

Intermedien bei der Paraffineinbettung (Literaturauszug)

Zur Beachtung: Die Zitate sind eine subjektive Auswahl und meist nur ein kleiner Ausschnitt aus der Beschreibung des zitierten Autors. Häufig werden den einzelnen Intermedien und ihrer Anwendungsmethode eingehende Kapitel gewidmet, die in dieser Zusammenstellung nicht wiedergegeben oder erwähnt sind. Auch die Literaturlauswahl ist zufällig: Aus meinem Bücherschrank.

1940	<p>Johansen, D. A.: <i>Plant Microtechnique</i>. First Edition. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York 1940.</p> <p>Donald Alexander Johansen empfiehlt nachdrücklich Butanol, das normale, n-Butanol, aber noch lieber ist ihm das tertiäre Butanol. (Er lehrte an der Stanford University in Palo Alto im Silicon Valley. Daß das tert. But. schon bei 25 °C erstarrt, störte ihn als Kalifornier wohl wenig.) Die Anwendung von Methylbenzoat als Intermedium in der Botanik erscheint nach diesem Werk um 1940 in USA unbekannt. Xylol beurteilt er wegen der außerordentlichen Härtung pflanzlicher Gewebe nicht günstig.</p> <p>Von diesem Werk gehen die meisten Anregungen für die Botanische Mikrotechnik der folgenden Jahrzehnte aus.</p>
1959	<p>Riech, F.: <i>Mikrotomie. Ein Leitfaden für Arbeitsgemeinschaften und für den Selbstunterricht</i>. Aulis Verlag Deubner & Co KG, Köln 1959.</p> <p>S. 40: „Am besten bewährt sich 1. Methylbenzoat-Benzol und 2. wasserfreies Chloroform, während von den übrigen, von dem einen oder anderen Autor angegebenen Intermedien Xylol, Toluol, Zedernholzöl zwar genannt, aber nicht empfohlen sein mögen, und zwar Xylol und Toluol nicht, weil sie in der Wärme des Thermostaten übermäßig härten und das Zedernholzöl, weil es nur schwer durch das Paraffin aus den Geweben verdrängt wird ...“</p>
1959	<p>Jung, R.: <i>Die Paraffineinbettung. Richtlinien und Hinweise</i>. In: Mikrotom-Nachrichten. Heft 3, 1959, R. Jung AG, Nußloch bei Heidelberg.</p> <p>Intermedium. „Dazu wird heute meist Benzol benutzt. Chloroform und Xylol sind weniger zu empfehlen, vom Carbolxylol ist abzuraten. ...“</p>
1960	<p>Schulze, E; Graupner, H.: <i>Anleitung zum mikroskopisch-technischen Arbeiten in Biologie und Medizin</i>. 2. Aufl. Akadem. Verlagsges. Geest & Portig K.-G., Leipzig 1960.</p> <p>S. 62: „An erster Stelle unter den vielen Intermedien, die zur Verwendung gelangen, stehen Methylbenzoat (auch Methylsalicylat ist geeignet) und Terpeneol.“</p> <p>S. 63:</p> <p>„Xylol (148): Wird als Intermedium heute nicht mehr benutzt, es härtet die Gewebe zu stark.“</p> <p>„Benzol (12): Längeres Verweilen in Benzol härtet das Gewebe.“</p> <p>„Chloroform (26): Verhält sich ähnlich wie Benzol, ist diesem aber unterlegen.“</p> <p>„Isopropylalkohol (oder n-Propylalkohol) (112): Mischt sich in der Wärme (über 40 °C) mit Paraffin in jedem Verhältnis und kann daher die Stelle des Intermediums</p>

	<p>einnehmen. Da er andererseits den absol. Alkohol mit Vorteil ersetzt (S. 61), wird er in steigendem Maße angewandt. Er ist 3mal zu wechseln.“</p>
1962	<p>Heinrich, G.: <i>Fibel der Histologischen Technik</i>. 3. überarb. Aufl., G. Fischer, Jena 1962.</p> <p>S. 82 f: b) Intermedium. „Die gebräuchlichsten Intermedien sind Xylol, Benzol, Chloroform, Tetralin und Methylbenzoat.“ In einem eigenen Abschnitt wird auch das Dioxan erwähnt.</p>
