

The rediscovered
MAGYARY-KOSSA GYULA

MAGYARY-KOSSA was
born 150 years ago – the Kossa
reaction

Gálfi Péter^{1*}
Koósné Török Erzsébet²

P. Gálfi^{1*}
E. Koósné Török²

1. SZIE ÁOTK Gyógyszertani és
Méregtani Tanszék
1078 Budapest
István u. 2.

* e-mail: galfi.peter@aotk.szie.hu

2. SZIE Kosáry Domokos
Könyvtár és Levéltár
Gödöllő

Az újra felfedezett Magyary-Kossa

150 éve született MAGYARY-KOSSA GYULA – a Kóssa-reakció (2. rész)

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők közleménysorozatuk 1. részében bemutatták Magyary-Kossa Gyula életútjának fontosabb állomásait, az állatorvosi gyógyszer-tan oktatásának történetét, a Gyógyszertani Intézet alapítását, abban Magyary-Kossa meghatározó szerepét. A 2. részben a „Kóssa-reakció” néven ismert, meszesedés kimutatására világszerte alkalmazott mikrotechnikai eljárását mutatják be. A szerzők részletesen szólnak a Kóssa-reakcióról, az elvégzett vizsgálatokról, valamint a klasszikus hisztokémiai módszerekről, azok napjainkban történő alkalmazásáról. A közlemény írói különböző adatbázisokban végzett keresésekkel, az egyes szerzők eredeti közleményei és módszerei hivatkozásának gyűjtésével megerősítik, hogy az 1901-ben leírt „Kóssa-reakció” mind a mai napig nem veszett a feledés homályába. Gyakran használt, mint számos más, az 1900-as évek környékéről származó, egyszerűen és specifikusan alkalmazható, klasszikus hisztokémiai eljárás. A 16 klasszikus hisztokémiai eljárás összehasonlító adatait táblázatba szerkesztve mutatják be a szerzők (festési eljárás megnevezése, szerző, a publikálás éve, származási ország, fő alkalmazási terület, hivatkozások, valamint a hivatkozások évenkénti megoszlása az utolsó 20 évben).

SUMMARY

In the first part of this series, the authors described the main milestones of Gyula Magyary-Kossa's path of life, the history of teaching veterinary pharmacology in Hungary, the foundation of the Institute of Pharmacology and the decisive role that Magyary-Kossa played in it. Part 2 presents the 'von Kossa reaction', a micro-technical reaction developed by him and used all over the world to detect calcium deposits and quantify mineralization in tissue sections. The authors describe the 'von Kossa reaction' and the studies performed by its use in detail and then give an outline of the classical histochemical methods and their present-day applications. By performing searches in different databases and collecting the citations made to the original publications of different authors and their methods, the authors confirm that the 'von Kossa reaction', originally described in 1901, has not sunk into oblivion up to the present day. Rather, it is still used often, like many other easy-to-use and specific, classical histochemical procedures developed around the turn of the 19th and 20th centuries. They present the comparative data of 16 classical histochemical procedures in table (designation of the staining procedure, author, year of publication, country of origin, main area of use, number of citations, and distribution of citations by year in the past 20 years).

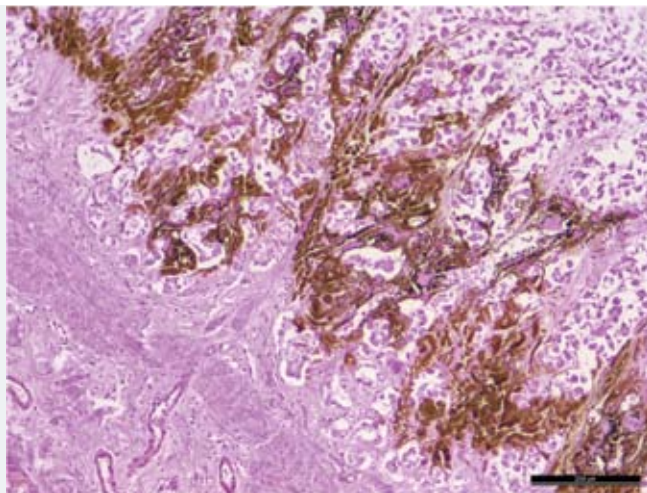
Előző számunkban (MÁL 2015/2) megemlékeztünk MAGYARY-KOSSA GYULA születésének 150. évfordulójáról, és ismertettük a tudós életrajzát, valamint tudományos tevékenységét az orvostörténeti kutatások és a gyógyszerteran, főként a méregtan tudományág területén. Cikkünk 2. részében a „Kóssa-reakció” néven nemzetközi hírnévre szert tett mikrotechnikai eljárást mutatjuk be.

