

XXXIII.

Aus dem serologischen Laboratorium der Staatskrankenanstalt Hamburg-Friedrichsberg (Direktor: Prof. Dr. W. Weygandt).

Ueber die Kolloidreaktionen der Rückenmarksflüssigkeit:

Von

V. Kafka,

ehemals erster Assistent der deutschen psychiatrischen
Universitätsklinik zu Prag.

Die moderne Liquordiagnostik wurde in den letzten Jahren durch einen neuen Typus von Reaktionen bereichert, die wir kurz die „Kolloidreaktionen“ nennen. Das allgemeine Prinzip dieser Reaktionen ist folgendes: Zu ansteigenden Liquorverdünnungen werden gleiche Mengen einer kolloidalen Lösung gebracht; während nun der normale Liquor die Sole¹⁾ im allgemeinen unverändert lässt, werden sie durch krankhaften Liquor in den Gelzustand übergeführt und zwar in bestimmter Weise je nach der bestehenden Erkrankung, so dass sich der Typus der Veränderung kurvenmässig darstellen lässt. Der Uebergang in den Gelzustand ist erkennbar als Ausflockung, Entfärbung, Farbenumschlag u. ähnl. Bis jetzt sind in die Liquordiagnostik drei solcher Kolloidreaktionen eingeführt worden: 1. die Goldsolreaktion (C. Lange²⁾), 2. die Mastixreaktion (Emanuel³⁾), Jacobsthal und Kafka⁴⁾), 3. die Berlinerblaureaktion (Bechhold, Kirchberg⁵⁾).

1) Die Lösung des Kolloids mit Flüssigkeiten wird Sol genannt; wird der gelöste Stoff in amorpher Form abgeschieden, so geht das Sol in den Gelzustand über.

2) C. Lange, Berliner klin. Wochenschr. 1912. Nr. 19. Zeitschr. f. Chemotherapie. 1. 1.

3) Emanuel, Berliner klin. Wochenschr. 1915. Nr. 30. S. 792.

4) Jacobsthal und Kafka, Hamburg. Aerzte-Correspondenz. 1916. Nr. 2 und Berl. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 11. S. 249. Siehe auch Kafka, Taschenbuch der praktischen Untersuchungsmethoden der Körperflüssigkeiten usw. Berlin, Julius Springer. 1917.

5) Kirchberg, Archiv f. Psych. 57. 22. 1917.

Bezüglich der bisher üblichen Technik sei kurz folgendes erwähnt: Die Goldsollösung wird nach den Vorschriften Lange's¹⁾ oder Eicke's²⁾ hergestellt. Ihre Brauchbarkeit wird an der Färbung und Durchsichtigkeit erkannt. Die erste Verdünnung wird mit 0,2 ccm Liquor und 1,8 ccm 0,4 proc. Kochsalzlösung hergestellt (1:10); aus dieser werden mit 0,4 proc. Kochsalzlösung die weiteren Verdünnungen bereitet (bis $\frac{1}{80\,000}$ oder $\frac{1}{160\,000}$). Zu jedem Gläschen werden 5 ccm Goldsollösungen hinzugesetzt. Ablesung erfolgt nach 24 Stunden, Zimmertemperatur.

Die Mastixlösung wird nach Emanuel so hergestellt, dass man zu 100 ccm absoluten Alkohols 10 g Mastix setzt, schüttelt und filtrierte. Vor jedem Versuche wird 1 ccm der Stammlösung und 9 ccm absoluten Alkohols schnell in 40 ccm destillierten Wassers geblasen. Die erste Verdünnung wird mit 0,5 ccm Liquor und 1,5 ccm 1,25 proc. Kochsalzlösung hergestellt; aus derselben werden mit 1,25 proc. Kochsalzlösung noch 3 Verdünnungen angesetzt. Zu jeder Verdünnung kommt 1 ccm der Mastixversuchslösung. Kontrolle: 1 ccm 1,25 proc. Kochsalzlösung und 1 ccm der Mastixlösung.

Die Technik nach Jakobsthal und Kafka sei erst unten besprochen, weil sie einen wesentlichen Punkt der vorliegenden Veröffentlichung betrifft.

Die Berlinerblaulösung wird nach einer Vorschrift von Kirchberg³⁾, die jedoch nicht ganz klar ist, folgendermassen hergestellt: „1 g käufliches Berlinerblau wird mit 5 ccm 5 proc. Oxalsäure auf 100 ccm in destilliertem Wasser gelöst.“ Die Verdünnungen werden in gleicher Weise wie bei der Goldsoreaktion hergestellt; zu jeder Verdünnung kommen 5 ccm Berlinerblaulösung.

