

XXXVIII.

Aus der psychiatrischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Sioli).

Studien über die progressive Paralyse.

Von

Dr. Franz Jahnel.

(Hierzu Tafeln VIII und IX.)

III.

Vielfach geäußerten Wünschen entsprechend, will ich schon jetzt die Technik des Spirochätennachweises in paralytischen Gehirnen genau darlegen. Ich schicke voran, dass die von mir ausgearbeitete Methode zur Darstellung der Spirochäten in Schnitten noch einzelne Mängel und Unvollkommenheiten aufweist. Ich arbeite noch daran, die Ursachen dieser zeitweise auftretenden Fehler aufzusuchen und zu beseitigen und behalte mir vor, später noch einige Abänderungen der Methode zu treffen. Immerhin gibt diese Färbung schon jetzt im allgemeinen recht befriedigende Resultate.

Am wichtigsten erscheint mir die Untersuchung des frischen Gehirns. Die Technik dieser Untersuchung ist von A. Marie, Levaditi und Bankowski genau beschrieben worden. Mit Hilfe der zu nennenden Methoden hatten schon vorher Noguchi, ferner Forster und Tomaczewski positive Ergebnisse erzielt. Die erwähnten drei Pariser Forscher haben jedoch zuerst mit Nachdruck auf die Bedeutung einer gründlichen und systematischen Untersuchung des ganzen Gehirns hingewiesen. Es erscheint zweckmässig, die Sektion sobald als möglich nach dem Tode vorzunehmen. Jedoch sind die Fälle, bei denen die Autopsie erst längere Zeit nach dem Tode gemacht werden kann, keineswegs unbrauchbar. Die Angabe der Pariser Untersucher, dass sie in einem Falle noch 48 Stunden nach dem Tode Treponemen fanden, zeigt, dass diese nicht immer gleich nach dem Tode des Wirtsorganismus zugrunde gehen, was z. B. bei den Trypanosomen der Fall ist. Auch ich habe ähnliche Beobachtungen gemacht. Auch ist es mir gelungen, treponemenhaltiges Hirnmaterial eine Zeit lang aufzubewahren, ohne dass

die Parasitenzahl eine merkliche Abnahme erfahren hätte. Jedoch büßen die sehr empfindlichen Mikroorganismen dabei häufig ihre Bewegungsfähigkeit ein. Indes ist diese auch bei frischem Material zuweilen nicht mehr vorhanden. Dass die Spirochäten nach dem Tode des Wirtsorganismus nicht gleich verschwinden, ist auch von anderen syphilitischen Krankheitsformen, namentlich von der Lues hereditaria her bekannt. So hat Arning¹⁾ im Hamburger ärztlichen Verein lebende Spirochäten aus der Lunge eines hereditär luetischen Neugeborenen demonstriert, nachdem die Leiche 40 Stunden vor der Entnahme des Präparates im Kühlkeller gelegen hatte. Dasselbe geht auch aus anderen in der Literatur niedergelegten Beobachtungen hervor.

Die eigentliche Untersuchung gestaltet sich folgendermassen: Man entnimmt aus der Hirnrinde ein kleines Stückchen und verreibt dieses mit Kochsalzlösung zu einem feinen Brei. Von diesem stellt man sich Präparate für das Dunkelfeld her. Natürlich eignen sich zum Nachweis des Treponema der Paralyse alle Dunkelfeldsysteme (die Kondensoren von Zeiss, Leitz, Reichert u. a.). Trotzdem halte ich die Befolgung besonderer Vorschriften bei der Untersuchung paralytischen Materials nicht für überflüssig. Ich selbst bediene mich des Paraboloid-Kondensors von Zeiss in Verbindung mit einem starken Trockensystem (Apochromat 4 mm) in Verbindung mit dem Komp.-Okular 12. Ganz unerlässlich ist die Verwendung eines verschiebbaren Objektstisches. Da man auch auf jede einzelne Spirochäte achten muss (eine einzige sichere Spirochäte ist auch ein positiver Befund), ist es zuweilen notwendig, ein eben dem Gesichtskreis entschwindendes spirochätenverdächtiges Gebilde zu verfolgen und genau einzustellen, um dessen Natur festzustellen. Aus dem gleichen Grunde ziehe ich die Verwendung starker Trockensysteme der Oelimmersion vor, weil durch das zwischen Deckglas und Linse befindliche Zedernöl bei jeder Verschiebung des Präparates leicht Strömungen in dem letzteren erzeugt werden. Selbstverständlich muss das Mikroskop an einem vor starken Erschütterungen geschützten Platz stehen; auch dürfen die im Mikroskopierraum anwesenden Personen nicht stark auf den Fussboden auftreten, da auch diese Erschütterung sich leicht dem Präparat mitteilt. Man bedient sich zur Dunkelfelduntersuchung Objektträger bestimmter Dicke (diese ist für jeden Kondensor verschieden und auf den Gebrauchsanweisungen der mikroskopischen Firmen angegeben). Bei Anwendung eines Trockensystems (bei Immersion spielt dieser Faktor keine Rolle) empfiehlt es sich, dieses auf die Deckglasdicke vermittelst der Korrekturfassung einzustellen. Um das lästige Einstellen der Kor-

1) Jahrb. d. Hamburg. Staatskrankenanst. 1908. Bd. 13. S. 111.

rekturfassung und Messen der Deckglasdicke bei jedem neuen Präparate zu vermeiden, halte ich mir Deckgläser in gleicher Dicke vorrätig, die man sich aus den käuflichen Deckgläsern mit einem Deckglastaster auswählen kann. Natürlich müssen Objektträger und Deckgläser tadellos sauber sein. Zwischen Kondensor und Unterseite des Objektträgers ist durch Zedernöl oder Wasser eine Immersion herzustellen. Bei Anwendung eines Immersionssystems muss eine zweite Immersion zwischen Deckglas und Frontlinse gebildet werden. Alle Objektive müssen mit entsprechenden Einhängeblenden versehen sein. Bezüglich aller Einzelheiten verweise ich auf die Kataloge über Dunkelfeldkondensoren der bereits erwähnten Firmen. Als Lichtquelle bedient man sich am zweckmässigsten einer Nernstlampe, die ruhiger brennt und die Augen nicht so sehr anstrengt, wie Bogenlicht, das ja sonst hellere Beleuchtungseffekte liefert und auch zu Dunkelfeld-Momentaufnahmen unerlässlich ist. Die von der Nernstlampe ausgehende Wärmestrahlung kann man durch eine Wasserkammer abhalten. Man kann auf diese Weise stundenlang mikroskopieren; in der ersten Zeit ermüdet man leicht, sobald man sich aber an die Untersuchungstechnik einigermaßen gewöhnt hat, ist auch ein längeres Arbeiten mit keinen Unannehmlichkeiten mehr verknüpft. Im allgemeinen genügt es, die Hirnemulsion durch Verreiben mit einem Glasstab auf einem Objektträger herzustellen; den zum Verreiben gebrauchten Objektträger verwendet man am besten nicht zur Untersuchung, sondern bringt von diesem einen Tropfen, der keine gröberen Partikelchen enthält, auf einen frischen Dunkelfeld-Objektträger.