A KÓSSA-REAKCIÓ ÉS A KLASSZIKUS HISZTOKÉMIAI MÓDSZEREK, VALAMINT ALKALMAZÁSUK NAPJAINKBAN

A reakció leírását Kóssa 1901-ben tette közzé (13). A 39 oldalas és 7 képtáblát magában foglaló közleményben Kóssa a vese (és a máj) kísérletes elmeszesedését, annak okait tárgyalja. Ismert volt és saját vizsgálatai során is tapasztalta, hogy nyulak esetében az arteria renalis lekötése a vese elmeszesedését vonja maga után. Ugyanakkor egyes toxikus vegyületek, mint a szublimát, az aloin, az ólom-acetát hasonló elváltozásokat okoznak, az oxálsavmérgezés esetében viszont nem alakul ki elmeszesedés. Megállapítja, hogy nyulaknál sokkal könnyebben alakítható ki elmeszesedés a vesében, mint kutyák esetében, míg a madarak ellenállóbbak (ennek okát a vér kis mésztartalmában látja). Saját vizsgálataiban nyulakon számos anyagot kipróbált, hatásosnak a réz-szulfátot, a jódot és a jodoformot tartotta. Meghatározta a vese és a máj kalciumtartalmát is, hogy biztos legyen a kalcium lerakódásában. Ebben segítségére volt korábbi munkája, amit FELLETÁR EMILNÉ az Országos Művegyészeti Intézetben végzett. A szövetekben kialakuló kalcium-felhalmozódás kimutatása nem egyértelmű, elsősorban a szövet szürkésárga elszíneződése, vértelensége, az ecetsavban és sósavban való oldhatóság utal erre. Foszforkimutatást is végzett, majd megállapította, hogy a szövetekben lévő anyag

nem tiszta kalcium-foszfát (foszforsavas mész), hanem egyéb savmaradékot is tartalmaz. Ezt követően rátért az elmeszesedés mikroszkópos kimutatására. Számos anyagot kipróbált: a csersavat, amit elvetett, majd a pirogallolt, amit a mész kimutatására jónak talált. Végül a mész és a mészfoszfát kimutatását ezüst-nitráttal végezte. A reakció először sárga színt mutatott, ami fény hatására szürkére, végül szénfeketére változott. A fekete szín akkor is kialakul, ha azt redukcióval elősegíti. Az ezüsfestésről megállapította, hogy nemcsak a meszet, hanem a foszforsavas meszet is kimutatja, továbbá ez az érzékeny reakció alkalmas a vese mellett más szövetek vizsgálatára is, így segítségével lehetséges a gümőkóros peribronchialis nyirokcsomók, a toxikus eredetű májelváltozás, a vérerek falának és a csont elmeszesedésének vizsgálata. Végül arra keresett választ, hogy a szövetekben lerakódott mészfoszfát honnan származik. Jellegzetes Kóssa-reakció felvétele látható az **1. ábrán**.

