



Separatabdruck aus M. Schultze's Archiv f. mikr. Anatomie Bd. II 1866.

Est. A



24214

## Ueber die Anwendung des Kreosots bei Anfertigung mikroskopischer Präparate.

Von

**Professor Dr. Ludwig Stieda** in Dorpat.

Bei Anfertigung von mikroskopischen Präparaten nach der Clarke'schen Methode werden die betreffenden Schnitte der Organe — gleichviel ob mit Carmin imbibirt oder nicht — zuerst durch absoluten Alkohol entwässert, dann durch Zusatz von Terpenthinöl durchsichtig gemacht und schliesslich mit Canadabalsam und einem Deckgläschen bedeckt. Man ist durch diese Methode in Stand gesetzt, sehr schöne Präparate besonders aus dem Nervensystem zu erhalten, aber ist dabei doch vielen Unbequemlichkeiten ausgesetzt. Zu diesen Unbequemlichkeiten rechne ich vor Allem die Nothwendigkeit, die Schnitte zuerst durch Alkohol entwässern zu müssen. Abgesehen von dem hierbei stattfindenden Zeitverlust kann man dabei niemals die Präparate oder Schnitte in der Reihenfolge, wie sie einem Organ, z. B. vom Gehirn, entnommen wurden, aufbewahren, weil sie beim Liegen in Alkohol natürlich durcheinander gerathen. Eine ganze Serie vieler genau auf einander folgender Schnitte ist aber oft äusserst wünschenswerth. Ferner ist jedem Mikroskopiker der Umstand bekannt, dass viele Präparate durch die Behandlung mit Terpenthinöl in sehr unangenehmer Weise einschrumpfen. Um einem Theil jener Unbequemlichkeiten zu entgehen, habe ich eine Zeit lang alle angefertigten Schnitte, ohne dieselben durch absoluten Alkohol entwässert zu haben, sofort mit Terpenthinöl behandelt. Auf diese Weise wurden die Schnitte auch

durchsichtig, aber es bedurfte dazu längerer Zeit, bei Präparaten, die in verdünntem Spiritus gelegen hatten, z. B. bei Stücken, welche in Chromsäure-Lösung erhärtet waren, ungefähr  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde, bei Präparaten, welche in Wasser gelegen hatten oder mit Carmin und anderen Reagentien behandelt worden waren, dauerte es oft 24 Stunden. Es ist diese Modification der Clarke'schen Methode meines Wissens zuerst von Reissner angewendet und auch beschrieben worden (Reichert's Archiv Jahrg. 1860).

Es müssen aber dabei die Präparate unter steter Aufsicht sein, weil das Terpenthinöl häufig erneuert werden muss. Bei dieser langsamen Einwirkung des Terpenthins schrumpfen aber viele Präparate in ganz unangenehmer Weise zusammen.

Kürzlich ist von Rindfleisch (Zur Histologie der Cestoden. Archiv für mikrosk. Anatomie, herausgegeben von M. Schultze I. Bd. pag. 138) als Ersatz für das Terpenthinöl zum Aufhellen mikroskopischer Präparate Nelkenöl empfohlen worden. Man braucht nach der Vorschrift von Rindfleisch die angefertigten Schnitte nicht 24 Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen, sondern es genügen schon etwa 3 Stunden. Rindfleisch betont, dass die Nachtheile der Lufttrocknung, welche die Behandlung mit Terpenthinöl mit sich führt, ebenfalls durch das Nelkenöl vermieden würden, weil man die sehr bald aufgehellten Präparate, mit Canadabalsam und einem Deckgläschen bedeckt, aufbewahren könne.

Die von Rindfleisch dem Nelkenöl zugeschriebenen Vortheile bei Anfertigung mikroskopischer Präparate, werden in noch viel höherem Grade erreicht durch Anwendung einer anderen Flüssigkeit, welche deshalb ganz besonders empfohlen zu werden verdient. Diese Flüssigkeit ist das Kreosot. Das Kreosot ist zuerst in Anwendung gezogen worden von Kutschin bei Untersuchungen, welche er über das Nervensystem der Neunauge anstellte (Ueber den Bau des Rückenmarks des Neunauges. Diss. inaug. Kasan 1863). Durch diese Dissertation habe ich das Kreosot kennen gelernt und seit der Zeit auch vielfach benutzt. In Deutschland scheint diese Dissertation und somit auch die Empfehlung des Kreosots ganz unbekannt geblieben zu sein.

Kutschin verfuhr folgendermassen: Er brachte die vorher mit Wasser abgespülten Schnitte auf ein Objectgläschen, entfernte das überflüssige Wasser durch Fliesspapier, fügte dann einen Tropfen Kreosot hinzu und beobachtete nun ein sehr schnelles Durchsichtig-

werden der Schnitte. Hatte er die Schnitte vorher in einer Mischung von Spiritus und Aether etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde liegen gelassen, so wurden dieselben ganz plötzlich durchsichtig. Kutschin bedeckte dann die durchsichtig gewordenen Schnitte mit einem Deckgläschen, auf dessen Rand er Damarrharz auftrug, um die Präparate so aufzubewahren. Kutschin hebt ganz besonders hervor, dass das Kreosot nicht allein für Präparate des Nervensystems, sondern auch für andere in Chromsäurelösung erhärtete Organe brauchbar sei.

