

Das Gefrieren wird am einfachsten mit Eis-Viehsalzmischung im Verhältnis 4:1 in einem Faß vorgenommen, das in einer temperaturisolierenden Torfmullkiste steht. 24 Stunden genügen als Gefrierzeit.

Literaturverzeichnis.

Froriep, A., Anat. Anz. **19** (1901). — *His, W.*, Arch. f. Anat. **1892**, 231—256. — *Kallert, E.*, Z. Fleisch- u. Milcherzeug. **33**, 41—45 u. 51—52 (1923); **34**, H. 22, 265 bis 269 (1924). — *Kockel*, Die gerichtliche Sektion. Abderhaldens Handbuch, Abt. IV, 12. — *Krajewski*, Preisarbeit für Ausschreiben der Pariser Gesellschaft polnischer Ärzte. Ref. in Henkels Z. **81**, 369 (1861). — *Meixner, K.*, Münch. med. Wschr. **78**, H. 41, 1750—1753 (1931). — *Perusini, A.*, Fol. neurobiol. **6**, 465—488 (1912). — *Plank, Ehrenbaum, Reuter*, Abh. Volksernährg **1915**, 1—24. Verlag d. Zentr.-Einkaufsges. Berlin. — *Plank, R.*, u. *E. Kallert*, Abh. Volksernährg **1916** H. 6; herausgegeben von der Zentr.-Einkaufsges. — *Plank, R.*, Z. allg. Physiol. **17**, H. 3 (1916). — *Reuter, F.*, Z. gerichtl. Med. **9**, 565—579 (1927). — *Reuter, K.*, Abh. Volksernährg **1916**, H. 5; herausgegeben von der Zentr.-Einkaufsges. Berlin — Z. angew. Anat. **2**, 297—328 (1917) — Z. gerichtl. Med. **1**, 330—345 (1922). — *Symington, J.*, J. of Anat. **37**, A. II, 97—106 (1903). — *Walcher, K.*, Ärztl. Sachverst.ztg **31**, Nr 19, 255—259 (1925) — Virchows Arch. **268**, 17—180 (1928). [f.]

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Berlin.
Direktor: Prof. Dr. Müller-Hess.)

Eine neue histologische Schnellfärbung.

Von

Dr. Gerhart Panning.

Verfahren zur Schnellfärbung histologischer Schnitte dürften im allgemeinen in der Gerichtlichen Medizin bislang ziemlich wenig angewendet worden sein. In der Tat hat die Schnelluntersuchung im Rahmen der gerichtlichen Obduktion nur allenfalls für bestimmte Sonderfragen, Fettembolie, aspiriertes Material in den Luftwegen und ähnliches, eine gewisse Bedeutung. Im wesentlichen aber wird in diesem Zusammenhange das Bedürfnis mikroskopischer Untersuchungen einhergehen mit der Notwendigkeit eines begründeten Gutachtens, so daß dann kein Grund besteht, auf die altbewährten histologischen Dauerfärbungen zu verzichten.

Die Ausbreitung der gerichtsärztlichen Tätigkeit auf eine immer weiter zu vergrößernde Zahl beschlagnahmefreier Leichen im Sinne der Verwaltungssektion dürfte es aber vielfach wünschenswert machen, daß man mit Hilfe einiger mikroskopischer Schnellschnitte differentialdiagnostische Erwägungen im unmittelbaren Anschluß an die Sektion zur Entscheidung bringt. Man wird dadurch weiterhin die mikro-

skopische Kontrolle der bei der Sektion erhobenen Befunde in wünschenswertem Maße erweitern können, ohne die aufgewendete Arbeit über das Mögliche hinaus zu steigern. Insonderheit wird es auch der Heranbildung des Nachwuchses zugute kommen, wenn jeweils in aller Kürze das mikroskopische Bild der Kenntnisnahme des Sektionsbefundes folgt. Auch ist auf den hohen Nutzen hinzuweisen, den man aus Schnelluntersuchungen für die statistische Erfassung von Einzelgesichtspunkten an einem großen Material ziehen kann. Als technische Sondermöglichkeit soll noch erwähnt werden, daß man sich die Mühe-waltung des Serienschneidens vielfach dadurch wesentlich verringern kann, daß man laufend oder stichprobenweise die anfallenden Schnitte einer Schnellfärbung unterwirft, um die gewünschte Ebene für die Herstellung geeigneter Dauerpräparate herauszufinden.