Im Präparate treten häufig Strömungen auf, derart, dass die Flüssigkeit nach einer bestimmten Richtung hin fliesst. Es empfiehlt sich dann, namentlich den Rand des Deckglases abzusuchen, da sich hier häufig einzelne Spirochäten anstauen. Bei der Untersuchung gehe man in der Weise vor, dass man einzelne Präparate gründlich durchsieht; wichtiger aber ist es; möglichst viele Präparate aus den verschiedensten Stellen zu durchmustern. Dann ist es natürlich unmöglich, auf die Untersuchung aller einzelnen Präparate viel Zeit zu verwenden. Die Aussicht, Spirochäten in einem paralytischen Gehirn aufzufinden, ist grösser, wenn man möglichst viele Stellen rasch durchsieht, als bei sehr gründlicher Untersuchung nur weniger Stellen. Die Dunkelfelduntersuchung des frischen Gehirns ist von grosser Wichtigkeit, da sie allen andern Methoden der Spirochätenuntersuchung weit überlegen ist und ohne zu grosse Mühe viele Stellen der Hirnoberfläche rasch nacheinander zu untersuchen gestattet. Ausserdem bietet sie den Vorteil, dass man unter günstigen Umständen die Spirochäten in lebendem Zustande beobachten kann. Allerdings liegen im paralytischen Gehirn die Verhältnisse anders als

z. B. in Primäraffekten oder Papeln; die Spirochäten aus dem Gehirn sind häufig unbeweglich. Aber auch die unbeweglichen und toten Spirochäten zeigen bei der Dunkelfelduntersuchung eine so charakteristische Gestalt, dass man sie unmöglich mit anderen Gebilden verwechseln kann. Gewisse Schwierigkeiten bereitet die Untersuchung nur dann, wenn das Untersuchungsmaterial sehr blutreich ist. Hier sieht man nämlich häufig sehr zarte Fäden, die lebhaft flottieren, sogenannte Fibrinfäden, die zur Verwechslung mit Spirochäten Veranlassung geben können, niemals aber die charakteristische Schraubenform der Pallida aufweisen. Wenn man es sich zur Regel macht, nur charakteristisch schraubenförmige Gebilde, die man im Dunkelfeld sieht, als Pallidae anzusprechen, wird man nie einem Irrtume verfallen. Manchmal sieht man auch Reihen von Kokken, die den Ungeübten vielleicht dazu verleiten könnten, in diesen verschlungene Spirochäten zu sehen; auch dieser Irrtum ist leicht zu vermeiden, wenn man sich an die typische Morphologie der Pallida hält.

Selbstverständlich kann man die Dunkelfelduntersuchung nur durch Uebung erlernen und ich rate Jedem, der sich mit Spirochätenuntersuchungen bei Paralyse beschäftigen will, die Untersuchungstechnik erst an einem spirochätenreicheren Material (bei Lues) gründlich zu erlernen. Ich habe es vermieden auf die Einzelheiten der Dunkelfelduntersuchung, die für unsere spezielle Untersuchungstechnik nicht besonders wichtig sind, und auf die Theorie der Dunkelfeldbeleuchtung näher einzugehen. Darüber findet man das Wissenswerte in allen einschlägigen Monographien (Hoffmann, Sobernheim, Mühlens u.a.), namentlich auch in dem Büchlein „Anleitung zur Syphilisdiagnose“ von Mulzer.

Die zwar sehr einfache und billige Methode der Dunkelfelduntersuchung durch Einschaltung einer Zentralblende in den gewöhnlichen Kondensor kann ich namentlich für Paralyseuntersuchungen nicht empfehlen.

Wer glaubt, auf das Dunkelfeld verzichten zu können und dasselbe durch Färbung von Trockenausstrichen zu erreichen, wird keine Freude erleben. Man findet nämlich Spirochäten in gefärbten Präparaten nur dann, wenn die Parasiten im Dunkelfeld in grösserer Zahl zu sehen waren. Ausserdem hat jede Färbetechnik des *Treponema pallidum* ihre Tücken und versagt gelegentlich auch dem Geübteren aus unbekannten Gründen. Immerhin wird es manchmal wünschenswert erscheinen, das im Dunkelfeld Gesehene in einem Präparate festzuhalten, um es anderen demonstrieren zu können. Dann bediene man sich namentlich der technisch einfachen Methoden. Marie, Levaditi und Bankowski

empfehlen hierzu das Tuscheverfahren, die Löffler'sche Geisselfärbung und die Färbung nach Fontana-Tribondeau. Mir hat sich besonders die einfache Nitzsche'sche Kollargolfärbung bewährt. Auch die Giemsa-färbung gibt sehr hübsche Bilder.

Die Vorschriften für diese Färbungen sind folgende:

I. Tuscheverfahren nach Burri:

Ein Tropfen Hirnbrei wird mit einem Tropfen Tusche vermischt und auf einen Objektträger fein aufgestrichen. Nach dem Trocknen kann man das Präparat direkt mit Oelimmersion besichtigen. Die Spirochäten erscheinen weiss, auf dunklem Grunde. Man bezieht am besten fertige Spirochätentusche von Grubler-Leipzig; die Tusche muss in dem Verhältnisse 1:10 mit Wasser verdünnt und sterilisiert werden, sofern man die Tusche nicht gleich in dieser Verdünnung bezieht. Die Tusche muss vollkommen keimfrei sein; wenn in derselben Bakterien gewuchert sind, können diese die Untersuchung empfindlich stören. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich, bei jeder Untersuchung ein frisches Gläschen zu benutzen. Hecht und Wilenko, sowie Schmorl, Zabel haben angegeben, dass sich durch das Tuscheverfahren selbst in längere Zeit in Formalin aufbewahrten Organen Spirochäten nachweisen lassen. Bei der Untersuchung von in Formol fixierten paralytischen Gehirnen hat sich mir jedoch dieses Verfahren nicht bewährt.

Statt der Tusche kann man auch eine Kollargollösung benutzen (Harrison). Am zweckmässigsten erscheint mir jedoch die Anwendung des Kollargols nach der Nitzsche'schen Vorschrift. Ein lufttrockener Ausstrich des Hirnbreis wird mit einer 5 proz. Kollargollösung übergossen. Nach 5 Minuten lässt man durch Schrägstellen des Objektträgers das Kollargol abfliessen. Sobald das Präparat trocken ist, kann man es sofort, ohne eine Deckglas aufzulegen, mit Oelimmersion untersuchen. Die Umrisse der Spirochäten erscheinen noch schärfer wie in Tuschepräparaten. Man kann, nach Saphier, abgeblasste Kollargolpräparate dadurch wieder brauchbar machen, dass man das eingetrocknete Zedernöl durch Xylol entfernt und den Ausstrich nochmals mit Kollargol behandelt; die Haltbarkeit dieser Präparate kann man dadurch erhöhen, dass man sie nach dem Trockenwerden 2—3 Tage mit 2 proz. Fixiernatronlösung behandelt, im Wasser abspült und dann trocknet. Die Kollargollösung wird am besten jedesmal frisch bereitet. Das Kollargol ist in Ampullen von 1 g im Handel.

Auf den gleichen Grundsätzen beruht die Kalb'sche Färbung mit Eosin und Triacid und die „Relieffärbung“ von Benians mit Kongorot. Ueber diese beiden Färbungen habe ich jedoch keine Erfahrung.

II. Löffler'sche Geisselfärbung.

Nach der von Hoffmann gegebenen Vorschrift werden die Ausstriche, die sehr dünn sein müssen, mit Alkohol oder Osmium fixiert, mit Löfflerbeize übergossen und 3 mal vorsichtig bis zum Aufsteigen von Dämpfen erhitzt. Hierauf wird mit destilliertem Wasser abgespült und dann unter vorsichtigem Erwärmen mit Ziehl'schem Karbolfuchsin nachgefärbt. Dann folgt wiederum Abspülen mit Wasser; nach dem Trocknen sind die Präparate fertig. Es empfiehlt sich, die Präparate in Kanadabalsam einzuschliessen und mit einem Deckglas zu bedecken.

Die Zusammensetzung der Löfflerbeize ist folgende:

20 proz. Tanninlösung 10,0

Kaltgesättigte Ferrosulfatlösung 5,0

Gesättigte alkoholische Fuchsinlösung 1,0.