Az 1901-ben publikált Kóssa-reakciót RIVA és mtsai 2014-ben a hisztológiában alkalmazott festési eljárásokat összefoglaló munkájukban említik (21). Cikkükben 69 klasszikus hisztokémiai festési eljárást sorolnak fel, amelyek első közzélése 1858 és 1983 közé esik, továbbá a hematoxilines festés 11 variánsát is számba veszik. A feltüntetett 80 módszer közül 58 esetben (73%) a szerzők nevével jelölték az eljárást (pl. von Kóssa, MAY-GRÜNWARD, GIEMSA), a többinél (ahol egyértelmű, egy festéket használtak) a kimutatás során használt



1. ÁBRA. Kutya-gyomornyálkahártya elmeszesedésének kimutatása Kóssa-reakcióval

A barna szín meszesedés jelenlétére utal

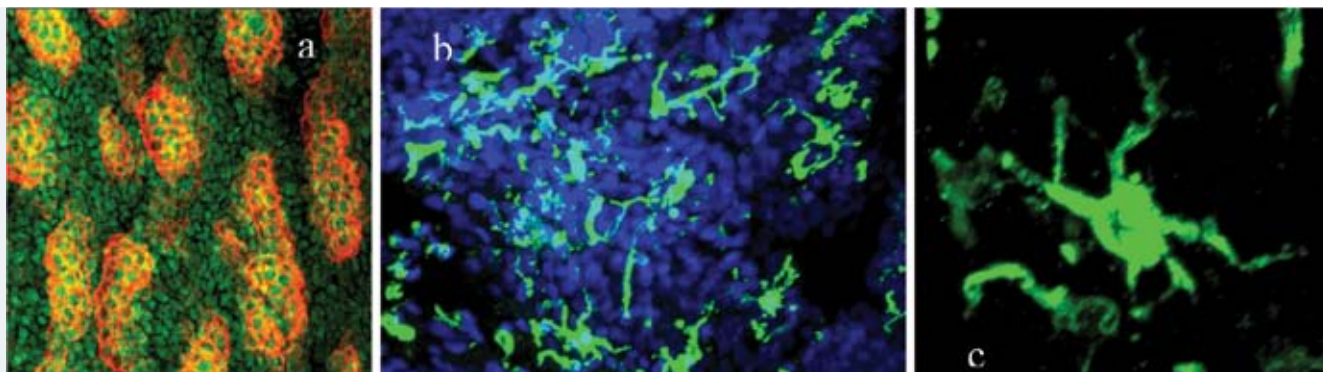
Kóssa-reakció, 100×

DR. JAKAB CSABA felvétele

FIGURE 1. Detection of calcification in a dog's gastric mucosa using von Kossa's reaction

The brown colour indicates the presence of calcification

Photograph taken by DR. CSABA JAKAB



2. ÁBRA. Immunhisztokémiai módszerek. Vimentin és citokeratin kimutatása fluoreszkáló festékekkel konjugált monoklonális ellenanyagokkal szarvasmarha bendőnyálkahártyából

a: hámnnyúlvány keresztmetszet, piros citokeratin (Keratin pan, LU5), zöld vimentin (Vim 3B4), a narancssárga szín a citokeratin és vimentin koexpressziót mutatja; b, c: Langerhans sejtek (zöld) kimutatása vimentin (V9) festéssel, kék (sejtmagok) DAPI festés. Konfokális mikroszkópos felvételek.

FIGURE 2. Immunohistochemical methods. Detection of vimentin and cytokeratin in the mucous membrane of the bovine rumen using monoclonal antibodies conjugated with fluorescent dyes

a: Cross-section of epithelial projection, red: cytokeratin (keratin pan, LU5), green: vimentin (Vim 3B4); orange colour shows the co-expression of cytokeratin and vimentin; b, c: Demonstration of Langerhans cells (green) by vimentin (V9) staining, blue (cell nuclei): DAPI stain. Confocal microscopic photographs

festék neve adta az elnevezést (Congo red, Sudan III, Sudan IV, Oil Red O). A közlemény szerint az 1880-tól 1930-ig terjedő időszakban látott napvilágot a legtöbb közlés (az esetek 52%-a), ezek közül néhányat (16-ot) majd az 1. táblázatban mutatunk be. A felsorolásban a von Kóssa-reakció az egyedüli magyar eredetű leírás.