Das Ergebnis wird am übersichtlichsten nach C. Lange aufgeschrieben, da an der Abszisse die Verdünnungen, an der (negativen) Ordinate die Veränderungen der kolloidalen Lösung aufzeichnete. Diese sind bei Anwendung des Goldsols Farbumschläge von rot über violett und blau nach hellblau und weiss. Emanuel stellt die Stärke der Reaktion (Ausflockung der Mastixlösung) lediglich durch Pluszeichen bei Angabe der einzelnen Röhrchen dar. Jakobsthal und Kafka haben für die Technik der Mastixreaktion ein dem Lange'schen Schema nachgebildetes verwendet, auf dem die Trübungen und Ausflockungen der Mastixlösung aufgezeichnet werden. Kirchberg bezeichnet in seiner Arbeit die Stärke der Reaktion nur im allgemeinen mit Pluszeichen.

Es hat sich nun ergeben, dass alle Kolloidreaktionen gewisse charakteristische Bilder zeigen: 1. die stärksten Veränderungen der kolloidalen Lösung finden sich bei den schwächsten Verdünnungen und nehmen stufenweise ab (Typus der Paralysekurve), 2. die stärksten Veränderungen der kolloidalen Lösung zeigen sich erst bei höheren Verdünnungen, auch sie nehmen gegen das Ende der Kurve ab (Typus der Meningitiskurve), 3. Abschwächungen und Verschiebungen nach links der Meningitiskurve (Lues cerebri-Kurve, Lueszacke), 4. atypische Kurven. Es musste natürlich im In-

1) l. c.

2) Eicke, Münchener med. Wochenschr. 1913. Nr. 49.

3) l. c.

teresse der Liquordiagnostik liegen, diese Eigenschaften der Kolloidreaktionen durch besondere Massregeln möglichst herauszukristallisieren, denn es hatte sich gezeigt, dass bei der Goldsolreaktion auch Lösungen, die makroskopisch allen Anforderungen genügten, ungenaue oder nicht charakteristische Reaktionen gaben. Bei der Mastixreaktion waren in der Form, wie sie Emanuel gab, wegen der geringen Anzahl der Verdünnungen deutliche Kurvenbilder nicht zu erhalten, vor allem aber zeigte sich, dass auch „unspezifische“ Reaktionen zustande kamen und der Versuch mit verschiedenen Versuchslösungen zu unterschiedlichen Resultaten führte. Bei der Berlinerblaureaktion wiederum zeigten auch bei normalem Liquor die ersten Gläschchen Ausflockung.

Es mussten also Wege gefunden werden, um diese Fehlerquellen vermeiden zu lassen; nach dieser Richtung hin wurden von uns Versuche angestellt, über die hier berichtet sei, da sie geeignet sind, die nötige Exaktheit in das wichtige Gebiet zu bringen. Hierbei sei gleich betont, dass wir uns an dieser Stelle ausführlicher theoretischer Exkurse enthalten und nur soweit ausholen wollen, als es für unseren Zweck nötig ist.

Es hat sich herausgestellt, dass jede zum Versuche fertige kolloidale Lösung ein Individuum darstellt und eine besondere Salz- und Kolloidempfindlichkeit¹⁾ hat. Um den Lösungen ihre Individualität tunlichst zu nehmen, ist bei der Herstellung der Goldsollösung keine Möglichkeit gegeben; bei der Herstellung der Mastixverbrauchslösung war dies jedoch bis zu einem gewissen Grade durchführbar, und es haben daher Jacobsthal und Kafka ganz bestimmte Vorschriften zur Herstellung der Versuchslösung gegeben. Man nimmt 1 ccm der Stammlösung und 9 ccm absoluten Alkohols in eine 10 ccm Pipette auf und lässt das Gemisch in 40 ccm destillierten Wassers unter leichtem Schütteln tropfenweise so einfließen, dass die Mischungszeit 50 Sekunden beträgt (Stoppuhr). Schneller oder langsamer bereitete Lösungen zeigen starke Unterschiede in der Empfindlichkeit. Da diese aber erst nach einiger Zeit stationär wird, haben Jacobsthal und Kafka die Reifungszeit eingeführt, d. h., sie lassen die Versuchslösung $\frac{1}{2}$ Stunde oder länger bei Zimmertemperatur stehen und benutzen sie erst dann. Trotzdem aber unterscheiden sich so bereitete Lösungen in ihrer Salzempfindlichkeit noch voneinander; würde man daher, wie Emanuel es angibt, den Versuch mit $1\frac{1}{4}$ proc. NaCl-Lösung ansetzen, so erhielte man abweichende und unspezifische Resultate. Um ein klares Bild über die Salzempfindlichkeit zu bekommen, haben daher Jacobsthal und Kafka den Vorversuch eingeführt, d. h., sie versetzen in einer Röhrchenreihe je 1 ccm einer 0,1 bis

1) Unter Kolloidempfindlichkeit verstehe ich den Grad der Empfindlichkeit der kolloidalen Lösung gegenüber den im Liquor vorhandenen, die Reaktion hervorrufenden Kolloiden.