Man kann auch statt des Karbolfuchsin nach der ursprünglichen Löffler'schen Vorschrift eine Anilinwasserfuchsinlösung, die jedesmal frisch bereitet sein muss, anwenden, der so viel ein $\frac{1}{10}$ proz. Natronlauge hinzugefügt wird, bis eine Schwebefällung entsteht, derart, dass die Farblösung eben noch durchsichtig ist.

III. Färbung nach Fontana-Tribondeau.

Ein Ausstrich wird fixiert, indem man ihn mit folgender Lösung übergiesst:

Acid. acet. 1,0

Formol. 2,0

Aq. dest. 100,0.

Nach Abspülen in destilliertem Wasser 30 Sekunden langes Beizen in Tanninlösung unter Erwärmen (bis Dämpfe aufsteigen), hierauf wiederum Abspülen in destilliertem Wasser. Die Tanninlösung hat folgende Zusammensetzung:

Tannin 5,0

Acid. carbol. liquef. 1,0

Aq. dest. 100,0.

Der Karbolzusatz verfolgt den Zweck die Zersetzung der Lösung durch Bakterien zu verhindern.

Hierauf werden die Präparate versilbert, indem man folgende Lösung aufgiesst und 30 Sekunden unter Erwärmen (bis leichte Dampfbildung auftritt) einwirken lässt. Silberlösung:

Arg. nitric. 0,25

Aq. dest. 100,0.

Tropfenweise Ammoniak, bis sich der sich bildende Niederschlag wieder gelöst hat.

Hierauf Abspülen in destilliertem Wasser, nach dem Trocknen sind die Präparate fertig. Die Spirochäten sind schwarzbraun gefärbt. Man kann auch Dunkelfeldpräparate, nachdem man das Deckglas vom Objektträger getrennt hat, Deckglas und Objektträger gleichzeitig nach dieser Methode färben, um die darin enthaltenen Spirochäten in einem Dauerpräparate festzuhalten.

IV. Giemsa-Färbung des *Treponema pallidum*.

Von der Giemsa-Färbung existieren eine Unzahl Vorschriften und Modifikationen. Die einfachsten Vorschriften dürften wohl die folgenden sein:

Von der bei Grübler käuflichen Giemsalösung wird folgende Verdünnung hergestellt:

10 Tropfen Farbstoff auf 10 ccm Wasser
(das vollkommen säurefrei sein muss).

In dieser werden die alkoholfixierten Präparate 1—2 Stunden lang gefärbt. Manchmal erscheint auch eine längere Einwirkung der Farblöslichkeit (bis 24 Stunden oder länger) vorteilhaft (Hoffmann). Für genauere morphologische Studien ist die Osmiumfixierung der Ausstriche nach Hoffmann und Halle notwendig. Am sichersten gelingt die Giemsa-Färbung nach der neuesten von E. Hoffmann angegebenen Technik:

„Nach Herstellung eines dünnen Ausstrichs auf gut gereinigtem Objektträger mittels Deckglaskante wird das noch feuchte Präparat schnell für $\frac{1}{2}$ —1 Minute in eine Osmiumkammer (gut verschlossener Glaszylinder mit eingeschliffenem Deckel, in dem sich ein geöffnetes Glasröhrchen mit $\frac{1}{2}$ —1 g Osmiumsäurekristallen befindet) hineingebracht. Alsdann kommt das Präparat auf 24—36 Stunden in die Farblösung, die auf 40 ccm destillierten Wassers 8—10 Tropfen 1proz. wässriger Kalium carbonicum-Lösung und 50—60 Tropfen Giemsalösung enthält. Das stark gefärbte Präparat, welches in eine Küvette so gestellt wird, dass die Niederschläge auf die vom Ausstrich freie Glasfläche fallen, wird dann kurz mit Wasser abgespült, eine oder einige Minuten in 25 proz. wässriger Tanninlösung differenziert, dann unter der Wasserleitung gründlich abgespült, mit Fliesspapier getrocknet und mit reinem Zedernöl (Immersionsöl) eingedeckt.“

Auch die Spirochäten der progressiven Paralyse färben sich nach Giemsa, wie dies im Gegensatz zu Forster und Tomaczewski betont werden muss. Keinesfalls also unterscheiden sich die Spirochäten der Paralyse von denen der gewöhnlichen Lues durch das Fehlen der Giemsa-färbbarkeit.

Bezüglich aller anderen Färbemethoden zur Darstellung des Syphilerregers, die selbstverständlich auch bei der Paralyse anwendbar sind, sei auf die einschlägigen Bücher verwiesen.

Im Allgemeinen pflege ich nicht zu viel Zeit auf die Färbung des *Treponema pallidum* in Ausstrichen zu verwenden und mich in der Regel mit der Dunkelfelduntersuchung zu begnügen, da durch die Anwendung der verschiedenen Färbemethoden zu viel Zeit verloren geht und ich vorziehe, die Lokalisation der Krankheitserreger durch Untersuchung möglichst vieler Stellen im Dunkelfelde zu studieren. Ich will an dieser Stelle noch bemerken, dass man selbstverständlich immer, wenn es auf eine genaue Lokalisation der Parasiten ankommt, nach der Untersuchung einer jeden Stelle, die benutzten Instrumente reinigen muss. Bei Ausserachtlassung dieser Vorsichtsmassregel kann es leicht vorkommen, dass Spirochäten aus einer vorher untersuchten spirochätenhaltigen Stelle in ein Präparat gelangen, das einem parasitenfreien Orte entstammt.

Am wichtigsten ist der Spirochätennachweis in Schnittpräparaten, da diese allein uns über die Lagerung der Treponemen im Gewebe Auskunft geben können und ein genaueres mikroskopisches Studium dieser Verhältnisse ermöglichen.

Zur Schnittfärbung der Treponemen haben sich allein die Silberimprägnationsmethoden als brauchbar erwiesen. Die erste Methode stammt von Volpino-Bertarelli (alte Vorschrift):

Von alkoholgehärteten Stücken werden dünne Paraffinschnitte hergestellt. Diese werden 1—2 Tage lang in 0,2—0,5 proz. Silbernitratlösung gelegt, dann gewaschen und in der van Ermengen'schen Beize eine Viertelstunde lang reduziert; dann kommen sie noch einmal in die Silberlösung, bis sie einen braunen Farbenton angenommen haben, und werden dann entwässert und in Kanadabalsam eingeschlossen. Diese Methode der Schnittfärbung hat sich nicht sehr bewährt, so dass man sich jetzt ganz allgemein der Färbung ganzer Blöcke bedient. Das Gleiche gilt von einer neuerdings angegebenen Schnittfärbung von Gyenes und Sternberg; am gebräuchlichsten ist die Levaditi-Methode (alte Methode), die aus einer von Ramon y Cajal angegebenen Fibrillenfärbung hervorgegangen ist.

Die Technik der Levaditi-Methode ist folgende:

Alte Vorschrift:

1. Fixieren dünner Gewebsscheiben in 10proz. Formalin 24 Stunden oder länger.
2. Uebertragen in 96proz. Alkohol auf 24 Stunden.

3. Einlegen in destilliertes Wasser bis Stücke untersinken.
4. Einlegen auf 3—6 Tage in eine 1,5—3 proz. wässrige Lösung von Silbernitrat bei 37° in dunkler Flasche.
5. Kurz abwaschen in destilliertem Wasser.
6. Reduzieren 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur in einer Mischung von 5 ccm (40proz.) Formalin, 100 ccm destilliertem Wasser, in der 2—4 g Pyrogallussäure gelöst ist, in dunkler Flasche.
7. Auswaschen in Wasser, Einbetten in Paraffin, Schneiden.

