

hypertrophische, zerfallende rothe Blutkörperchen und Leucocyten enthaltende Endothelzellen (Zellen des „endovasculären Plasmodiums“ von Duval); *f* = Mitose in einer solchen Zelle; *E'* = die letzten, etwas vergrößerten Endothelzellen; *w* = stark vergrößerte, zerfallende Blutelemente enthaltende, für die Zwischenschicht der Placenta charakteristische Glycogenzellen; *z* = degenerierte Zelle (Glycogenzelle?) mitten unter ectodermalen Plasmodiummassen *pb*.

Stabilitblock mit Alkoholkammer und perforirte Färbeschälchen zu einfacher Herstellung von Celloidin-Serien.

Von

Dr. J. J. Streiff,

Assistent am Laboratorium der Universitäts-Augenklinik Zürich.

Mit 3 Textfiguren.

Obwohl ich das im Folgenden zu beschreibende Verfahren speciell bei Celloidinserien von Augenschnitten angewandt habe, kann es doch wohl auch beim Schneiden von anderen grösseren Objekten von Nutzen sein, wo es sich nicht darum handelt, mehrere Schnitte auf einen Objektträger zu bringen, sondern nur darum, eine geordnete Reihenfolge von Präparaten sich herzustellen.

In solchen Fällen ist z. B. die sonst vortreffliche bekannte Celloidinmethode von Weigert zu umständlich, besonders wenn man — wie es oft wünschenswerth erscheint — von aufeinanderfolgenden Schnitten gern den einen auf diese, den nächsten auf jene Art gefärbt oder sonst behandelt haben möchte. Selbst das einfachere Aufkleben der Schnitte, wie es kürzlich Argutinsky (Band 55 dieses Archivs, III. Heft, Seite 415) als praktisch angegeben hat, sollte man in solchen Fällen sich ersparen können. Bei dem Verfahren von Darkschewitsch, der in einem cylindrischen Glasgefäss die einzelnen Schnitte — durch Papierscheibchen getrennt — über einander schichtet, ist das Papier, auf dem

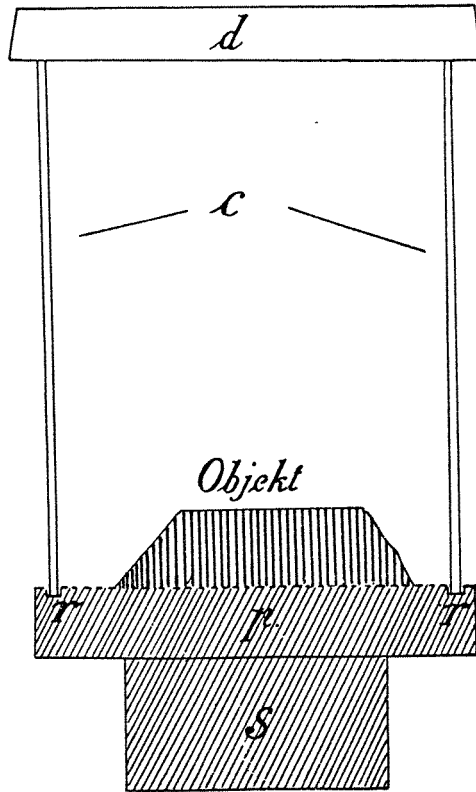
jeweilen der Schnitt haftet, für die weitere Behandlung eine nicht sehr angenehme Beigabe. Eine solche wird vermieden bei jener anderen Methode, nach welcher die Schnitte einfach in einen Schnittbehälter kommen, der in nummerirte Fächer abgetheilt ist. Da aber ein solcher Behälter doch nur für eine beschränkte Zahl von Schnitten berechnet ist, so konnte man bei grösseren Serien davon kaum Gebrauch machen.

Ein Nachtheil aller mir bekannten Verfahren war nämlich der, dass man stets das Objekt von vornherein in eine längere Serie von Schnitten zerlegen musste. Es schien dies bisher deshalb nöthig, weil man einerseits den Celloidinblock nicht eintrocknen lassen durfte, andererseits ein jeweiliges Zurückbringen desselben in verdünnten Alkohol und nachheriges Wiedereinbringen ins Mikrotom durch geringe Verschiebung der alten Schnittebene stets ein paar Schnitte verlieren liess.

Ich habe deshalb ein Verfahren gesucht, das einmal diesen letzteren Nachtheil vermeiden soll, und das zugleich einen, für die im Anfang genannten Zwecke, unnöthigen Zeitaufwand zu ersparen vermag.

