Die Gruppe der Strahlenpilze	68
9. Die säurefesten Stäbchen	69
10. Die Gruppe der Diphtheriebakterien	71
11. Die Schweinerotlaufbakterien	73

	Seite
12. Die Milchsäurebakterien	73
13. Die Gruppe der gramnegativen farbstoffbildenden Bakterien	74
14. Die Proteusbakterien	75
15. Die Kapselbakterien	75
16. Die Gruppe der normalen gramnegativen Darm- bakterien	76
17. Die Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe	77
18. Die Gruppe der Ruhrbakterien	82
19. Die Gruppe der Rotzbakterien	84
20. Die Gruppe der bipolaren Stäbchen	84
21. Die Melitensis-Abortus-Gruppe	85
22. Die Gruppe der hämoglobinophilen und ver- wandten Bakterien	86
23. Die Gruppe der fusiformen Bakterien	87
24. Die Gruppe der Schraubendbakterien	88
25. Die Spirochäten	89
26. Die Bartonellen	91
27. Die Rickettsien	91
28. Die Virusarten	91
29. Die Bakteriophagen	93
30. Übersicht über die pathogenen Protozoen	94
31. Übersicht über wichtige Pilze	97

C. Spezielle Untersuchungsverfahren	101
1. Entzündung und Eiterung. Sepsis	101
2. Aktinomykose	106
3. Schweinerotlauf	108
4. Milzbrand	108
5. Gasödem	109
6. Tetanus	110
7. Angina und Diphtherie. Soor	110
8. Meningitis	113
9. Akute Infektionen der Luftwege. Pneumonie. Grippe. Keuchhusten	115
10. Psittakose	117
11. Tuberkulose	118
12. Lepra	121
13. Rotz	121
14. Typhus und Paratyphus	122

	Seite
15. Akute Gastroenteritis	128
16. Ruhr	129
17. Botulismus	132
18. Cholera asiatica	133
19. Leptospirosen	134
20. Brucellosis	136
21. Tularämie	137
22. Pest	138
23. Rattenbißkrankheit	138
24. Fleckfieber	139
25. Rückfallfieber	140
26. Malaria	140
27. Leishmaniosen	141
28. Toxoplasmose	142
29. Pocken	142
30. Maul- und Klauenseuche	144
31. Tollwut	144
32. Gonorrhöe	146
33. Ulcus molle	147
34. Syphilis	144
35. Serumdiagnose der Syphilis	149
36. Dermatomykosen	159
37. Nachweis von Wurmerkrankungen	159
38. Bakteriologische Wasseruntersuchung	161
39. Prüfung der Resistenz von Bakterien gegen Anti- biotika und Sulfonamide	164

D. Arbeitsregeln für die Nährbodenküche	166
1. Die Herstellung von Nährlösungen	166
2. Die Herstellung von Farblösungen	192
3. Reinigungsarbeiten	199
Allgemeines Sachverzeichnis	201
Verzeichnis der Mikroorganismen	205
Verzeichnis der Färbungen und Farblösungen	207
Verzeichnis der Nährböden	208

A.

