

Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der Universität in Modena. (Direktor: Prof. Dr. C. Ferrai.)

## Neue Methode zum Nachweis der Spermatozoen in Zeugflecken.

Von Dr. Brunetto Baccchi, Assistent.

Wie bekannt, bietet der Nachweis der Samenflecken in zahlreichen Fällen auch dem geübten Mikroskopiker nicht geringe Schwierigkeiten. Ein Beweis dafür ist die Unzahl von Methoden, die zu diesem Zwecke vorgeschlagen wurden, sowie die offenbare Bevorzugung der Methoden, die darauf abzielen, beim Nachweis des Spermas das Aufsuchen der Samenzelle auszuschalten.

Es ist ebenfalls bekannt, daß die Hauptursache der erwähnten Schwierigkeit in dem Umstande liegt, daß gefärbte Spermatozoen auf den Gewebsfasern nicht hervortreten, weil diese gleichfalls den Farbstoff annehmen. Während einerseits die Empfindlichkeit der Spermatozoen verlangt, daß die Flecken so wenig als möglich längeren Zerfaserungen oder Abschabungen ausgesetzt werden, erschwert also andererseits das Verbleiben der Gewebsfasern im Präparat oft die Berücksichtigung dieses Umstandes in hohem Grade.

Hier ist nicht der Ort, alle Mittel zur Präparierung und Färbung der Samenflecken aufzuzählen, die bis jetzt vorgeschlagen worden sind. Ich beschränke mich deshalb auf den Hinweis, daß unter allen Methoden, die wirklich einen Fortschritt in der Technik herbeigeführt haben, zwei aus neuerer Zeit Erwähnung verdienen: die eine von Perrando vorgeschlagene bezweckt die Fortschaffung der Gewebsfasern, ohne die Spermatozoen zu verletzen; die andere von Corin und Stockis vorgeschlagene will die Spermatozoen färben, indem sie die Gewebsfasern ungefärbt läßt.

Die Methode Perrandos besteht in der Färbung in toto eines Stückchens des die Flecken enthaltenden Gewebes und in seiner Einbettung in eine dicke Lösung von Gummi und Rohrzucker auf dem Objektträger, worauf die oberen Schichten des Gewebes mit einem Rasiermesser abgetragen werden. Sie wurde im vergangenen Jahre im hiesigen Institut von Prof. Ferrai mit guten Resultaten nachgeprüft; ich selbst habe sie in diesem Jahre verwendet und ihre Vorteile schätzen gelernt. Aber man muß wohl dieser Methode den Vorwurf machen, daß sie etwas langsam und kompliziert ist. Was das Verfahren von Corin und Stockis betrifft (Färbung des Gewebes in einer ammoniakalischen Erythrosinlösung), so habe ich es gleichfalls versucht und dabei gute Präparate erhalten. Es ist jedoch weder die Färbung der Spermatozoen, besonders der Schwänze, genügend intensiv noch die Entfärbung der Fasern eine derartige, daß die Samenelemente dadurch sehr leicht hervortreten.

Alle diese Mißstände werden vollständig beseitigt durch die Verwendung der von mir gefundenen Methode, die auch nach dem Urteil Prof. Ferrais, der meine Präparate kontrolliert hat, alle bis jetzt vergebens verlangten Erfordernisse für die Färbungen zum Nachweis der Samenflecken vereinigt: Einfachheit und größte Schnelligkeit der Ausführung sowie sehr deutliches Hervortreten der Spermatozoen auf dem völlig farblosen Gewebe. Dadurch wird die Untersuchung und der Nachweis der Spermatozoen, auch bei mäßiger Vergrößerung, in wenigen Sekunden ermöglicht.

Die von mir vorgeschlagene Methode besteht in folgendem:

A. 1. Färbung eines Fadens des verdächtigen Gewebes in einer konzentrierten, wäßrigen Lösung von saurem Fuchsin (15—30 Sekunden).

2. Entfärbung des Fadens in salzsaurem Alkohol (70 % Alkohol 100 ccm, Salzsäure 1 ccm) 10—30 Sekunden bis er ein blaßrosa Kolorit angenommen hat.

