

Из Факультетской Дерматологической клиники Казанского Университета
(директор — профессор В. Ф. Бургдорф).

К методике окрашивания гонококков Neisser'a.

Ординатора клиники Н. П. Крикошеева.

Уже вскоре после появления в свет первого сообщения Neisser'a о гонококке, как возбудителе триппера, против этого учения выступил целый ряд авторов (Krause, Hirschberg, Ecklund, Gama Pinto, Sternberg, Lustgarten, Hagner, Fränkel и др.) с полным отрицанием вирулентности и специфичности данного микроорганизма¹). Причиною возникшего отсюда спора между Neisser'ом и названными авторами отчасти являлось то обстоятельство, что тогда не умели красить гонококков, не было такого способа их обнаружения, который дифференцировал бы их от других, похожих на них, микроорганизмов, встречающихся в здоровой уретре мужчин, во влагалище женщин, в полости рта и пр.

Только в 1886 г., когда Roux²) предложил для нахождения гонококков в мазках из выделений уретры способ Gram'a, и когда Finger³), Allen³) и Wendt³), в 1887 году, признали за этим способом важное диагностическое значение, сомнения противников Neisser'a стали рассеиваться, и гонококки получили постепенно общее признание, как возбудители трипперной заразы.

В настоящее время свойство гонококков обесцвечиваться по Gram'u и окрашиваться при дополнительном окрашивании в тот или иной цвет, в зависимости от применяемой при этом краски,очно установлено и признано всеми. В силу этого обстоятельства и в силу того, что большинство других кокков и диплококков, встречающихся в мужской уретре, по Gram'u окрашивается, способ Gram'a считается теперь более или менее точным и обязательным дифференциально-диагностическим приемом в распознавании трипперного заболевания.

Как известно, процедура окраски по первоначальному методу Gram'a слагается из следующих моментов: 1) окрашивания препарата свеже-приготовленным анилин-генциана-виолетом (10 см^3 на-

сыщенного алкогольного раствора генциана-виолета на 10 см³ насыщенной анилиновой воды, состоящей из 4,0 анилинового масла и 100,0 дистиллированной воды,—по Ehrlichу), 2) обработки препарата Lugol'евским раствором (1,0 jodi puri, 2,0 kalii iodatis и 300,0 aq. destill.), 3) обесцвечивания препарата абсолютным спиртом до получения стально-серого цвета (О. И. Бронштейн⁴), 4) промывания препарата водой и дополнительного (Roux²) окрашивания его эозином, сафрапином, везувином, или сильно разбавленным фуксином (Steinschneider и Wertheim⁵).

Способ Gram'a в оригинальном его виде для окрашивания гонококков впервые стал применять Biumm⁶) в 1885 году, потом Roux²), Allen⁷) и Wendt⁸), но первое систематическое исследование в этом направлении принадлежит Steinschneider⁹) и Gaweckому⁸). Эти авторы оставляли свои препараты под действием анилинового генциана-виолета на 25—30 минут; обработка препарата Lugol'евским раствором производилась ими в течение 8—10 минут; после каждого момента окрашивания ими обязательно производилось промывание препарата водой.

В дальнейшем выяснилось, что время потребное как для окрашивания, так и для обработки препарата раствором Lugol'я, можно значительно сократить без ущерба для результатов; оказалось, далее, что промывание препарата водой после каждого момента окрашивания совершенно не требуется. Время окрашивания в способе Gram'a сокращено теперь до минимума, и техника окрашивания по этому способу в настоящее время сводится (A. Wolff и P. Mülzer⁹) к следующему: тонкие, равномерно размазанные препараты, фиксированные на пламени газовой или спиртовой горелки, окрашиваются в течение одной минуты свеже-приготовленным анилин-генциана-виолетом. Эту краску сливают и, не промывая препарата водой, обрабатывают его раствором Lugol'я в течение 2—3 минут. Далее сливают и этот раствор и затем, опять без предварительного споласкивания водой, обесцвечивают препарат абсолютным алкоголем до тех пор, пока не будет образоваться более облачка краски. Лишь после этого препарат сильно споласкивают водой. Далее он высушивается фильтровальной бумагой и дополнительно окрашивается в течение одной минуты или везувином, или разведенным ($\frac{1}{20}$) фуксином, каковые краски также смываются водой. В заключение препарат высушивается на воздухе, или фильтровальной бумагой, и рассматривается при помощи иммерсионной

