

## **Universitäts- und Landesbibliothek Tirol**

### **Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen mit Einschluss der mikroskopischen Technik**

**Stöhr, Philipp**

**Jena, 1912**

Anhang

# A n h a n g.

## Die Mikrotomtechnik.

Die folgenden kurzen Angaben können nur als eine Einführung für den Anfänger dienen. Die richtige Technik kann nur mit stets bereiter Hilfe eines erfahrenen Arbeiters auf diesem Gebiete in einem Laboratorium erlernt werden.

### I. Die Mikrotome.

Die gebräuchlichen Mikrotome sind nach zwei verschiedenen Prinzipien konstruiert.

Das Prinzip der einen Art besteht darin, dass das zu schneidende Objekt durch Verschiebung des Objekthalters auf einer schräg aufsteigenden Ebene gehoben wird.

Bei der anderen Art wird das Objekt in vertikaler Richtung durch eine Mikrometerschraube gehoben.

In beiden Fällen wird das in den Messerschlitten eingespannte Messer auf horizontaler Bahn hin- und hergeschoben.

Beide Arten von Mikrotomen leisten Vorzügliches <sup>1)</sup>.

Alle Teile des Mikrotoms sind möglichst sauber zu halten. Bei häufigem Gebrauche schütze man dasselbe, mit einem leichten Holzkasten bedeckt, vor Staub. Die Bahn, auf welcher der Messerschlitten läuft, muss vollkommen rein sein; man putze dieselbe hier und da mit einem in Benzin getauchten Lappen und fette sie dann mit Knochenöl oder mit Vaseline so reichlich ein, dass der Schlitten auch bei leichtem Anstosse die ganze Bahn gleichmässig durchläuft <sup>2)</sup>. Besondere Sorgfalt ist auf die Messer zu verwenden. Nur mit sehr scharfen Messern wird man Serien sehr feiner Schnitte herstellen können. Ein wirklich scharfes Messer muss

---

1) Aus eigener Erfahrung empfehle ich vornehmlich die Thomaschen Schlittenmikrotome mit schräger Hebung von R. Jung in Heidelberg, sowie diejenigen von M. Schanze in Leipzig mit vertikal laufendem Objektschlitten. Von Mikrotomen mit vertikaler Hebung sind die von Gustav Miede in Hildesheim konstruierten Instrumente sehr zu empfehlen. Sie finden im Züricher und im Würzburger anatomischen Laboratorium sowie anderwärts vielfache Verwendung. Siehe auch die neuen Mikrotome mit feststehendem Messer. Bei der Anschaffung eines Mikrotomes und der passenden Messer wende man sich an einen erfahrenen Mikroskopiker.

2) Die an den Thomaschen Mikrotomen befindliche Objektschlittenbahn darf dagegen nur sehr wenig eingeölt werden, damit nicht der Schlitten durch den Messerzug zurückgeschoben werde.

ein feines Haar, das man an dem einen Ende zwischen den Fingern hält, mit Leichtigkeit durchschneiden.

## II. Einbetten<sup>1)</sup>.

### A. In Paraffin.

Hierzu bedarf man:

1. Paraffin: zwei Sorten, eine weichere (45 ° Celsius Schmelzpunkt) und eine härtere (56 ° Celsius Schmelzpunkt)<sup>2)</sup>. Davon stelle man sich eine Mischung her, die bei ca. 50 ° Celsius schmelzbar ist. Von dem richtigen Mischungsverhältnisse beider Sorten hängt viel ab; mancher Misserfolg wird nur durch eine ungenügende Mischung herbeigeführt.

Eine genaue Angabe der Mengenverhältnisse lässt sich nicht liefern, da die Konsistenz des Paraffins in hohem Grade von der äusseren Temperatur abhängig ist. Auch bedingen härtere Objekte, ferner der Wunsch, sehr feine Schnitte herzustellen, die Anwendung härterer Mischungen als gewöhnlich. Für den Winter, bei einer Zimmertemperatur von 20 ° Celsius dürfte eine Mischung von 30 g weichem mit 25 g hartem Paraffin<sup>3)</sup> den meisten Anforderungen genügen.