Neue Vorschrift

(auch Pyridinmethode von Levaditi-Manouélian genannt):

1. Fixieren in 10 proz. Formalin 24 Stunden.
2. Nachhärten in 90 proz. Alkohol 12—16 Stunden.
3. Uebertragen in destilliertes Wasser bis Stücke untersinken.
4. Einlegen bzw. Einhängen an dünnen Fäden in 90 ccm einer 1,5proz. Silbernitratlösung, der unmittelbar vor dem Gebrauch 10 ccm reinstes Pyridin zugesetzt werden (dunkle Flasche!), zuerst 2—3 Stunden bei Zimmertemperatur, nachher 4—6 bei 50°.
5. Rasch abwaschen in reinem Pyridin.
6. Reduzieren 12 Stunden in folgender Lösung: Man mische unmittelbar vor dem Gebrauch 90 ccm (4proz.) Pyrogallussäurelösung mit 10 ccm Pyridin (dunkle Flasche).
7. Uebertragen in Alkohol und rasch Einbetten in Paraffin. Schneiden.

Die ältere Methode gibt im Allgemeinen sicherere Resultate und wird daher, wenn es sich nicht gerade um eine rasche Darstellung der Spirochäten handelt, meistens der neueren vorgezogen. Eine sehr gute Methode, die oft Spirochäten zur Darstellung bringt, wo die Levaditi-Methode versagt, ist das neue von Bertarelli und Volpino angegebene Verfahren:

1. Dünne Gewebstücke werden in 96proz. Alkohol gehärtet.
2. 4 Tage lang in einer Lösung von Arg. nitr. 1,5 g, Aq. dest. 50 ccm, 96 proz. Alkohol 50 ccm, 4—5 Tropfen reiner Essigsäure. Die Flüssigkeit muss erneuert werden, sobald Niederschläge auftreten.
3. Waschen in destilliertem Wasser.
4. Reduktion in van Ermengen'scher Beize 24 Stunden bei Zimmertemperatur.

Die van Ermengen'sche Beize hat folgende Zusammensetzung:

Tannin 3 g, Gallussäure 5 g, essigs. Natron 10,0 g;
Aq. dest. 350,0 g.

5. Gründliches Auswaschen. Paraffineinbettung.

Alle die angegebenen Methoden eignen sich nicht für das Nervensystem, da sich hier auch Bestandteile des nervösen Gewebes mitfärben und die Spirochäten verdecken können. Dies gilt nach meinen Erfahrungen auch von der Yamamoto-Methode, die in andern Organen die Spirochäten elektiv zur Darstellung bringt. Die Technik dieser Methode ist folgende:

Das Material kann in Formalin oder Alkohol fixiert sein.

1. Man legt dünne Scheiben auf 24 Stunden in fließendes Wasser ein und nochmals auf eine Stunde in destilliertes Wasser.
2. Versilberung in einer 5proz. Lösung von Silbernitrat 48 Stunden bei 37° in dunkler Flasche.
3. Reduktion in einem Gemisch von

Acid. tannic. 1,0	}	24 Stunden bei 37°.
Acid. pyrogallie. 2,0		
Aq. dest. 100,0		

Wechseln der Flüssigkeit nach Verlauf der ersten Stunde, weil sie sich trübt.

4. Auswaschen in Wasser 1 Stunde.
5. Zelloidineinbettung, da bei Paraffineinbettung die Färbung etwas abblasst.

Ich habe diese Methoden hier angeführt, weil man sich dieser zur Untersuchung anderer Organe mit Vorteil bedienen kann.

Zum Spirochätennachweis im Nervengewebe hat Noguchi eine Methode angegeben. Noguchi hält folgende Punkte für den Spirochätennachweis im Nervengewebe für wichtig. Zunächst empfiehlt er die Blöcke dicker als bei anderen Organen zu nehmen, nämlich 5—7 mm dicke Scheiben, da man im Innern solcher Blöcke immer einen weniger tief imprägnierten Bezirk finden kann, innerhalb dessen die Pallida sich von den weniger tief imprägnierten Neurogliafibrillen auf das Schärfste abhebt. Ferner betont Noguchi, dass man die Stücke nach gründlicher Formalinfixierung ebenso gründlich in Alkohol nachfixieren müsse, um die Färbung der Spirochäten zu erzielen. Endlich weist Noguchi auf die Tatsache hin, dass langes Verweilen des Materials in Formalin die Imprägnationsfähigkeit der Neurogliafasern herabsetze, die der Pallida aber erhöhe. Die Aussichten, die Pallida im Gehirn nachzuweisen, seien umso günstiger, je länger das Material in

Formalin gelegen habe, doch bekomme man zuweilen auch bei nicht so lange in Formalin fixiertem Material brauchbare Präparate. Die Einzelheiten der Technik sind folgende:

1. Ein 5—7 mm dickes Stück aus formalinfixiertem Material wird in folgende Flüssigkeit:

Formalin	10 ccm
Pyridin	10 „
Aceton	25 „
Alcohol abs.	25 „
Aq. dest.	30 „

5 Tage lang bei Zimmertemperatur eingelegt.

2. Hierauf folgt gründliches Auswaschen in häufig gewechseltem destilliertem Wasser 24 Stunden lang.
3. Dann kommen die Stücke 3 Tage lang in 96 proz. Alkohol (sehr wichtig).
4. Gründliches 24stündiges Auswaschen in mehrmals zu wechselndem destilliertem Wasser.
5. Einlegen in 1,5 proz. Silbernitratlösung in dunkler Flasche entweder 5 Tage bei Zimmertemperatur oder 3 Tage bei 37 °.
6. Zweistündiges Auswaschen in destilliertem Wasser.
7. Reduktion in 4 proz. Pyrogallussäurelösung, der man 5 pCt. Formalin zugesetzt hat, 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur.
8. Gründliches Auswaschen in destilliertem Wasser.
9. Uebertragen in 80 proz. Alkohol auf 24 Stunden.
10. Einlegen in mehrmals zu wechselndem Alkohol von 96 pCt. auf 3 Tage.
11. Absoluter Alkohol 2 Tage.
12. Einbetten in Paraffin mittels Xylol.

Noguchi rät, die Schnitte aus verschiedenen Tiefen der Blöcke zu entnehmen, um so die Zone zu finden, wo die Spirochäten am besten imprägniert sind. Ich bin dabei meist so vorgegangen, dass ich den ganzen Block halbierte und von der Mitte aus diesen aufzuschneiden begann. Noguchi schneidet 3—5 μ dicke Schnitte. Die Spirochäten sind in den Noguchi'schen Präparaten tiefschwarz gefärbt, während das Gewebe des Nervensystems einen gelblichen oder gelblichbraunen Farbenton zeigt. Noguchi gibt selbst zu, dass zuweilen auch die Nervenfasern schwarz gefärbt seien und dass solche Schnitte zum Aufsuchen der Pallida sich nicht eignen.

Noguchi hat nachträglich noch folgende Abänderung der Methode angegeben, die aber den meisten entgangen sein dürfte, denn sie findet

sich in keinem der Bücher, welche die Noguchi'sche Technik aufgenommen haben. Noguchi schreibt¹⁾: „Falls die einfache Silberlösung nur unvollkommen imprägniert, so setzt man mit Vorteil 10 pCt. Pyridin zu.“

Dann schreibt er, dass man zu der Pyrogallussäure „statt des Formalins, auch nach Levaditi-Manouélian 15 pCt. Pyridin und 10 pCt. Aceton zusetzen“ könne. Es handelt sich hier nur um unwesentliche Modifikationen, die die Mängel der Methode in keiner Weise zu verbessern vermögen.