Methoden der Schnellfärbung von Gewebsschnitten sind in verschiedener Form seit Jahren bekannt. Das Bedürfnis nach einer Abkürzung des histologischen Untersuchungsverfahrens ging von der Notwendigkeit zur raschen Diagnostik an Operations- bzw. Probeexcisionsmaterial hervor, so daß die in Betracht kommenden Methoden teils von Klinikern, teils von pathologischen Anatomen ausgearbeitet sind. Wir wollen uns beschränken auf die Erwähnung der am Gefrierschnitt vorgenommenen Schnellfärbungen, da sie allein die hier in Betracht kommende Schnelligkeit der Bearbeitung ermöglichen. Es sei erwähnt, daß von pathologisch-anatomischer Seite auch Paraffin- und Gelatine-schnelleinbettungsmethoden angegeben worden sind (*Henke, Zeller* u. a.).

Die Schnellfärbemethoden am Gefrierschnitt gehen im allgemeinen gleichmäßig von der Abkürzung geläufiger Färbungen aus. Entweder werden einzelne Arbeitsgänge eingespart, also z. B. nur eine Kernfärbung vorgenommen, wie es vielenorts laboratoriumsüblich ist (u. a. *Hoffheinz*). Andere legen mehrere Arbeitsgänge durch Mischung der sonst nacheinander anzuwendenden Farblösungen zusammen (*Läwen* u. a.). Auch hat man sich bemüht, die vorausgehende Fixierung des Materials vor dem Schnitt abzukürzen, was man früher durch Kochen in Wasser erzielte, später (*Walz, Wright, Läwen* u. a.) durch Kochen in Formalin für 1—2 Minuten oder (*Schmorl*) durch Einbringen dünner Gewebsscheiben für 30—45 Minuten in Formalin bei Brutschranktemperatur. Eine besonders originelle Methode zur Abkürzung der Gewebsfixierung für den Schnitt hat *Schultz-Brauns* angegeben, der mit tief gekühltem Messer das ohne Fixierung gefrorene Objekt auf dem Gefriermikrotom schneidet. Ursprünglich von Versuchen zur Mikrotopochemie der Gewebe ausgegangen, welche die Einwirkung von Fixierungsflüssigkeiten verboten, hat *Schultz-Brauns* späterhin seine Methode auch für den diagnostischen Schnellschnitt empfohlen (so auch *Vohwinkel*) und eine besondere Apparatur zur Kühlung des Messers

angegeben. Eigene Versuche, allerdings ohne die Zusatzapparatur, mit Kühlung des Messers in der ursprünglich von *Schultz-Brauns* geübten Art mit Zuleitung von Kohlensäure auf das Messer von einer zweiten Bombe aus, haben uns belehrt, daß dieses Verfahren aber doch für allgemeine Verwendung zu mühsam und schwierig sein dürfte.

Eine Kombination schneller Einbettung mit Schnitt in unfixiertem Zustand bietet die *Wilson*sche Methode, auch empfohlen von *Hellwig*: Einschluß dünner Gewebsscheiben in Dextrinmelasse, anschließender Gefrierschnitt und nachfolgende Färbung mit polychromem Methylenblau nach *Unna*. Wir haben dies Verfahren im Zuge der Ausarbeitung der vorzutragenden Methode insoweit nachgeprüft, als wir in ausgedehnten Versuchsreihen unfixiertes Material der Färbung mit den verschiedenen von uns verwendeten Methylenblausorten unterwarfen und befriedigende Resultate nicht erzielten. Ähnlich ungünstige Ergebnisse hatte *Hoffheinz*. Lästig erscheint insbesondere an der *Wilson*schen Methode, daß nach der Färbung des Schnittes auf dem Objektträger noch abgespült und dann mit Glukoselösung eingedeckt werden muß, so daß die Dauer der Herstellung des einzelnen Schnittes mit 2—3 Minuten doch als recht gering veranschlagt erscheint.

Ganz neue Wege ging *Terry*. Er stellt aus formalinfixiertem Material — evtl. Kochfixierung — mit dem Rasiermesser dünne Gewebsscheiben her, die mit angesäuertem polychromem Methylenblau im Trog gefärbt oder auch gepinselt und dann ohne Eindecken im schräg auffallendem Licht in feuchtem Zustande mikroskopiert werden. *Carty* und *Carpenter* haben diese Methode auch auf unfixiertes Material angewendet. Ich habe mich selbst bei *Christeller*, und zwar in *Terrys* eigenen Händen, von der Nützlichkeit der Methode überzeugen können, jedoch schon damals und später in eigenen Versuchen gefunden, daß ihrer allgemeinen Einführung die Notwendigkeit einer besonderen Beleuchtungsapparatur und die zunächst nicht mühelose Beurteilung der erzielten mikroskopischen Bilder im Wege steht.