Das Verfahren von Kutschin modificirte ich — nachdem ich seine Angaben bestätigt gefunden hatte — sehr bald dahin, dass ich die durchsichtig gewordenen Schnitte nicht sofort mit einem Deckgläschen bedeckte, sondern erst das überflüssige Kreosot abwischte, dann einen Tropfen Damarrharz oder Canadabalsam auf den Schnitt brachte und nun erst mit einem Deckgläschen bedeckte. Ich vermied dabei die Anwendung des absoluten Alkohols, konnte von einem Organ eine Reihe von Schnitten gerade in der Reihenfolge, wie sie dem Organe entnommen waren, auf Objectgläschen bringen und sofort aufhellen; ich brauchte nicht, wie beim Terpenthinöl, von Zeit zu Zeit einen neuen Tropfen hinzuzusetzen, ich vermied das durch das längere Stehen an der Luft bedingte unangenehme Schrumpfen der Schnitte. Bei Schnitten, welche in Wasser gelegen hatten und deshalb etwas längere Zeit, d. h. einige Minuten, zum Durchsichtigwerden bedurften, fand ich es zweckmässig, den Schnitt sofort mit einem Deckgläschen zu bedecken, womit jeder Schrumpfung sicher vorgebeugt werden kann.

Als ich durch die Mittheilungen von Rindfleisch das Nelkenöl als Ersatz für Terpenthinöl kennen gelernt hatte, machte ich sofort eine Reihe von Versuchen mit Nelkenöl, in Folge derer ich die Angaben von Rindfleisch durchaus bestätigen kann. Ich dehnte aber auch die Anwendung des Nelkenöls sehr bald dahin aus, dass ich dasselbe, wie ich beim Gebrauch des Kreosots gewohnt war, direct auf wässrige Präparate applicirte. Auch mit Nelkenöl erzielte ich einen Erfolg, die Präparate wurden ebenfalls durchsichtig, doch lange nicht so schnell, wie nach Anwendung von Kreosot. Während beim Gebrauch des Kreosots nur einige Minuten bis zum Durchsichtigwerden vergingen, dauerte bei Benutzung von Nelkenöl das Aufhellen viel länger, mindestens  $\frac{1}{2}$  Stunde, oft eine Stunde und mehr. Dabei war ein Schrumpfen einiger Präparate nicht zu vermeiden.

Obleich ich nun im Nelkenöl und im Kreosot zwei Flüssigkeiten kannte, welche die Benutzung des Terpenthinöls völlig entbehrlieh machten, und ich kaum erwarten durfte, irgend eine andere Flüssigkeit aufzufinden, welche noch besondere Vorzüge auch vor dem Kreosot besitzen sollte, so unternahm ich dennoch die Prüfung einer grossen Reihe ätherischer Oele in Rücksicht auf ihre Fähigkeit, Präparate zu mikroskopischen Untersuchungen aufzuhellen. Die Herren Collegen Buchheim und Dragendorf hatten die Freundlichkeit, mir aus ihren Sammlungen eine grosse Menge von verschiedenen Oelen zum Zwecke dieser Untersuchung zu Gebote zu stellen.

Ich prüfte die Oele in folgender Weise: Von einem in Chromsäurelösung gleichmässig erhärteten Organe fertigte ich eine Anzahl feiner Schnitte, einen Theil der Schnitte brachte ich in absoluten Alkohol, den anderen Theil in Wasser. Die aus dem Wasser oder aus dem Alkohol entnommenen Schnitte übertrug ich nun auf verschiedene Objectgläschen und beobachtete nun nach der Uhr, wieviel Zeit bis zum Durchsichtigwerden der Präparate je nach Zusatz der verschiedenen Oele verging.

Es stellte sich als Resultat dieser Untersuchung heraus, dass die geprüften Oele, deren Aufzählung unten folgt, sich in zwei Gruppen sondern liessen. Die Oele der ersten Gruppe wirkten alle wie Terpenthinöl, d. h. sie hellten die durch absoluten Alkohol entwässerten Präparate in kurzer Zeit, oft schon nach einigen Minuten, auf; auf wässrige Schnitte dagegen übten sie entweder erst nach stundenlanger Einwirkung ihren aufhellenden Einfluss aus oder liessen die Präparate ganz unverändert.

Von den zu dieser ersten Gruppe gehörigen Oelen nenne ich:

- Ol. Terebinthinae,
- Ol. Absynthii,
- Ol. Balsam. Copaivae,
- Ol. Cortic. Aurantiorum,
- Ol. Cubeborum,
- Ol. Foeniculi,
- Ol. Millefolii florum,
- Ol. Sassafras,
- Ol. Iuniperi,
- Ol. Menthae crispae,
- Ol. Origani vulgaris,
- Ol. Lavandulae,

Ol. Cumini,

Ol. Cajeputi,

Ol. Cascarillae cortic.,

Ol. Sabinæ,

Ol. Citri.

