

Eine einfache und zuverlässige Methode Celloidinserien mit Wasser und Eiweiss auf- zukleben.

Von

Prof. **P. Argutinsky** in Kasan.

Während wir für **Paraffinschnitte** ebenso zuverlässige als einfache Aufklebemethoden besitzen, macht sich das Fehlen einer solchen Methode für Celloidinserien nur zu oft in empfindlicher Weise geltend. Dieses ist — abgesehen von den Vortheilen des Trocken- und Bandschneidens von Paraffin — gewiss eine der Ursachen, dass die vortreffliche und für grosse Objekte so überaus vortheilhafte Celloidinmethode auch jetzt noch beim Serienschneiden, im Vergleich zum Paraffin, verhältnissmässig wenig zur Anwendung kommt.

Wie bekannt, verfügen wir für Paraffinschnitte ausser über die Schellack-, die Collodiumnelkenöl- und die ursprüngliche Eiweissmethode noch über zwei vorzügliche Methoden: 1) das Aufkleben mit Wasser und 2) das Aufkleben mit Wasser und Eiweiss. Diese zwei Methoden gewähren in vollem Maasse den Vortheil des Glättens und Ordners der Schnitte und sind den erstgenannten, die das nicht gestatten, bei Weitem überlegen.

Das Aufkleben mit Wasser, die Capillarattractionsmethode, stellt für Schnitte der in Sublimat oder Alkohol fixirten Objekte ein Verfahren dar, das allen denkbaren Anforderungen entspricht und geradezu eine vollkommene Aufklebemethode genannt werden kann. Sie klebt diese Objekte sicher auf und hinterlässt auf dem Glase nichts, was nachträglich mitgefärbt werden könnte. Aber auf Objekte, die in oxydirend wirkenden Flüssigkeiten, wie Chromsäure, Osmiumsäure und deren Gemischen, fixirt sind, ist die Capillarattractionsmethode bekanntlich nicht anwendbar, resp. nicht zuverlässig anwendbar.

Dagegen gestattet die zweite, die combinirte Wasser- und Eiweissmethode, die Anwendung auch auf Objekte aus verschiedenen Chrom- oder Osmiumsäuregemischen und sonstigen

Fixirflüssigkeiten und besitzt eine allgemeine Anwendbarkeit. Sie ist ebenso einfach, wie die vorhergehende, klebt absolut sicher auf, ermöglicht ebenso in unbeschränktem Maasse das Glätten und Ordnen und hat nur den einen geringen Nachtheil, dass die minimalsten Spuren von Eiweiss sich hie und da mitfärben, obgleich dieses bei den üblichen regressiven Färbemethoden nur sehr selten geschieht und in keiner nennenswerthen Weise der Reinheit des mikroskopischen Bildes Eintrag thut. Dass die grossen Vorzüge der combinirten Wasser- und Eiweissmethode bei Weitem den eben erwähnten geringen Nachtheil überwiegen, das beweist die grosse Zahl der Freunde, die sich diese Methode in den wenigen Jahren seit ihrer Veröffentlichung erworben hat.

Wie steht es aber mit dem Aufkleben der **Celloidin**serien?

Man ist wohl darüber einig, dass die hier in Betracht kommenden Methoden mehr oder weniger complicirt, zeitraubend und umständlich sind, dass sie auch im besten Falle sich in keiner Weise mit den so überaus einfachen und doch absolut zuverlässigen Paraffinklebemethoden messen können. Das gilt sowohl für die Methoden von Weigert, von Obregia, als für die Bergamottöl- und Vaseline Methoden von Apathy, ohne selbstverständlich ihre Vorzüge und Vorthelle verkennen zu wollen. Bei einer solchen Sachlage ist es daher ganz erklärlich, dass man immer wieder bestrebt ist, neue Methoden zum Aufkleben der Celloidinschnitte auszudenken.

Wie wäre es aber, wenn, anstatt eine neue besondere, speziell zum Aufkleben der Celloidinschnitte geeignete Methode auszuarbeiten, wir versuchten, ob es nicht möglich wäre, Mittel und Wege zu finden, eine der vorzüglichen einfachen Paraffinaufklebemethoden auch auf Celloidin anzuwenden; wenn wir versuchten die Hindernisse zu umgehen, die ihrer Anwendung auf Celloidinschnitte bis jetzt entgegen gestanden haben?