1964	<p>Adam, H.; Czihak, G.: <i>Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie</i>. Ein Laborhandbuch für Biologen, Mediziner und technische Hilfskräfte. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1964.</p> <p>S. 263: „In der Mikrotechnik werden meist Benzol, Xylol, Toluol, Methylbenzoat, Propanol, Chloroform, Tetrahydrofuran, Dioxan und Äthylenglykol als „Intermedien“ bei der Paraffineinbettung verwendet. ...“</p> <p>„Auch schwierige Objekte lassen sich meist nach Zwischenschaltung von Methylbenzoat als ein Intermedium verarbeiten, insbesondere dann, wenn nicht reines Methylbenzoat, sondern Methylbenzoat-Celloidin nach Peterfi (S.264) verwendet wird.“</p> <p>„Isopropanol und n-Propanol ist nicht in allen Fällen verwendbar, liefert oft aber sehr schöne Ergebnisse und ist in der Anwendung besonders einfach.“</p>
1967	<p>Jung, R.: <i>Die Aceton-Paraffin-Einbettung</i>. Eine neue Methode. In: Mikrotom-Nachrichten. Heft 7, 1967, R. Jung AG, Nußloch bei Heidelberg.</p> <p>Beschrieben ist folgende Methode. Anstelle der gebräuchlichen Intermedien nach der Entwässerung mit Alkohol wird in Aceton überführt und durchtränkt, das sich nicht (!) mit Paraffin mischt. Und von dort direkt in Paraffin. Während das Aceton nun verdunstet, dringt an dessen Stelle Paraffin nach. Auf diese Weise lassen sich mehrere Arbeitsgänge bei der Paraffineinbettung einsparen. Man muß allerdings ein "Spezial-Paraffin" nehmen, das erst bei 60 Grad schmilzt und die Temperatur im Wärmeschrank bis zum Einblocken auf 70 Grad halten.</p> <p>Beschrieben hat die Methode: Matuschka, M. v.: Histologische Technik zur Aufarbeitung von Konisationen, ganzer Uteri und Uteri mit anhängenden Parametrien. Zschr. Geburtsh. u. Frauenheilkunde, 22, 498 (1962). Entwickelt wurde sie, wie schon aus dem Titel hervorgeht, ursprünglich nur für Großobjekte, hat jedoch - wie R. Jung mitteilt - "wegen ihrer beachtlichen Vorteile auch bei allen anderen in der Mikrotomie anfallenden Objekten in jüngster Zeit rege Beachtung gefunden".</p> <p>(Diese Methode darf nicht verwechselt werden mit der seit langem bekannten und oft wenig zufriedenstellenden Aceton-Schnelleinbettung, bei der das A. nicht anstelle des Intermediums, sondern zum beschleunigten Entwässern benutzt wird.)</p>
1968	<p>Romeis, B.: <i>Mikroskopische Technik</i>. 16. neubearb. u. verbess. Aufl. R. Oldenbourg Verlag, München 1968.</p> <p>§ 379. „Im einfachsten Fall verwendet man als Intermedium Benzol, ...“</p> <p>§ 380. „Verschiedentlich wurde und wird an Stelle von Benzol Xylol oder Toluol als Intermedium verwendet. Davon ist sehr abzuraten, da beide Stoffe die Schneidbarkeit der Präparate beeinträchtigen und bei der Durchtränkung mit Paraffin infolge ihrer geringeren Flüchtigkeit schwerer zu beseitigen sind (s. auch § 395).“</p> <p>§ 381. „Paraffineinbettung über Methylbenzoat-Benzol. Durch die Zwischenschaltung von Methylbenzoat werden aus den Präparaten außer dem sie durchtränkenden Alkohol auch Wasserreste beseitigt. Da sich aber Paraffin in Methylbenzoat schlecht löst, muß auch das M. nach Erfüllung seiner Aufgabe vor Einbringen der Pr. in</p>