Bei der hier vorzutragenden Methode der Schnellfärbung mit Methylenblau-Glyceringemischen greift die Zusammenlegung von Arbeitsgängen über den Färbeprozess hinaus. Bei allen vorerwähnten Verfahren, außer dem von *Terry*, war es notwendig, den Schnitt nach erfolgter Färbung und allenfalls Differenzierung noch aufzuhellen, d. h. soweit nicht Glycerin, Glucose oder Lävulose (*Michaelis*, *Wedl*) als Eindeckungsmedium gewählt wurde, zu entwässern, durch Xylol zu bringen und mit einem Balsam einzudecken. Unser Verfahren stellt sich demgegenüber, ausgehend von Gefrierschnitten aus hitzefixiertem Material, als Eindeckung der Schnitte mit einer Mischung von Farbstoff und Eindeckungsmedium dar; das letztere — Glycerin — ist so gewählt, daß es zugleich geeignet ist, die Aufhellung des Schnittes zu

bewirken. Es handelt sich demnach um eine Aufgußfärbung an dem auf den Objektträger aufgezogenen Schnitt, indem er mit der Färbeflüssigkeit selbst eingedeckt wird.

Die Auswahl des Methylenblau als Farbstoff geht, unabhängig von *Terry* und *Wilson*, von Anregungen meines verehrten früheren Lehrers *Beneke* aus. Der besondere Nutzen des Methylenblau und verwandter Farbstoffe liegt in einem metachromatischen Färbungseffekt, der das mikroskopische Bild in erwünschter Weise differenziert und belebt. *Beneke* pflegte in geeigneten Fällen die histologische Diagnostik so durchzuführen, daß er einen Gefrierschnitt mit alkalischer *Löffler*-scher Methylenblaulösung unter jeweiliger Verdünnung der Lösung mit etwas Wasser auf dem Schnitt eindeckte. Die Beobachtung ergab nun, daß der unten näher zu besprechende metachromatische Effekt je nach der Beschaffenheit, und zwar, wie vorweg genommen werden soll, nach dem Alter der alkalischen Lösung schwankte, daß nämlich die Lösungen durch Alterung „rotstichig“ und besonders stark metachromatisch wirksam wurden. Das in *Benekes* Hand überaus nützliche Verfahren bedurfte nun freilich großer Übung im Treffen der geeigneten Mischung und besonderer diagnostischer Erfahrung. Hier erschien es als Bedürfnis für die allgemeine Anwendung, daß man einerseits einen gleichbleibenden Verdünnungsgrad wählte und andererseits für eine Aufhellung der Schnitte sorgte. Das geschah zweckmäßig durch eine Verdünnung der Methylenblaulösung mit Glycerin, nachdem Versuche mit der aus anderen Gründen besonders schätzenswerten Lävulose an schlechter Haltbarkeit der Lösungen (Niederschlagsbildung) gescheitert waren.

Die Metachromasie, von *Ehrlich* so genannt, trifft für eine ganze Reihe von Farbstoffen zu, am allgemeinsten und am längsten bekannt für das Jod, ferner in allgemeiner Benutzung für die Amyloidfärbungen mit Gentianaviolett und verwandten Farbstoffen. Systematisch sind als metachromatische Farbstoffe erkannt: 1. die basischen Triphenylmethan-Farbstoffe, die eine oder mehrere methylierte Aminogruppen haben, so *Dahlia*, Methylviolett = Krystallviolett (im unreinen Zustande — Gentianaviolett), ferner Methylgrün. 2. Die basischen Thiazine, deren Aminogruppen gar nicht oder unvollständig methyliert sind, Thionin, Toluidinblau, Methylenazur. 3. Die Oxazine mit nicht oder unvollständig methylierten Aminogruppen: Oxonin, Kresylviolett; ferner außerhalb des Systemes Neutralrot und Safranin (*Michaelis*). Methylenblau, ein vollständig methyliertes Tetramethylthioninchlorid, ist als solches nicht metachromatisch. Es gewinnt vielmehr seine Metachromasie durch teilweise Umwandlung in Methylenviolett und Methylenazur. Diese Umwandlung kommt in alkalischer Lösung zustande, und zwar entwickelt sie sich ganz allmählich z. B. in der alkalischen *Löffler*-

sehen Lösung, die im Verlauf dieser Umwandlung zunehmend rotstichig wird und sich am Flaschenglas rötlich absetzt. Eine systematische Durchprüfung des Methylenblau in seinen weit verschiedenen Fabrikationsarten und in Alkalisierung mit den verschiedenen Alkalien sowie die Prüfung anderer metachromatischer Farbstoffe hat nun die weitest aus besten Färbungseffekte für histologische Zwecke erkennen lassen, einmal für Methylenazur (das sogenannte Azur I von *Giemsa*), welches ich durch die Firma Dr. Karl Hollborn in reichlichen Versuchsmengen zur Verfügung hatte, ferner für die polychrome Methylenblaulösung nach *Unna*, die ich als Handelsware von der gleichen Firma bezog. Im praktischen Gebrauch durch mehr als 6 Jahre habe ich ausschließlich die polychrome Methylenblaulösung nach *Unna* als Ausgangsmaterial der Färbungsflüssigkeit in Mischung mit Glycerin im Verhältnis 1:4 oder 1:5 benutzt und bewährt befunden. Dabei sind über Hunderte von Objekten ausgedehnte Reihenvergleiche zwischen Methylenblaufärbung und geläufigen Dauerfärbungen an Material der verschiedensten Herkunft ausgeführt worden, bei denen diagnostische Differenzen niemals auftraten.