Diejenigen Paraffinaufklebemethoden, die das Glätten und Ordnen der Schnitte nicht ermöglichen, kommen natürlich kaum in Erwägung. Hier können wir nur die Wassermethode und besonders die combinirte Wasser- und Eiweissmethode in Betracht ziehen.

Da die erstere nur für Sublimat- und Alkoholobjekte zuverlässig ist, so kann sie schon deshalb für eine überaus grosse Zahl der Celloidinpräparate gar nicht in Anwendung kommen.

Ganz abgesehen davon bleibt die Methode, als solche, für alle Celloidinschnitte ausgeschlossen, weil das Antrocknen der Schnitte und zwar das möglichst vollkommene Antrocknen der einzige und daher unvermeidliche Weg ist, wodurch diese Methode ihre Wirksamkeit ausübt, während die Celloidinschnitte das Austrocknen bekanntlich durchaus nicht vertragen und dabei ganz zu Grunde gehen.

Auch die combinirte Wasser- und Eiweissmethode, soweit sie, wie bei Paraffinschnitten, durch Antrocknen wirkt, ist auf Celloidinschnitte absolut nicht anwendbar. Deshalb können wir bei Celloidinschnitten weder die Methode von Duval, noch die von Henneguy oder die sogenannte japanische anwenden; eben weil bei diesen Methoden das Aufkleben durch Antrocknen erreicht wird.

Die vortreffliche Wasser- und Eiweissmethode kann nur dann Anwendung auf Celloidinschnitte finden, wenn wir das Austrocknen resp. das Antrocknen der Schnitte vollständig vermeiden und die Möglichkeit finden das Aufkleben durch ein anderes Verfahren (unser Prinzip) zu bewirken.

Ich glaube diese Möglichkeit gefunden zu haben und zwar unter Mitbenutzung der von Reinke für Paraffinschnitte vorgeschlagenen Abänderung der sogenannten japanischen Methode, das ist durch Gerinnenlassen des Eiweisses auf dem Objektträger, bevor er mit Schnitten beschickt wird.

Im Folgenden glaube ich ein Verfahren empfehlen zu können, das die combinirte Wasser- und Eiweissmethode auf alle Celloidinschnitte absolut sicher und in einfachster Weise anzuwenden ermöglicht und dabei das Glätten und Ordnen der Schnitte in unbeschränktem Maasse gestattet; ein Verfahren, das noch einfacher ist und viel schneller ausgeführt wird, als das Aufkleben der Paraffinschnitte.

Man reinigt die erforderlichen Objektträger sorgfältig von Fett¹⁾ und bringt auf jeden ein ganz kleines Tröpfchen von P. Mayer'schem Glycerineiweiss, das gleichmässig in dünnster

1) Zu dem Zweck reinige ich die Objektgläser gründlich mit Alkohol und erhitze sie dann stark in der Spiritus- resp. Gasflamme mit der zur Aufnahme der Schnitte bestimmten Seite nach oben, damit sich aus der Flamme nichts darauf niederschlägt.

Schicht verrieben wird. Darauf wird das Eiweiss durch Erwärmen des Objektglases zum Gerinnen gebracht ¹⁾.

Das Schneiden geschieht, wie gewöhnlich, unter 70 % Alkohol.

Jeder Celloidinchnitt wird gleich, nachdem er geschnitten ist, mit einem Pinsel vom Mikrotommesser in ein Schälchen mit 70 % Alkohol gebracht. Sorgfältig entfaltet, wird der Schnitt von hier mit einem Präparatenlöffel auf das Objektglas übertragen, wo er reichlich mit Alkohol bedeckt und faltenlos zu liegen kommt, ohne im geringsten am Glase zu kleben. Ganz in derselben Weise verfährt man mit dem zweiten, dritten etc. Schnitt, bis man die gewünschte Anzahl auf dem Objektglase hat. Man kann dabei in aller Ruhe arbeiten; man kann sogar das Uebertragen der Schnitte auf ein und dasselbe Objektglas beliebig unterbrechen und die Schnitte, unbeschadet und ohne dass sie vorzeitig ankleben, stundenlang auf dem Glase liegen lassen; es ist nur dafür Sorge zu tragen, dass jeder Schnitt reichlich mit Alkohol bedeckt bleibt und ja nicht austrocknet.