Dazu bedient man sich der folgenden einfachen Einrichtung.

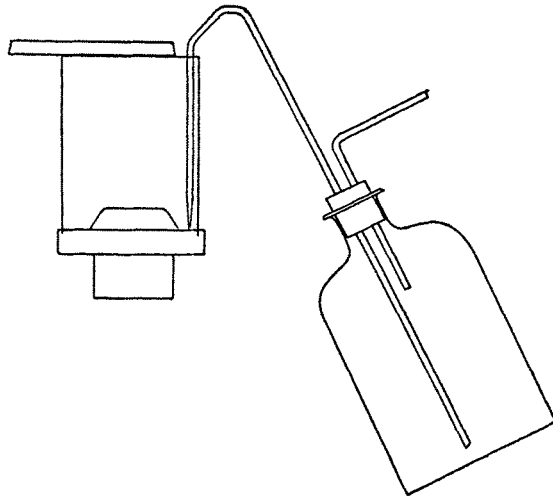
Ein Stabilitblock *S* (siehe Textfigur 1) trägt eine grössere Stabilitplatte *p*, die mit dem Block durch 4 Schrauben unverschieblich fest verbunden ist. Auf dieser Platte ist in der



Textfigur 1.

Mitte das in Celloidin eingebettete Objekt in gewohnter Weise auf-

geklebt worden. Nun schneidet man eine Serie von 10 Schnitten, die in 10 nummerirte Schälchen (perforirte Schälchen, von denen nachher die Rede sein soll) der Reihe nach vertheilt werden. Weiter wird nicht geschnitten, sondern man stellt jetzt in die einen Kreis beschreibende Rinne r der Stabilitplatte den Glas-cylinder c , welcher als Alkoholammer dienen soll. Der Cylinder ist oben und unten eben geschliffen. Die glatten Ränder hat man mit etwas Vaseline bestrichen. Indem man jetzt den Cylinder etwas in die Rinne des Stabilitblockes andrückt, füllt man ihn rasch mit 80%igem Alkohol bis fast an den oberen Rand, den man sogleich mit der bereit gehaltenen Glasplatte d bedeckt. Dadurch wird der Cylinder luftdicht abgeschlossen. Das Schnittobjekt bleibt auf diese Weise von Alkohol umgeben,



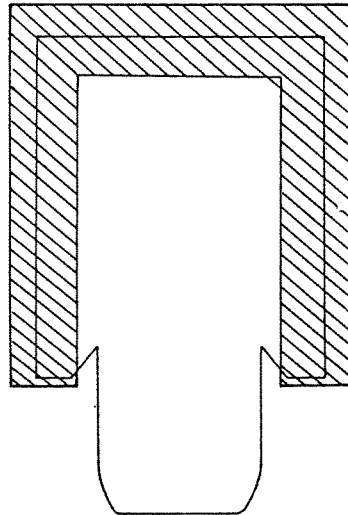
Textfigur 2.

dessen Ausfließen durch den äusseren Luftdruck durchaus verhindert ist, und man kann es jetzt beliebig lange stehen lassen, bis man die ersten 10 Schnitte behandelt hat. Will man nachher die Serie fortsetzen, so schiebt man einfach die Cylinderdeckplatte etwas bei Seite und entleert die Alkoholammer durch Saugheberwirkung. Dabei bedient man sich am besten einer Flasche, wie man sie im Laboratorium als Spritzflasche für destillirtes Wasser gebraucht (siehe Textfigur 2). Den abgebogenen, spitz zulaufenden Theil der langen Glasröhre senkt man in die Alkoholammer ein, wonach durch einmaliges Ansaugen an der

kurzen Glasröhre die Heberwirkung zustande kommt. Den entleerten Glaszylinder kann man nun einfach wegnehmen und das Objekt in der früheren Schnittebene weiter schneiden¹⁾.

So kann man auf bequeme Weise, ohne weitere umständliche und zeitraubende Methoden Ordnung in der Serie halten. Von Vorthail ist ferner, dass die Alkoholammer es möglich macht, nach jeden 10 Schnitten zu controlliren. Wir haben es so in der Hand, bei den nächsten Schnitten die durch das Studium der vorhergehenden als zweckmässig erscheinende Färbung oder Reaktion anzuwenden.