Kurz ist hier noch einzugehen auf die Frage, welche Objekte vom polychromen Methylenblau im metachromatischen Ton, rötlich bis violett, gefärbt werden, also nach der *Ehrlich'schen* Bezeichnung chromotrop sind. Das trifft besonders zu für den Knorpel, gewisse Formen des Bindegewebes, nämlich insbesondere dichtes, kernarmes Bindegewebe der Sehnen und alter Narbenmassen, ferner für die Körner der Mastzellen, den Schleim, dann in gewissem Maße, wenn auch nicht ganz konstant, für Hyalin und Amyloid und schließlich in ganz besonders wertvoller Weise regelmäßig für die Markscheiden.

Auf die Frage nach der Grundlage der Chromotropie kann im gegebenen Rahmen nicht eingegangen werden. Immerhin sei auf das Ergebnis eigener ausgedehnter Reihenversuche hingewiesen, die einerseits auf Alkohollöslichkeit des die Chromotropie bedingenden Prinzips hinwiesen, andererseits in Parallelschnitten mit Sudan III-Färbung vor allem in Bindegewebe, Knorpel, Hyalin und Markscheiden eine gewisse Übereinstimmung chromotroper und mit Sudan anfärbbarer Gewebsteile erkennen ließen.

Betont sei, daß abgesehen von der Empfindlichkeit der Chromotropie gegen längere Alkoholbehandlung andererseits auch die metachromatische Kraft der Farbstoffe durch Alkohol im Lösungsmittel geschwächt wird. Auch Glycerin setzt die Metachromasie in allerdings geringerem Maße herab, während z. B. Lävulose sie ganz unbeeinträchtigt läßt. Dennoch mußten wir praktisch Glycerin als Verdünnungsmittel wählen, da Lävulose zu Niederschlagsbildungen in der Farblösung führte. — Weiter soll an dieser Stelle noch erwähnt werden, daß der Grad des

metachromatischen Färbungseffektes noch abhängt von der für die mikroskopische Untersuchung benutzten Lichtquelle. Wie schon von *Rosin* und von *Michaelis* hervorgehoben, tritt dieses Phänomen in voller Deutlichkeit nur bei Benutzung einer nicht allzu gelbarmen Lichtquelle, also bei künstlichem Licht, hervor.

Die oben geschehene Aufzählung ergibt, daß man mit unserem Verfahren nicht etwa eine streng spezifische Färbung aller oder der meisten Gewebsarten herbeiführen kann. So färbt sich das Bindegewebe, wie oben gesagt, nicht gleichmäßig, sondern je nach seiner Art verschieden, entweder rötlich oder in blassem bläulichem Ton. Es ergibt sich dabei eine gewisse Beziehung der chromotropen bindegewebigen Teile mit den in der *van Gieson*-Färbung mehr gelblich ausfallenden Elementen, jedoch keineswegs eine vollständige Übereinstimmung. Die Wechselfarbbarkeit der Schnitte hat aber immerhin den großen Vorteil, daß das mikroskopische Bild übersichtlich und belebt erscheint und der diagnostischen Betrachtung wesentlich mehr entgegenkommt als ein mehr oder minder gleichmäßig gefärbter Schnitt, z. B. bei bloßer Kernfärbung mit Hämatoxylin.

Einen besonderen Vorzug unseres Verfahrens möchten wir noch darin sehen, daß diese Aufgußfärbung wegen Vermeidung von Alkohol und Säure alle diagnostisch wichtigen Fremdstoffablagerungen innerhalb des Gewebes, also Fett, Kalk und Eisen, unangetastet läßt, so daß man sie unter Einschaltung weiterer Färbeverfahren ohne Heranziehung von Parallelschnitten erfassen kann.