2. Chloroform 20 ccm.

3. Paraffinchloroform, eine gesättigte Lösung (5 g der Mischung in 25 ccm Chloroform). Diese Lösung ist bei Zimmertemperatur flüssig.

4. Ein Trockenofen („Thermostat“) aus Kupferblech mit doppelten Wänden, deren Zwischenraum mit Wasser gefüllt ist. Unter dem Kasten brennt eine kleine Gasflamme. Oben befinden sich drei Öffnungen; zwei führen in den erwähnten Zwischenraum, in die eine wird ein Reichertscher, den schwankenden Gasdruck ausgleichender Regulator, in die andere ein Thermometer eingesetzt<sup>4)</sup>. Die dritte Öffnung führt in den Luftraum des Kastens. Hier wird ein zweites Thermometer eingesetzt.

5. Ein Einbettungsrahmchen. Dasselbe besteht aus zwei geknickten Metallplatten oder Glaswinkeln, die so  aneinander gesetzt werden.

Die einzubettenden Objekte müssen vollkommen wasserfrei sein, 1 bis 3 Tage in mehrmals gewechseltem absolutem Alkohol gelegen haben. Dann werden sie in Fläschchen mit ca. 20 ccm Chloroform übertragen, woselbst sie bis zum nächsten Tage verweilen<sup>5)</sup>. Danach kommen die Objekte in Paraffinchloroform (s. oben) und nach 2—24 Stunden je nach der

1) Bezüglich der Handhabung der in so vielen Laboratorien gebräuchlichen Gefriermikrotome muss auf den in den betreffenden Laboratorien bestehenden Brauch verwiesen werden. Als Fixierungsmittel wird hier hauptsächlich Formol genommen (vgl. auch Nr. 2, S. 15).

2) Für feinste Schnitte empfiehlt sich (besonders bei hoher Zimmertemperatur im Sommer) die Anwendung von noch härterem Paraffin (bis zu 62 ° Celsius Schmelzpunkt).

3) Von Dr. Grübler (Leipzig) bezogen; das Kilo jeder Sorte kostet 2 Mark. Die härtesten Paraffine liefert die chemische Fabrik von de Haën (Hannover).

4) Wird z. B. von R. Jung (Heidelberg) angefertigt (Nr. 801 des Katalogs von 1903) (60 Mark).

5) Das reicht für alle Fälle, bei kleinen Objekten genügen 1—2 Stunden.

Grösse und Beschaffenheit der Stücke in ein Porzellanschälchen oder ein Emailtöpfchen mit geschmolzenem, aber nicht zu heissem Paraffin im Trockenofen<sup>1)</sup>. Nach etwa einer halben Stunde werden die Stückchen in ein zweites Schälchen geschmolzenen Paraffins gebracht<sup>2)</sup>, woselbst sie je nach der Grösse 1—5 Stunden bleiben<sup>3)</sup>.

Nach Ablauf derselben nehme man einen tiefen Teller, lege einen Objektträger hinein und stelle auf diesen das Einbettungsrahmchen, welches zuerst voll Paraffin gegossen wird<sup>4)</sup>. Dann übertrage man schnell mit angewärmter Pinzette oder kleinem Metallöffel das Objekt in das Rähmchen und lagere es mit erwärmter Nadel so, dass man die gewünschte Schnittrichtung im Auge behält, solange das Paraffin noch flüssig ist. Sobald das geschehen ist, giesse man in den Teller vorsichtig kaltes Wasser bis zum oberen Rande des Rähmchens; das Paraffin beginnt bald zu erstarrten. Sobald an der Oberfläche eine nicht zu dünne erstarrte Schicht gebildet ist, lasse man vorläufig mehr Wasser hinzu, bis dieses — ohne die obere Schicht zu durchbrechen (!) — das Paraffin völlig bedeckt. Durch diese Manipulation erhält das Paraffin eine homogene Beschaffenheit, während es sonst leicht kristallinisch wird bzw. Luft aufnimmt und dann sowohl schwerer zu schneiden ist, als auch auf die Struktur der eingeschlossenen Teile schädlich einwirkt. Nach etwa 10 Minuten werden die Metallplättchen abgenommen und der Paraffinblock bis zur vollkommenen Erstarrung auf dem Objektträger im Wasser belassen<sup>5)</sup>.

