

Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock
(Direktor: Prof. Dr. sc. K. Rothe)

Ein Beitrag zur Rationalisierung quantitativ-mikroskopischer Untersuchungen

Von J. WEGNER und U. MÖLLER

Zusammenfassung

Es werden zwei Geräte beschrieben, die die Präparationstechnik und das Meßverfahren bei quantitativ-mikroskopischen Untersuchungen wesentlich vereinfachen. Der Probenführer gestattet es, 40 Proben gleichzeitig von einer Lösung in die andere zu überführen. Dabei ist der Einfluß der Chemikalien auf alle 40 Proben gleich — eine wesentliche Voraussetzung für quantitative Untersuchungen. Der Zählstift zum Zählgerät Eltitor 4 erlaubt ein Markieren der gezählten Teilchen bei gleichzeitiger Registrierung im Zählgerät. Doppelzählungen und andere Fehlerquellen werden weitestgehend vermieden.

Резюме

Описываются два прибора, которые значительно упрощают технику препарирования и метод измерения при количественных микроскопических исследованиях. Проводник проб позволяет одновременно переводить 40 проб из одного раствора в другой. При этом влияние химикалий на все 40 проб является равным — важной предпосылкой для количественных исследований. Счетный штифт к счетному прибору Эльтинор 4 обеспечивает маркировку учтенных частичек при одновременной регистрации в счетном приборе. Избегаются двойной счет и другие источники погрешностей.

Summary

The authors describe two devices that considerably contribute to facilitate the preparation and measuring steps in quantitative microscopic examinations. A sample changer permits to transfer 40 samples simultaneously from one solution to the other. Thus, the chemicals act in the same manner on all 40 samples, which is an essential prerequisite for quantitative determinations. A counting pointer for the Eltitor 4 counter allows to mark the counted particles and to record them at the same time. Double-counting and other sources of error are largely excluded.

1. Anwendung eines Probenführers

Bei zahlreichen histologischen Präparationsmethoden ist das Einlagern von Proben in verschiedenen Flüssigkeiten erforderlich. Dazu werden meist Präparatgläser, Röhrchen u. a. verwendet. Bei geringem Probenanfall kommt man damit auch zurecht. Schwieriger ist das Wässern der Proben. Sie müssen allseitig von Wasser umgeben sein, und jede Probe muß ausreichend gekennzeichnet werden. Mit Gaze zugebundene Einzelgefäße in einem Wasserbecken liegend, erfordern hohen Arbeitsaufwand für das Auf- und Zubinden und das Kennzeichnen. Oft ist auch ein nur kurzer Aufenthalt der Proben in einer Lösung notwendig. Eine schnelle Überführung erleichtert das Einhalten der Zeit. Besonders für quantitative Untersuchungen muß die Konzentration der Lösungen, z. B. Fixierungsmittel, für alle zu vergleichenden Proben konstant sein.

Für die von uns angewendete Methode der Präparation von Muskelgewebe (Fixieren in Formalin, Stückfärbung in Eosin, Einbetten in Gelatine, dazwischen jeweils Wässern) sind 4 Überführungen notwendig. Bei einem täglichen Probenanfall von maximal 40 Stück ergibt sich ein Aufwand an Glasgefäßen und Arbeitszeit, der durch die Verwendung eines Probenführers wesentlich gesenkt werden kann.

Der Probenführer (Abb. 1) besteht aus 2 weißen Kunststoffrahmen, die mit Fliegengaze bespannt sind. An einem der beiden Rahmen befinden sich Füßchen. Liegt der Probenführer im Eintauchbecken, kann somit auch von unten genügend Lösung an die Proben gelangen. Die Proben liegen in kleinen Fächern, die man durch Zusammenstecken von PVC-Leisten erhält. Der Probenführer wird von 2 Gummiringen zusammengehalten