A textilfestési eljárások során használt színezékeket alkalmazó hisztokémiai festési eljárásokat tudományos célból a XIX. század közepétől kezdték használni (4). A szöveti alkotóelemekhez szelektíven kapcsolódó kémiai anyagok alapját képezték nemcsak a modern patológiának, de a farmakológiának és a kemoterápiának is. Az utóbbiakra példák PAUL ERLICH (1854-1915) azon munkái, amelyeknél metilénkékel és tripánvörössel kezelte a maláriát és a tripanosomiasist (3).

Az 1880-as és az 1930-as évek között fedezték fel és közölték a legtöbb hisztokémiai eljárást, elsősorban a jelentős textiliparral és vegyiparral rendelkező Németországban. Először a természetben előforduló festékeket használták (kármin, indigó, alizarin és hematoxilín), majd szintetikus festékeket (metilénkék, eozin, azúr B – a Giemsa-oldat alkotói, kongóvörös) is alkalmaztak. A korai hisztokémiai módszerek a sejt egyes alkotóelemeinek vagy kórokozók kimutatására szolgáltak: lipid Szudán III (5), mucin mucikármin (MAYER 1896 [16]), meszesedés (von Kóssa 1901 [13]), mycobacterium (ZIEHL 1882 [23], NEELSEN 1883 [18]). Ehhez az időszakhoz kötődnek a hematológiában alkalmazott festési eljárások (GIEMSA 1902, 1904 [9, 10], MAY-GRÜNWARD 1902 [15]), amelyeket vérparaziták (malária) láthatóvá tételére fejlesztettek ki (1). Még specifikusabb módszerek: a kötőszövet kimutatására szolgáló Azan-Mallory-festés (11), a lipidek kimutatása Oil Red O-val (8), a nukleinsavak festése (6), az amiloid kimutatása kongóvörössel (2) vagy a melanin kimutatása Mason-Fontana-festéssel (7). Az 1980-as évektől a klasszikus hisztokémiai festési eljárások használata csökkent, mivel kezdtek elterjedni a sokkal specifikusabb immunhisztokémiai módszerek (2. ábra). Csak kevés klasszikus módszer élte túl ezt az időszakot, főleg azok, amelyek használata egyszerű. Ezek közé tartoznak többek között az általános festési eljárások (hematoxilín, Giemsa), a mycobacteriumok kimutatására szolgáló Ziehl-Neelsen-festés. Mások használata csökkenő tendenciát mutat (pl. mucikármin), vagy eleve alulhasználtak lehettek.

1. TÁBLÁZAT. Néhány klasszikus hisztokémiai eljárás időrendi felsorolása (festési eljárás, szerző, a publikálás éve, származási ország, fő alkalmazási terület, hivatkozások)

TABLE 1. Chronological list of some classical histochemical procedures (staining procedure, author, year of publication, country of origin, main area of use, citations)

Festés elnevezése	Szerző	Év	Ország	Kimutatás/ alkalmazás (festék)	Hivatkozás		
					Cikk*	Festés**	Festés***
Ziehl-Neelsen	ZIEHL 1882, NEELSEN 1883	1882	Németország	mikroorganizmus (bázikus fukszin: pararosanilin, rosanilin, new fuchsine, Magenta II keveréke)	58	15402	1231
van Gieson	VAN GIESON 1889	1889	USA	kötőszövet (savas fukszin: szulfonált bázikus fukszinhomológok keveréke)	40	21484	673
Mucicarmine	MAYER 1896	1896	Olaszország	mukopoliszacharid (kárminsav hidratált alumínium-kelátja)	27	6018	232
Sudan III	DADDI 1896	1896	Olaszország	lipid (Sudan III)	27	3657	253
Mallory's stain	MALLORY 1900	1900	USA	kötőszövet (anilinkék, savas fukszin, Orange G)	82	7227	117
Sudan IV	MICHAELIS 1901	1901	Németország	lipid (Dudan IV)	1	4030	185
von Kóssa	VON KÓSSA 1901	1901	Magyarország	meszesedés (ezüst-nitrát)	155	11777	1048
Giemsa	GIEMSA 1902	1902	Németország	hematopatológia (Giemsa: metilénkék, eozin, azúr B keveréke)	33	131673	5005
May-Grünwald	MAY and GRÜNWARD 1902	1902	Németország	hematopatológia (metilénkék, eozin)	10	12990	543
Pappenheim	PAPPENHEIM 1908	1908	Németország	hematopatológia (metilzöld, pironin)	7	2502	92
Masson-Fontana	FONTANA 1912	1912	Olaszország	melanin (ezüst-nitrát- és ammóniaoldat)	14	1765	61
Feulgen	FEULGEN 1914	1914	Németország	nukleinsav (Schiff-reagens: kénsavas fukszin/)	14	20537	1650
Azan-Mallory	HEIDENHAIN 1915	1915	Németország	kötőszövet (Azokarmin G, anilinkék)	86	1621	56
Kinyoun's fuchsine	KINYOUN 1915	1915	USA	mikroorganizmus (fenol és bázikus fukszin keveréke, metilénkék)	3	393	-
Congo Red	BENNHOLD 1922	1922	Németország	amyloid (kongóvörös)	114	25409	4797
Oil Red O	FRENCH 1926	1926	USA	lipid (Oil Red O)	2	20416	1582