Insbesondere ergibt sich hinsichtlich der Fettablagerungen die Möglichkeit, durch einen schnellen Arbeitsgang eine klare und distinkte Fettdarstellung mit der Gewebsschnellfärbung zu vereinigen, indem man mit Sudan III vorfärbt. Systematische Versuche haben ergeben, daß man diese Vorfärbung sehr wesentlich unter die üblichen Zeiten verkürzen kann. Es ist für unsere Zwecke durchaus nicht notwendig, 30 Minuten und länger zu färben. Es bedarf auch nicht zur Entfernung von Sudankristallen einer nachgängigen Differenzierung mit Alkohol, wie sie *Herxheimer* vorschrieb. Wie haben uns vielmehr, wie *Bernhard Fischer*, überzeugt, daß man vorhandene Niederschläge mit der Differenzierung nicht entfernen kann und andererseits durch unvermitteltes Heranbringen wäßriger Lösungen keine Niederschläge im Schnitt erzeugt. Versuche, zu einer stärker wirksamen Fettfarblösung zu gelangen, sind gescheitert. Wir haben weder von der *Herxheimerschen* alkalisch-alkoholischen Scharlachlösung und seinem Aceton-Alkohol-Sudan noch von der Auflösung von Scharlach nach *Gross* in Propylalkohol oder Diazetin besondere Vorteile gesehen. Die *Herxheimerschen* Lösungen fanden wir mit *Traina* und *Fischer* besonders zu Niederschlägen geneigt. Phenolzusatz zu einer 70% alkoholischen Sudan-

lösung nach *Eisenberg* brachte deutlich kräftigere Farbtöne nicht hervor. Die Modifikation der Sudanfärbung nach *Froboese* und *Spröhle* konnte für uns keine Bedeutung haben, da sie auf eine Verkürzung der Zeit nicht ausgeht. Wir haben aber gleichfalls den Eindruck gehabt, daß man durch Wasserzusatz zur Lösung kurz vor der Färbung eine reichere Erfassung der Fettbestände erlangt. Auch von der *Romeisschen* Modifikation der Sudanfärbung, Anwendung von heißgesättigter Sudanlösung in 40proz. Alkohol, konnten wir keinen Gebrauch machen, weil sie im Gegenteil eine auf 24 Stunden verlängerte Färbung bedingt. Die Bedenken aber, daß der 70proz. Alkohol der gewöhnlichen Sudanlösung fettlösend wirken könnte (so auch *Kaufmann* und *Lehmann, Escher*), haben für die histopathologische Diagnostik keine ausschlaggebende Bedeutung. Besonderer Erwähnung bedarf aus den *Romeischen* Feststellungen die von ihm erkannte Zusammensetzung des Sudan III aus drei trennbaren Komponenten: gelb, rot und orange. Wir haben nämlich bei starker Abkürzung der Sudanfärbung auf 10 bis 30 bis 60 Sekunden ganz überwiegend eine Darstellung des Fettes in gelblichen Farbtönen erhalten, die wahrscheinlich mit vorherrschender Wirkung des Sudangelb zu erklären ist.

Praktisch hat sich in erster Linie die gewöhnliche, seit *Daddi* übliche alkoholische Sudanlösung bewährt, nach *Bernhard Fischer* mit 70proz. kochendem Alkohol hergestellt. Es ist für unsere Zwecke einwandfrei ausreichend, mit dieser Lösung 1—2 Minuten lang zu färben, um zu einer, wenn auch nicht leuchtend roten, so doch distinkten und vollständigen Fettfärbung zu gelangen. Interessanterweise ist übrigens von seiten der Botaniker, wie ich seither erfuhr, Sudan- und Methylenblaufärbung für fetthaltige Pflanzenteile schon vor längerer Zeit kombiniert worden (*Meyer, Schneider*).

Zur parallelen Erfassung von Eisenablagerungen in unseren Schnellschnitten eignet sich vorzugsweise das *Quinkesche* Schwefel-Ammonium-Verfahren. Man erzielt hier mit einer Einwirkung konzentrierter Schwefelammoniumlösung für 30—60 Sekunden eine vollständige Erfassung aller als Schwefeleisen darstellbaren Gewebseinlagerungen. Es ist nicht nötig, wie *Nishimura* u. a. vorschrieben, eine Stunde zu färben. Vielmehr kommt es, was schon *Quincke* selbst betonte, darauf an, nach der Reaktion nicht allzu lange in Wasser zu spülen, sondern den Schnitt nur eben kurz durch destilliertes Wasser zu schwenken. Sonst tritt durch oxydative Prozesse eine Entfärbung der gebildeten Schwefeleisenkörnchen ein. Als Aufgußfarblösung für die Eisenpräparate ist das Methylenblau nicht immer geeignet, da der blaue Farbton kleinste Schwefeleisenkörnchen überdecken kann. Wir haben dann mit Vorteil Neutralrot in Form einer konzentrierten, wäßrigen Lösung im Verhältnis von 1:2 mit Glycerin gemischt angewendet. Gegenüber der dadurch

herbeigeführten mattroten Gewebs- und Kernfärbung heben sich die Eisenkörnchen ausgezeichnet ab, ähnlich gut wie gegen Carmin.