3. Passage durch absoluten Alkohol (15—20 Sekunden).

4. Auffaserung auf einem Objektträger in einem Tropfen Xylol. Hierauf bedeckt man mit einem Deckglase und untersucht. Soll das Präparat aufbewahrt werden, so saugt man mittels Fließpapier etwas Kanadabalsam unter das Deckglas.

Ich füge noch hinzu, daß bei alten Flecken das Gewebe einige Stunden in destilliertes Wasser zu legen ist, ehe man zur Färbung schreitet.

Die Präparate müssen zuerst bei schwacher Vergrößerung (90—100fach) untersucht werden. Man sieht die Gewebsfasern größtenteils vollkommen farblos, andere leicht rosa gefärbt, alle durchsichtig, und auf ihnen treten sehr deutlich als lauter dunkelrote, kleine Punkte die Köpfe der Nemaspermen hervor. Auch wenn die Spermatozoen in sehr geringer Anzahl vorhanden sind, können sie daher sofort aufgefunden werden. Bei stärkerer Vergrößerung (250—600fach) bemerkt man sodann deutlich die Spermatozoen mit ihren weniger intensiv, aber stets sehr deutlich gefärbten Schwänzen. Die Untersuchungen könnten nicht einfacher und beweiskräftiger sein.

Diese Methode habe ich bei frischen und alten Samenflecken erprobt, und zwar an Geweben aus Leinwand, Baumwolle, Hanf und Wolle. In allen Fällen erhielt ich vollkommene Resultate, die am schärfsten ausgeprägt waren bei Flecken auf Wolle und Leinwand.

Ich habe die Verwendung vieler anderer Farbstoffe versucht; nur das Methylenblau (Färbung in konzentrierter wäßriger Lösung, Entfärbung in 70%igem Alkohol) ergibt wertvolle Resultate, die aber stets den bei Färbung mit saurem Fuchsin erhaltenen weit nachstehen. Um mit Methylenblau bessere Präparate zu erhalten, fand ich es ratsam, nach Entfärbung in 70%igem Alkohol eine oder zwei Sekunden lang den Faden in salzsauren Alkohol zu legen. Daraus folgt:

B. 1. Färbung eines Fadens des verdächtigen Gewebes in einer konzentrierten, wäßrigen Lösung von Methylenblau (10—20 Sekunden).

2. Entfärbung in 70%igem Alkohol (bis der Faden eine helle bläulichgrüne Färbung zeigt).

3. Ungefähr 1—2 Sekunden dauernde Passage durch salzsauren Alkohol (Formel oben angegeben).

4. Entwässerung in absolutem Alkohol.

5. Zerfasern und Einbetten in Xylol.

Wenn man keine Eile hat, kann man noch verschiedene Stunden lang mit einer sehr verdünnten Lösung von saurem Fuchsin färben, die Präparate werden dann noch brillanter.

Endlich kann man sehr elegante Präparate und intensive Färbung der Schwänze durch eine Doppelfärbung mit saurem Fuchsin und Methylenblau nach folgendem Verfahren erhalten:

C. 1. Färben mit saurem Fuchsin und Entfärbung in salzsaurem Alkohol nach A.

2. Abwaschen in 70%igem Alkohol.

3. Färben mit Methylenblau und Entfärben nach B.

#### 4. Auffasern in Xylol und Einbetten des Präparates.

Dieses Verfahren kann trotz seiner etwas größeren Kompliziertheit wegen der Vollkommenheit seiner Resultate warm empfohlen werden.

Dieser kurzen Mitteilung füge ich noch hinzu, daß bei dünneren Stoffen Zerfaserung unterbleiben kann; man kann in diesem Falle ganze Fäden und auch kleine Stücke Gewebe färben und untersuchen. Die Spermatozoen sind in dem Gewebe, das schwach gefärbt erscheint, leicht wahrzunehmen. Es versteht sich von selbst, daß dies nur dann der Fall ist, wenn die einfache Färbung mit saurem Fuchsin vorgenommen wird. Die so erhaltenen Präparate können leicht aufbewahrt und demonstriert werden; photographiert ergeben sie sehr reine Bilder.

---