Allgemeine bakteriologische Technik

1. Vorsichtsmaßregeln im bakteriologischen Laboratorium

Ein jeder, der mit **Krankheitserregern** arbeitet, setzt damit sich selbst und seine Arbeitskameraden der Gefahr der Infektion aus, er gefährdet u.U. sogar weitere Kreise und kann das Auftreten von Massenerkrankungen verursachen. Es sind deshalb gesetzliche Vorschriften über Arbeiten und Verkehr mit Krankheitserregern erforderlich geworden. Sie sind zusammengefaßt in der Bekanntmachung des früheren Reichskanzlers betr. Vorschriften über Krankheitserreger vom 21. 11. 1917 und Ergänzungen vom 17. 9. 1921, 13. 7. 1932, 15. 12. 1933, 16. 3. 1936. Danach ist das Arbeiten mit Material, das Erreger der Cholera, der Pest, der Tularämie, des Rotzes, der Maul- und Klauenseuche oder der Schweinepest enthält, oder mit solchen Erregern selbst an eine besondere Erlaubnis der Landeszentralbehörde gebunden, die nur unter bestimmten Bedingungen erteilt wird. Es ist im einzelnen festgelegt, welche Anforderungen an die Arbeitsräume und das Personal zu stellen und welche Schutzmaßnahmen einzuhalten sind. Der Erlaubnis bedarf es nicht für Untersuchungen, welche der behandelnde Arzt oder Tierarzt zu ausschließlich diagnostischen Zwecken in seiner Praxis bis zur Feststellung der Krankheitsart nach den üblichen diagnostisch-bakteriologischen Untersuchungsverfahren vornimmt. Das Arbeiten mit anderen Krankheitserregern setzt eine Erlaubnis der zuständigen Polizeibehörde, bei Ärzten und Tierärzten nur eine Anzeige an diese voraus. Entsprechende Vorschriften gelten für die Einfuhr und den Handel mit Krankheitserregern. — Nach § 6 müssen bei allen Arbeiten mit Krankheitserregern diese so aufbewahrt werden, daß

sie Unberufenen unzugänglich sind. Auch sonst sind alle Vorkehrungen zu treffen, um eine Verschleppung der Krankheitserreger, insbesondere durch Versuchstiere, zu verhüten. Alles infektiöse Material ist, sobald es entbehrlich geworden ist, derart zu beseitigen, daß jede Verschleppung der Krankheitskeime ausgeschlossen wird. Instrumente, Gefäße usw., die mit infektiösen Gegenständen in Berührung waren, sind sorgfältig zu desinfizieren.

Die §§ 9—16 enthalten Vorschriften über die Versendung von Krankheitserregern. Diesen Bestimmungen wird bei der Einsendung von Untersuchungsmaterial ausreichend Rechnung getragen, wenn die von den Medizinaluntersuchungsämtern abgegebenen Versandgefäße und Meldekarten zweckentsprechend benutzt werden. Verschärfte Bestimmungen bestehen für die Versendung von Erregern der Cholera, Pest, Tularämie, Rotz, Maul- und Klauenseuche und Schweinepest. Diese Sendungen sind als dringendes Paket aufzugeben und dem Empfänger telegraphisch anzukündigen.

Dem Schutze der im Laboratorium Tätigen dienen die Unfallverhütungsvorschriften der Abteilungen „Arbeit“ bzw. der Berufsgenossenschaft. Da zahlreiche Infektionen auf Unkenntnis oder leichtsinniger Nichtbeachtung einfacher Vorsichtsmaßregeln beruhen, ist besonderer Wert auf die Belehrung und Überwachung des Personals (auch der Hilfskräfte für Reinigungsarbeiten!) zu legen. Voraussetzung jeder Laboratoriumsarbeit ist Sauberkeit und Ordnung. Es ist selbstverständlich, daß Essen, Trinken, Rauchen usw. im Arbeitsraum verboten sind, daß eine waschbare Schutzkleidung getragen wird, daß Einrichtungen zum Waschen und Desinfizieren nicht nur bereitstehen, sondern auch benutzt werden.

Besonders zahlreiche Laboratoriumsinfektionen sind auf unzumutbares Pipettieren zurückzuführen. Das Aufsaugen infektiöser Flüssigkeiten darf deshalb ebenso wie das von ätzenden und giftigen nur mit Sicherheitspipetten vorgenommen werden, die einen Übertritt der Flüssigkeit in den Mund ausschließen. Auch die Verwendung von Sicherheitspipetten bietet aber keinen vollen Infektionsschutz, da Keime, die an den Finger gelangt sind, von hier an die obere Pipettenöffnung und dann an den Mund kommen können. Es sind deshalb unbedingt Hilfsmittel vorzuziehen, die das Aufsaugen mit dem Mund überhaupt ausschalten. Empfehlenswert ist der „Peleus-Ball“; für reihenweises Pipettieren der Pipettierapparat nach Hohn.