Die Angabe Noguchi's, dass die Imprägnationsfähigkeit der Fibrillen bei längerem Aufbewahren des Materials in Formol abnehme, während die der Spirochäten nicht verloren geht, ist durchaus richtig. Hingegen möchte ich der Empfehlung Noguchi's, dicke Blöcke zu verwenden, nicht ohne Weiteres zustimmen. Bei allen Blockfärbungen dringt die Silberlösung nur wenig in die Tiefe ein. Cajal und Levaditi haben daher betont, immer nur kleine, 2 mm dicke Stücke zu den Blockfärbungen zu verwenden. Man kann wohl im Innern grösserer Blöcke vollkommen fibrillenfreie Stellen finden, aber hier sind wahrscheinlich auch die Spirochäten nicht gefärbt, während die Parasiten, welche in dem dichten Fasergewirr der peripheren Schichten des Blockes liegen, natürlich nicht als solche zu erkennen sind. Uebrigens gelingt es nicht in allen Fällen, selbst durch längeres Lagern in Formalin, die Fibrillenfärbung auszuschalten. Ich habe in einzelnen Fällen, auch nach 10 jährigem Aufenthalt des Materials in Formol, noch gut erhaltene Färbbarkeit der Fibrillen gefunden. Andere Vorschriften der Methode, wie die Vorbehandlung in dem Formalin-Pyridin-Aceton-Alkoholgemisch halte ich für unwesentlich. Hingegen erscheint mir die Angabe Noguchi's, dass die Spirochätenfärbung nur nach gründlicher Nachfixierung in Alkohol gelinge, als sehr wesentlich. Noguchi betont selbst, dass sich die alte Levaditi-Methode auch zur Auffindung der Pallida im Gehirn eigne namentlich wenn man dickere Blöcke einlege. Moore, der Mitarbeiter, Noguchi's, schreibt über die Technik: „Es genügt zu sagen, dass die Levaditi-Silbermethode angewendet wurde mit einigen Modifikationen, die möglicherweise von Wichtigkeit waren, möglicherweise auch nicht.“ A. Marie, Levaditi und Bankowski haben sich der alten Levaditi-Methode mit Erfolg zum Nachweis der Spirochäten im Paralytikergehirn bedient. Sie dehnten dabei den Aufenthalt der Blöcke in Alkohol auf 3 Tage aus.

1) Münchener med. Wochenschr. 1913. S. 737.

Marinesco und Minea arbeiteten mit der Cajal'schen Methode. Der unwesentliche Unterschied zwischen dieser und der Levaditi-Methode beruht in dem Ammoniakzusatz zu dem Alkohol.

Alle diese Methoden haben den Nachteil, dass man sehr vom Zufalle abhängig ist, indem die Fibrillenimprägation in jedem einzelnen Falle eine sehr verschiedene ist. Ich bin überzeugt, dass die Spirochäten sehr häufig deshalb nicht gefunden werden, weil sie gerade in der fibrillenhaltigen Zone gut gefärbt sind und sich hier natürlich von den Fibrillen nicht differenzieren lassen.

Es besteht also ein Bedürfnis nach einer elektiven Färbung der Pallida im Zentralnervensystem, der diese Mängel nicht anhaften.

Marinesco und Minea schreiben hierüber: „Eine gute Technik müsste bezwecken, einerseits die Imprägnation der Nervenfasern zu verhindern, andererseits die Spirillen zu beizen. Das lässt sich nicht ganz leicht realisieren.“

A. Marie, Levaditi und Bankowski äussern sich über denselben Punkt folgendermassen: „Es handelt sich darum, ein Verfahren der Fixation oder Silberimprägation zu finden, das, so viel als möglich die Affinität der nervösen Fibrillen für das Silber reduziert, ohne die der Treponemen zu verhindern. Wir sind gegenwärtig im Begriffe, danach zu suchen.“

Ich darf wohl darauf verzichten, die zahlreichen, völlig ergebnislosen Versuche, die ich unternommen habe, um ein derartiges Verfahren ausfindig zu machen, hier ausführlich darzulegen. Ursprünglich suchte ich durch eine Abänderung der Formalinfixierung dieses Ziel zu erreichen. In Deutschland wird ja allgemein das Schering'sche Formalin angewendet. Ich glaubte, dass vielleicht andere Formolarten die Fibrillen nicht so gut fixierten, wie das Schering'sche Formol und daher zum Spirochätennachweis geeigneter sein könnten. Eine Bemerkung Schmorl's, der erwähnt, dass die Tuberkelbazillenfärbung nach längerer Formalinfixierung versage, bestärkte mich in dieser Annahme, namentlich aber folgender Ausspruch Schmorl's: „Allerdings scheinen sich in dieser Hinsicht die verschiedenen Fabrikationsmarken des Formalins verschieden zu verhalten“. Ich versuchte, die Fixierung durch verschiedene Zusätze zum Formalin abzuändern, habe aber dadurch nichts erreicht und bin allmählich zu der Ueberzeugung gelangt, dass eine Abänderung der Fixierung kein gangbarer Weg zur Abstellung dieses Uebelstandes ist. Ich habe daher auch keine Veranlassung gefunden, von der Verwendung des Schering'schen Formalins Abstand zu nehmen, das sich zur Fixierung der Spirochäten vorzüglich eignet.

Zur Ausschaltung der Mitfärbung des nervösen Gewebes hat sich mir allein die Urannitrat-Vorbehandlung bewährt. Die Anwendung dieses

Kunstgriffes bietet den weiteren Vorteil, dass die Färbung sich an beliebig fixiertem Material durchführen lässt, namentlich aber, dass jedes in Formol fixiertes Gehirnmateriel zu dieser Färbung sich eignet, so dass das in den Sammlungen der Irrenanstalten vorhandene Formolmateriel von paralytischen Gehirnen sehr gut zu diesen Untersuchungen verwertet werden kann. Das Urannitrat findet schon lange in der mikroskopischen Technik Verwendung. Bekannt ist seine Anwendung als Urankarmin zur Achsenzylinderfärbung (Schmaus, Chilesotti). Auch ist es wiederholt als Fixierungsmittel benutzt worden (Schenk u. a.). Ramon y Cajal hat eine Gliafärbung angegeben, bei der er sich des Urannitrats zur Ausschaltung der nervösen Bestandteile des Nervengewebes bediente. Auch Doinikow wandte das Urannitrat zur Beizung von Gefrierschnitten an, die er dann nach der Bielschowsky'schen Methode färbte, und benutzte diese Modifikation der Bielschowsky-Färbung neben anderen Methoden zum Studium der De- und Regenerationserscheinungen bei der multiplen Sklerose. Als ich zuerst den schönen fibrillenfreien Untergrund sah, den das Urannitrat in der Cajal'schen Gliafärbung gibt, glaubte ich das Mittel gefunden zu haben, um fibrillenfreie Spirochätenpräparate zu erzielen. Ich erlebte jedoch zuerst eine grosse Enttäuschung. Die Präparate, die ich erhielt, indem ich vor der Levaditifärbung eine längere Uranvorbehandlung einschaltete, waren zwar vollkommen fibrillenfrei, enthielten aber auch keine Spirochäten und in sicher sehr spirochätenhaltigem Material (Leber von Lues hereditaria) fand ich bei dieser Uranvorbehandlung keine Spirochäten, nur gelegentlich einige braungefärbte, gewundene spirochätenähnliche Gebilde. Ich gelangte zu der Ueberzeugung, dass das Urannitrat auch die Färbbarkeit der Spirochäten ebenso, wie der Fibrillen aufhebt. Ich hatte die Urananwendung bereits aufgegeben, als mir einige Zeit später der Gedanke kam, einen wichtigen Unterschied in der Färbbarkeit der Fibrillen und der Spirochäten nutzbar zu machen. (Ich nenne hier im Anschluss an Noguchi alle gewundenen Bestandteile des Zentralnervensystems, die sich bei der Levaditi- und Noguchimethode schwarz färben, Fibrillen, bin mir aber bewusst unter diesem Namen eine Reihe ganz heterogener Fasern zusammenzufassen, welche denselben zum Teil nicht verdienen, Achsenzylinder, Gliafasern und dergl.) Erfahrungsgemäss färben sich die Fibrillen sehr leicht, die Spirochäten dagegen sehr schwer. Ferner gelingt die Fibrillenfärbung an Formalinmateriel ohne Alkoholnachbehandlung, während zur Spirochätenfärbung Alkoholnachfixierung notwendig ist (Noguchi). Ich habe daher kleine Stücke ganz kurz mit Urannitrat behandelt und fand zu meiner grossen Ueberraschung, dass schon ein viertelstündiges Ver-

