Zur histologischen Technik des Kornealversuches bei der Pockendiagnose.

Von Regierungsrat Dr. Gustav Paul,
Direktor der Staatsimpfanstalt in Wien.

In seinem am 2. Januar 1917 im Aerztlichen Verein in Hamburg gehaltenen Vortrag: „Differentialdiagnose zwischen Variola und Varizellen“ hat E. Paschen meiner Methode der experimentellen Pockendiagnose Erwähnung getan und hierbei bemerkt:

„Es dauert immerhin 36—48 Stunden, bis die Diagnose makroskopisch gestellt werden kann. In manchen Fällen muß die mikroskopische Untersuchung folgen, die wieder mehrere Tage beansprucht, wenn man in Schnitten die Diagnose stellen muß aus der Anwesenheit der Zelleinschlüsse.“

Bei der Bedeutung, die der Kornealversuch in der varioladiagnostischen Praxis erlangt hat, dürfte die Mitteilung der von mir geübten Technik und Methodik der histologischen Untersuchung der geimpften Kaninchenhornhaut einigem Interesse in den beteiligten Kreisen begegnen, und dies um so mehr, als sie sich an zahlreichen zu diagnostischen Zwecken ausgeführten Untersuchungen bestens bewährt hat und die Beendigung der endgültigen histologischen Untersuchung bereits eine Stunde nach der makroskopischen Besichtigung der Kornea ermöglicht.

Unsere diagnostischen Untersuchungsfälle nähern sich bereits dem fünften Hundert, wovon nahezu ein Fünftel histologisch nachgeprüft worden ist.

In die Technik der Korneauntersuchung hat mich Paschen, der sie meisterhaft beherrscht, vor Jahren eingeführt, und ich verdanke ihm zahlreiche Winke und Anleitungen, die mir überaus wertvolle Dienste geleistet haben. Wenn ich in der Folge von seinen Vorschriften bezüglich der Dauer der Fixierungs- und Konservierungsfristen nicht unwesentlich abgewichen bin, so geschah dies hauptsächlich aus dem Grunde, um das von den die Untersuchung heischenden Stellen ungeduldig erwartete Gutachten möglichst rasch abgeben zu können, und nicht in letzter Reihe deshalb, weil ich hierbei die Erfahrung gemacht habe, daß man um so schönere und klarere Schnittbilder erhält, je kürzere Zeit die Kornea in den Fixierungs-, Konservierungs- und Einbettungsmedien verweilt. Es begegnet sich also in willkommener Weise Erwünschtes mit Rationellem.

Bei der histologischen Diagnosestellung nach meiner Methode kommt es in erster Linie auf die Beurteilung des anatomischen Gesamtbildes der pathologischen Veränderungen auf der Kaninchenhornhaut an; die Guarnierischen Einschlüsse kommen erst in zweiter Reihe in Betracht. Da die spezifischen, für Variola so überaus charakteristischen Epithelveränderungen (Zellhydrops und Wucherung) auch bei bakteriellen Mischinfektionen (Keratitis) sofort in die Augen springen, so ist die Durchmusterung der Schnitte nicht annähernd so zeitraubend und mühsam wie das Fahnden auf die erst in den Spätstadien zahl-

reicher auftretenden Guarnierischen Körperchen. Bei makroskopisch zweifelhaften Befunden ist das Ergebnis der histologischen Untersuchung stets sicher entscheidend und beweisend.

Fig. 1.

Makroskopisches Bild der variolösen Epithelwucherungen auf der abgekappten, in Sublimatalkohol fixierten Kornea des geimpften Kaninchenauges, 48 Stunden nach der Einimpfung. Fünffache Vergrößerung.

Ich wende folgende Untersuchungstechnik an: Der enukleierte Bulbus kommt auf zehn Minuten in alkoholische Sublimatlösung (4 g Sublimat, 30 g Alkohol, 60 g Aq. dest.).

Abkappen der Kornea und Einbringen derselben auf eine Minute in Alkohol 98%, eine Minute in Jodalalkohol von dunkler Tokayerfarbe,

eine Minute in Alkohol 98%,

eine Minute in Alkohol plus Chloroform aa,

eine Minute in reines Chloroform,

eine Minute in eine gesättigte Lösung von hartem Paraffin in Chloroform von 40°,

eine Minute in verflüssigtes hartes Paraffin bei 60°, Einbetten der Kornea in einem mit Glycerin ausgetrichenen Blockschälchen mit der konvexen Korncafläche nach unten. Nach Bildung des starren Paraffinhäutchens Einbringen in eiskaltes Wasser; nach vollständiger Erhärtung

Fig. 2.

Sagittalschnitt durch einen variolösen Epithelhügel der in Fig. 1 abgebildeten Kornea; schnelle Paraffinmethode; Hämalaunfärbung.

der Paraffinscheibe Halbierung derselben mittels eines schmalrückigen, scharfen Messers (sägende Messerführung!), um beim Mikrotomieren mit der Schnittführung von der Mitte der halbierten Kornea beginnen und so die infizierten Partien (die Impfritzer) schon in die ersten Schnittserien bekommen zu können.

Fig. 3.

Stärkere Vergrößerung der Abbildung Fig. 2. Links oben eine große Epithelzelle mit einem Guarnierischen Körperchen.

Zur raschen und sicheren Fixierung der in warmem Wasser ausgebreiteten und mit dem Objektträger aufgefangenen Paraffinschnitte schleudert man zunächst das zwischen Schnitt und Glasfläche befindliche Wasser ab und preßt die Schnittte mit vierfach zusammengefalteten, mit absolutem Al-

kohol reichlich befeuchteten Josefpapiers mit dem Daumenballen an den Objektträger fest an. Vorsichtshalber kann man den so behandelten Objektträger auf eine bis zwei Minuten in den Paraffinschrank (60°) bringen. Die Schnitte haften dann so fest und sicher, als hätte man sie stundenlang im Trockenschrank gehalten.

Färbung mit Hämalaun durch fünf Minuten.

Man hat also zur Vorbereitung der geimpften Kornea für die histologische Untersuchung einschließlich der Einbettung kaum eine halbe Stunde und eine weitere halbe Stunde zum Schneiden, Fixieren, Entparaffinieren und Färben der Schnitte nötig.

Bei Einhaltung dieser Technik und bei einiger Fertigkeit kann man demnach in einer knappen Stunde, vom Tode des Versuchstieres an gerechnet, den gefärbten Korneaschnitt auf dem Objektisch des Mikroskopes haben. Bei den relativ nicht allzuhäufigen Fällen, die sich nicht makroskopisch allein erledigen lassen und histologisch untersucht werden müssen, verzögert sich die endgültige Abgabe des Gutachtens höchstens um 1—2 Stunden, was im Hinblick auf die Verlässlichkeit der Methode schon in Kauf genommen werden kann.