$1\frac{1}{2}$ proc. Kochsalzlösung (die vorher aufs genaueste fertiggestellt worden sind) mit 1 ccm der Mastixversuchslösung; nach Beobachtung des Versuchsergebnisses bei diffusem Tageslicht wird zum Hauptversuch genommen a) die letzte noch nicht trübende und b) die erste ausflockende Kochsalzkonzentration. Auf diese Weise ist es möglich, einheitliche und spezifische Resultate zu erhalten.

Diese Ergebnisse haben mich dazu geführt, die Beziehungen zwischen Salzempfindlichkeit und Kolloidempfindlichkeit näher zu untersuchen, vor allem auch bei Heranziehung der Gold- und Berlinerblaureaktion. Ich bin so vorgegangen, dass ich, ähnlich wie für die Mastixversuchslösung, auch für die Goldsol- und Berlinerblaulösung Vorversuche herstellte. Vorausgeschickt sei, dass man bei der Bereitung des Goldsols nicht wie bei der Herstellung der Mastixlösung die Erzielung eines gewissen Grades der Empfindlichkeit in der Hand hat. Um so wertvoller ist daher der Salzvorversuch. Er zeigt uns mit Deutlichkeit — die Versuchskurven können wegen der typographischen Schwierigkeiten nicht gebracht werden —, dass auch sonst gut und gleich aussehende Goldsollösungen verschieden salzempfindlich sind. Meist freilich ist 0,4 proc. NaCl-Lösung die letzte Salzkonzentration, bei der noch keine Veränderung durch das Salz selbst erfolgt. Lange hat also im allgemeinen das Richtige getroffen. Trotzdem empfiehlt es sich, einen Vorversuch mit 1 ccm 0,2—0,6 proc. NaCl-Lösung + 5 ccm Goldsollösung anzusetzen und zur Reaktion die letzte noch nicht entfärbende Kochsalzkonzentration zu nehmen, die auch bei 0,3 oder 0,5—0,6 pCt. liegen kann.

Anders ist es mit dem Berlinerblau. Ueberträgt man die Mischung Berlinerblau und Oxalsäure schnell in das destillierte Wasser, so zeigt die entstehende Lösung (die etwas heller ist) kaum wesentliche Unterschiede gegenüber einer langsam bereiteten. Die Salzempfindlichkeit ist minimal; noch bei einer Kochsalzkonzentration von $1-1\frac{1}{4}$ pCt. sieht man keinerlei Entfärbung des Berlinerblau eintreten. Um nun die Beziehung zwischen Salzempfindlichkeit und der Kolloidempfindlichkeit¹⁾ näher zu studieren, ging ich in der Weise vor, dass ich Kochsalzvorversuche wie eben geschildert ansetzte, aber außerdem in einer Reihe zu jedem Gläschen eine geringe Menge (0,1) eines stark positiven (Paralytiker-) Liquors in einer zweiten Reihe ebensoviel eines normalen Liquors hinzufügte. Für die Goldsolreaktion ergab sich nun, dass nach 24 Stunden in den ersten Röhren die Goldlösung (im Gegensatz zum Vorversuch) verändert wurde, im übrigen aber der negative Liquor eine geringere Veränderung der Färbung hervorrief als der positive; dabei wuchs die verändernde Komponente mit steigender Kochsalzkonzentration, um dann gleich zu bleiben. Dieses Verhalten zeigten

1) Siehe frühere Anmerkung.