системы под микроскопом. Гноеродные кокки и большая часть диплококков, встречающихся в уретре, окрашиваются при этом в темно-фиолетовый цвет, гонококки же и клеточные ядра, обесцветившиеся под влиянием спирта, воспринимают слегка-бурый или светло-красный цвет в зависимости от того, раствор какой краски применен для дополнительного окрашивания.

Способ Грама при исследовании секретов на гонококки даже в том его виде, в котором время окрашивания сокращено до минимума, является все же,—в силу необходимости в каждом случае готовить (проф. Н. В. Петров¹⁰) свежий раствор анилин-гентиана-виолета,—слишком громоздким, кропотливым и отнимающим много времени и материала. Отсюда понятно стремление авторов к дальнейшему усовершенствованию этого метода. Этим последним обстоятельством и можно объяснить обилие и разнообразие в способах окраски, которые описаны различными авторами в разное время для обнаружения гонококков. Можно утверждать, что ни для одного из известных в настоящее время патогенных микробов не предложено такого большего количества способов окраски, как для гонококков. При этом различные авторы пытались видоизменить Грамовский способ в том направлении, чтобы он отнимал меньше времени при использовании им и не требовал частого приготовления свежего анилин-гентиана-виолета. В этих видах прежде всего были сделаны попытки заменить быстро портящийся анилин-гентиана-виолет другими, не портящимися от времени, растворами.

Так, Nicolle¹¹) анилиновую воду заменил 1% раствором карболовой кислоты, составляя раствор гентиана-виолета так, что на 10 см³ насыщенного раствора этой краски в 95% спирте берется 100 см³ 1% раствора карболовой кислоты.

Czaplewski¹²) предложил свою модификацию метода Грама для окрашивания гонококков, заменяя анилиновый гентиана-виолет карболовым гентиана-виолетом по такой прописи: 10 см³ крепкого алкогольного раствора этой краски, 2,5 см³ карболовой кислоты и 100 см³ дистиллированной воды. Раствор этот не портится в течение многих месяцев, почему модификация Czaplewskого и была одобрена Steinschneider'ом¹³), Jadassohn'ом¹³), Weinrich'ом¹³) и другими авторами, а Scholtz'ем¹⁴) горячо рекомендована для практических врачей. Однако широкого распространения эта модификация все же не получила, так как препараты, окрашенные этим способом, имеют

(Фон-Валь) грязный, мутноватый вид, протоцлазма и слизь при нем плохо обесцвечиваются, что сильно мешает быстрому и точному исследованию.

Наиболее удачная модификация метода Грама для диагностики гонококков была предложена в последнее время V. Генсеном¹⁵). Известно, что в методе Грама анилиновая вода берется в качестве протравы для более форсированного окрашивания, причем действие протрав вообще сводится к тому, чтобы разрыхлить оболочку микробов и тем облегчить проникновение краски внутрь. Этот весьма интересный вопрос о роли протравы при окрашивании микроорганизмов по Граму и изучался Генсеном¹⁶), который на основании своих исследований пришел к выводу, что в методе Грама можно, в качестве протравы, пользоваться карболовой кислотой, или даже вовсе обходиться без протравы, ибо большинство Грам-отрицательных бактерий весьма хромофиально и быстро воспринимает краску даже из слабых ее растворов.

