

Aus der k. k. deutschen dermatologischen Universitätsklinik
von Hofrat Prof. F. J. Pick in Prag.

Eine Aufklebemethode für Paraffin- und Celloidinserien sowie für Hautschuppen.

Von

Dr. Alfred Kraus,
I. Assistent der Klinik.

Die histologische Technik verfügt bis nun über eine große Zahl von Aufklebemethoden für Schnitte, ein Umstand, aus dem allein mir schon hervorzugehen scheint, daß keine der bestehenden alles das zu leisten im stande ist, was man von ihr verlangen sollte.

Um nur die weitaus verbreitetsten Methoden zu nennen und die Gründe anzugeben, weshalb sie sich einer ganz allgemeinen Verwendung nicht erfreuen, sei folgendes erwähnt.

Eine sehr verbreitete Methode des Aufklebens der Paraffinschnitte ist die mit Wasser bzw. verdünntem Alkohol. Auch wir haben uns derselben bis in die letzte Zeit, wenigstens dort, wo es nicht auf besonders eingreifende FärbeprozEDUREN ankam, fast ausschließlich bedient. Nach ihrer Ausführung bedarf es eines bis 24stündigen Trocknens am besten im Wärmkasten, ohne das sich die Schnitte bei der Weiterbehandlung u. zw. besonders beim Übertragen von Alkohol in Wasser leicht ablösen. Sehr wichtig aber ist, daß Schnitte von Osmium- und Chromsäurematerial sich zum Aufkleben mit dieser Methode überhaupt nicht eignen, da

sie fast immer sich ablösen. Es ist aber gerade dieser Umstand besonders für die Dermatohistologie, die von Chrom- und Osmiumsäure ausgiebigen Gebrauch macht, von Wichtigkeit.

Um die angegebenen Nachteile dieser Aufklebemethode zu umgehen, hat man zur Benützung wirklicher Klebemittel gegriffen, wie diese bei der Schällibaumschen Methode des Aufklebens mit Kollodium, das mit Nelkenöl oder Rizinusöl vermischt ist, und bei der P. Mayerschen Eiweißglycerinmethode zur Anwendung gelangen. Nach der ersteren scheinen die Schnitte fast allen Färbeprozeduren unterworfen werden zu können, nur muß absoluter Alkohol, der das Kollodium löst, natürlich vermieden werden. Doch scheint nach verschiedenen Angaben die Sicherheit der Methode keine unbegrenzte zu sein, wie auch die Klebefähigkeit der Mischung Veränderungen unterliegen soll. Auch die P. Mayersche Eiweißglycerinmethode kann als absolut verläßlich nicht bezeichnet werden. Haften zwar durch die Koagulation des Eiweißes die Schnitte bei ihr so fest, daß fast alle Färbeverfahren ausgeführt werden können, so müssen dabei doch alle Flüssigkeiten, die Eiweiß lösen, vermieden werden und das sind alle stärkeren alkalischen und sauren Lösungen. Aber auch von diesen wieder macht gerade die Dermatohistologie des öfteren Gebrauch und ich wünschte mir schon oft ein besseres Aufklebemittel, wenn ich z. B. Schnittserien nach Ziehl-Neelsen auf Tuberkelbazillen zu färben hatte. Ein weiterer und nicht zu unterschätzender Nachteil ist der Umstand, daß das Eiweiß sich bei verschiedenen Färbemethoden etwas mitfärbt, was speziell bei Untersuchung auf Mikroorganismen schwer ins Gewicht fällt.

Beide zuletzt genannten Methoden haben ferner den Übelstand, daß sich bei ihnen ein tadelloses Strecken der Schnitte nur sehr schwer — wenn überhaupt — erreichen läßt. Um gerade diesen Nachteil zu beheben, hat man sich dann der als japanischen Methode bekannten Kombination der Eiweißglycerin- und Wassermethode bedient. Auch hier färbt sich die Eiweißschicht eventuell mit. Die Methode setzt ein mehrstündiges Trocknen der Schnitte im Brutschrank voraus.