Sobald die Schnitte in gewünschter Anzahl auf das Objektglas gebracht sind, überzeugt man sich, ob alle faltenlos liegen. Ist das nicht der Fall, und wurde zufällig irgend ein Schnitt beim Uebertragen nicht ganz ausgebreitet aufgelegt, so nimmt man ihn mit einer Nadel ab, bringt ihn wieder in das Alkoholschälchen zurück, entfaltet ihn hier vollständig und überträgt ihn dann sorgfältig von Neuem auf das Objektglas. Nun werden die Schnitte geordnet. Ist das geschehen, so wird der den Objektträger und die Schnitte reichlich bedeckende Alkohol abgesogen, indem man mit dem Rande eines Filtrirpapierblättchens

1) Man bringt die mit Glycerineiweiss bestrichenen Objektgläser auf einige Minuten in einen bis etwa 100° C. erhitzten Wärmeschrank, oder man nimmt einen Blechkessel (oder Kochtopf) mit stark siedendem Wasser, überdeckt ihn mit einer glatten Metallplatte, und sobald diese Platte sich auf beinahe 100° C. erhitzt hat, legt man für ein Paar Minuten die Objektgläser darauf.

Viel unvollkommener ist das Gerinnenlassen des Eiweisses durch direktes Erhitzen des Objectträgers über der Flamme. Da die Eiweissglycerinschicht auch nach dem Gerinnen des Eiweisses stets ebenso durchsichtig und kaum wahrnehmbar bleibt, so kann man bei direktem Erhitzen nur zu leicht die Objektgläser zu stark (seltener zu schwach) erwärmen.

die Längsränder des Objektglases vorsichtig berührt, ohne dass sich die Schnitte hierbei verrücken. Hierdurch werden sowohl das Objektglas, als die Schnitte vom überschüssigen Alkohol befreit. Die Schnitte sind nun vom Alkohol nur noch benetzt und liegen in Folge dessen jetzt unverschiebbar, aber noch nicht aufgeklebt.

Jetzt wird, um das Aufkleben der Schnitte zu bewirken, ein etwa 8 bis 12 mal gefalteter Streifen von glattem Filtrirpapier auf das mit Schnitten beschickte Objektglas gelegt. Durch wiederholtes, ziemlich starkes Streichen mit dem Finger wird das Filtrirpapier an die noch nasse Oberfläche des Objektglases gepresst, wodurch der Alkohol vom Objektglas und den Celloidinschnitten in das Papier aufgesaugt wird und zugleich die Schnitte an die Eiweisschicht sorgfältig angedrückt werden. Hiernach wird der Filtrirpapierstreifen abgenommen und das Objektglas mit den nun absolut fest daran klebenden Schnitten sofort (damit sie nicht austrocknen) in ein Gefäss mit destillirtem Wasser gebracht, wo es liegen bleibt, bis man es färbt und weiter behandelt, was sogleich oder beliebig später geschehen kann. Ich bemerke noch, dass beim Andrücken des Filtrirpapiers das Ankleben desselben an dem Glase oder an den Schnitten durchaus nicht zu befürchten ist (weil alles noch feucht ist), ebenso wenig, wie die Verschiebung oder Beschädigung der Schnitte.

Man kann die Objektträger mit den Schnitten Tage lang im Wasser oder Farblösungen liegen lassen, ohne dass sich auch nur einer davon ablöst. Sie vertragen jede Behandlung und jede Flüssigkeit, sofern diese das Eiweiss (oder das Celloidin) nicht auflösen, resp. angreifen. Will man das Färben erst nach vielen Tagen vornehmen, was bei dieser Methode vollkommen möglich ist, so empfiehlt es sich, zur Hinderung gegen Fäulniss, die Objektträger im 70% resp. schwächeren Alkohol aufzubewahren.