

$\frac{1}{2}$ —1 heure et plus, décompose encore H_2O_2 , quoique plus faiblement qu'à l'état normal.

L'acide carbonique agit aussi beaucoup plus faiblement que le sublimé; par exemple l'anthrax, après avoir été plongé dans une solution de cet acide à 2 pour cent pendant 24 heures et même plus, décompose encore H_2O_2 assez énergiquement. L'hydrochinone agit un peu plus énergiquement, mais exerce en général une action moins forte sur le foie et la fibrine que sur les cultures des bactéries. Le chlorure de fer déprime la catalyse à un plus haut degré en solutions relativement faibles (à 0,1—0,3 pour cent), vis-à-vis de la fibrine aussi bien que vis-à-vis de l'anthrax. Notons ici que l'acide chlorhydrique pur en solution très faible, après avoir produit le gonflement d'un petit morceau de fibrine, en détruit les propriétés catalytiques, si même on le neutralise après et qu'on le lave soigneusement à l'eau.

On peut dire, en général, qu'une fois que les propriétés catalytiques, soit de quelque substance organisée, soit de la fibrine ou d'un ferment, ont été détruites par la chaleur ou un agent chimique, elles ne se regagnent plus, ni par le refroidissement, ni par la neutralisation de l'acide par un alcali et vice versa, ni par le lavage à l'eau.

Eine einfache und zuverlässige Methode Celloidinserien mit Wasser (resp. verdünntem Alkohol) und Eiweiss aufzukleben.

Von Dr. P. Argutinsky,

Professor der Kinderheilkunde an der K. Universität zu Kasan.

Während wir für Paraffinschnitte ebenso zuverlässige als einfache Aufklebmethoden 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 Objecte 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 Ordnen 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 in Alkohol fixirten Objecte ein Verfahren dar, das allen denkbaren Anforderungen entspricht und geradezu eine vollkommene Aufklebemethode genannt werden kann. Sie klebt diese Objecte sicher und hinterlässt auf dem Glase nichts, was nachträglich mitgefärbt werden könnte. Aber auf Objecte, die in oxydirend wirkenden Flüssigkeiten, wie Chromsäure, Osmiumsäure und deren Gemische fixirt sind, ist die Capillarattractionsmethode bekanntlich nicht anwendbar.

Dagegen gestattet die zweite, die *Combinirte Wasser- und Eiweissmethode*, die Anwendung auch auf Objecte aus verschiedenen Chrom- und Osmiumsäuregemischen und sonstigen Fixirungsflüssigkeiten und besitzt daher für Paraffinschnitte eine allgemeine Anwendbarkeit. Sie ist ebenso einfach wie die vorhergehende, klebt absolut sicher, 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 Celloidinserien?

Man ist wohl darüber einig, dass die hier in Betracht kommenden Methoden mehr oder weniger complizirt, zeitraubend und umständlich sind, dass sie auch im besten Falle sich in keiner Weise mit den so überaus einfachen und doch absolut zuverlässigen Paraffinaufklebemethoden messen können. Das gilt sowohl für die Methoden von Weigert, von Obregia, als für die Bergamottöl- und Vaseline Methoden von Apathy, ohne selbsverständlich 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 und zu erfinden.

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 vorzüglichsten einfachen Paraffinaufklebemethoden auch auf Celloidin anzuwenden; wenn wir versuchten die Hindernisse zu umgehen, die ihrer Anwendung auf Celloidinschnitte bis jetzt entgegengestanden 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 Alkoholobjecte zuverlässig ist, so kann sie schon desshalb 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 bekantlich durchaus nicht vertragen und dabei ganz zu Grunde gehen.

Auch die combinirte Wasser- und Eiweissmethode, *soweit sie*, wie bei Paraffinschnitten, *durch Austrocknen wirkt*, ist auf Celloidinschnitte absolut nicht anwendbar. Desshalb können wir bei Celloidinschnitten weder die Methode von Duval, noch die von Hennequy oder die sogenannte japanische Methode 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 (anderes 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 heisst durch Gerinnenlassen des Eiweisses auf dem Objectträger, bevor er mit Schnitten beschickt wird.

In Folgendem 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 erforderliche Anzahl Objectträger sorgfältig von Fett ¹⁾ und bringt auf jeden ein ganz kleines Tröpfchen von Paul Meyer'schem Glycerineiweiss, das gleichmässig in dünnster Schicht verrieben wird. Darauf wird das Eiweiss durch Erwärmen des Objectglases zum Gerinnen gebracht ²⁾.

Das Schneiden geschieht, wie gewöhnlich, unter 70% Alkohol. Jeder Celloidinschnitt wird gleich, nachdem er geschnitten ist, mit einem Pinsel vom Mikrotommesser in ein Schälchen mit 70% Alkohol gebracht. Solgfältig entfaltet, wird der Schnitt von hier aus auf einem Präparatenlöffel auf das Objectglas übertragen, wo er reichlich mit Alkohol bedeckt und faltenlos zu liegen kommt, ohne im Geringsten am Glase zu kleben. Ganz in derselben Weise

¹⁾ Zu dem Zweck reinige ich die Objectgläser 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 niederschlage.

²⁾ Man bringt die mit Glycerineiweiss bestrichenen Objectgläser auf einige Minuten in einen bis etwa auf 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 beinah 100° C. erhitzt hat, legt man für ein paar Minuten die Objectgläser darauf.

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

verfährt man mit dem zweiten, dritten etc. Schnitt, bis man die gewünschte Anzahl auf dem Objectglase hat. Man kann dabei in aller Ruhe arbeiten; Man kann sogar das Uebertragen der Schnitte auf ein und dasselben Objectglas 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 Objectglas 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 Objectglas. Nun werden die Schnitte geordnet. Ist das geschehen, so wird der den Objectträger und die Schnitte reichlich bedeckende Alkohol abgesogen, indem man mit dem Rande eines Filtrirpapierblättchens die Längsränder des Objectglases vorzichtig berührt, ohne dass die Schnitte hierbei verrücken. Hierdurch werden sowohl das Objectglas 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 Objectglas gelegt. Durch wiederholtes ziemlich starkes Streichen mit dem Finger wird das Filtrirpapier an die noch nasse Oberfläche des Objectglases gepresst, wodurch der Alkohol vom Objectglas und den Celloidinschnitten in das Papier aufgesaugt und zugleich die Schnitte an die Eiweisssschicht sorgfältig angedrückt werden. Hiernach wird der Filtrirpapierstreifen abgenommen und das Objectglas mit den nun absolut fest daran klebenden Schnitten *sofort* (damit sie nicht austrocknen) in ein Gefäss mit destillirtem Wasser gethan, wo es liegen bleibt, bis man es färbt und weiter behandelt, was gleich oder beliebig später geschehen kann. Ich bemerke noch, dass beim Andrücken des Filtrirpapiers das Aufkleben desselben an Glas oder Schnitte durchaus nicht zu befürchten ist (weil sie noch feucht sind), ebenso wenig wie die Verschiebung oder Beschädigung der Schnitte.

Man kann die Objectträger mit den Schnitten Tage lang im Wasser oder in 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 Sicherung gegen Fäulniss, das Objectglas mit den Schnitten in 70% resp. schwächerem Alkohol aufzubewahren.