weilen der Blöcke in einer 1 proz. Urannitratlösung in vielen Fällen genügt, um die Fibrillenfärbung auszuschalten. Diese kurze Uranbehandlung beeinträchtigt die Imprägnationsfähigkeit der Spirochäten nicht, zumal, da ich sie stets vor dem Alkohol anwende. Es ist daher eine zum Gelingen der Färbung wichtige Voraussetzung, das Urannitrat nur so lange einwirken zu lassen, als zur Fibrillenausschaltung unbedingt notwendig ist. Die Firma E. Merck in Darmstadt hat mir in dankenswerter Weise auch andere Uransalze zum Versuchen überlassen. Von allen diesen habe ich aber das Urannitrat am brauchbarsten gefunden.

Die ursprüngliche Methode, deren ich mich bediente, bestand darin, dass ich vor der Levaditi-Methode eine Uranbehandlung von einer halben Stunde anbrachte. Damit erzielte ich wohl Resultate, aber die relative Einfachheit dieser Technik bringt den Nachteil mit sich, dass nicht alle Spirochäten zur Darstellung gelangen, häufig nur die dickeren Formen. Ich habe mich deshalb bemüht, die Spirochätenfärbung zu verbessern, durch längeres Verweilen der Blöcke in Silberlösung und einige andere Vorschriften, die ich in Folgendem zusammengefasst wiedergebe. Hauptsächlich haben sich mir zwei Methoden bewährt, Methode I (Uranmethode), Methode II (Pyridin-Uranmethode). Ich wende stets beide Methoden gleichzeitig an, Methode II scheint aber bessere Resultate zu geben. Ich benutze formalinfixiertes Material, das mindestens 14 Tage in Formalin lag.

Methode I (Uran-Methode):

1. Man stellt sich eine 1 proz. Lösung von Urannitrat (Merck) in destilliertem Wasser her. Diese Lösung ist jedesmal frisch zu bereiten. In diese Lösung kommen kleine 2—4 mm dicke Stücke $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang im Brutofen bei 37°. Damit die Uranlösung von allen Seiten gleichmäßig eindringen kann, empfiehlt es sich, auf den Boden des Gefäßes etwas bleifreie Glaswolle zu bringen. Die Behandlung mit Urannitrat verfolgt den Zweck, die Mitimprägnation des nervösen Gewebes zu verhindern. Sie darf nicht zu lange ausgedehnt werden, damit die Färbbarkeit der Treponemen nicht leidet. In einzelnen besonderen Fällen, in denen die geschilderte Vorbehandlung nicht genügt, um die Mitfärbung der Achsenzylinder usw. auszuschalten, kann man den Versuch machen, dies mit einer 2 proz. Urannitratlösung zu erzielen. Doch gibt die 1 proz. Uranbehandlung mehr Aussicht auf eine gute Treponemenimprägnation.

2. Die Stücke werden hierauf in destilliertem Wasser gewaschen. (1 Tag lang).

3. Uebertragen der Stücke in 96 proz. Alkohol 3—8 Tage.

4. Auswaschen der Stücke in destilliertem Wasser, bis die Stücke untersinken.

5. Die Blöcke kommen hierauf in eine 1½ proz. Silbernitratlösung in dunkler Flasche im Brutofen. Hierin verweilen sie 5—8 Tage. Es ist wichtig, immer reichlich Silberlösung zu verwenden und nicht zu viele Blöcke in eine Flasche zu bringen. Man verwende stets *Argentum nitric. cryst. Merck*, nie das in Stangen käufliche unreine Silber der Scheideanstalten. Nach Abgiessen der Silberlösung und Abspülen in Aq. dest. kommen die Stücke in ein

6. Reduktionsbad von 4 pCt. Pyrogalluslösung, der man 5 pCt. Formalin zugesetzt hat. (1—2 Tage bei Zimmertemperatur in dunkler Flasche). Ich setze die Lösung mit *Acid. pyrogall. Merck* stets frisch an. Die Stücke bleiben dabei in der gleichen Flasche, in der sie mit Silber behandelt worden sind und sollen beim Wechseln der Flüssigkeiten nicht dem Lichte ausgesetzt werden.

7. Auswaschen in Aq. dest., steigender Alkohol, Xylol, Paraffineinbettung. Der Alkohol muss vollkommen säurefrei sein. Man schneidet 5—10 μ dicke Schnitte. Dünnere oder dickere Schnitte sind nicht vorteilhaft.

Methode II (Pyridin-Uran-Methode):

Die formolfixierten kleinen Stücke kommen auf 1—3 Tage in reines Pyridin, werden gründlich in Wasser ausgewaschen und kommen nochmals einige Tage in Formalin zur gründlichen Entfernung des Pyridins, dann wieder in Wasser. Dann folgt Urannitrat und Weiterbehandlung wie bei Methode I. [Es ist notwendig die Blöcke nach der Pyridinvorbehandlung gründlich auszuwaschen, da sonst später das Urannitrat ausgefällt wird. Aus diesem Grunde bringt man die Stücke zweckmässig nach dem Wässern noch einmal in Formalinlösung (5—10 pCt.)]

Im Einzelnen habe ich zu diesen Methoden noch folgendes zu bemerken: Es erscheint oft vorteilhaft, von vornherein kleine Stücke in 10 proz. Formalinlösung zu fixieren; indes bringt dies den Nachteil mit sich, dass man infolge der Zerlegung des Materials in kleine Stücke leicht die Uebersicht verliert. Man erhält durchaus brauchbare Resultate, wenn das ganze Gehirn zunächst in Formalin fixiert wird. Wie bereits Noguchi betont hat, erhält man nach längerem Verweilen des Materials in Formol besonders gute Pallidaimprägnationen. Dieser Satz gilt auch für meine Methoden. Die Spirochäten halten sich ausserordentlich lange im Gewebe. So konnte Schneider diese in Material, das 30 Jahre lang in Alkohol gelegen hatte, noch nachweisen. Ich selbst fand in einem Falle, der vor 10 Jahren in Formol eingelegt

worden war, das ausserdem in dieser Zeit nicht gewechselt worden war, sehr gut färbbare Spirochäten. Der Gebrauch von Pyridin, das ich neuerdings anwende, hat den Zweck, das Gewebe aufzulockern und so Eindringen der Salzlösungen zu erleichtern. Zu diesem Zwecke ist es bereits von Bielschowsky zur Färbung der Neurofibrillen in Blöcken angewendet worden. Bei der Verwendung von Pyridin erhält man häufig eine Imprägnation der feinsten Kapillaren; da diese niemals mit Spirochäten verwechselt werden können, wirkt dies nicht störend. Ueberhaupt sieht der Untergrund in jedem Falle verschieden aus, auch bei ganz gleicher Vorbehandlung des Materials. Ausnahmsweise färbt sich das Gefässbindegewebe wie bei der Achucarro'schen Methode. Es sei hier erwähnt, dass in senilen Gehirnen die Fädchensubstanz der Drusen mit dieser Methode schwarz gefärbt wird. Die übrigen Bestandteile der Drusen bleiben jedoch ungefärbt. Die peripheren Zonen des Präparates sind häufig dunkler gefärbt, was auf dem ungleichmässigen Eindringen der Salzlösungen in die Blöcke beruht. Häufig sind die Spirochäten in diesen Zonen (wie bei der Originalmethode Levaditi's) etwas schwächer imprägniert. Es ist notwendig, ganz kleine Blöcke zu verwenden, da die Salzlösungen nicht sehr tief eindringen. Längerer Aufenthalt in Alkohol schadet nichts. Im übrigen gelingt die Spirochätenfärbung nach meinen Methoden auch an in Alkohol fixiertem Material. Formolfixierung gibt jedoch bessere und klarere Bilder. Die Nichtbefolgung der genauen Vorschriften der Silberimprägnation, namentlich der Anwendung chemisch reinen Silbers kann ein Versagen der Färbung herbeiführen.