Eine besondere Infektionsgefahr geht von den Versuchstieren

aus. Eine Häufung von Laboratoriumsinfektionen an Weilscher Krankheit hat Sondervorschriften erforderlich gemacht (RdErl. des RuPrMdl. vom 22. 8. 1936), nach denen bei allen Arbeiten mit Erregern der Weilschen Krankheit und bei allen Versuchen an Ratten und an Hunden Schutzbrillen und Gummihandschuhe zu tragen sind. Heilserum gegen die Weilsche Krankheit ist vorrätig zu halten.

Desinfektion der Hände nach bakteriologischem Arbeiten erfolgt durch ausgiebiges Waschen in Sagrotan-, Chloramin-, Zephirol- oder einer anderen gleichwertigen Lösung. Anschließend wird mit Wasser und Seife gewaschen. Bei Keimverstreuerungen auf Tische usw. wird eine Keimabtötung durch Übergießen mit einem Desinfektionsmittel oder durch Bedecken mit einem mit Desinfektionsmittel getränkten Fließpapier, auch durch Abflammen mit Bunsenbrenner (aber nicht durch Abbrennen von darübergegossenem Alkohol) vorgenommen.

In jedem Laboratorium muß sich eine Merktafel über „Erste Hilfe bei Laboratoriumsinfektionen“ und ein „Erste-Hilfe-Schrank“ befinden. Dieser enthält etwa 1 l 10/100ige Lösung von Hydrargyrum oxycyanatum, 10 g Oxycyanatvaseline (10/100ig), 10 g Jodtinktur, 20 g Lugolsche Lösung, 2 ccm rauchende Salpetersäure, 1 l 0,25%ige Kaliumpermanganatlösung, 50 g Carbo medicinalis, Acidol-Pepsin-Tabletten, 50 g Fleischextrakt, ferner Glasstäbe und Augenpipetten, Verbandmaterial.

Ist Material in den Mund gelangt: Nicht schlucken! Mit Kaliumpermanganatlösung spülen und gurgeln; später Brot kauen und ausspeien, dann 2—3 Acidol-Pepsin-Tabletten einnehmen. Ist bereits geschluckt worden: 1/2 Teelöffel Fleischextrakt im Mund zergehen lassen und schlucken. Anschließend Acidol-Pepsin-Tabletten einnehmen. Bei Infektion der Augenbindehäute: Ausspülen mit Oxycyanatlösung, Einstreichen von Oxycyanat salbe, Augenarzt aufsuchen! Bei oberflächlichen Verletzungen der Haut: Jodtinktur, dann abspülen mit Desinfektionslösung, erneut Jodtinktur. Bei Infektion von Wunden mit besonders bedenklichem Material sofort mit rauchender Salpetersäure ätzen! Chirurgische Behandlung (Wundexzision) erforderlich. — Gegebenenfalls prophylaktische Anwendung von Sulfonamiden bzw. Antibioticis.

Laboratoriumsinfektionen sind als Unfälle bzw. als Berufskrankheiten im Sinne der Dritten Verordnung über Ausdehnung der Unfallversicherung auf Berufskrankheiten vom 16. 12. 1936 anzusehen. Es sind dementsprechend die vorgesehenen Anzeigen zu erstatten.

Unfallverhütungsvorschriften sind auch zu beachten beim Bedienen von Zentrifugen (gleichmäßig belasten! Deckel schließen! auslaufen lassen!), von Autoklaven (Verschluß nicht vorzeitig öffnen!), allen gasbeheizten Apparaten (erst Stichflamme anzünden! Falls nicht vorhanden, Gas vor dem Anzünden nicht lange ausströmen lassen!).