Основываясь на этом свойстве бактерий и принимая во внимание, что анилиновая вода — вовсе не необходимый атрибут при окрашивании бактерий по способу Грама, Генсен предложил свою модификацию метода Грама для окрашивания гонококков. Необходимыми реагентами здесь являются: 1) $\frac{1}{2}\%$ водный раствор метил-виолета, 2) водный раствор иод-иодистого калия в пропорции: jodi puri 1,0, kalii iodati 2,0, aq. destillatae 100,0, 3) абсолютный или по крайней мере 99% алкоголь и 4) Neutralroth в 1% водном растворе для дополнительного окрашивания.

Техника окрашивания по Генсену сводится к следующему: сделанные мазки предварительно высушиваются на воздухе, затем осторожно фиксируются на пламени газовой или спиртовой горелки. После фиксирования, — подчеркивает автор, — до охлаждения препарата наливать на него краску нельзя; только по охлаждении на него наливается на $\frac{1}{2}$ — 1 минуту несколько капель $\frac{1}{2}\%$ водного раствора метил-виолета. Эта краска потом сливается, а излишек ее смывается несколькими каплями раствора иод-иодистого калия. После этого на препарат снова наливается несколько капель раствора иод-иодистого калия и оставляется действовать на $\frac{1}{2}$ — 1 минуту. Далее препарат споласкивается спиртом и обесцвечивается абсолютным алкоголем, после чего промывается еще несколькими каплями чистого спирта, и на влажный еще мазок наносятся 2—3 капли 1% раствора Neutralroth'a на $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ мин. Краска эта смывается водопроводной водой, препарат высушивается или на

воздухе, или фильтровальной бумагой, и рассматривается под микроскопом. При этом гонококки представляются в виде светло-красных образований; ядра клеточных элементов (лейкоцитов и эпителиальных клеток) и слизь окрашиваются также в светлокрасный цвет, протоплазма же лейкоцитов и эпителиальных клеток окрашивается лишь слегка в слабо-заметный розоватый цвет; что касается микроорганизмов, красящихся по Граму, то они представляются окрашенными в темнофиолетовый, почти черный цвет, микробы же Грам-отрицательные принимают такой же светлокрасный цвет, в какой окрашиваются гонококки и ядра клеточных элементов.

Способ Йенсена, не уступая в своей надежности оригинальному методу Грама и имея перед ним такие преимущества, как быстрота окраски, легкость выполнения ее, свойство реагентов не портиться от времени,—представляет значительный шаг вперед в развитии бактериологической техники окрашивания гонококков. В настоящее время эта модификация получила весьма широкое распространение в деле распознавания трипперного воспаления уретры. Тем не менее и она не лишена некоторых недостатков, которые несколько умаляют ее значение.

Одним из таких недостатков данной модификации является отсутствие контрастности окраски гонококков по сравнению с фоном препарата. Все части препарата—и ядра клеточных элементов, и слизь, и гонококки—окрашиваются при этом способе в одинаковый светлокрасный цвет. Это обстоятельство весьма сильно мешает быстрому нахождению гонококков в препарате. Вторым недостатком модификации Йенсена является то, что все Грам-отрицательные микроорганизмы окрашиваются при дополнительном окрашивании Neutralroth'ом в одинаковый светлокрасный цвет. В силу этого обстоятельства отличить гонококков от других диплококков, не красящихся по Граму, по цвету совершенно не представляется возможным, особенно в мазках из выделений мочеиспускательного канала, где имеется несколько видов [по Foulertonу¹⁷)—5 видов, по Тапон¹⁸—даже 7] обесцвечивающихся до Граму диплококков и кокков, которые способом Грама и его модификацией по Йенсену окрашиваются в такой же светлокрасный цвет, какой воспринимают и гонококки, но ничего общего, в смысле специфичности, с последними не имеют, хотя своей формой и величиной весьма близко к ним подходят.