*Web of Science találatai az eredeti közleményre.

**A SZIE EBSCO Discovery Service találatai a festés elnevezésére – lektorált közlemények.

*** Web of Science (összes adatbázis: Web of Science, BIOSIS Citation Index, Chinese Science Citation Database) találatai a festés elnevezésére.



Web of Science (összes adatbázis: Web of Science, BIOSIS Citation Index, Chinese Science Citation Database) találatai a festés elnevezésére. A publikációk évenkénti megoszlása az utolsó 20 évben.

3. ÁBRA. Az 1. táblázatban felsorolt hisztokémiai módszerekre történt hivatkozások évenkénti megoszlása az utolsó 20 évben (az egyes ábrák címei a keresési kifejezéseket mutatják)

3. FIGURE. Annual distribution in the past 20 years of the citations to the histochemical methods listed in Table 1 (the titles of the individual figures show the search expressions)

A már említett Riva és mtsai (21) közleményükben bemutatnak ugyan adatokat az egyes módszerek patológiai alkalmazásának gyakoriságáról, de a módszerekre a szerzők nem adnak meg hivatkozásokat, és az elérhető irodalomban sem találtunk adatokat. Ezek hiányában nehezen ítélné meg a klasszikus festési eljárások mai használata. Ezért célul tűztük ki, hogy a Szent István Egyetem Kosáry Domokos Könyvtár és Levéltárban rendelkezésre álló adatbázisokban keresést végzünk a kimutatások szerzői cikkeinek és módszereinek idézettségére. Ennek alapján reményeink szerint megítélhető, hogy a von Kóssa-módszer és a többi klasszikus hisztokémiai módszer használata hogyan alakult.

Munkánk során a Web of Science adatbázisát (1975-től napjainkig keres, duplumszűréssel, az „All Databases” funkció esetén a Web of Science-ben, a BIOSIS Citation Indexben és a Chinese Science Citation Database-ban keres), valamint az EBSCO Discovery Service-t használtuk (ez a keresőmotor jelenleg tesztüzemben működik az egyetemen, és egyszerre több adatbázisban keres, többek között nyílt hozzáférésű adatbázisokban, valamint tesztjellegűből adódóan jelenleg olyan adatbázisokban is, amelyek nincsenek az egyetem előfizetésében). A keresés során összetett keresést végeztünk úgy, hogy a módszer után (pl. „von Kossa”) a „stain” kifejezést is alkalmaztuk, hogy a hibás találatok számát csökkentsük. Minden esetben csak a lektorált közleményeket vettük figyelembe. A kereséseket 2014. november végén végeztük. Eredményeinket az 1. táblázatban foglaltuk össze.