2. Die mikroskopische Untersuchung

Das diagnostisch-bakteriologische Arbeiten erfordert meist etwa 500fache Vergrößerung. Dementsprechend werden bei Verwendung eines Okulars mit 5facher Eigenvergrößerung die schwächeren Trockensysteme (10fach und 45fach) außer zur Untersuchung der Kolonieförmigen nur zur Orientierung in Schnittpräparaten benutzt. Die Betrachtung der Bakterien erfolgt mit Ölimmersionen von etwa 100facher Eigenvergrößerung (num. Ap. 1,25—1,30). Stärkere Okulare (10fach und 15fach) werden nur ausnahmsweise verwendet. Für die üblichen Untersuchungen genügen Huygenssche Okulare und achromatische Systeme. Das Mikroskop muß mit einem geeigneten Beleuchtungsapparat (Abbescher Kondensor, num. Ap. 1,2), ausgestattet sein. Ein fester viereckiger Objektisch genügt meist; er soll so groß sein, daß auch Kulturschalen mikroskopisch betrachtet werden können. Über geeignete Mikroskope vgl. die Kataloge der Optischen Werke. Vor Beginn des Mikroskopierens überzeuge man sich, daß der Tubus zur vorgeschriebenen Länge ausgezogen ist, daß sich die Oberfläche des Kondensors unmittelbar unterhalb des Objektisches befindet, daß der Einstellknopf der Irisblende gut zugänglich und die Blende völlig geöffnet ist. Die Einstellung auf die Lichtquelle erfolgt unter Einschaltung eines der schwächeren Objektive. (Macht die Einstellung Schwierigkeiten, so kann sie zunächst bei herausgenommenem Okular vorgenommen werden.) Bei Tageslicht wird unter Verwendung des Planspiegels auf eine weiße Fläche (Wolke) eingestellt. Erscheint in der Bildebene ein störender Gegenstand, z. B. ein Baum, so muß die Kondensorstellung etwas geändert werden. Als künstliche Lichtquelle kommen in erster Linie Spezial-Mikroskopierlampen in Betracht, bei einfachen Lichtquellen werden Glühlampen von 25 Watt verwendet. Durch Einschalten einer Blauscheibe oder eines mit Kupferlösung gefüllten Kolbens (0,5 g Kupfersulfat werden in 1 l dest. Wasser gelöst, dann werden 10 ccm 25%igen

Ammoniaks zugefügt) in den Strahlengang kann weißes Licht erzielt werden. Durch Verwendung des Hohlspiegels werden die aus der Nähe kommenden divergierenden Strahlen gesammelt. Bei der Kombination Hohlspiegel + Kondensator kann kein störendes Bild der Lichtquelle auftreten. Gefärbte Präparate erfordern möglichst viel Licht, also volle Wirkung des hochgestellten Kondensators bei offener Blende. Das Strukturbild der ungefärbten Präparate tritt dagegen durch Einengen der Aperturblende hervor; die Kondensatorwirkung kann durch Senken des Beleuchtungsapparates eingeschränkt werden.

Soll die Ölimmersion angewendet werden, so wird auf das zu betrachtende Präparat ein Tröpfchen eingedicktes Zedernholzöl (Brechungsindex 1,515), als Austauschstoff statt dessen auch Immersol (Dr. G. Grübler & Co.) bzw. Anisol, gebracht. Mittels des Grobtriebes wird der Tubus gesenkt, bis die Frontlinse reichlich in das Öl eintaucht. Dann erst blickt man in das Okular, erfaßt mit der einen Hand den Objektträger, mit der anderen den Einstellknopf der Feinbewegung. Mit dieser wird der Tubus weiter gesenkt, bis das Bild des Objekts sichtbar wird. — Der Bildabstand der Ölimmersion beträgt nur 0,1 mm. Um eine Beschädigung der Frontlinse zu vermeiden, wird das Präparat während der Einstellung leicht bewegt; eine Hemmung der Beweglichkeit zeigt an, daß der Tubus bereits zu tief gesenkt ist. Für den Anfänger ist es zweckmäßig, zunächst unter seitlicher Beobachtung den Tubus bis fast zum Anschlag auf das Präparat zu senken. Beim Einblicken in das Mikroskop wird der Tubus dann mittels des Feintriebes ausschließlich nach oben bewegt.