Das so eingeschmolzene Objekt ist schon nach einer halben Stunde schneidbar; soll es später verarbeitet werden, so wird es mit einer Nadel signiert und kann bis zum Schneiden unbegrenzt lange Zeit aufgehoben werden.

### B. In Celloidin.

Das in Platten (bei Dr. Grübler) käufliche Celloidin hat die Konsistenz speckigen Käses. Man zerschneide die Platte in kleine Stückchen und lasse sie an einem staubfreien Orte (am besten auf einem Papier im Trockenofen) an der Luft trocknen, wobei sie gelb, wasserfrei und hart

1) Das Paraffin darf nur 2—3 Grade über seinen Schmelzpunkt erhitzt sein; für die oben angegebene Mischung soll die Luft im Wärmekasten eine Temperatur von ca. 53° Cels. haben. Hat man das Paraffin hoch (!) über der Gasflamme geschmolzen, so stelle man die Flamme so, dass die Oberfläche des Paraffins mit einem dünnen Häutchen erstarrten Paraffins bedeckt bleibt.

2) Das geschieht, um den letzten Rest des Chloroforms aus dem Objekte zu entfernen. Selbstverständlich muss immer das gleiche Schälchen für die Übertragung aus dem Paraffinchloroform benützt werden. Enthält das Schälchen nach häufigerem Gebrauche viel Chloroform, so kann man dieses durch stärkeres Erhitzen des Paraffins austreiben. So lange das Paraffin noch Chloroform enthält, steigen von einer eingetauchten heissen Nadel Bläschen auf.

3) Für sehr kleine Teile, sowie für Membranen (z. B. Retina) genügen schon je 10 Minuten Verweilens im Paraffin.

4) Nach häufigerem Gebrauch der nämlichen Paraffinschale setzen sich am Boden Staubteilchen ab. Dann giesse man das Paraffin in eine andere Schale ab und entferne den verunreinigten Rest, damit dieser nicht auch zur Mikrotomierung kommt. Das das Objekt enthaltende Paraffin muss ganz sauber sein.

5) S. auch Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. XXIV. · S. 254, 1907.

werden. 16 g dieses trockenen Celloidins werden in 100 ccm absolutem Alkohol + 100 ccm Äther in einem weiten Glase mit eingeschliffenem Glasstöpsel gelöst. Bis zur vollständigen Lösung des Celloidins wird von Zeit zu Zeit mit einem Glasstab umgerührt. Zwischen dem Stöpsel und der Glaswand soll das sich (z. B. nach Schiefhalten des Glases oder nach Ausgießen des Celloidins) festsetzende Celloidin immer sofort sorgfältig abgewischt werden, da es sonst erstarrt und den Verschluss undicht macht, wodurch die Lösungen sich eindicken. Die Hälfte dieser ca. 8 %igen Lösung mit 50 ccm absolutem Alkohol + 50 ccm Äther verdünnt. Die Hälfte dieser ca. 4 %igen Lösung mit 25 ccm absolutem Alkohol + 25 ccm Äther verdünnt.