Selbstverständlich kann man auch, wie das für die Dauerfärbung von *Sehr* und *Lubarsch-Wolff* empfohlen worden ist, die Fettfärbung mit der Eisenreaktion und der Gewebsfärbung verbinden, indem man zunächst etwa 1—2 Minuten mit Sudan III färbt, dann den kurz in destilliertem Wasser abgespülten Schnitt in konzentriertes Schwefelammonium überträgt und nach kurzem Abschwenken in destilliertem Wasser auf einen Objektträger aufzieht, um ihn dann mit dem im Verhältnis 1:5 hergestellten Methylenblau-Glyceringemisch einzudecken. Man erzielt eine klare Darstellung der Eisenpartikel und der Fettablagerungen sowie des Gewebes, ein Verhalten, das z. B. besonders nützlich wird bei der Untersuchung der Leber bei perniziöser Anämie, bei Herzfehler-Lunge oder älteren Hirnblutungsherden.

Hervorzuheben ist noch, daß die doppeltbrechenden Fettstoffe in den nur kurz mit Sudan gefärbten Objekten bestens erhalten bleiben und gegebenenfalls mit Polarisierungseinrichtung im Schnitt studiert werden können. Kalk charakterisiert sich gleichfalls, und zwar als ungefärbte Masse, optisch deutlich in den gefärbten Schnitten.

Praktisch hat es sich auf die Dauer herausgestellt, daß den Anforderungen der täglichen Diagnostik am besten entsprochen werden kann mit der Kombination der Sudan-Schnellfärbung und der Methylenblau-Aufgußfarbe. Wir haben sie seit Jahren an Stelle der alleinigen Methylenblaufärbung im ständigen Gebrauch. Die hinsichtlich der einzelnen Gesichtspunkte in den obigen Ausführungen besprochene Methode soll hier noch einmal zusammenfassend dargestellt werden:

Es werden von formalinfixierten Gewebsblöcken, im Eilfall nach Fixierung im kochenden Formalin, Gefrierschnitte von 10—15 μ Dicke hergestellt. Die Schnitte werden dann in heiß gesättigter 70proz. alkoholischer Sudanlösung etwa 1 Minute lang gefärbt, wobei man mit Rücksicht auf die kurze Färbedauer Faltenbildungen völlig vermeiden muß. Dann erfolgt ganz kurzes Abspülen in Wasser und Aufziehen des Schnittes. Der Objektträger wird um den Schnitt herum sorgfältig trocken gewischt und die Aufgußfarbe, polychromes Methylenblau mit säurefreiem Glycerin im Verhältnis von 1:4 oder 1:5, mit einer Tropfpipette gleichmäßig auf dem Schnitt verteilt. Nach etwa 10—30 Sek. wird das Deckglas aufgelegt und der Überschuß an Farblösung mit Fließpapier abgesaugt, bis neben dem Schnitt nur noch eine dünne, ganz blaßbläuliche Schicht sichtbar ist. Für die Betrachtung der Schnitte ist zu betonen, daß die Metachromasie bekanntermaßen am besten hervortritt, wenn man sich — wie ohnehin ratsam — einer künstlichen, nicht allzu gelbarmen Lichtquelle bedient.

Die Färbungseffekte an den einzelnen Gewebsarten, die bei Gelegenheit des der Veröffentlichung zugrunde liegenden Vortrages durch aufgestellte Präparate belegt wurden, sind oben im Grundsatz schon besprochen. Hier soll im besonderen noch einmal auf die metachromatische Färbung der Markscheiden durch Methylenblau, in rötlich-violetten Ton, eingegangen werden. Dieser Färbungseffekt erfährt durch die Vorbehandlung mit Sudan eine nicht unbeträchtliche Verstärkung in dem Grade, daß man vielfach auf kompliziertere Färbungen mit Einbettung (*Weigert*) oder am Gefrierschnitt (*Benda*, *Spielmeyer*, *Olivecrona*) ganz verzichten kann. Methylenblau als Färbungsmittel für die Markscheiden ist im Rahmen komplizierterer Färbeverfahren schon früher verwendet worden, so von *Adamkiewicz*, *Bing-Ellermann*, *E. Fränkel* und *Sahli* (teilweise nach *Creutzfeld*). Es hat sich hier zum Teil um Doppelfärbungen, teilweise auch um Lackbildungen durch Beizverfahren gehandelt, die nicht auf dem Metachromasievermögen des Methylenblau gegenüber den Markscheiden aufbauen, sondern seine Färbekraft als blauer Farbstoff benutzen. Insgesamt handelt es sich um komplizierte Dauerfärbungen, die mit dem in Rede stehenden Verfahren keine Beziehung haben.