Ich möchte nun eine Methode zur Anwendung empfehlen, der ich bis heute nur gute Seiten abgewinnen konnte. Es handelt sich bei derselben wiederum um eine Eiweißmethode, und zwar um eine wässerige Lösung von Albumin aus Eiern. Ich habe dazu zwei Albuminpräparate benützt. Das erste stellte ein gelblich-weißes, feines Pulver dar und stammte aus einer Triester chemischen Fabrik, während ich später und in letzter Zeit ausschließlich das Mercksche Albumin aus Eiern benützte, das die Form gelber Blättchen hat. Wie aus dem Merckschen Index, II. Auflage, hervorgeht, ist dieses

im achtfachen Gewicht Wasser gut löslich und filtriert die Lösung leicht. Es wurde bisher technisch zum Klären von Flüssigkeiten, zur Kittfabrikation, in der Photographie zur Anfertigung von Albuminpapier, zur Befestigung gewisser Farbstoffe in der Zeugdruckerei, beim Bronzedruck und in der Lederindustrie verwendet.

Nach verschiedenen Modifikationen der Versuchsanordnung empfahl es sich mir am meisten, zu 100 *ccm* destillierten Wassers 1 *g* des Merckschen Albumins zuzusetzen und unter ganz allmählichem Erwärmen die Flüssigkeit bis zum Aufkochen zu erhitzen. Dieselbe nimmt dabei eine leichte Opaleszenz an, während das anfänglich in dünnen Blättchen durchsichtige gelbe Albumin sich trübt und allmählich eine milchige bis sattweiße Farbe annimmt. Nach dem Aufkochen filtrierte ich die Lösung mittels eines Filterpapiers und erhielt eine leicht opaleszierende Flüssigkeit, die bei wiederholtem Aufkochen keinerlei Veränderungen mehr zeigte und im Reagensglase sämtliche gebräuchlichen Eiweißreaktionen in ausgesprochenstem Grade gab.

Bemerken muß ich, daß es absolut nicht gleichgültig war, ob die Erwärmung — wie oben gesagt — allmählich durchgeführt wurde. Denn, wenn ich zuerst das Wasser zum Sieden erhitzte und erst nachträglich das Albumin zusetzte, trübte sich die Lösung überhaupt nicht und ergab auch bei Untersuchung auf Eiweiß ein völlig negatives Resultat, offenbar deshalb, weil durch den hohen Hitzegrad alles Eiweiß sofort koagulierte, ohne daß etwas davon in Lösung übergehen konnte.

Um die Lösung dauerhaft zu machen, setzte ich derselben einige Tropfen Chloroform zu.

Die nach dem Filtrieren erhaltene, leicht opaleszierende Lösung nun versuchte ich als Aufklebemittel, u. zw. — wie ich gleich vorausschicken will — mit vorzüglichem Resultat. Der Vorgang, den ich dabei befolgte, war folgender:

Auf den gut gereinigten Objektträger bringt man eine je nach der Größe der mit Schnitten zu belegenden Fläche nicht zu geringe Menge der Eiweißlösung. Nimmt man nicht allzuviel derselben, so braucht man ein Durcheinanderschwimmen der Schnitte nicht zu befürchten. Beim Auflegen

der Schnitte strecken sich dieselben gewöhnlich bereits beträchtlich. Dann wird wie bei dem Aufkleben mit verdünntem Alkohol weiter verfahren. Die überschüssige Flüssigkeit wird der Hauptsache nach mit Fließpapier von den Rändern abgesaugt, immerhin nicht vollständig, um dann das endgültige, tadellose Strecken durch das Erwärmen des Objektträgers bis nahezu dem Schmelzpunkte des Paraffins über einer kleinen Bunsenflamme zu erreichen. Dies gelingt bei der üblichen Vorsicht immer vorzüglich. Und damit ist das Aufklebverfahren eigentlich auch schon beendet. Es bedarf keines weiteren Erwärmens und Trocknens im Wärmekasten, die Präparate sind vielmehr zur Vornahme der FärbeprozEDUREN völlig fertiggestellt.