Die einzubettenden Stücke müssen vollkommen wasserfrei sein, 1 bis 2 Tage in mehrmals gewechseltem absolutem Alkohol gelegen haben. Aus diesem werden die Stücke auf je 24 Stunden in Äther-Alkohol (zu gleichen Teilen), in die 2 %ige, 4 %ige und 8 %ige Celloidinlösung übertragen. Hier können die Stücke beliebig lange verweilen. Meist sind sie nach 24 Stunden hinreichend durchtränkt, nur grosse, viele Binnenräume enthaltende Objekte müssen länger (bis zu 8 Tagen) in der dicken Lösung verweilen. Dann wird das Stück rasch auf einen kleinen Holzklötz<sup>2)</sup> aufgesetzt und mit dem Glasstab etwas Celloidin darauf geträufelt. Dabei ist zu beachten, dass das Objekt nicht fest auf das Holz aufgedrückt werde, sonst löst es sich leicht ab. Es muss sich eine 1—2 mm dicke Schicht<sup>3)</sup> zwischen Holz und Objekt befinden. Nun wird das Ganze  $\frac{1}{2}$  (zarte Objekte) bis 4 Stunden unter eine nicht fest schliessende, umgedrehte, nicht zu grosse Glasschale<sup>4)</sup> zu langsamer Trocknung gebracht und dann in eine Glasdose mit ca. 30 ccm 80 %igem Alkohol übertragen. Damit die Objekte untertauchen, klebe man die Korkstöpsel mit ihrer unteren Fläche vermittelst Celloidin an die Innenfläche des Dosendeckels. Am nächsten Tage wird der 80 %ige Alkohol durch 70 %igen Alkohol ersetzt, in welchem die Stücke lange aufgehoben werden können.

Ein anderes etwas umständlicheres, aber sehr empfehlenswertes Verfahren ist folgendes. Das Objekt wird samt dem 8 %igen Celloidin in ein Schälchen gebracht, das, fest zugedeckt, mehrere Stunden stehen bleibt, bis die beim Giessen entstandenen Luftblasen entwichen sind. Dann nehme man den Deckel ab, stelle die Schale auf einen Teller, in welchem sich 70 %iger Alkohol befindet und decke mit einer Glasglocke zu. Ist das Celloidin (in dem Alkoholdampf) erstarrt (Prüfung mit der Nadel), so kommt das Schälchen samt Inhalt in 70 %igen Alkohol; nach 24 Stunden schneidet man aus dem erstarrten Celloidin einen das Präparat enthaltenden Block zurecht und konserviert in 70 %igem Alkohol.

1) Es empfiehlt sich, die Holzstücke vor dem Gebrauch einige Stunden in 2 %iger Sodalösung auszukochen. Stabilis oder Durit statt Holz verwenden ist ziemlich kostspielig aber sehr zweckmässig. Verwendet man Holz, so muss man auf die das Objekt später aufnehmende Fläche eine dünne Schicht Celloidin auftragen, diese trocknen lassen und dies zweimal wiederholen. Man vermeidet so, dass später Luftblasen aus dem Holz in den Celloidinmantel der Objekte treten.

2) Dicker darf die Schicht nicht sein; auch gut gehärtetes Celloidin ist elastisch, eine dicke Schicht solch elastischen Materials würde zu einem Ausweichen des Objektes beim Scheiden Veranlassung geben.

3) Zu dem Zwecke lege man eine Nadel oder dergleichen unter den Glasrand.

Zur Anfertigung feinerer Schnitte kann man das Celloidin noch härten. Zu diesem Zwecke bringe man die in Celloidin eingeschlossenen Stücke aus dem 70 %igen Alkohol auf 2 Tage oder beliebig länger in ein Alkohol-Glyzeringemisch (Alkohol 80 % 1 Teil, reines konzentriertes Glyzerin 6 bis 10 Teile). Je grösser das Verhältnis von Glyzerin zu Alkohol ist, desto härter wird das Celloidin<sup>1)</sup>. Um das Federn der elastischen Celloidinblöcke zu verhindern, trockne man den aus dem Alkohol-Glyzerin entnommenen Block mit Filtrierpapier sorgfältig ab, mache ein paar seitliche Einkerbungen und tauche ihn in flüssiges Paraffin. Solche Blöcke lassen sich nicht trocken aufheben. Man lege sie in das Alkohol-Glyzerin zurück.

In vielen Fällen benutzt man mit Vorteil das Celloidin nicht zur völligen Durchtränkung des Objektes, sondern nur zum Aufkleben (wie oben) auf einen Holz- oder Stabilblock zum Zwecke der Mikrotomierung. Das gilt aber nur für solche Objekte, deren Beschaffenheit derart ist, dass sie nach der Konservierung ohne weiteres schneidbar sind, ohne dass sich grössere Hohlräume im Objekt befinden oder Teile herausfallen können (z. B. viele Drüsen, Gehirn [bei guter Konsistenz]). Man klebt auf, nachdem die wasserfreien Stücke je 10 Minuten bis 2 Stunden in dünner und dicker Lösung verweilt haben. Nach dem Schneiden wird dann der dünne Celloidinmantel der Schnitte in absolutem Alkohol aufgelöst.