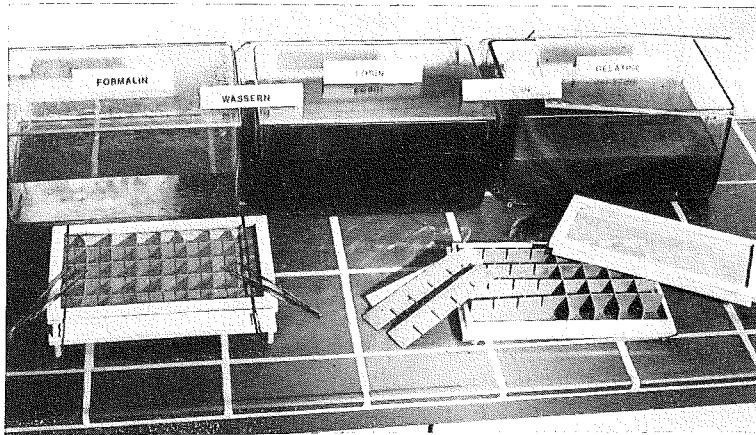


Abb. 1. Probenführer; links: einsatzbereit; rechts: teilweise zerlegt; hinten: Eintauchbecken

und kann mit Pinzetten von einer Lösung in die andere übertragen werden. Die Größe des Probenführers und der Eintauchbecken ist von der gleichzeitig zu bearbeitenden Probenanzahl abhängig. Je nach Probengröße sind die Ausmaße der einzelnen Fächer zu bemessen. Durch zusätzliche Sägeschnitte bis zur Hälfte der Steckleisten können variable Fächergrößen erreicht werden.

In der Abbildung 1 wird ein Probenführer für 40 Proben mit einer Probengröße von 1 cm^3 gezeigt. Bei Verwendung aggressiver Chemikalien muß entsprechendes Material zur Herstellung des Gerätes benutzt werden. Im Prinzip ist der Probenführer universell einsetzbar. Eine Kennzeichnung der einzelnen Proben erübrigt sich, da diese in einer festgelegten Reihenfolge ihren Platz im Probenführer behalten. Konzentration und Temperatur der Lösungen sind für alle eingelagerten Proben gleich. Die Arbeitsgänge zur Überführung von einer Lösung in die andere und besonders das Wässern in fließendem Wasser ist wesentlich erleichtert.

2. Zählstift zum Integriergerät Eltinor 4

Die subjektive Betrachtung und Beschreibung mikroskopischer Bilder ist meist nicht ausreichend, um exakte Beziehungen zwischen Struktur und Funktion aufzufinden. Es gibt die verschiedensten Meß- und Zählgeräte für die Mikroskopie, die jedoch entweder sehr teuer sind (Epiquant, Videomat) oder zu arbeitsaufwendig (Meßschraubenokular, Kernmeßgerät u. a.).

Für die Ermittlung der durchschnittlichen Muskelfaserstärke benutzen wir die Anzahl Muskelfasern je Flächeneinheit, die wir mit dem in Abbildung 2 gezeigten Geräteaufbau bestimmten. Das mikroskopische Bild wird mit einem einfachen Zeichenspiegel auf ein Blatt Papier projiziert.

Mit Hilfe des Integriergerätes Eltinor 4 könnten jetzt durch Bedienung der Tastknöpfe Teilchen ausgezählt werden. Zugleich müßte eine Kennzeichnung der gezählten Teilchen mit dem Bleistift erfolgen. Dieses Ziel kann genauer und einfacher mit dem Zählstift erreicht werden.

Der Zählstift (Abb. 3) wurde aus einem handelsüblichen Kugelschreiber gebaut. Wie aus der Prinzipskizze ersichtlich ist, wurde der hintere Teil durch eine PVC-Hülle mit Abschlußkappe ersetzt. In die Plastmine des Kugelschreibers wird der Kontaktgeber eingeschoben. Die beim normalen Kugelschreiber vorn befindliche Druckfeder wird hinten eingebaut, um den Kontaktgeber vom Kontaktplättchen zu lösen. Der Kontaktgeber läuft in einer Schlitzschraube, die als Minuspol mit dem Kabel verbunden ist. Der Pluspol wird am Kontaktplättchen angelötet. Zwischen Kontaktgeber bzw. Schlitz-

