

BLUTKRANKHEITEN
UND
BLUTDIAGNOSTIK

LEHRBUCH
DER MORPHOLOGISCHEN HÄMATOLOGIE

VON
DR. MED. OTTO NAEGELI
PRIVATDOZENT AN DER UNIVERSITÄT ZÜRICH

ZWEITE VOLLKOMMEN UMGEARBEITETE UND VERMEHRTE AUFLAGE

MIT 24 FIGUREN IM TEXT UND 20 FARBIGEN TAFELN



SEINEM LEHRER UND MEISTER

HERRN

PROF. DR. H. SAHLI IN BERN

IN STETER DANKBARKEIT UND VEREHRUNG

GEWIDMET

Vorwort zur ersten Auflage

Blutuntersuchungen und Blutdiagnostik besitzen heute in der Medizin eine große, und wie es scheint, noch stets in Zunahme begriffene Bedeutung. Das Bedürfnis nach Orientierung auf diesem Gebiete wächst, je mehr die Hochflut der Publikationen anschwillt, und je mehr die verschiedensten medizinischen Disziplinen von ihr berührt werden.

Ein Buch darf aber nicht allein aus Utilitätsgründen geschrieben sein! Es muß dem inneren Bedürfnis entspringen, das jeder Forscher in sich fühlt, der Mitwelt die in langen Jahren studierten Probleme in zusammenhängender Darstellung von prinzipiellen Gesichtspunkten aus zu übergeben. Wenn die subjektive Ansicht dabei notwendig ziemlich stark zum Vorschein kommt, so ist das für ein noch so wenig abgeklärtes Gebiet nur ein Gewinn, sofern wenigstens die vorgebrachte Auffassung auf gründlichem Studium beruht. Die Berücksichtigung der von anderen Autoren vertretenen Anschauungen schafft übrigens die nötige Korrektur.

Das vorliegende Werk behandelt in erster Linie die Blut-histologie. Es entspricht dies der von mir vorzugsweise gepflegten Forschungsrichtung, die ja überhaupt zurzeit die herrschende ist. Überall muß die Morphologie erst den wissenschaftlichen Grund legen, bevor die Erkenntnis weiter schreiten kann. Die Erscheinungen des Blutbildes sind aber, wie ich stets aufs nachdrücklichste hervorhebe, nicht allein rein histologische, sondern viel mehr noch biologische. Daher kann stets nur die innigste Verbindung der Morphologie mit biologischen Ge-

sichtspunkten wichtig und wertvoll sein. So ist in jedem Falle das gesamte klinische Bild von größter Bedeutung, und oft erweist sich der Verlauf der Blutveränderungen wichtiger als ein einmaliger Befund. Es kann daher glücklicherweise die Hämatologie auch nie ein Spezialgebiet sein, denn sie gehört aufs innigste zur allgemeinen klinischen Forschung. Die sorgfältigste Untersuchung des Patienten ist deshalb nie überflüssig, im Gegenteil! Je präziser durch die klinische Analyse die Fragestellung geworden ist, je enger der Kreis des Möglichen geschlossen, desto sicherer wird eine sorgfältige Blutuntersuchung differentialdiagnostisch zur Entscheidung herangezogen werden können. Auch umgekehrt führt ein ungewöhnlicher Blutbefund gar nicht selten zu der Aufforderung, den Patienten von neuem aufs eingehendste zu examinieren, um eine Erklärung für das Ungewöhnliche zu finden.