Speziell die mit der Golgischen Methode behandelten Objekte vertragen nicht langes Verweilen in absolutem Alkohol und den Celloidinlösungen und werden deshalb entweder nur aufgeklebt oder in folgender Weise behandelt. Das aus der Silberlösung genommene Stückchen wird 15—20 Minuten in 30 ccm 96 %igem, dann 15 Minuten in ebensoviel absolutem Alkohol gehärtet, dann auf 5 Minuten in die dünne Celloidinlösung gebracht. Unterdessen schneidet man in die plangeschnittene Seitenfläche eines möglichst breiten Stückes Hollundermark eine Vertiefung, gerade gross genug, um das ganze Präparat eben aufzunehmen, welches hier eingefügt und mit etwas Celloidin übergossen wird. Dann passe man ein zweites Stückchen Hollundermark auf, giesse wieder etwas Celloidin über und stelle das Ganze auf ca. 5 Minuten zum Antrocknen unter eine Glasglocke. Dann Übertragung in 80 %igen Alkohol auf 5 Minuten und dann mit einem mit 80 %igem Alkohol benetzten Messer schneiden. Mikrotom ist durchaus nicht nötig, es lassen sich leicht mit freier Hand genügende Schnitte herstellen. Benützt man ein Mikrotom, so soll die Schnittdicke zwischen 40 und 120  $\mu$  schwanken. Es empfiehlt sich, an der Schnittfläche soviel Hollundermark abzutragen, dass letzteres nur eine (1 mm) schmale Rinde um das Celloidin bildet.

### III. Schneiden und Weiterbehandeln der Paraffinobjekte.

Das Objekt wird zunächst aus dem Paraffinblock so herausgeschnitten, dass es von einem 0,2—0,5 cm (je nach der Grösse) dicken Mantel von Paraffin rings umschlossen bleibt und von rechtwinkelig sich schneidenden

<sup>1)</sup> Man kann die Mischung noch mehr ändern. Als äusserste Grenze dürfte 1 Teil Alkohol zu 30 Teilen Glyzerin zu bezeichnen sein; noch stärkere Differenzen führen zu einem starken Rollen der Schnitte; siehe ferner Neumayers Angabe zur Technik der Celloidineinbettung (Zeitschr. für wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XXV. S. 38).

Flächen umgeben ist. Dann wird es auf einen entsprechend grossen Holz- oder Stabilitblock, welcher der Objektklammer angepasst ist, so aufgesetzt, dass die zuerst zu schneidende Fläche nach oben liegt<sup>1)</sup>. Welcher Teil (Rand) des eingebetteten Objektes zuerst von der Messerschneide getroffen werden soll, ist bei Objekten mit gleichmässiger Konsistenz ziemlich gleichgültig; enthält das Objekt auch härtere Teile oder ist es gekrümmt, so hängt das Gelingen guter Schnitte viel von der richtigen Orientierung des Objektes zur Messerschneide und von der Erfahrung ab. Sind alle Schrauben an dem Objektklammerträger gut fixiert, so schneidet man zunächst bei dicken Schichten mit dem Skalpell — soviel Paraffin ab, dass das Objekt nahezu erreicht ist. Geschnitten wird mit trockenem, stets sehr sauber gehaltenem Messer und zwar entweder mit schief oder mit quer stehendem Messer.

#### Schneiden mit schief stehendem Messer.

Bevor das Objekt erreicht ist, wird die obere Fläche in Form eines Rhombus zugeschnitten, so dass die längere Achse rechtwinkelig zur schiefen Messerschneide steht, das Messer also zuerst einen spitzen Winkel der rhombischen Fläche trifft. Ist dies geschehen, so rollt sich in der Regel der Schnitt. Das weitere Rollen wird durch leichtes Andrücken des Schnittes an die Schneide mit einem feinsten Pinsel verhindert. Die Schnitte werden dann entweder direkt in Xylol zur Auflösung des Paraffins übertragen und können, falls das Objekt durchgefärbt war, sofort in Balsam eingeschlossen werden; anderenfalls wird das Xylol gewechselt. Darauf kommen die Schnitte in Alk. absolutus und können dann gefärbt werden. Oder die Schnitte werden — meistens — aufgeklebt (s. unten).