	<p>Paraffin durch Benzol ersetzt werden. Auf Grund langjähriger Erfahrung kann ich die Methode sehr empfehlen.“</p> <p>Romeis erwähnt ebenfalls ausführlich Methylbenzoat-Celloidin, Chloroform, Kreosot, Benzylbenzoat, Dekalin, Schwefelkohlenstoff und Tetrachlorkohlenstoff.</p> <p>§ 395. „Toluol und Xylol machen die Präparate hart und sind wegen ihres höheren Siedepunktes (111 °C bzw. 140 °C) schwerer aus Präparat und Paraffin zu entfernen als das erheblich flüchtigere Benzol. Sie sind in der Einbettungstechnik besser durch Benzol zu ersetzen.“</p> <p>Weiterhin erwähnt er Anilin, Bergamottöl, Terpeneol und Zedernholzöl. Unter den Verfahren für die Schnelleinbettung nennt er Dioxan, Tetrahydrofuran und Isopropylalkohol.</p> <p>Das letzte lobt er in § 404: „Dieses einfache und im Gegensatz zur Dioxanmethode gesundheitlich gänzlich unschädliche Verfahren gibt auch nach meinen Erfahrungen sehr gute Resultate. Es ist auch als Routinemethode geeignet.“</p>
1968	<p>Krauter, D.: <i>Mikroskopie im Alltag</i>. Eine Einführung in die angewandte Mikroskopie auf einfacher Grundlage. 6. Aufl. (22.-27. Tausend). Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1968.</p> <p>Krauter empfiehlt die Übertragung aus absolutem Isopropylalkohol in reines Terpentinöl (nicht: Terpeneol), danach in Methylbenzoat.</p>
1972	<p>Pfäfflin, W.: <i>Paraffineinbettung über Isopropylalkohol</i>. Ein preiswertes Intermedium. In: Mikrokosmos 61 (1972) 109-110.</p> <p>„Seit mehr als 20 Jahren ist bekannt, daß sich auch reiner Isopropylalkohol als Intermedium verwenden läßt. Zwar löst Isopropylalkohol Paraffin bei Zimmertemperatur kaum, wohl aber bei 60 bis 70°, einer Temperatur also, die ohnedies für die Paraffineinbettung angewandt wird. Die Verwendung von Isopropylalkohol hat sich bislang noch nicht durchsetzen können; sie ist aber vor allem bei weichen Organen, die nicht allzuviel Muskulatur, Bindegewebe, Knochen oder Knorpel enthalten, sehr zu empfehlen. Isopropylalkohol ist billig, und seine Verwendung als Intermedium kürzt den Arbeitsgang beträchtlich ab. ...“</p>
1973	<p>Stehli, G; Krauter, D.: <i>Mikroskopie für Jedermann</i>. Eine methodische erste Einführung in die Mikroskopie mit praktischen Übungen. 22. Aufl. (130.-150. Tausend). Neubarb. von Dieter Krauter, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1973.</p> <p>„Viele erfahrene Histologen empfehlen als günstiges Intermedium vor allem das Benzol. Der Anfänger wird jedoch mit reinem Terpentinöl bessere Erfahrungen machen als mit leicht flüchtigen Intermedien wie Benzol oder Chloroform.“ – „Leider aber werden die Objekte sowohl in 100%igem Alkohol als auch in Terpentinöl hart und spröde – um so mehr, je länger sie darin verweilen. Wer ganz korrekt arbeiten will und auf gut schneidbare, geschmeidige Blöcke Wert legt, schaltet deshalb zwischen Isopropylalkohol und Terpentinöl noch drei Portionen Methylbenzoat ein. ...“</p>