Wie schon oben gesagt, ist die Sudanschnellfärbung mit nachfolgendem Methylenblau-Glycerin-Aufguß sehr geeignet, um eine recht weitgehende Erfassung selbst feiner Markscheidenverzweigungen zu ermöglichen. Man sieht ausgezeichnet auch die Quellungserscheinungen zerfallender Markscheiden hervortreten und hat, wie schon *Benda* für die Sudanfärbung am Centralnervensystem hervorhob, den Vorteil, daß man etwa vorhandene Fettkörnchenzellen zugleich übersichtlich zur Darstellung bringt. Jedoch muß eine technische Kleinigkeit hervorgehoben werden, ohne die gleichmäßige Färbungen von Nervenpräparaten, mindestens von Schnitten aus dem Centralnervensystem, oft nicht zu erzielen sind. Infolge der Quellbarkeit des Myelins im Wasser findet hier oft eine mangelhafte Durchtränkung des Schnittes mit der Aufgußfarbe statt, wie man ja auch bei der *Spielmeyer-Bendaschen* Markscheidenfärbung oft genötigt ist, die Schnitte durch Überdecken mit Papier zum gleichmäßigen Eintauchen in die Farblösung zu zwingen, weil sonst auch bei dieser Färbung einzelne Partien mangelhaft von der Farbe erfaßt werden. Man muß aus diesem Grunde Schnitte von Nervensubstanz, nachdem man sie im Anschluß an Sudanfärbung auf den Objektträger aufgezogen hat, mit einem glatten Fließpapierstreifen in der Weise abtrocknen, daß man von dem einen Schmalende des Objektträgers her den Fließpapierstreifen über den Schnitt legt und mit dem Finger einmal in ruhiger Bewegung über das den Schnitt bedeckende Fließpapier streicht. Der Streifen läßt sich dann ohne Beschädigung des am Glas haftenden Schnittes abheben, wonach der Schnitt in

gewöhnlicher Weise mit Methylenblau-Glycerin beschickt und eingedeckt wird. Auf diese Art erzielt man einwandfrei gleichmäßig gefärbte Präparate, die in einer großen Zahl der Fälle völlig ausreichen, um Dauerfärbungen der angegebenen Art zu ersparen.

Zum Schluß soll noch darauf hingewiesen werden, daß man auch die einfachen und nützlichen Verfahren der Untersuchung frischer Abstrich- und Quetschpräparate im Sektionssaal mit Hilfe der beschriebenen Sudan-Methylenblaufärbung weiter ausgestalten kann. So färben sich in Quetschpräparaten aus Hirnerweichungsherden im Sudanaufguß die Fettkörnchenkugeln gut an; nach vorsichtigem Abspülen des allenfalls vor der Färbung leicht getrockneten Präparates mit Wasser kann man eine leidliche Färbung der Kerne und der Markscheidenreste mit Methylenblau-Glycerin hinzufügen. Auch die Darstellung der Fettembolie in Scherenschnittpräparaten von der Lunge kann man sich durch Anfärbung in entsprechender Weise erleichtern und vor allen Dingen der Demonstration zugänglicher machen.

Zusammenfassung.

Polychromes Methylenblau nach *Unna* im Verhältnis von 1:4 oder 1:5 mit säurefreiem Glycerin gemischt läßt sich zur Schnellfärbung in der Weise verwenden, daß man aus formalinfixierten (evtl. in Formalin gekochten) Material hergestellte Gefrierschnitte mit dem genannten Gemisch eindeckt und dadurch zugleich färbt und Gewebsaufhellung erzielt. Infolge der metachromatischen Färbekraft des Methylenblau ergeben sich kontrastreiche Bilder. Zu betonen ist die Notwendigkeit einer künstlichen Lichtquelle.

Für praktischen Dauergebrauch empfiehlt sich besonders die Kombination der eben angegebenen Färbungsform mit einer Vorfärbung in heißgesättigter 70proz. alkoholischer Sudan III-Lösung von 1—2 Minuten Dauer. Hervorzuheben sind die guten Resultate dieser Kombinationsfärbung an Objekten aus dem Nervensystem, für die vielfach Spezialfärbungen dadurch erübrigt werden können. Schnitte von Nervensubstanz müssen vor dem Aufguß des Methylenblau-Glycerin-Gemisches mit Fließpapier abgetrocknet werden.

Ferner ist zu betonen, daß die färberische oder optische Erfassung pathologischer Gewebsinlagerungen — also außer Fett in erster Linie auch Eisen oder Kalk — bei der beschriebenen Färbung durchaus möglich ist.

Literaturverzeichnis.