Man wird demnach keinen Grund haben, die aufgezählten Oele, welche ihrer chemischen Constitution nach dem Terpenthinöl in einzelnen Bestandtheilen oder auch ganz isomer sind, zu verwenden.

Die andere Gruppe der ätherischen Oele wirkt wie Nelkenöl, d. h. hellt Präparate, welche in Spiritus gelegen haben, recht schnell, wässrige Präparate dagegen etwas langsamer mit nicht zu vermeidender Schrumpfung auf. Zu dieser Gruppe gehörig erwiesen sich:

Ol.  $\frac{1}{2}$  Gaultheriæ,

Ol. Cassiæ,

Ol. Cinnamomi,

Ol. Anisi stellati,

Ol. Bergamotti,

Ol. Cardamomi,

Ol. Coriandri,

Ol. Carvi,

Ol. Roris marini.

Diese genannten Oele, welche meist Verbindungen von Säuren oder Aetherarten organischer Säuren oder Aldehyde oder aldehydartiger Körper sind, dürften demnach in gleicher Weise, wie Nelkenöl, eine Verwendung finden.

Die Fragen, wie diese Oele wirken, welche chemischen Vorgänge statthaben, warum die Oele der zweiten Gruppe einen Vorzug vor den Oelen der ersten Gruppe haben, vermag ich hier nicht zu beantworten; ich begnüge mich damit, die Thatsachen hinzustellen.

Da ich der Ansicht bin, dass das Kreosot alle anderen bisher angewendeten Hilfsmittel zum Aufhellen — immer in Hinsicht auf die spätere »Einschliessung« der Präparate — überflüssig macht und sehr bald die verdiente Verbreitung finden wird, so gebe ich zum Schluss eine Beschreibung der auf diese Weise modificirten Clarke'schen Methode.

Man bringe die angefertigten Schnitte, wenn diese einem schön in Carmin gefärbten Organe entnommen sind oder gar nicht einer Färbung mit Carmin bedürfen, sofort auf einen Objectträger, entferne das Wasser oder den Spiritus durch Fliesspapier, oder wische

dasselbe einfach mit einem zarten Tuch fort und setze dann einen Tropfen Kreosot zu jedem Präparat. Bedürfen die gemachten Schnitte erst eine Behandlung mit Carmin oder Essigsäure oder mit beiden Reagentien, so lasse man ihnen diese zu Theil werden, spüle die Schnitte gehörig mit Wasser ab, bringe sie dann auf den Objectträger und setze nach Entfernung des Wassers Kreosot hinzu. — Sobald früher oder später das Präparat durchsichtig geworden, so wische man das überflüssige Kreosot fort, bringe einen Tropfen in Terpenthinöl gelöstes Damarrharz oder Canadabalsam darauf und bedecke dasselbe mit einem Deckgläschen.

Ich füge zu diesem Beitrag zur mikroskopischen Technik noch eine kleine Notiz, welche vielleicht dem einen oder anderen Mikroskopiker benutzbar erscheint.

Um Präparate, welche in Glycerin oder auch anderen Flüssigkeiten feucht aufbewahrt werden sollen, einzuschliessen, benutzt man bekanntlich verschiedene sog. Kitte (Frey, das Mikroskop und die mikroskopische Technik. Zweite Auflage. Leipz. 1865. pag. 124—129). Ziemlich verbreitet ist der sog. Ziegler'sche weisse Kitt, der durch Apotheker Meyer in Frankfurt am Main am besten zu beziehen ist. Ich benutze nun schon seit einigen Jahren einen Kitt, welcher dem Ziegler'schen ganz gleich aussieht und den Ziegler'schen Kitt, dessen Bereitung ich nicht kenne, vollständig ersetzt. — Diesen Kitt kann man sich selbst bereiten oder beim Apotheker bereiten lassen nach folgender Vorschrift, welche durch verschiedene Versuche sich, als die bequemste herausgestellt hat:

Man verreise Zinkoxyd mit der entsprechenden Menge Terpenthinöl und setze unter stetem Verreiben zu je einer Drachme des Zinkoxyds eine Unze einer syrupsdicken Lösung von Damarrharz in Terpenthinöl. Man erhält dadurch einen weissen, dem Ziegler'schen ganz gleichen Kitt. Wünscht man eine andere Farbe, so kann man statt des Zinks Zinnober nehmen und erhält dann einen schönen rothen Kitt, nur nehme man  $\text{ʒii}$  auf  $\text{ʒi}$ .

Ist der weisse oder rothe Kitt durch längeres Stehen ein wenig erstarrt, so kann man ihn durch Terpenthinöl, Aether oder Chloroform in beliebiger Weise ganz nach Wunsch flüssig machen, um ihn sofort zu verwenden.

Dorpat, den 27. Sept. (9. Octbr.).