Таким образом ни оригинальный метод Грама, ни его лучшая модификация по Йенсену не являются верным орудием в

деле микроскопического распознавания гонорреи. Спрашивается, каким же требованиям должен удовлетворять тот надежный способ окраски для обнаружения гонококков, к которому авторы стремятся уже давно?

Этот способ, конечно, должен прежде всего: 1) окрашивать гонококков в один цвет, а всех других уретральных микроорганизмов, Грам-положительных и Грам-отрицательных,—в другой; 2) он должен давать отчетливую избирательную окраску различных элементов исследуемого секрета и в частности окрашивать гонококков в цвет контрастный сравнительно с цветом фона из ядер форменных элементов и слизи, наконец, 3) он должен иметь достоинства метода Ленсена: быстроту окрашивания, легкость выполнения окраски, свойство реагентов не портиться от времени.

Стремясь достигнуть этой цели, я с начала весны 1921 года начал, в лаборатории клиники проф. В. Ф. Бургдорфа, испытывать для окраски гонококков различные красящие вещества в разных их концентрациях, причем порядок окрашивания Грамовского метода, как метода для гонококков дифференциального, мною не нарушался. После довольно продолжительной работы мне удалось подойти к такому изменению этого метода, которое дает весьма демонстративные препараты и, что особенно ценно, позволяет дифференцировать гонококков по цвету от многих других бесцветывающих по Граму микроорганизмов,—палочек, бактерий и диплококков,—встречающихся в уретре и на различных воспаленных и загрязненных частях человеческого тела.

Вот те реагенты, которые нужны для моей модификации: 1) раствор генциана-виолета для первоначального окрашивания препарата по прописи—gentiana-violett 1,0, alcohol absolut. 10,0, sol. ac. carbol. puriss. 1°/100,0; 2) раствор иод-иодистого калия по прописи—jodi puri 1,0, kalii iodati 2,0, aq. destillatae 50,0, 3) абсолютный или обыкновенный продажный чистый спирт 95% крепости и, наконец, 4) краска Уппа-Раренхейма (пироний и Methylgrün) для дополнительного окрашивания.

Надо заметить, что генциана-виолет в растворе карболовой кислоты в иной несколько прописи, как уже отмечено выше, был предложен для Грамовского метода окраски гонококков Nicolle'ем и Czaplewskim, по краске Czaplewskiego, как я уже указал, дает, по наблюдениям Фон-Валя, мутные, грязные препараты, что обусловливается, повидимому, большим со-

дертанием в растворе генциана-виолета карболовой кислоты ($2\frac{1}{2}\%$).

Взятый мною более концентрированный раствор иод-иодистого калия (1:2:50,0), чем это берется для оригинального метода Грам'a (1:2:300,0), сильно сокращает время обработки препарата. Оказывается, бывает достаточно лишь смыть им краску с препарата и тотчас же после того начать обесцвечивание спиртом, — за это короткое время раствор уже успевает создавать в телах микробов, красящихся по Грам'у, такие условия, что они при дальнейшей обработке препарата спиртом не отдают своей краски. Между тем при Генсеновском растворе (1:2:100,0) подобный эффект получается не раньше, как через 1 минуту, а оригинальный раствор Lugol'я (1:2:300,0) дает его лишь через 3 мин.

Что касается теперь спирта, то абсолютный спирт производят обесцвечивание быстрее, чем 95%, но картины препарата не изменяет.

Краска Unna-Parrenheim'a которую я предлагаю для дополнительного окрашивания препаратов, предложена для окраски гонококков одновременно и независимо друг от друга Unna — для срезов и Parrenheim'ом — для мазков. Препараты, окрашенные этой смесью, очень красивы и весьма демонстративны: гонококки окрашиваются при этом в темнокрасный цвет, протоплазма клеток — в розовый, ядра гнойных клеток — в светлозеленый, эпителиальные клетки — в темпорозовый цвет, а ядра эпителия — в сине-фиолетовый (E. Fингер¹⁰).