1977	<p>Gerlach, D.: <i>Botanische Mikrotechnik</i>. Eine Einführung. 2., überarb. u. erweit. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977.</p> <p>Gerlach erwähnt Benzol, Xylol, Chloroform, Terpeneol, erwähnt aber auch, daß Benzol und Xylol die Objekte manchmal so härten, daß sie beim Schneiden splintern. Aber letztlich empfiehlt er – wie Johansen – tertiäres Butanol. Er schreibt, er habe aus der sehr großen Anzahl der im Laufe der Zeit vorgeschlagenen Methoden nur sehr wenige ausgewählt. „Im allgemeinen wird man die tert. Butanol-Methode wegen ihrer Einfachheit und der Qualität der damit erzielten Paraffinblöcke allen anderen</p>

	<p>Verfahren vorziehen. Nur wenn tert. Butanol nicht zur Verfügung steht, müssen Xylol oder Benzol als Intermedien verwendet werden. Chloroform oder Terpeneol benutzt man dann, wenn Xylol oder Benzol das Objekt zu spröde machen.“ Den Isopropylalkohol erwähnt Gerlach als Intermedium nicht.</p>
1979	<p>Knoche, H.: <i>Leitfaden der Histologischen Technik</i>. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1979.</p> <p>S. 35: „Statt Methylbenzoat und Benzol können auch Chloroform, Toluol, Xylol oder Zedernholzöl als Intermedien benutzt werden.“</p>
1979	<p>Krauter, D.: <i>Das Kosmos-Mikrotom</i>. III. Wahl der Objekte. <i>Durchtränkung mit Paraffin. Polyethylenglykol</i>. In: <i>Mikrokosmos</i> 68 (1979) 144-146.</p> <p>“Die üblichen Intermedien zwischen hundertprozentigem Alkohol und Paraffin sind Toluol, Methylbenzoat und Terpentinöl (das früher viel verwendete Benzol ist so giftig, daß man es nicht mehr gebrauchen sollte). Bei kleinen Objekten kann man mit großem Vorteil Isopropylalkohol als Entwässerungsmittel und Intermedium verwenden, da sich Isopropylalkohol in heißem Paraffin löst. ...“</p>
1980	<p>Walter, W.: <i>Das Mikrotom: Das Mikrotom. Leitfaden der Präparationstechnik und des Mikrotomschneidens</i>. 2. Aufl., neubearb. v. W. Schmidt. Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Wetzlar 1980.</p> <p>S:28: „paraffinlösenden Intermedien (Benzol, Xylol etc.)“ S. 29: „Methylbenzoat, Benzol“</p>
1989	<p>Böck, P. (Hrsg.) et al: <i>Romeis Mikroskopische Technik</i>. 17. neubarb. Auflage. Urban & Schwarzenberg, München 1989.</p> <p>S. 120: Beschreibung von Benzol: „Es ist karzinogen, toxisch, flüchtig, leicht brennbar (unter dem Abzug arbeiten, Geruchsbelästigung!) ... mit Wasser nicht mischbar ... Wasserreste erzeugen Schrumpfungen im Paraffinblock, Schwierigkeiten beim Schneiden.“</p> <p>Böck erwähnt ausführlich Methylbenzoat-Benzol, Chloroform, Dekalin, in kürzerer Zusammenfassung auch Schwefelkohlenstoff, Tetrachlorkohlenstoff, Tetralin, Anilinöl, Terpentinöl (nicht Terpeneol), Zedernholzöl, Nelkenöl und Petroläther.</p> <p>Toluol und Xylol „sind wegen ihres höheren Siedepunktes schwer aus dem Par. zu entfernen. Beide Intermedien machen die Präp. spröde und sind so dem Benzol unterlegen.“</p> <p>Unter dem Kapitel Paraffineinbettung von Hand beschreibt er auf Seite 124 f. wiederum die Methode mit Methylbenzoat-Benzol und auch ausführlich Isopropylalkohol als Intermedium: „Eine Alternative bietet die Verwendung von I., der die Gewebe nicht so härtet wie Äthanol.“ (Folgt die Verfahrensbeschreibung). „Da längeres Liegen in Iso .. die Präp. nicht schädigt, läßt sich der Arbeitsgang besser gliedern und der Dienstzeit flexibel anpassen. Ein weiterer Vorteil ist das Fehlen von Benzol.“</p>