#### Schneiden mit quer gestelltem Messer<sup>2)</sup>.

Diese Methode dient vornehmlich zur Abkürzung der Technik bei Herstellung von Serien, kann aber zu diesem Zwecke nicht regelmässig verwendet werden. Die obere Fläche des Blockes wird, bevor das Objekt von dem quer eingespannten Messer getroffen wird, rechteckig zugeschnitten, so dass die beiden langen Seiten der rechteckigen Fläche genau parallel zur Messerschneide verlaufen. Die Technik dieser im gegebenen

1) Sind dem Mikrotom kleine Tischchen beigegeben, welche in der Mikrotomkammer fixiert werden, so werden diese über der Flamme erwärmt, so dass das Objekt durch Aufdrücken haftet. Die Blöcke sind oben mit einer ca. 1 mm dicken Paraffinschicht zu überziehen, welche in der Flamme vor dem Aufdrücken des Objektes fast bis zum Schmelzen erhitzt wird. Mit erhitzter Nadel oder Drahtstift fährt man alsdann noch über die vier Seitenflächen, so dass das herunterlaufende Paraffin die Basis des Blockes nach Erstarren vollends fest fixiert. — Es ist sehr wesentlich, dass die zwischen Objekt und Block gelegene Schicht von Paraffin nicht zu dick (zu hoch) ist, da das Objekt sonst beim Schneiden nachgibt. Es soll der Paraffinmantel stets mit grosser Basis aufsitzen.

2) Bei den Micheschen Mikrotomen muss in diesem Falle eine Umstellung des Objektklammerträgers vorgenommen werden, so dass die Klammer in der Mitte des Mikrotoms steht. Man stelle zuerst durch Druck am Hebel den Klammerträger möglichst hoch über die Drehscheibe, nehme dann die Klammer resp. das Tischchen ab und drehe den Klammerträger um 180 Grad um die senkrecht zur Mikrotomlängsachse stehende Achse. Dann wird die Klammer wieder eingesetzt und der Klammerträger bis zur Scheibe gesenkt.

Fälle ausgezeichneten und viele Zeit (durch Schneiden in Bandform infolge Zusammenklebens der Schnitte) ersparenden Methode kann nur durch direkte Unterweisung erlernt werden. Die Methode erlaubt bei richtiger Handhabung und Vorbereitung je nach der Anwendung von weichstem <sup>1)</sup> und härtestem Paraffin und je nach Zimmertemperatur Schnittdicken von 40  $\mu$  bis 2  $\mu$ .

### Missstände beim Schneiden und deren Beseitigung.

Jeder, der mit Paraffin gearbeitet hat, wird über manchen misslungenen Versuch zu berichten wissen.

1. Das Messer gleitet über das Objekt und trennt einen Schnitt entweder unvollkommen oder gar nicht.

Die Ursache hierfür kann zunächst im Mikrotom liegen. Die Bahn des Messerschlittens ist nicht sauber; man achte auch auf den vertikalen Teil der Schlittenbahn. Oder das Messer ist nicht scharf genug, oder ist an der Unterfläche mit Paraffin beschmutzt. In letzterem Falle wird der Messerschlitten herausgehoben, das Messer vorsichtig mit Terpentinöl und einem weichen Lappen gereinigt. Messer mit dünnem Rücken federn, wenn man den vordersten Teil der Schneide benutzt; so kommt es, dass bei schräger Messerstellung die Schneide nur im Anfange des Schnittes eingreift und über den letzten Teil des Präparates erfolglos weggleitet. Bei Mikrotomen älterer Konstruktion liegt der Grund oft in ungenügender Feststellung des Paraffinblockes.