В предлагаемой мною модификации для получения отчетливых препаратов необходимо прежде всего, чтобы исследуемый секрет был распределен на предметных стеклах равномерно, тонким слоем. Сделанные мазки высушиваются на воздухе и фиксируются обычным образом на пламени газовой или спиртовой горелки. Фиксирование нужно производить осторожно, не перегревая препарата, чтобы не ослабить способности гонококков быстро воспринимать краску.

После фиксирования, выждав охлаждения препарата (в случаях, когда краска наливается на теплый еще препарат, обесцвечивание спиртом идет медленно, и на препарате часто остается осадок от краски), приступаем к окраске, для чего прежде всего наливаем на препарат 2—3 капли карболового раствора генциана-виолета и держим его $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ минуты. Этот раствор сливают и часть его, приставленную к препарату, смыываем несколькими каплями

раствора иод-иодистого калия (1:2:50,0), держа препарат под некоторым углом к горизонтальной плоскости, чтобы жидкость свободно стекала с него. Далее опять наливаем на препарат несколько капель раствора иод-иодистого калия и оставляем его действовать на $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ минуты, после чего сливаем и этот раствор и остатки его смываем несколькими каплями чистого 95%, resp. абсолютного спирта. Затем наливаем на препарат несколько капель этого же спирта и, покачивая стекло, чтобы спирт переливался на поверхности мазка, производим обесцвечивание последнего до стально-серого цвета. Чтобы достигнуть этого, иногда,—именно, в случаях, когда мазки сделаны из слизисто-гнойной массы,—приходится 1—2 раза сливать спирт с препарата и снова наливать. После того мы споласкиваем препарат водой, высушиваем его фильтровальной бумагой и докрашиваем краской Уппа-Рарренеим'а в течение $\frac{1}{2}$ минуты, потом смываем эту краску водой, высушиваем препарат фильтровальной бумагой, наносим на него каплю кедрового масла и исследуем при помощи иммерсионной системы микроскопа.

В общем итоге, значит, вся процедура окрашивания сводится у нас к такой схеме: 1) намазывание исследуемого секрета тонким слоем на предметное стекло, 2) высушивание мазка на воздухе, 3) осторожное фиксирование на пламени горелки, 4) окрашивание карболовым раствором генциана-виолета в течение $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ минуты, 5) споласкивание раствором иод-иодистого калия (1:2:50,0), 6) нанесение на препарат нескольких капель раствора иод-иодистого калия на $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ минуты, 7) смывание раствора иод-иодистого калия чистым 95% или абсолютным спиртом, 8) обесцвечивание чистым 95% или абсолютным спиртом, 9) споласкивание препарата водопроводной водой, 10) окрашивание смесью Уппа-Рарренеим'а в течение $\frac{1}{2}$ минуты, 11) споласкивание водой и высушивание фильтровальной бумагой.

При этом подчеркиваю, что, если после обесцвечивания спирт удален с препарата не полностью, то при дополнительном окрашивании препарата смесью Уппа-Рарренеим'а гонобокки могут не окраситься, а если и окрасятся при более продолжительном действии этой смеси, то в неясный, мутно-розовый цвет. Во избежание этого следует после обесцвечивания смывать спирт с препарата водой.

Необходимо также иметь в виду, что при дополнительном окрашивании препаратов продолжительное (2—3 минуты) действие смеси Уппа-Рарренеим'а перекрашивает препараты и дает

менее демонстративные картины их. Лучшие картины получаются при действии смеси на препарат в течение $1/2$ минуты.

Кстати отмечу здесь еще и то, что препараты, сделанные из слизисто-гнойной массы, где над гноем преобладает слизь, должны окрашиваться карболовым раствором генциана-виолета не менее одной минуты. Иначе может случиться, что Грам-положительные микроорганизмы, располагающиеся в массе слизи, вовсе не окрашиваются (это происходит благодаря тому, что слизь слишком жадно воспринимает краску). В подобных случаях указанные микроорганизмы при дополнительном окрашивании воспринимают из смеси Унна-Рарренхейма красный цвет пиронина.