Nach dem ersten Einstellen des Bildes wird die Beleuchtung korrigiert. Beim Durchmustern bleibt stets eine Hand am Objektträger, die andere am Triebknopf. Soll das Präparat wieder entfernt werden, so wird zuerst der Tubus gehoben. — Nach Gebrauch wird die Frontlinse mit einem weichen Leinenläppchen oder Josephspapier gereinigt. Eingetrocknetes Öl wird mit einem mit Xylol getränktem Pinsel oder einem Benzinläppchen entfernt. Während der Aufbewahrung wird der Tubus gesenkt: zwischen Kondensator und Objektiv wird etwas Fließpapier gelegt.

Ungefärbte Präparate werden angefertigt, indem ein Tropfen des flüssigen Materials auf die Mitte des Objektträgers gebracht wird. Ein Deckgläschen wird mit einer Kante neben dem Tropfen aufgesetzt und dann auf diesen gekippt, so daß keine Luftblasen auftreten. Derartige Präparate haben den Nachteil, daß sie schnell austrocknen, daß infolge der auftretenden Strö-

mungen die Eigenbewegung der Bakterien schwer zu beurteilen ist und daß Mikroskop und Hände leicht infiziert werden können. Zur Untersuchung von Bakterienkulturen wird deshalb der „**hängende Tropfen**“ verwendet. Das Untersuchungsmaterial befindet sich hierbei an der Unterseite eines Deckglases frei hängend in einer feuchten Kammer, die dadurch gebildet wird, daß das Deckgläschen über dem mit Vaseline umrandeten Ausschliff eines hohlgeschliffenen Objektträgers aufliegt.

Anfertigung: Ein Deckglas wird auf eine Unterlage von Filtrierpapier gelegt; auf seine Mitte wird ein kleines flaches, scharf begrenztes Tröpfchen des flüssigen Materials, das nicht zu bakterienreich sein darf, mit der ausgeglühten Platinöse gebracht. (Sollen Kulturen von festen Nährböden untersucht werden, so wird der Tropfen mit Bouillon angelegt und eine Nadelspitze Material eingetragen.) Ein hohlgeschliffener Objektträger, der durch Umranden des Ausschliffs mit etwas Vaseline vorbereitet ist, wird leicht erwärmt, mit dem Ausschliff über das Deckglas gelegt und angedrückt. Dann wird der Objektträger mit dem anhaftenden Deckglas schnell umgedreht. Der Tropfen muß in der Mitte des Deckglases hängen, darf den Objektträger nicht berühren; der Vaselining muß dicht schließen. — Zur Untersuchung wird der hängende Tropfen mit schwachem Objektiv bei enger Blende so eingestellt, daß der Rand durch die Mitte des Gesichtsfeldes zieht. Dann wird der Tubus gehoben, die Ölimmersion eingeschaltet und das Deckglas mit einem Tropfen Öl beschickt, ohne daß der Objektträger verschoben wird. — Das Objektiv wird nun bis fast zum Berühren des Deckglases gesenkt. Beim Einblick in das Okular wird der Tropfenrand als unscharfes Band leicht wiedergefunden. Die zum Tropfen gehörende Fläche erscheint gleichmäßig hell, die freie Deckglasfläche mit einer netzartigen Zeichnung von Wasserdampfniederschlägen versehen. Die Blende wird jetzt etwas geöffnet und der Tropfenrand scharf eingestellt. — Bakterien sind nur dann als beweglich anzusprechen, wenn sie Ortsveränderungen unter Wechsel der Richtung ausführen. Hin- und Herzittern am Platz ist durch Brownsche Molekularbewegung bedingt. — Nach der Untersuchung wird das Deckglas mit einer Pinzette so verschoben, daß eine Ecke über den Objektträger hervorragt. Es kann dann abgehoben und in eine Desinfektionslösung eingelegt werden, ohne daß der Objektträger mit dem Material in Berührung kommt.