Statt der Deckgläser kann man die Präparate auch in Gelatine nach dem Edinger'schen Verfahren einschliessen.

Zuweilen misslingt die Färbung auch bei genauer Befolgung der Vorschriften. Es ist mir sogar vorgekommen, dass Stücke desselben Materials, die mit den gleichen Lösungen in verschiedenen Fläschchen behandelt worden waren, in einigen Fläschchen eine sehr gute, in den anderen wieder eine sehr schlechte Imprägnation aufwiesen. Alle Silberimprägnationsmethoden, wie die Cajal'schen Methoden, die Levaditi-Färbung usw. haben eben die Tücke, dass sie gelegentlich aus unbekannten Gründen versagen. Im Allgemeinen sind jedoch vollkommene Versager selten.

In der Regel kann man in dem gleichmässig gelb oder braun gefärbten Untergrund, den man bei Anwendung dieser Methoden erhält, auch pathologische Veränderungen gut erkennen. Nachfärbungen der Schnitte, wie sie bei der Levaditi-Methode angewendet worden sind (mit Giemsalösung, Thionin, Toluidinblau, Jodgrün, Safranin usw.)

leisten in dieser Beziehung nicht viel mehr. Man erhält einen anders gefärbten Untergrund, in dem man meistens die Einzelheiten auch nicht besser erkennen kann, wie in dem nicht nachgefärbten Präparat. Auf Anregung von Prof. Raecke mache ich zurzeit Versuche, die Spirochätenfärbungen mit anderen Färbemethoden des Nervensystems (Marscheiden-, Gliafärbungen usw.) zu kombinieren. Die Hauptschwierigkeit liegt darin, dass die Spirochätenfärbung nur in Blöcken gelingt; dadurch ist es auch unmöglich gemacht, aufeinanderfolgende Schnitte einerseits nach den Spirochätenfärbungen, andererseits nach den Marscheiden-, Gliafärbungen usw. zu behandeln. Die Cajal-Färbung, auf deren Prinzip die Spirochätenfärbung beruht, lässt sich aber nicht an Schnitten durchführen; auch die Anwendung von Schutzkolloiden, die Liesegang zu diesem Zwecke vorgeschlagen hat und deren sich auch Gyenes und Sternberg zur Schnelfärbung der Spirochäten in Schnitten bedient haben, hat einstweilen zu keinen brauchbaren Resultaten geführt. Ich bin mir natürlich bewusst, dass durch geringe Abänderungen der von mir gegebenen Vorschriften ebenso gute Resultate erzielt werden können. Ich glaube jedoch, dass wesentliche Verbesserungen der von mir angegebenen Technik wohl nicht gemacht werden können. Man könnte höchstens einwenden, dass die Technik etwas kompliziert und zeitraubend ist. Demgegenüber muss ich betonen, dass die einfacheren Methoden, wie die kurze Uranvorbehandlung und anschliessende Levaditi-Methode nicht gleich gute Resultate ergeben, wie ich bereits dargelegt habe. An dieser Stelle möchte ich noch einen Punkt besonders hervorheben. Meine Methoden eignen sich nur für das Zentralnervensystem. Ich rate nicht, sie für andere Organe anzuwenden, da die Einschaltung des Urans hier überflüssig ist und hier auch die Levaditi-Methode nach meinen Erfahrungen Besseres leistet.

Im Allgemeinen kann ich sagen, dass die nach meinen Methoden erzielten Ergebnisse mit denen der Dunkelfelduntersuchung übereinstimmen, d. h. in allen Fällen, in denen ich bei Dunkelfelduntersuchung Spirochäten in grösserer Zahl fand, konnte ich sie auch in Schnitten nachweisen und umgekehrt, wo sie in Schnitten fehlten waren sie stets auch bei der Dunkelfelduntersuchung nicht zu finden gewesen. Die Fälle natürlich, wo ich bei stundenlangem Suchen im Dunkelfeld eine Spirochäte fand und die Untersuchung der Schnitte kein Resultat hatte, sowie die umgekehrten Fälle, wo ich einmal in einem Schnitte eine Spirochäte fand und im gleichen Fall die Dunkelfelduntersuchung ergebnislos verlaufen war, kann ich nicht mitzählen.

Diese absolute Uebereinstimmung zwischen Dunkelfelduntersuchung und Schnittpräparaten beweist, dass diese Methoden alles leisten, was

sie leisten können und dass durch eine weitere Verbesserung der Färbetechnik ein häufigerer Spirochätennachweis bei Paralyse nicht mehr zu erwarten ist. Anders würde natürlich der Fall liegen, wenn ausser den Spiralförmigen noch andere Formen des Syphiliserregers, etwa bestimmt charakterisierte Körnerformen¹⁾ existierten; dann könnte wohl eine neue Technik, die diese Gebilde zur Anschauung brächte, zu ungeahnten Fortschritten führen. Einstweilen haben sich jedoch alle Annahmen von anderen Formen des Syphiliserregers als fruchtlose Spekulationen erwiesen und wir müssen bis auf Weiteres daran festhalten, dass es wohl nur Spiralförmigen des Syphiliserregers in lebendem Zustande gibt. Der Vorteil, den meine Methode bietet, besteht eigentlich nur darin, dass die Silbermethode Levaditi's für das Zentralnervensystem brauchbar gemacht wird und nun hier dasselbe leistet, was sie bei der Untersuchung der nicht nervösen Organe immer geleistet hat.

Erklärung der Abbildungen (Tafeln VIII und IX).

Die Abbildungen, die ich dem photographischen Laboranten der Frankfurter Psychiatrischen Klinik, F. Rudolph, verdanke, sollen die mit dieser Technik erzielten Resultate veranschaulichen.

Tafel VIII.

Figur 1 stammt von einem Falle von seniler Paralyse, der bei Levaditi- und Noguchifärbung viele Fibrillen zeigte. Hier ist es gelungen, einen vollkommen klaren Untergrund zu erzielen.

Figur 2 zeigt Spirochäten eines Falles, bei dem das nervöse Gewebe bei den gewöhnlichen Imprägnationsmethoden stark gefärbt war. Auch gelang eine vollkommene Ausschaltung der „Fibrillen“.

Tafel IX.