Что касается теперь картин препараторов, окрашенных по предлагаемой мною модификации, то здесь мы прежде всего должны отметить элективность окраски форменных элементов и контрастность окраски гонококков сравнительно с общим фоном препарата. Рассматривая препарат, окрашенный этим способом, мы видим в нем разнообразные оттенки двух цветом—фиолетового и розового. В частности, ядра гнойных клеток представляются окрашенными в фиолетовый цвет, а их протоплазма кажется слегка розоватой с сероватым оттенком; ядра эпителиальных клеток принимают фиолетовый цвет с некоторым розоватым оттенком, протоплазма же их, восприняв нежно-розовый цвет, представляется в виде резко очерченного красивого среода; Грам-положительные микроорганизмы, не отдавшие при обесцвечивании своей первоначальной окраски, имеют темно-фиолетовый, иногда почти черный цвет; наконец, гонококки, восприняв из смеси Унна-Рарренхейма красный цвет пиронина, представляются окрашенными в насыщенно-малиновый цвет, резко выступая на общем фиолетовом фоне ядер лейкоцитов.

Отметим еще теперь отклонение данного способа окраски к бактериям, не красящимся по Граму. Отношение это весьма своеобразно: Грам-отрицательные микроорганизмы при дополнительном окрашивании смесью Унна-Рарренхейма, окрашивавшиеся пиронином смеси в розоватый цвет, воспринимают также, повидимому, и небольшую часть Methylgrün'a, в силу чего они представляются окрашенными в розоватый цвет с оттенком или сероватым, или сизеватым—в зависимости от вида микроорганизмов; так, кокки и диплококки имеют обычно бледно-розовый цвет с синеватым оттенком, бациллы же представляются розоватыми с сероватым оттенком.

Испытывая свою модификацию метода Грама, я имел в своем распоряжении довольно большой материал для исследования: число обследованных мною препаратов, сделанных из выделений больной уретры, достигает 470, причем во всех этих препаратах гонококки неизменно представлялись окрашенными в насыщенно-малиновый цвет. В течение почти 5 месяцев работы мне не удалось найти никаких других Грам-отрицательных микроорганизмов, которые тоже воспринимали бы этот характерный для гонококков цвет,—ни в уретральных секретах мужчин, ни во влагалищных выделениях женщин, ни в полости рта, ни в различных воспаленных, загрязненных, с гноином отделением частях тела больных, обращавшихся в клинику. Я пробовал, да еще, окрашивать мазки из культур некоторых видов Грам-отрицательных палочек, в различные дни их существования, и во всех таких препаратах, число которых равнялось 245,—можно было констатировать, что находившиеся в них микроорганизмы окрашивались в розоватый цвет с оттенком или сероватым, или синеватым. Таким образом предлагаемая мною модификация метода Грама, окрашивая гонококков в насыщенно-малиновый цвет, обособляет их от других, не красящихся по Граму, микроорганизмов уретры.

Испытывая свою модификацию, я вместе с тем производил сравнительную оценку ее по отношению к способу Генсена, представляющему лучшее видоизменение метода Грама. Оценка эта производилась мною с 2 точек зрения: 1) с точки зрения легкости и быстроты нахождения гонококков в препаратах и 2) с точки зрения надежности распознавания гонококков.