Durch **Dunkelfeldbeleuchtung** können Struktureinheiten sichtbar gemacht werden, die nur geringe Differenzen in der

Lichtbrechung aufweisen. Der Strahlengang wird derart geführt, daß das direkte Licht ganz aus dem Raumwinkel der Objektivapertur ferngehalten wird, so daß in das Objektiv nur die vom Objekt abgebeugten Strahlen gelangen. Dessen Konturen erscheinen dann helleuchtend auf schwarzem Untergrund. — Es ist eine intensive Beleuchtung erforderlich. Der Hellfeldkondensator wird gegen einen Dunkelfeldkondensator ausgetauscht. Die num. Apertur des Objektivs wird durch eine Blende verringert; besser werden Spezialobjektive verwendet.

Das Präparat wird als Objektträger-Deckglas-Präparat in möglichst dünner Schicht, frei von Luftblasen, angefertigt; es darf nicht zu viel Material enthalten. Die Objektträger müssen von vorgeschriebener Dicke (1 mm) und ebenso wie die Deckgläser einwandfrei gereinigt sein. Auf die Oberfläche des Kondensators wird ein Öltröpfchen gebracht. Der Kondensator wird etwas gesenkt, der vorbereitete Objektträger auf den Objektstisch gelegt und der Kondensator wieder gehoben, bis durch das Öl eine blasenfreie optische Verbindung zwischen Kondensator und Objektträger hergestellt ist. Die Mikroskopierlampe wird so aufgestellt, daß der Planspiegel in seiner ganzen Fläche beleuchtet ist, aber kein Licht über ihn herausfällt. Die Blende bleibt ganz geöffnet. Durch Drehen des Spiegels und Bewegen des Kondensators wird die Beleuchtung so reguliert, daß am Deckglas ein kreisrunder Lichtfleck aufleuchtet. Nach Aufbringen eines Tropfen Öls auf das Deckglas wird in der gewohnten Weise eingestellt. Erscheinen die Bakterien nicht hellaufleuchtend auf dunklem Grunde, so muß die Spiegel- und Kondensatorstellung, gegebenenfalls auch die der Objektivblende, reguliert werden. — Vor dem Entfernen des Objektträgers muß das Objektiv gehoben und der Kondensator gesenkt werden.

Das Tuscheverfahren ist eine besondere Art der Negativdarstellung von Bakterien: Ein Tropfen chinesische Tusche (n. Burri) wird auf den Objektträger in die Nähe einer Schmalseite gebracht, daneben wird ein Tropfen des (gegebenenfalls verdünnten) Materials gebracht, beides wird vermischt und mit dem Deckglas wie ein Blutpräparat (s. unten) ausgestrichen. Nach dem Trocknen kann das Präparat ohne weitere Vorbereitung mit der Ölimmersion betrachtet werden. Die Bakterien erscheinen als helle Aussparung auf dunklem Untergrund.

Ausstrichpräparate für Färbungen werden in folgender Weise hergestellt: Von dem zu untersuchenden Material wird mit der ausgeglühten und wieder abgekühlten Platinöse ein Tröpfchen

auf die Mitte eines Objektträgers gebracht, zu einer feinen Schicht ausgebreitet und durch Schwenken in der Luft möglichst schnell, aber nicht über der Flamme, getrocknet. — Bei dichtem Material (Bakterienkultur) wird zuerst mit der Öse ein Tröpfchen Leitungswasser auf den Objektträger gebracht und dann eine Nadelspitze Material eingetragen und verrieben. Von Organen können Präparate angefertigt werden, indem eine Schnittfläche auf dem Objektträger abgetupft wird. Je zarter das Präparat ist, um so besser gelingt die Färbung! — Die Präparatseite wird durch einen Strich mit Schreibdiamant oder Fettstift gekennzeichnet, die Präparatstelle auf der Unterseite eingekreist. Präparate können auch auf Deckgläsern angefertigt werden; diese werden dann während der weiteren Behandlung in einer Cornetschen Pinzette, die in der Ruhelage geschlossen ist und sich auf Druck öffnet, gehalten. Deckglaspräparate kommen vor allem für Klatschpräparate von Bakterienkulturen in Betracht, um die Lagerung der Keime im Kolonieverband mikroskopisch zu untersuchen. Hierzu wird das Deckglas auf eine Kolonie gelegt, leicht angedrückt, mit einer Pinzette erfaßt und senkrecht abgehoben.