Um schon am ungefärbten oder an einem z. B. aus der Hämalaaun-Lösung kommenden Schnitte über seine topographischen Verhältnisse, aber auch über feinere Structures sich orientiren zu können, benutzt man mit Vorthail ein kleines Hilfsmittel, das man sich selbst herstellen kann: aus einem Brettchen (etwa dem Deckel einer Cigarrenkiste) sägt man sich einen hufeisenförmigen Rahmen von der Grösse des Mikroskopobjektisches zurecht (siehe Textfigur 3). Auf den Rahmen klebt man eine Glimmerplatte, die am offenen Ende des Hufeisens in Form einer Schaufel hinausragt. Beim Gebrauch dreht man den Rahmen mit der Glimmerplatte um und kann nun mit einem feinen Pinsel den zu besichtigenden Schnitt aus der Flüssigkeit auf die Schaufel und weiter auf die Unterseite der Platte hinaufziehen. Dann legt man den Schnittträger mit dem Schnitt nach unten auf den Objektisch, wo das Präparat nun auch bei starker Vergrößerung betrachtet werden kann.



Textfigur 3.

Vielleicht interessiren uns für eine bestimmte Untersuchung nur die ersten paar Schnitte eines Präparates; dann haben wir nicht unnöthigerweise das Ganze in Schnitte zerlegt und können den ungeschnittenen Theil für andere Studien später beliebig verwenden. Auch kann es oft erst im Verlauf der Untersuchung

1) Ein solcher Stabilitblock mit Glaszylinder wird von der bekannten Fabrik von R. Jung in Heidelberg genau nach Angabe angefertigt.

sich als wünschenswerth herausstellen, die Schnittebene zu verändern.

Die Brauchbarkeit dieser Methode wäre nun aber eine bedingte, wenn man die in je ein besonderes Schälchen übertragenen Schnitte auch gesondert behandeln müsste. Ich bin deshalb darauf gekommen, diese Schälchen zu perforiren. Bei der Verwendung solcher perforirter Färbeschälchen, die auch sonst manche Vortheile bieten, ist dann eine gemeinsame Färbung von wenigstens 10 Schnitten ermöglicht.

Es ist mir erst jetzt, wo ich diese Art der Färbung mittheilen wollte, bekannt geworden, dass das Princip derselben nicht neu ist. M. v. Lenhossék hat in der Zeitschrift für Mikroskopie (Bd. III, Seite 53) für Serienpräparate aus dem centralen Nervensystem eine in Fächer abgetheilte, siebartig durchlöchernte Schale aus Zinkblech angegeben, die mit den darin vertheilten Schnitten jeweilen in die anzuwendenden Färbeflüssigkeiten hineingestellt wird. Für seinen besondern Zweck war dieses Hilfsmittel gewiss das einfachste. Das angewandte Material verträgt aber nicht alle Reagentien, weshalb E. Steinach (in Bd. IV, Seite 435 derselben Zeitschrift) eine Siebdose aus Glas zur Vereinfachung der Behandlung mikroskopischer Präparate empfohlen hat. Man könnte nun auch für Serien die Steinach'schen Schalen benützen. Dadurch würde das Verfahren aber unnöthig theuer werden.

Die einfachen Schälchen, deren ich mich bediene, erfüllen ihren Zweck vollkommen und können von jedem geschickten Glasbläser aus gewöhnlichen Schälchen hergestellt werden. Sie haben einen Durchmesser von 5 cm bei 3 cm Höhe. Der dünne Boden besitzt nahe der Peripherie an 4 Stellen ein 2 mm weites Loch, während in der Wand des Schälchens — dem Boden möglichst nahe — an zwei gegenüberliegenden Orten eine $2\frac{1}{2}$ mm weite Oeffnung angebracht ist¹⁾. Nahe dem oberen Rand trägt ferner jedes Schälchen seine besondere Nummer eingezätzt.

1) Zahlreichere Oeffnungen, wie sie die Steinach'sche Schale besitzt, sind hier nicht erforderlich. Die mehrfache Perforation vermehrt aber gerade die Schwierigkeiten der Herstellung erheblich. Ebenso sind die Vertiefung des Bodens und die Füßchen der Schale nicht nothwendig. Die Schälchen mit den wenigen, verhältnissmässig grossen Oeffnungen sind leicht zu reinigen.