Figuren 3 und 4 stammen von einem Falle, der vor zehn Jahren in Formalin eingelegt worden war. Trotz dieses langen Verweilens in Formalin

1) Auch die von Noguchi beobachtete Körnerbildung stellt wohl nur einen Degenerationsvorgang, nicht aber eine Phase im Lebenszyklus der Spirochäte dar. Noguchi vermochte diese in Kulturen beobachteten Körner auch färberisch darzustellen. Er schreibt hierüber: „Sie (die Körner) färben sich nicht mit Giemsa-Lösung, wenn der Ausstrich mit Methylalkohol fixiert ist, aber sie nehmen eine rot-violette Färbung an, wenn der Ausstrich mit Sublimatalkohol in feuchtem Zustande fixiert wird. Serumbestandteile bleiben bei beiden Prozeduren ungefärbt. Die gewöhnlichen Anilinfarben färben nicht die Granularform der *Spirochaeta pallida*.“

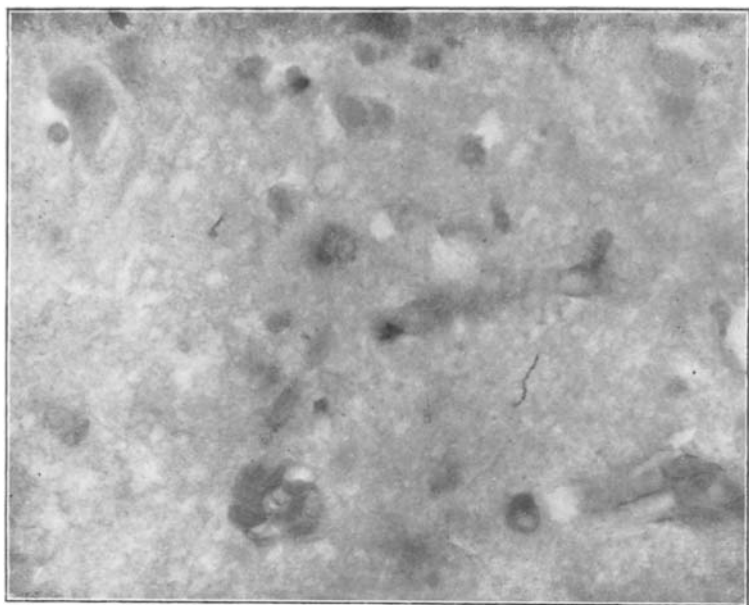
Mir ist es niemals (auch mit Hilfe der genannten Färbetechnik) gelungen, diese Granularform einwandfrei in paralytischem Gehirnmaterial darzustellen.

hat die Färbbarkeit der Fibrillen nicht gelitten, was Figur 3 wiedergibt. Das dieser Abbildung zugrunde liegende Präparat ist genau nach der Noguchi'schen Vorschrift hergestellt worden; hier ist es gänzlich unmöglich, in dem dichten Fasergewirr etwa vorhandene Parasiten zu erkennen. Die Levaditi- und Bertarelli-Volpino-Methode ergab in diesem Falle eine noch stärkere Fibrillenimprägnation als die Noguchi-Methode. Figur 4 zeigt, dass es hier durch Anwendung der Methode II gelang, die Fibrillenfärbung zu unterdrücken und die Spirochäten gut zur Darstellung zu bringen.

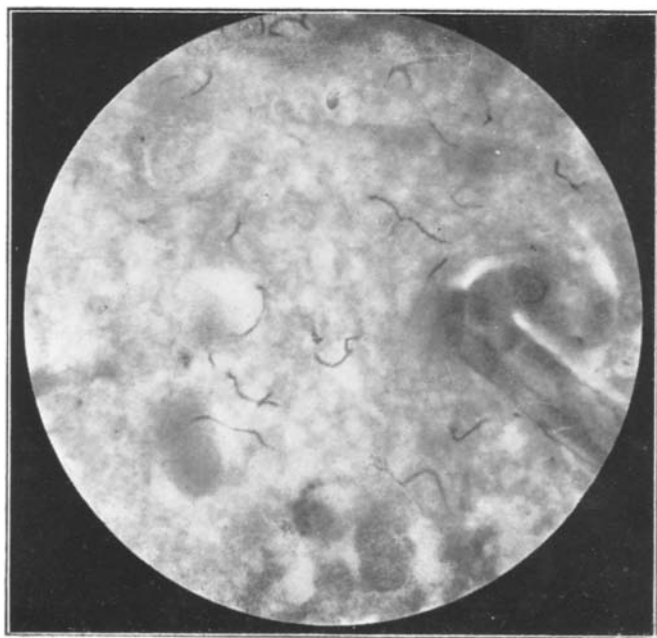
Die Präparate 1, 2, 4 sind nach meiner Methode II (Pyridin-Uranmethode) gefärbt.

Nach Methode I (Uranmethode) sind z. B. Figuren 1—4 auf Tafel V des II. Teils meiner Arbeit (Dieses Archiv, Bd. 57, H. 2) gefärbt.

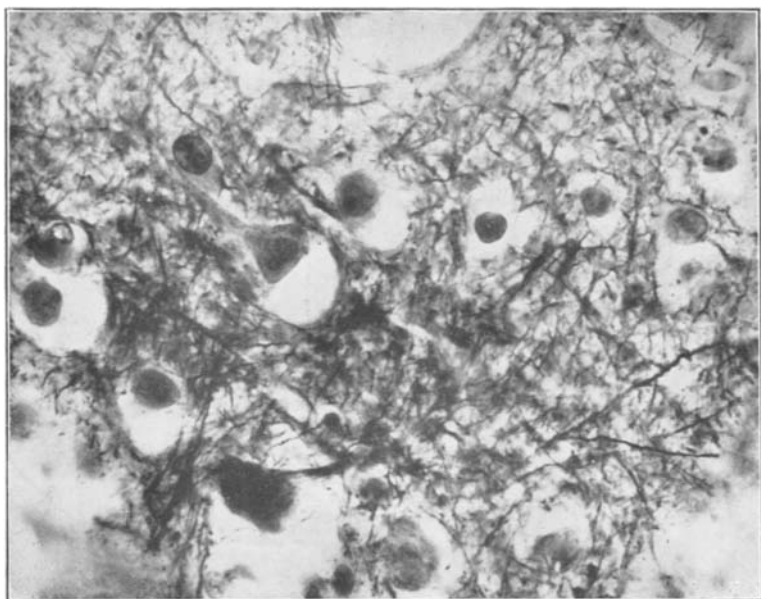
Alle Abbildungen sind mit Zeiss-Apochromat 2 mm, Tubuslänge 160 mm, Komp. Okular 4, Balgauszug 30 cm aufgenommen.



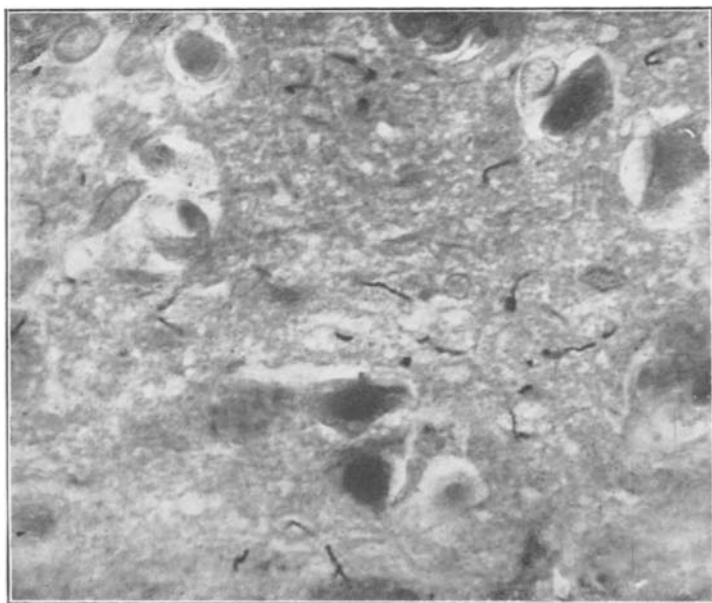
Figur 1.



Figur 2.



Figur 3.



Figur 4.