Von grosser Bedeutung ist — besonders auch für das Gelingen feinsten Schnitte von 2  $\mu$  Dicke — die richtige Neigung des Messers. Sie kann schon durch Einlegen passender keilförmiger Metallplatten zwischen Messergriff und Messerschlitten günstig beeinflusst werden. Viel besser aber dienen hierzu entsprechend (z. B. von Jung und Schanze) gelieferte Messerträger.

In zweiter Linie ist die Ursache im Objekt zu suchen. Dasselbe ist vielleicht zu hart, oder sehr ungleichen Gefüges, oder schlecht eingebettet. In letzterem Falle liegen zwei Möglichkeiten vor. Entweder das Präparat war nicht gehörig entwässert, dann zeigt es undurchsichtige Flecken, oder es enthält noch Chloroform; in diesem Falle ist es weich, ein leichter Druck mit der Nadel auf die Oberfläche des Präparates ausgeübt, hinterlässt eine Delle oder presst gar Flüssigkeit aus. In beiden Fällen muss die Einbettungsprozedur in umgekehrter Reihenfolge bis zum absoluten Alkohol (in letzterem Falle bis zum Paraffinbade) wiederholt werden.

Endlich kann die Konsistenz des Paraffins und manches andere schuld sein.

2. Die Schnitte rollen sich.

Das kann verhindert werden, indem man einen Pinsel oder eine gebogene Nadel gegen den sich rollenden Schnitt hält. Der Grund des Rollens liegt in dem zu harten Paraffin, das auch schuld ist, wenn

3. die Schnitte bröckeln.

Die Brauchbarkeit des Paraffins ist in hohem Grade abhängig von der äusseren Temperatur. Ist das Paraffin zu hart, so suche man nicht

1) Es gibt gutes Paraffin bis zu 36° Schmelzpunkt.

sogleich durch Beimischung von weichem Paraffin eine passende Konsistenz herzustellen — das sei der letzte Ausweg —, sondern versuche zuvor einfachere Mittel. Man schneide in der Nähe des Ofens oder (bei Gasbeleuchtung) mit nahegerückter Lampe. Oft führt schon ein leichtes Erwärmen des Messers zum Ziele.

4. Die Schnitte falten sich und werden zusammengedrückt. Dadurch erhalten die geschnittenen Objekte eine falsche Form. Der Grund liegt in zu weichem Paraffin. Öfteres Einlegen des Blockes in kaltes Wasser, Schneiden im kalten Zimmer (im Sommer in den Morgenstunden) beseitigen diesen Übelstand.

#### Aufkleben der Schnitte.

Handelt es sich um Serien und sehr feine Schnitte, so müssen die trockenen Schnitte zuerst aufgeklebt werden. Die hier zu verwendenden Objektträger müssen ganz rein sein; man putze sie mit etwas Alkohol und einem sauberen, nicht fetten Tuche oder lege sie auf eine halbe Stunde in kaltes Seifenwasser. Auf den gut getrockneten Objektträger bringt man nun mit einem feinen Pinsel ein winziges, stecknadelkopfgrosses Tröpfchen Eiweiss-Glyzerin<sup>1)</sup> und verreibt dieses mit der sauberen Spitze des kleinen Fingers sorgfältig über eine dem zu benutzenden Deckglase an Ausdehnung entsprechende Fläche. Alsdann werden mehrere Tropfen Aq. destillata auf diese Fläche mit dem Glasstab übertragen. Auf die Wasserschicht werden die Schnitte entweder einzeln oder in Serien aufgelegt. Dann muss der ganze Objektträger vorsichtig, ohne dass das Paraffin schmilzt, so erwärmt werden (bis 5—10° unterhalb des Schmelzpunktes des Paraffins), dass die Schnitte sich vollends strecken. Die Erwärmung geschieht entweder hoch über einer Flamme, besser durch Auflegen des Objektträgers auf den entsprechend temperierten Trockenofen oder Einlegen in den Ofen oder mit Hilfe eines besonderen, in den Laboratorien zu habenden erwärmbaren Tischchens. Sind die Schnitte gestreckt, so wird das Wasser vom Rande her unter Neigung des Objektträgers abgesaugt und bei Serien die Reihenfolge noch einmal kontrolliert. Der Objektträger kommt dann für ca. 24 Stunden in den Trockenofen von ca. 35°. Waren die Objekte in toto gefärbt, so wird der Objektträger bis zur Lösung des Paraffins in Karbolxylol (5—10 Minuten) eingelegt und die Präparate können dann direkt in Balsam eingeschlossen werden. Sollen die Schnitte erst gefärbt werden, so wird der Objektträger aus dem Karbolxylol in Alkohol. absol. übertragen, der Alkohol rasch abgewischt<sup>2)</sup> und der Objektträger mit den Schnitten wie ein Schnitt zur Färbung etc. weiterbehandelt.