Soweit ich die Methode bisher verwendet habe, konnte ich immer das tadellose Festhaften der so aufgeklebten Schnitte konstatieren, ob ich nun die einfachsten Färbemethoden oder auch die eingreifendsten verwendete. In Chrom- und Osmiumgemischen konserviertes Material verhielt sich dabei genau so wie anderes. Ebenso konnte ich, ohne traurige Erfahrungen zu machen, die Schnittserien dem Einflusse stark alkalischer und saurer Lösungen mit Erfolg aussetzen. Eine Färbung mit polychromem Methylenblau mit nachträglicher Glycerinätherdifferenzierung gelang ebenso gut wie die Ziehl-Neelsen'sche Färbung. Dabei konnte ich stets mit Freuden feststellen, daß die Bilder nirgends durch Eiweißniederschläge gestört wurden. Solche fanden sich weder außerhalb noch innerhalb der Präparate, was ich an einer ganzen Reihe von Mikroorganismenfärbungen wahrnehmen konnte. Ich habe die Methode an Schnittmaterial von verschiedenster Dicke (5—12 μ) und verschiedensten Dimensionen in der Fläche angewendet, und möchte auch noch bemerken, daß sie sich ebenso an Schnitten durchgefärbten Materials bewährte.

Fasse ich die Vorteile, die das Verfahren für Paraffinserien bietet — und diese haben mit der Zeit auch in der Dermatohistologie sehr zahlreiche Anhänger gefunden — zusammen, so sind dieselben:

1. die Einfachheit,

2. die kurze Dauer; es bedarf keines längeren Trocknens und Erwärmens im Brutkasten,

3. die Möglichkeit, ein faltenloses Strecken und damit

4. ein sehr festes Haften der Schnitte auch eingreifenden Reagentien gegenüber bei absoluter Reinlichkeit zu erzielen.

Die Versuche, das Verfahren auch für Celloidinschnitte, resp. Serien anzuwenden, waren gleichfalls von Erfolg begleitet. Die Schnitte kamen vom Messer in Ätheralkohol aa. und nachdem der Celloidinmantel gelöst war, wurden sie auf den mit der Eiweißlösung in überschüssiger Menge beschickten Objektträger gebracht. Dann wurde mit Fließpapier abgesaugt und mit doppelt gefaltetem Fließpapier gut abgetrocknet, der Schnitt sodann genau wie ein Paraffinschnitt weiterbehandelt. Schnitte von 10—20 μ Dicke hafteten vorzüglich bei den verschiedensten Färbemethoden, dabei wurde eine vortreffliche Färbung auch feinsten Details erzielt. Dadurch, daß die Schnitte in ihrer Reihenfolge zu mehreren aufgelegt wurden, konnten Serien genau so gut zur Verarbeitung gelangen wie Einzelschnitte, wodurch, wie ich glaube, eine recht wesentliche Verbesserung der Celloidintechnik überhaupt erreicht wurde.

Endlich habe ich die Methode mit Erfolg noch dazu benützt, um Hautschuppen am Objektträger zu färben. Der Vorteil eines dazu geeigneten Verfahrens liegt gerade für diesen Zweck auf der Hand, wenn man bedenkt, wie schwer es ist, besonders spärliches Material Schuppe für Schuppe durch die verschiedenen Lösungen aus einem Uhrschildchen ins andere zu befördern. Dies konnte ich umgehen, indem ich die Schuppen auf dem Objektträger in der Eiweißlösung in der gewünschten Ordnung auflegte, die überschüssige Flüssigkeit absaugte und nach leichtem Erwärmen über der Flamme des Bunsenbrenners mit Fließpapier unter gelindem Fingerdruck gut abtrocknete. Die festhaftenden Schuppen konnten dann sofort den Pilzfärbungen u. zw. stets mit dem besten Resultate unterzogen werden. Auch hier erwiesen sich eingreifende Agentien wie

Jod-Jodkalilösung, Jodkali-Wasserstoffsuperoxydlösung, salzsaures Anilinöl ohne schädlichen Einfluß.

Bei Versuchen, mit der Eiweißlösung auch Haare zum Zwecke der Färbung auf dem Objektträger zu fixieren, ließ sich bisher ein positives Resultat nicht erzielen. Vielleicht wird sich eine Modifikation des Verfahrens auch dazu bewähren.

Ich glaube daher die Aufklebemethode mit der Albuminlösung vorläufig für Paraffin- und Celloidinschnitte wie Serien, sowie für Schuppenmaterial von der Haut bestens empfehlen zu können.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Hofrat Pick, bin ich für vielfache Anregung und Unterstützung zu ergebenstem Dank verpflichtet.