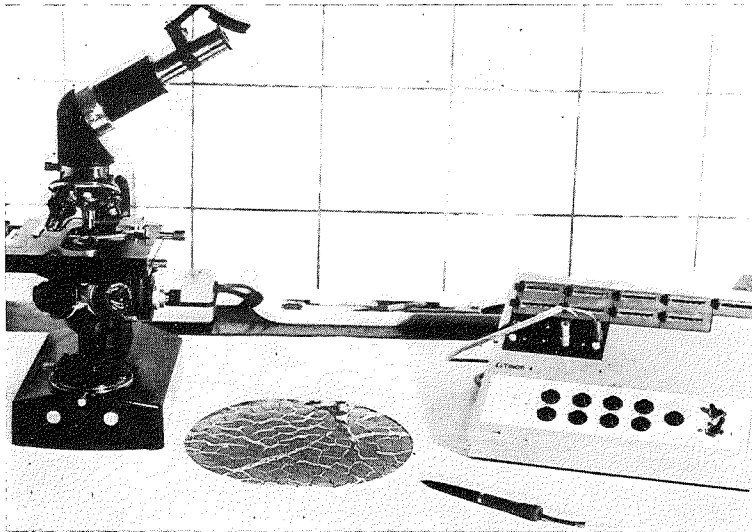


Abb. 2. Zählgerät; links: Mikroskop mit Zeichenspiegel; rechts: Zählgerät Eltinor 4 mit eingebautem Steckkontakt; davor: Zählstift

schraube und dem Kontaktplättchen ist ungefähr 1 mm Spielraum, der bei Betätigung des Zählstiftes durch den Kontaktgeber überbrückt wird. Der entstehende Stromimpuls wird durch ein Kabel an das Gerät Eltinor 4 gegeben, wodurch im entsprechenden Zähl Speicher eine Registrierung erfolgt. Zu diesem Zweck muß am Eltinor 4 eine Steckkontaktplatte eingebaut werden. Das kann so geschehen, daß bei Nichtbenutzung des Zählstiftes die Tastkontakte des Gerätes benutzbar sind, somit also keine Beeinträchtigung der ursprünglichen Funktion des elektrischen Integriergerätes eintritt.

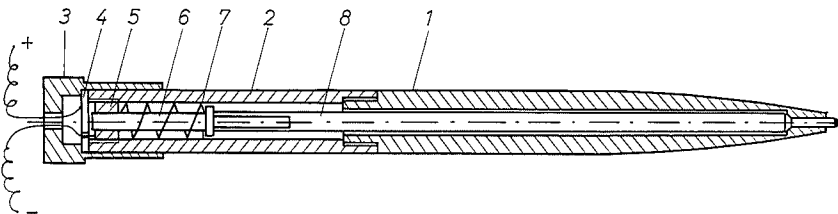


Abb. 3. Prinzipskizze Zählstift; 1 — unterer Teil eines Kugelschreibers; 2 — obere Hülle; 3 — Kappe; 4 — Kontaktplättchen (Pluspol); 5 — Schlitzschraube (Minuspol); 6 — Kontaktgeber; 7 — Druckfeder; 8 — Kugelschreibermine

Der eine Bananenstecker des Zählstiftes kann in 8 verschiedene Buchsen gesteckt werden, wodurch die 8 Speicher genutzt werden. Der andere (rechts im Bild) bleibt währenddessen in der zusätzlich angebrachten Buchse als Pluspol für alle Speicher. Es muß beachtet werden, daß die Kugelschreibermine seitlich am oberen Ende ein Lüftungsloch erhält. Außerdem sollte beim Austritt des Kabels am Zählstift eine Zugentlastung vorgesehen werden.

Nach mehrjähriger Nutzung kann festgestellt werden, daß der Zählstift auch bei täglicher Anwendung störungsfrei arbeitet.

Für beide Geräte kann im BfN des Forschungszentrums Dummerstorf-Rostock Nachbenutzung beantragt werden.

Manuskripteingang: 13. Februar 1976

Anschr. d. Verf.: Dr. agr. J. Wegner, Dipl.-Ing. U. Möller, Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock DDR-2551 Dummerstorf