Az 1. táblázat adataiból egyértelműen megállapítható, hogy az eredeti közleményekre való hivatkozások száma kisebb a módszerekre való hivatkozásokénál, kivéve von Kóssa (13) és BENNHOLD (2) esetében (mindkettő 100 feletti). Az utóbbi két szerzőnél ez azzal magyarázható, hogy míg von Kóssa esetében számos vizsgálatban pontosítják a reakciót adó vegyületek típusát, addig Bennhold esetében a módszert jelenleg szélesebb körben alkalmazzák (a Congo Red fluoreszkáló vegyület). A SZIE EBSCO Discovery Service találatai a festés elnevezésére azt mutatják, hogy a Giemsa-módszer magasan a legtöbbit hivatkozott festési eljárás. Ez érvényes a Web of Science találataira is. Von Kóssa módszere a SZIE EBSCO Discovery Service találatai alapján a 7. felsorolt 16 klasszikus hisztokémiai eljárás között. A Web of Science találatai között a festés elnevezése szerint keresve azonban a von Kóssa-módszer már a 6. helyen áll, ami azt mutatja, hogy az utóbbi években is gyakran alkalmazott eljárás. Az is megállapítható, hogy ezek a hisztokémiai módszerek annyira rögzültek a tudományos köztudatban, hogy az eredeti közleményre való hivatkozás feltüntetése nem szükséges a tudományos folyóiratokban.

A 3. ábra adatai a publikációk évenkénti megoszlását mutatják az utolsó 20 évben a Web of Science adatbázisban a festés elnevezésére történő kereséssel. A hisztogramok képe alapján több típus különíthető el: állandóan, az elmúlt 20 évben gyakran hivatkozott eljárás (Giemsa); növekvő számú, gyakran hivatkozott festési módszer (pl. Congo Red, Oil Red O, Ziehl-Neelsen, majd von Kóssa); csökkenő számú hivatkozások az utolsó években (Feulgen); kis számú hivatkozások változatos alakulással. Ezek részletes elemzésétől eltekintünk, csak azt kívánjuk megjegyezni, hogy a Giemsa-módszer egyszerűségénél és használhatóságánál fogva nem vesztett népszerűségéből. A Congo Red esetében a korábban leírtak érvényesek, az amyloid kimutatására jól alkalmazható, ráadásul fluoreszkáló vegyület is. Az Oil Red O könnyebb értékelhetősége (jobban fest, mint a Sudan III vagy a Sudan IV), a Ziehl-Neelsen-festés specifikussága (mikobaktérium-kimutatás), valamint patológiai alkalmazásának növekvő igénye miatt fokozott mértékben használatos. A von Kóssa-reakció specifikusságánál fogva (meszesedés kimutatására kiválóan alkalmas) ma is számos esetben alkalmazott módszer. A Feulgen-festés esetén a hivatkozások száma az elmúlt 20 évben fokozatosan csökkenő mértéket mutat, ami azzal magyarázható, hogy a nukleinsav kimutatására újabb módszerek állnak rendelkezésre. Az utóbbi 20 év publikációit figyelembe véve a vizsgált 16 klasszikus

hisztokémiai módszer között a von Kóssa-reakció az 5. helyen áll, ha a Feulgen-féle festési eljárást a csökkenő hivatkozásai miatt nem vesszük figyelembe. A többi, fel nem sorolt klasszikus hisztokémiai módszer közül néhány lassan feledésbe merül, ami az immunhisztokémiai eljárások növekvő elterjedésével magyarázható. Az immunhisztokémiai módszerek ugyanis sokkal specifikusabb és összetettebb kimutatásokat tesznek lehetővé (20). A bemutatott példa szerint (vö. 2. ábra) az újabb módszerekkel mód nyílik a sejtvázalkotó fehérjék coexpressziójának vizsgálatára citokeratin LU5 és vimentin 3B4 monoklonális ellenanyagokkal, vagy a bendőhámiban lévő Langerhans-sejtek megjelenítésére vimentin V9 monoklonális ellenanyag segítségével. (A bendőhámiban a Langerhans-sejtek vimentin 3B4 monoklonális ellenanyaggal nem adnak reakciót, míg a hámsejtek igen.)

Mindent összevéve megállapítható, hogy az 1901-ben von Kóssa által leírt meszesedéskimutatási módszer nem veszett a feledés homályába, hasonlóan és gyakran használatos, mint számos más, az 1900-as évek környékéről származó egyszerűen és specifikusan alkalmazható, klasszikus hisztokémiai eljárás.