in viel stärkerem Masse die Versuche mit der Mastixreaktion. Hier war die ausflockende Kraft des Liquors um so stärker, je höher die Kochsalzkonzentration war. Die Versuche mit Berlinerblaulösung zeigten ein anderes Verhalten: Der negative Liquor bewirkte bei allen Kochsalzkonzentrationen stärkste Veränderung; beim positiven Liquor trat geringere Veränderung der Lösung ein, die freilich in den ersten Gläschen anstieg, dann aber gleich blieb.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass mit wachsender Salzkonzentration die Kolloidempfindlichkeit zunimmt. Die Salzempfindlichkeit ist am stärksten bei der Goldlösung, dann folgt meist die Mastixlösung¹⁾, dann die Berlinerblaulösung. Die Kolloidempfindlichkeit ist am stärksten bei der Berlinerblaulösung, dann folgt die Mastix-, hierauf die Goldsollösung. Auch aus diesen Versuchen, über die am anderen Orte ausführlich berichtet werden soll, geht die Wichtigkeit des Salzvorversuches hervor. Er ist nur bei der Berlinerblaureaktion unnötig. Hier muss aber zur Technik noch folgendes beachtet werden. Bei unseren ersten Versuchen nach Kirchberg's Technik zeigten stets die ersten Röhrchen Ausflockung, auch wenn völlig normaler Liquor verwendet wurde. Um diese unspezifischen Veränderungen der kolloidalen Lösung auszuhalten, gingen wir so vor, dass wir mit destilliertem Wasser verdünnten, wodurch freilich der Reaktionsbereich etwas eingeengt wurde, aber auch die unspezifisch reagierenden Röhrchen auf zwei beschränkt wurden. Ferner liessen wir die ersten beiden Verdünnungen ganz weg, fingen also mit 0,02 ccm Liquor + 1,98 ccm Aquadestillata an und stellten daraus die weiteren Verdünnungen her. Schliesslich fiel uns auf, dass wir bei der Berlinerblaureaktion die feinen Abstufungen, wie bei den anderen Kolloidreaktionen nicht sahen, sondern meist entweder starke Entfärbung oder völliger Mangel an Veränderung der kolloidalen Lösung. Wir erklärten uns dieses Phänomen durch die starke Kolloidempfindlichkeit des Berlinerblausols einerseits, andererseits dadurch, dass zwischen den Verdünnungen in den einzelnen Röhrchen bei dem besprochenen Verdünnungsmodus doch grosse Unterschiede bestehen. Um diese auszugleichen, gingen wir so vor, dass wir uns eine Verdünnung 1/100 und eine 1/150 des Liquors mit destilliertem Wasser herstellten. Von der Verdünnung 1/100 pipettierten wir 1,0, 1,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5 ccm dann weiter von der Verdünnung 1/150 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1 ccm. Dann wurden auf 1 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt und 5 ccm Berlinerblaulösung hinzugesetzt. Wir hatten so die Verdünnungsreihe 1/100, 1/111, 1/125, 1/142, 1/166, 1/200, 1/214, 1/250, 1/300, 1/375, 1/500, 1/750, 1/1500 gegenüber der Verdünnungsreihe 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 usw. beim früheren Verdünnungsmodus.

1) Hier kommt es sehr auf die Art der Herstellung an. Siehe oben.

Auf diese Weise erhielten wir recht günstige Resultate, doch mussten wir finden, dass die Berlinerblaureaktion anscheinend wegen ihrer starken Kolloidempfindlichkeit feinere Kurvenbildung, wie sie in Goldsol- und die Mastixreaktion zeigen, nicht hergibt. Immerhin eignet sie sich für gröbere diagnostische Zwecke und ist besonders für kleinere Laboratorien deshalb zu empfehlen, weil sie in unserer Modifikation sehr einfach anzustellen ist und man nur 0,03–0,04 ccm Liquor benötigt.

Wir haben die Resultate in einem dem Lange'schen Schema nachgebildeten Netze eingetragen; auch hier werden an der Abszisse die Verdünnungen, an der Ordinate die Veränderungen des Berlinerblaus: Blau, Mittelblau II und I, Hellblau II und I¹⁾, Weiss eingetragen.

Zusammenfassend sei also betont, dass durch Technik richtiger Anführung der Kolloidreaktionen die Auffindung der geeigneten Elektrolytkonzentration nötig ist. Diese wird durch den Kochsalzvorversuch festgestellt, der nicht nur für die Mastixreaktion, sondern auch für die Goldsolreaktion auszuführen ist. Nur dann werden spezifische, einheitliche und vergleichbare Resultate erhalten. Für die Berlinerblaureaktion ist der Salzvorversuch nicht nötig, da die Salzempfindlichkeit dieses Kolloids (ohne Liquorzusatz) sehr gering ist. Da aber die Kolloidempfindlichkeit der Lösung sehr stark ist und diese durch steigende Salzkonzentration bis zu einem gewissen Grade erhöht wird, empfiehlt sich hier die Anwendung von destilliertem Wasser zur Ausführung der Verdünnungen. Es kann dann mit 0,02 Liquor + 1,98 ccm Aqua destillata die erste Verdünnung und von dieser die anderen hergestellt werden, oder die Verdünnungen werden nach unserer Technik ausgeführt. Die Berlinerblaureaktion ist die technisch einfachste der Kolloidreaktionen und erfordert am wenigsten Liquor, zeigt aber nicht die Feinheiten der anderen Reaktionen. An dem Ausbau aller Kolloidreaktionen muss eifrig gearbeitet werden, da sie, wenn sie technisch richtig ausgeführt werden, nicht nur die empfindlichsten der Liquorreaktionen darstellen, sondern unsere Diagnostik auch durch charakteristische Kurven bereichern. Die Theorie der kolloidalen Liquorreaktionen aber ist trotz der Arbeiten von Lange, Spät, Neufeld u. a. noch weit von der vollkommenen Klärung entfernt.

1) Meist genügt die Festsetzung von weniger Farbennuancen.