Выгоды предлагаемой мною модификации в смысле более быстрого и легкого нахождения гонококков в препаратах не замедлили сказаться уже при первых же исследованиях больных. Уже в первых случаях исследования, как и во всех остальных, можно было заметить, что гонококки обнаруживались быстрее в препаратах, окрашенных по предлагаемой мною модификации, чем в препаратах, окрашенных по Генсену. И это вполне понятно: при Генсеновской окраске на красном фоне ядер форменных элементов, а иногда и слизи, часто бывает трудно уловить в такой же цвет окрашенных гонококков; нужно медленно двигать препарат под микроскопом и внимательно рассматривать каждое поле зрения, чтобы не оставить незамеченными группирующими у ядер лейкоцитов возбудителей гонорреи, и на это иногда уходит немало времени. В препаратах же, окрашенных по предлагаемой мною

модификации, гонококки, имея насыщенно-малиновый цвет, резко выступают на общем фиолетовом фоне ядер форменных элементов; в силу этого обстоятельства можно двигать препарат под микроскопом довольно быстро, без риска пропустить незамеченными попадающиеся в поле зрения гонококков.

Что касается теперь вопроса о надежности предлагаемой модификации в деле распознавания гонорреи, то на основании исследованных случаев я могу установить, что этот способ по надежности и точности распознавания гонококков нисколько не уступает методу *Lense'n'a*: во всех случаях, мною исследованных, получалось полное тождество результатов.

Итак, резюмируя все сказанное, мы находим, что предлагаемая мною модификация Грамского метода для окраски гонококков, имея все достоинства модификации *Lense'n'a*, а именно, а) быстроту окраски, б) легкость выполнения ее, в) свойство реагентов не портиться от времени, г) надежность способа в смысле точного распознавания гонококков,—дает еще: 1) избирательность окраски форменных элементов исследуемого секрета, 2) контрастность окраски гонококков по сравнению с общим фоном препарата и, наконец, 3) дифференцировку гонококков от других, не красящихся по Граму, микроорганизмов уретры, что дает возможность быстро и легко ориентироваться в микробной флоре исследуемого секрета.

В заключение считаю своим приятным долгом принести искреннюю благодарность моему глубокоуважаемому учителю, профессору Владимиру Федоровичу Бургдорфу, за ценные указания и советы при выполнении этой работы.

Л и т е р а т у р а.

- 1) Ган. Острый и затяжной перелой мочеиспускательного канала мужчины. Одесса, 1910, стр. 13—14. 2) R. o. x. *Sar un procédé technique de diagnose des gonococci. Comp. rendus d. s. de l'Académie des sciences*, 1886, p. 899. 3) Цит. по Гану. 4) Бронштейн. Бактериоскопический метод. Медицинская микробиология под редакцией Л. А. Тарасевича, т. 1, 1912, стр. 298. 5) Фон-Валь. Способ Грама. Бактерии уретры. Дис., 1904, стр. 28—29. 6) Bum m. *Der Microorganismus des gonorrhoeischen Schleimhaut-Erkrankungen, Gonococcus Neisser*. Wiesbaden, 1885. 7) Цит. по Фон-Валю. 8) Steinschneider. *Zur Differenzierung der Go-*

nokokken. Berliner klin. Woch., 1890, № 24, S. 533. 9) Wolff и M u l z e r. Учебник половых болезней, 1916, стр. 4—5. 10) Цит. по Фон-Валю, стр. 12. 11) Nicolle, Pratique des colorations microbiennes (méthode de Gram modifiée et méthode directe). Ann. de l'Inst. Pasteur, 1895, p. 664. 12) E u l e n b u r g, K o l l e и W e i ntraub. Руководство к клиническим способам исследования, 1905, т. I, стр. 285. 13) Цит. по Фон-Валю, стр. 12. 14) Scholtz. Pathologie und Therapie der Gonorrhoe in Vorlesungen, Iena, 1909, S. 9. 15) Мироньев. К сравнительной оценке диагностики гонококков по методу Gram'a и по модификации его, предложенной V. Lense'nом. Дерматология, 1913, № 11. 16) Berliner klin. Woch., 1912, S. 1663. 17) Цит. по Фон-Валю, стр. 6. 18) Ibid., стр. 7. 19) Finger. Половые болезни, 1915, стр. 387.