Adamkiewicz, Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **89**, Abt. III, 245—265 (1884). — *Benda*, Berl. klin. Wschr. **1901**, Nr 27, 729—730; Nr 33, 871; **1903**, 748 — Neur. Zbl. **22** (1903) — Verh. dtsch. path. Ges., 15. Tag. **1912**, 467

bis 469. — *Carty, Max, Carpenter*, Ann. J. of Path. **5**, Nr 4 (1929). Ref. Zbl. Path. **1929**, 366. — *Creutzfeld*, Enc. d. Mikr. Techn., Abschnitt: Markscheiden. 3. Aufl. **3**, 1629—1634. — *Daddi*, Arch. ital. Biol. **26**, 142—146. Ref. Zbl. Path. **8** (1897). — *Ehrlich*, Z. klin. Med. **2**, 710—713 (1881) — Arch. mikrosk. Anat. **13**, 263—277 (1877). — *Eisenberg, Philipp*, Virchows Arch. **199**, 502—542 (1910). — *Escher, H.*, Cspbl. Schweiz. Ärzte, Tg. 49 **1919**, H. 43, 1609—1623. — *Fischer, Bernhard*, Zbl. Path. **13**, 943—946 (1902); **14**, 621—623 (1903). — *Fraenkel, F.*, Neur. Zbl. **22**, 796—798 (1903). — *Froboese, C.*, G. Spröhule, Z. mikrosk.-anat. Forsch. **14**, 13—59 (1928). — *Gross*, Ber. Tag. d. westdtsh. Path. Münster 6. X. 1929. Zbl. Path. **47**, 376 (1930). — *Hellwig, C. Alexander*, Zbl. Chir. **53**, 2642—2649 (1926). — *Henke, F., E. Zeller*, Zbl. Path. **16**, 3—7 (1905). — *Herzheimer, G.*, Dtsch. med. Wschr. **1901**, H. 36, 607—609 — Zbl. Path. **14**, 87—88, 841—842 (1903) — Technik, der pathologisch-histologischen Untersuchung. **1912**. — *Hoffheinz, S.*, Zbl. Chir. **54**, 2498—2591 (1927). — *Kaufmann, C.*, u. *E. Lehmann*, Virchows Arch. **261**, 623—648 (1926) — Z. mikrosk.-anat. Forsch. **16**, 586—597 (1929). — *Läwen, A.*, Zbl. Chir. **53**, Nr 25, 1554—1559 (1926). — *Lipski, S.*, Görbersdorffer Veröff. **1**, 126—167 (1898). — *Lubarsch-Wolf*, Enc. d. mikr. Techn. Krause. Kapitel: Fettablagerung. 3. Aufl. S. 736. — *Meyer*, Morphologische und physiologische Anatomie der Zelle der Pflanzen und Tiere. 1. Teil. Jena 1920. — *Michaelis*, in Enc. d. mikr. Techn. 3. Aufl. **2** (1926). — *Quincke, H.*, Arch. f. exper. Path. **37**, 183 bis 190 (1896). — *Romeis, B.*, Virchows Arch. **264**, 301—304 (1927) — Z. mikrosk.-anat. Forsch. **16**, H. 3/4, 525—585 (1929). — *Rosin u. Bibergeil*, Virchows Arch. **178**, 478—504 (1904). — *Sahlh, H.*, Z. wiss. Mikrosk. **2**, 1—7, 49—51 (1885). — *Schmorl*, Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. **15**, 63. Leipzig 1928. — *Schneider*, Enc. d. mikr. Techn. Kapitel: Fette und Öle der Pflanzen. 3. Aufl. S. 732. — *Schultz-Brauns*, Virchows Arch. **273**, H. 1, 1—50 (1929) — Zbl. Path. **50**, 273—277 (1930) — Klin. Wschr. **9**, 1002 (1930); **10**, Nr 3, 113—116 (1931). — *Sehrt, Ernst*, Virchows Arch. **177**, 248—268 (1904). — *Spielmeyer*, Technisch mikroskopische Untersuchung des Nervensystems. 4. Aufl. **1930**, 97—98. — *Terry, B. T.*, Ann. med. Assoc. **74**, Nr 26 (1920) — J. amer. med. Assoc. **80**, Nr 24 (1923) — Med. Klin. **1924**, H. 34, 1179 — Münch. med. Wschr. **1924**, 1341 — J. of Path. **30**, 573 (1927). — *Traina, R.*, Beitr. path. Anat. **35**, 1—92 (1904). — *Vohwinkel, K.*, Klin. Wschr. **9**, 1199 (1930). — *Walz, K.*, Zbl. Path. **30**, 442—443 (1919). — *Wedl, C.*, Virchows Arch. **71**, 128—130 (1877). — *Wilson, L. B.*, J. amer. med. Assoc. **45**, 1737 (1905). — *Wright, J. H.*, Zbl. Path. **12**, 634—635 (1901).

Haften von Kopfhhaaren an Schädelnähten durch Fettwachsbildung.

(Vorweisung.)

Von

Dr. Franz Josef Holzer, Innsbruck.

Mit 2 Textabbildungen.

M. H.! Der vorgewiesene Schädel stammt von einer nach 8 Jahren enterdigten 34-jährigen Frau. Sie war plötzlich erkrankt und innerhalb von 12 Stunden, ohne das Bewußtsein wieder zu erlangen, gestorben. Ein Arzt war beigezogen, und man vermutete einen Hirnschlag durch Hirn-