Blutausstriche werden folgendermaßen angefertigt: Ein kleiner Tropfen Blut wird in die Nähe der Schmalseite eines auf den Tisch gelegten Objektträgers gebracht. Dann wird ein Deckglas oder ein geschliffener Objektträger, dessen eine Schmalseite durch Abschneiden einer Ecke etwas verkürzt wurde, mit einer Kante unmittelbar zentral von dem Tropfen auf den Objektträger aufgesetzt, nach außen bis zu einem Winkel von etwa 45° geneigt und etwas zurückgezogen, bis sich der Tropfen längs der Kante des Deckglases ausbreitet. Wird jetzt das Deckglas unter leichtem Druck in einem gleichmäßigen Zug nach der freien Seite des Objektträgers geschoben, so zieht es den Blutstropfen hinter sich her und breitet ihn zu einer feinen Schicht aus. — Der sog. „Dicke Tropfen“ zur Untersuchung auf spärliche Protozoen und Spirochäten wird angefertigt, indem ein Tropfen Blut auf den Objektträger gebracht und auf einer Fläche von etwa 1,5 cm Durchmesser ausgebreitet wird. Der Tropfen muß dann völlig antrocknen (mindestens 2 Std., vor Staub und Fliegen schützen).

Die Ausstrichpräparate werden vor der Färbung fixiert. Für die meisten einfachen Bakterienfärbungen genügt das Fixieren durch Hitze. Die Objektträger werden, nachdem die Präparate völlig lufttrocken sind, so erfaßt, daß die Schichtseite oben ist, und dann dreimal langsam durch die Flamme gezogen, ohne daß in dieser verweilt wird. Schonender ist die Fixierung in Alkohol,

die für Blutausstriche ausschließlich in Betracht kommt, aber auch für Gewebsausstriche usw. zweckmäßig ist. Die luftgetrocknenen Präparate werden 15 Min. mit absol. Alkohol oder mit Alkohol-Äther (zu gleichen Teilen) oder 3 Min. mit Methylalkohol bedeckt. — Verfahren der Feuchtfixierung kommen nur für Darstellung empfindlicher Strukturen, die bereits durch das Trocknen leiden, in Betracht. (Vgl. z. B. S. 131.)

Die fixierten Präparate werden auf eine Färbekbank (z. B. einen U-förmig gebogenen, über eine Glaswanne von etwa 25 cm Durchmesser gelegten Glasstab) gelegt, dann wird die Farblösung aufgebracht. Diese muß die Präparatstelle völlig bedecken und darf während der Einwirkung nicht eintrocknen. Nach der für die einzelne Färbung vorgeschriebenen Zeit werden die Präparate kurz mit fließendem Wasser abgespült, zwischen mehreren Lagen Fließpapier unter leichtem Andrücken desselben (nicht wischen!) vorgetrocknet und an der Luft (oder hoch über der Sparflamme) völlig getrocknet. Das so vorbereitete Präparat wird mit der Ölimmersion eingestellt, indem ohne Zwischenschalten eines Deckglases ein Tropfen Öl auf den Objektträger gebracht wird. — Soll das Objekt aufbewahrt werden, so wird das Öl durch vorsichtiges Abwischen mit Xylol oder durch Einlegen in Äther entfernt. Wenn das Präparat öfters besichtigt wird, so wird es besser mit einem Deckglas versehen, das mit Zedernöl, neutralem Kanadabalsam oder „Caedax“ (Dr. K. Hollborn & Söhne) aufgeklebt wird. Ist das Präparat als Deckglaspräparat angefertigt worden, so wird dieses mit der Schichtseite nach unten auf einen Objektträger aufgeklebt. Etwa hervorquellender Balsam oder Öl wird mit Xylol entfernt.