1) Hühnereiweiss und Glyzerin werden zu gleichen Teilen unter starkem Schütteln gemischt, und dann filtriert. Nach Hinzufügen einer Spur Thymol monatelang haltbar.

2) Das Abwischen sowohl des Karbolxylols, sowie des Alkohols muss rasch geschehen, die Schnitte dürfen dabei nicht eintrocknen, sonst sind sie unbrauchbar; auch beim Aufträufeln der Farbflüssigkeit ist darauf zu achten, dass diese wirklich die Schnitte bedeckt. Ein Ablösen der Schnitte kommt nur dann vor, wenn das Wasser nicht in genügender Menge — zwischen Schnitten und Objektträger muss das Wasser ganz ausgebreitet sein — zugesetzt war. Man kann auch auf Deckgläschen aufkleben, dadurch wird das Einlegen in Farbe, Alkohol etc. weniger kostspielig.

#### IV. Schneiden und Weiterbehandeln der Celloidinobjekte.

Der Celloidinblock wird aus dem Alkohol 70 % in absoluten Alkohol für 5 Minuten übertragen. Auf den Block von Holz oder Stabilit bringt man eine Schicht Celloidin von 8 %, taucht den Celloidinblock mit der aufzuklebenden Fläche 1 Minute in Alkohol-Äther (zu gleichen Teilen) und drückt ihn auf die Celloidinschicht auf. Das Ganze trocknet 5—10 Minuten unter einer Glasglocke und wird dann in Alkohol 70—80 % eine Minute oder länger eingelegt. Das Objekt soll auf dem Block nahezu aufsitzen, da es sonst beim Schneiden nachgibt. Geschnitten wird stets mit möglichst schief gestelltem, mit Alkohol von 70—80 % befeuchteten Messer. Die Schnitte werden mit einem Pinsel in einer Schale mit Alkohol von obiger Konzentration gesammelt. Stammen sie nicht von durchgefärbten Stücken — die zu empfehlen sind —, so können sie noch nachträglich gefärbt werden; doch sind Anilinfäben nicht anwendbar, da diese auch das Celloidin färben; selbst Hämatoxylin verleiht dem Celloidin oft einen leicht blauen Ton und soll deshalb nur in verdünnter Lösung angewendet werden. In absoluten Alkohol dürfen die Schnitte nicht gebracht werden, da dieses das Celloidin löst. Sie werden aus 96 %igem Alkohol in Karbolxylol aufgeheilt und in Xylolbalsam eingeschlossen.

Schnittserien von Celloidinobjekten kommen nur für ganz spezielle Zwecke, z. B. für das Zentralnervensystem in Betracht. In dieser Hinsicht seien die Artikel von Weigert<sup>1)</sup>, von Obregia<sup>2)</sup> und von Maximow<sup>3)</sup> bestens empfohlen.

Sehr gute Resultate liefert unter Umständen eine kombinierte Einbettung in Celloidin und Paraffin, die nur im Laboratorium erlernt werden kann.

---

1) Zeitschr. für wissenschaftliche Mikroskopie Band II. S. 490, Band III S. 480, Band IV S. 209. Der im letzten Artikel empfohlene Negativlack ist bei Dr. Grübler (Leipzig) zu haben.

2) Neurologisches Zentralblatt. Leipzig. Jahrg. 9. 1890, S. 195.

3) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. 26, 1909, S. 177.