Bevor man ans Schneiden geht, giesst man nun in eine grosse Schale von ca. 23 cm Durchmesser und 5 cm Höhe 70%igen Alkohol (oder wenn man die Schnitte gleich weiter behandeln will, destillirtes Wasser) bis zu einer Schicht von ca. 1 cm Höhe. Dann stellt man in die Schale 10 perforirte Schälchen (No. 1—10). In diese Schälchen dringt durch die seitlichen Oeffnungen wie auch durch die kleinen Löcher am Boden die Flüssigkeit ein und man kann nun in die Schälchen die Schnitte der Reihe nach vertheilen. Von nun an bleibt jeder Schnitt in seinem Schälchen, sowohl bei der Färbung, wie bei der Uebertragung in Alkohol oder andere Reagentien. Man benutzt als Farb- und Alkoholbehälter Schalen von 15 cm Durchmesser (bei 4 cm Höhe), die je 5 perforirte Schälchen aufnehmen können, — zum Auswaschen zweckmässig die erste grosse Schale, in der alle 10 perforirten genügend Platz haben¹⁾. Die perforirten Schälchen brauchen keinen Deckel, sondern man deckt nur die grösseren Aufnahmeschalen mit einem gut schliessenden, übergreifenden Deckel zu. Die Färbung geht nun so vor sich, dass man jeweilen 2—4 perforirte Schälchen an dem über den Flüssigkeitsspiegel genügend vorragenden Rand mit blossen Fingern fasst und emporhebt. Dabei fliesst die Flüssigkeit aus den Bodenöffnungen der Schälchen ab, wonach man dieselben in die nächste Flüssigkeit (Farbe, Waschwasser oder Alkohol) hineinstellt, die dann wieder zu den Schnitten durch die Oeffnungen eindringt. So braucht man die Schnitte selbst bei der ganzen Färbung nicht mehr zu berühren, bis sie in 96%igem Alkohol sich befinden. Mit 96%igem Alkohol fülle ich die Aufnahmeschale in höherer Schicht an, so dass der Alkohol bis zum Rand der perforirten Schälchen eindringt, damit man die Schnitte von da leichter auf den Spatel ziehen kann, mit dem nun jeder Schnitt gesondert in Bergamottöl (oder andere Aufhellungsflüssigkeit) übertragen wird.

Dieses Uebertragungsverfahren, welches die Schnitte selbst bis zum Schluss der Färbung vor jeder Manipulation bewahrt, hat einen grossen Vorzug besonders bei grösseren dünnen Schnitten, für die das Verfahren ja besonders gelten soll. Eine Annehmlichkeit ist es auch, dass man die Schnitte in den dunkeln Farb-

1) Am besten benutzt man noch eine kleine Schale als erste Auswaschschale zum Abspülen der perforirten Schälchen.

lösungen nicht zu suchen braucht, wenn man sie einfach im perforirten Schälchen herausheben kann.

Da ich die Methode nun seit längerer Zeit anwende, kann ich auch von vornherein den Einwänden entgegentreten, die etwa gegen sie erhoben werden könnten: Die Flüssigkeiten tropfen von der glatten Glaswand sehr leicht ab, und das Auswaschen lässt sich in den Schälchen, die man etwas schüttelt, gründlich bewerkstelligen. Die Schnitte werden bei richtig angebrachten Oeffnungen nicht in diese eingezogen. Der Verbrauch an Flüssigkeiten könnte auf den ersten Blick etwas gross erscheinen. Aber man kann diese Flüssigkeiten (wenn man die Farblösungen von Zeit zu Zeit filtrirt) in den gut zugedeckten grösseren Schalen lange stehen lassen und des öfteren wieder anwenden. Die Auswaschflüssigkeiten giesse ich jeweilen in besonders dafür bestimmte Flaschen, so dass man sie für das erste Auswaschen bei der nächsten Färbung benützen kann.

Mir selbst hat sich denn die Färbung mittelst der perforirten Schälchen als recht praktisch erwiesen. Ich glaubte deshalb von einer Beschreibung ihrer Verwendung nicht abstehen zu sollen, da offenbar die früheren Steinach'schen Schalen viel weniger bekannt geworden sind, als sie es verdient hätten. Das ganze von mir angewandte Verfahren zur Herstellung von Celloidinserien wollte ich aber vor Allem deshalb mittheilen, weil man dabei mit kleinen einzelnen Arbeitszeiten sehr gut auskommt. So kann mittelst dieser Methode auch der eine Serienuntersuchung machen, dem seine Arbeit keine längere mikroskopische Beschäftigung erlaubt, der aber doch gerne regelmässig eine bestimmte Zeit für selbständiges mikroskopisches Studium erübrigen wollte.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. H a a b, möchte ich für das freundliche Entgegenkommen, womit er mir die Ausführung dieses Verfahrens ermöglichte, auch hier meinen besten Dank aussprechen.

Zürich, den 25. Mai 1900.