1989	<p>Krauter, D.: <i>Ersatz für Xylol? Erfahrungen mit Rotihistol</i>. In: <i>Mikrokosmos</i> 78 (1989) 22-23.</p> <p>Krauter berichtet eingehend über seine jahrelangen Erfahrungen mit Rotihistol als Intermedium bei Schnitten. Danach geht er der Frage nach, ob es sich auch als Intermedium bei der Paraffineinbettung eigne.</p> <p>„Xylol, Toluol und Benzol härten die Gewebe, machen sie spröde und splitterig. Die Verwendung von Benzol verbietet sich. Benzol ist giftig und cancerogen; es kann im mikroskopischen Laboratorium in jedem Fall ersetzt werden. Xylol und Toluol sind ausgezeichnete Paraffinlösungsmittel. Vielleicht werden sie</p>

	<p>deshalb noch immer verwendet, obwohl die Alkohole Butanol und – bei kleineren Objekten – Isopropylalkohol wesentlich bessere Resultate ergeben. (Möglicherweise werden Mikroskopiker durch unnötig umständliche Arbeitsvorschriften in manchen Fachbüchern von der Verwendung von Butanol abgehalten. Die folgende Sequenz genügt vollkommen: 90% Alkohol > Isopropylalkohol > 2 x Butanol > Paraffin. Man braucht nicht den oft empfohlenen tertiären Butylalkohol zu verwenden, analysenreines 1-Butanol genügt. Wasserspuren im Butanol oder Isopropylalkohol führen aber unweigerlich zu Mißerfolgen.</p> <p>Mit Rotihistol als Intermedium erhielt ich gute Ergebnisse: Die Blöcke und Schnitte waren geschmeidig, tierisches Material ließ sich bis 4 µm Dicke in Serie schneiden, auch große Objekte (nestjunge Mäuse) sowie knochenhaltiges, entkalktes Material waren gut schneidbar. Selbstverständlich muß R. durch mehrfachen Paraffinwechsel entfernt werden. Es dunstet kaum ab, und zu große Reste bedingen schmierige, weiche Blöcke. Insgesamt entsprachen die Ergebnisse etwa denen, die mit Butanol als Intermedium erzielt wurden.</p> <p>Bei pflanzlichen Objekten dagegen erschienen mir Butanol und Isopropylalkohol überlegen. Pflanzengewebe, die verholzte Anteile enthalten, sind bei der Paraffinmethode bekannt problematisch. sie werden nicht selten so spröde und hart, daß sie kaum oder überhaupt nicht schneidbar sind. Xylol und Toluol wirken bei den meisten botanischen Objekten verheerend! ...“</p> <p>Krauter betont, daß Rotihistol für die Entparaffinierung der Schnitte das Xylol auf jeden Fall und mit bestem Erfolg ersetzen kann. (Bei den Mikroskopiekursen in Inzigkofen und auf dem Wohldenberg wird seit vielen Jahren zum Entparaffinieren „Roti“ verwendet.</p>
<p>Fazit</p>	<p>Während noch 1970 unwiderrprochen empfohlen werden konnte, die Schnitte unmittelbar nach dem Strecken mittels Fixierzerstäuber mit feinstverteiltem Xylolnebel einzusprühen, hat sich in den letzten Jahren eine zunehmend kritische Haltung gegenüber der unbedenklichen Anwendung von Benzol und seinen Abkömmlingen durchgesetzt. Die erfreuliche Folge ist, daß die Autoren der neueren Bücher und Aufsätze die mögliche Gesundheitsgefährdung wenigstens erwähnen.</p> <p><i>n-Butanol</i> erfreut sich zunehmender Beliebtheit nicht nur bei Amateuren. Es ist problemlos anzuwenden.</p> <p>Die Methode mit <i>Isopropanol</i> ist mehr als einen Versuch wert, ebenso die mit <i>Aceton</i>.</p>