Eine Sonderstellung nimmt die **Fluoreszenzmikroskopie** ein. Die Wahrnehmbarmachung erfolgt durch die nach Behandlung mit einem geeigneten Farbstoff („Fluorochrom“) bei Bestrahlung mit unsichtbarem Ultraviolett auftretende sekundäre Fluoreszenz. Als Lichtquelle dient eine Speziallampe, die reichlich kurzwellige Strahlen liefert. Das sichtbare Licht der Lampe wird durch ein Filter abgefangen, so daß in das mikroskopische Präparat nur unsichtbares Ultraviolett gelangt. In dem mit dem Fluorochrom behandelten Präparat werden die Objekte durch die Ultraviolettstrahlung zur Fluoreszenz angeregt. Das dabei entstehende sichtbare Licht gelangt durch die Optik des Mikroskops in das Auge des Beobachters, während die Reste der Ultraviolettstrahlung durch ein auf das Okular aufgesetztes Okularsperrfilter zurückgehalten werden.

Färbeverfahren

(Vorschriften für Farblösungen vgl. S. 192)

Für die einfache Darstellung von Mikroorganismen dienen meist wässrige Lösungen basischer Anilinfarben, die gleichzeitig die Zellkerne tierischer Gewebe intensiv, den Zelleib schwach färben. Die Bakterienfärbung in Ausstrichpräparaten gelingt desto besser, je dünner der Ausstrich angefertigt und je schonender die Fixierung erfolgt ist. Sie wird besser, wenn man mit verdünnten Lösungen längere Zeit, als wenn man mit konzentrierten nur kurz färbt. Durch Erwärmen kann leichteres Eindringen des Farbstoffes erreicht werden. — Statt der frisch zu bereitenden einfachen wässrigen Farblösungen (Farbstoff in Überschuß in dest. Wasser einbringen, kräftig schütteln, nach mehrstündigem Stehen abfiltrieren) wird meist von alkoholischen Stammlösungen ausgegangen (Vorschrift Nr. 101). In Notfällen kann mit dem Tintenstift gefärbt werden: Auf den Objektträger wird neben das fixierte Präparat ein größerer Tropfen Wasser gebracht und in diesen mit der Spitze eines Tintenstiftes Farbstoff eingerieben, bis eine violette Farblösung entstanden ist. Diese wird über das Präparat ausgebreitet.

Die gebräuchlichsten Farblösungen für Bakterienfärbungen sind Methylenblaulösung, die in zellhaltigen Ausstrichpräparaten sehr klare strukturreiche Bilder liefert und nicht leicht überfärbt (Färbedauer 5 Min.; nicht erwärmen), von der aber manche Bakterienarten nur schwach gefärbt werden und die nicht für Dauerpräparate geeignet ist, Fuchsinlösung, die die Bakterienkonturen besser darstellt, und Gentianaviolett- bzw. Methylviolettlösung, die zum Überfärben und zu Niederschlägen in eiweißreichem Material neigen, aber auch schwach färbbare Mikroorganismen, zum Beispiel Mundspirochäten, gut darstellen. — Intensivere Färbung wird durch verstärkte Farblösungen erreicht. Statt der wässrig-alkoholischen Methylenblaulösung wird meist die alkalische nach Löffler (Vorschr. Nr. 102) (Färbedauer 2—5 Min.) verwendet, die vor allem nach längerem Stehen (Rotstichigwerden) kontrastreiche Bilder liefert; statt der Fuchsinlösung wird verdünnte Karbofuchsinlösung (Vorschr. Nr. 110a) (etwa 1 Min.) angewendet. Die Färbung mit dieser Lösung ist für eine allgemeine Orientierung in bakteriologischen Ausstrichpräparaten am meisten geeignet und kann als einfache Universalfärbung angesehen werden. Als einfache Färbung für die Darstellung mit Protozoen, insbesondere in Blutaustriechen,