IRODALOM

1. BARCIA, J. J.: The Giemsa stain: its history and applications. *Int. J. Surg. Pathol.*, 2007. 15. 292–296.
2. BENNHOLD, H.: Eine spezifische amyloidfärbung mit Kongorot. *Munch. Med. Wochensch.*, 1922. 69. 1537–1538.
3. COLEMAN, R.: The long-term contribution of dyes and stains to histology and histopathology. *Acta Histochem.*, 2006. 108. 81–83.
4. COOK, H. C.: Tinctorial methods in histology. *J. Clin. Pathol.*, 1997. 50. 716–720.
5. DADDI, L.: Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus. *Arch. Ital. Biol.*, 1896. 26. 143–146.
6. FEULGEN, R.: Über die Kohlenhydratgruppe in der echten Nucleinsäure. Vorläufige Mitteilung. *Zeitsch. Physiol. Chem.*, 1914. 92. 154–158.
7. FONTANA, A.: Verfahren zur intensiven und raschen Färbung des *Treponema pallidum* und anderer Spirochäten. *Derm. Wochensch.*, 1912. 55. 1003–1004.
8. FRENCH, R. W.: Notes on technic: fat stains. *Stain Technol.*, 1926. 1. 78.
9. GIEMSA, G.: Farbenmethoden für Malariaparasiten. *Zentralbl. Bakteriol.*, 1902. 31. 429–430.
10. GIEMSA, G.: Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nocht'schen Chromatinfärbung. *Zentralbl. Bakteriol. I Abteilung*, 1904. 32. 307–313.
11. HEIDENHAIN, M.: Über die Mallorysche Bindegewebsfärbung mit Karmin und Azokarmin als Vorfarben. *Zeitsch. Wiss. Mikrosk.*, 1915. 32. 361–372.
12. KINYOUN, J. J.: A Modification of Ponder's stain for diphtheria. *Am. J. Pub. Health.*, 1915. 5. 246–247.
13. KÓSSA, J. V.: Ueber die im Organismus künstlich erzeugbaren Verkalkungen. *Zieg. Beitr. Pathol. Anat.*, 1901. 29. 163–202.
14. MALLORY, F. B.: A contribution to staining methods. *J. Exp. Med.*, 1900. 5. 15–20.
15. MAY, R. – GRÜNWARD, L.: Über Blut färbungen. *Zentralbl. Inn. Med.*, 1902. 23. 265–270.
16. MAYER, P.: Über schleimfärbung. *Mitt. Zool. Stat. Neapel.*, 1896. 12. 303–330.
17. MICHAELIS, L.: Ueber Fett-Färbstoffe. *Arch. Pathol. Anat.*, 1901. 164. 263–270.
18. NEELSEN, F.: Ein casuistischer Beitrag zur Lehre von der Tuberkulose. *Zentralbl. Med. Wiss.*, 1883. 21. 497–501.
19. PAPPENHEIM, A.: Panoptische Universal-färbung für Blutpräparate. *Med. Klein.*, 1908. 4. 12–44.
20. PÁSZTINÉ GERE E. – GÁLFI P. – MOLNÁR ZS. – CSAVOJETZ A. – MEGGYESHÁZI N. – SZAUDER I. – UJHELYI G. – KÓVÁGÓ Cs. et al.: Belsőhámréteg ellenállás vizsgálata ipec-j2 modellrendszerben, *Magy. Állator. Lapja*, 2014. 136. 651–659.
21. RIVA, M. A. – MANZONI, M. et al.: Histochemistry: historical development and current use in pathology. *Biotech. Histochem.*, 2014. 89. 81–90.
22. VAN GIESON, I.: Laboratory notes of technical methods for the nervous system. *NY Med. J.*, 1889. 50. 57–60.
23. ZIEHL, F.: Zur Färbung des Tuberkelbacillus. *Deut. Med. Wochensch.*, 1882. 8. 451–452.

Közlésre érkező: 2015. jan. 8.