Der Wert physikalisch-chemischer und rein chemischer Blutuntersuchungen wird vielleicht in kurzer Zeit gleichfalls ein sehr bedeutender sein. Vorläufig freilich halten diese Analysen, namentlich an diagnostischer Dignität, einen Vergleich mit den Ergebnissen der Morphologie nicht entfernt aus. Manche dieser Methoden sind, wie die Alkaleszenzbestimmung, die Ermittlung der Volumenprocente, wissenschaftlich nicht sicher genug basiert, andere, wie die Bestimmung des Trockenrückstandes, ergeben zwar genaue, aber sehr komplexe, von den verschiedensten Faktoren abhängige Größen, und sind daher nicht so leicht zu deuten. Jedenfalls aber stehen sie fast ohne Ausnahme nur an großen Kliniken und auch hier nur gelegentlich und zu besonderen Zwecken in Anwendung, so daß ihre Bedeutung vorläufig eine rein akademische ist. Sie verlangen auch zur Erreichung sicherer Resultate zumeist eine so große Blutmenge, wie sie nur ausnahmsweise entnommen werden kann. Ich habe daher in meinen Ausführungen auf alle diese Methoden weniger Rücksicht genommen, zumal sie auch in den Lehrbüchern der physikalischen Untersuchungsmethoden, z. B. in dem vortreff-

lichen Werke von SAHLI, die beste Darstellung gefunden haben.

Dagegen scheinen mir die anatomischen, embryologischen und pathologisch histologischen Studien zur Erklärung vieler Probleme der Hämatologie noch lange nicht genug verwertet zu sein. Ich lege in fast allen prinzipiellen Fragen auf derartige Studien der Organe und ihrer Funktionen neben den histologischen Blutbildern ein Hauptgewicht und mit großer Dankbarkeit gedenke ich meines früheren Lehrers und Chefs, Prof. Dr. RIBBERT in Bonn, früher in Zürich, dem ich das tiefere Verständnis dieses Forschungsgebietes verdanke.

Die Darstellung der Technik hat die ihr gebührende Berücksichtigung gefunden. Einen breiteren Raum wollte ich dafür, im Interesse der eingehenden Erörterungen über die prinzipiellen, histologischen und histiogenetischen Verhältnisse, nicht opfern, und ich bin der Ansicht, daß eine genügende Technik bald erreicht ist, daß aber nicht sowohl breite Darstellungen, als die fortwährende Übung und Anwendung die Fortschritte zeitigen. Zum Studium einer genauen Technik verweise ich auf das vorzügliche Werk von TÜRK: Vorlesungen über klinische Hämatologie, Wien 1904.

Die Literatur, deren Archive ich seit 8 Jahren systematisch durchgearbeitet habe, ist in weitgehender Weise verwertet worden. Gerade in den modernen Streitfragen suchte ich dem Leser die Wege zu zeigen, auf denen er weitere Erörterungen findet. Dabei ist auch die ausländische Literatur herangezogen worden. Immerhin habe ich viele Hunderte im Original durchgesehener Arbeiten, die mir weniger wichtig erschienen, des Raumes wegen unterdrückt. Viele eigene neue und bisher nicht publizierte Studien sind in die Darstellung hinein verflochten, und ich wage zu hoffen, daß auch den Fachleuten dadurch das Werk Interesse erregen werde.

Zürich, Dezember 1907.

O. Naegeli

Vorrede zur zweiten Auflage

Das vorliegende Werk hat in seiner ersten Auflage eine sehr gute Aufnahme gefunden. Schon innerhalb des ersten Jahres sind 1100 Exemplare abgesetzt worden, und nur die große Auflage, sowie namentlich die Beschäftigung mit anderen medizinischen Problemen haben mich verhindert, bereits früher an die Neubearbeitung des Gebietes heranzutreten.

Nicht verschweigen will ich, daß meinen auf EHRLICH schem Boden stehenden Ansichten auch manche Opposition erwachsen ist. Das erscheint bei dem heftigen Kampf der Ansichten über eine große Zahl von Grundfragen als selbstverständlich.

Ich habe mich auch in der Neubearbeitung bemüht, gegnerische Auffassungen, so viel es der Raum gestattete, zum Worte kommen zu lassen, und der Darstellung eine weitgehende Objektivität einzuprägen. Dennoch muß nach meiner Auffassung die eigene persönliche Ansicht beständig die Leitung übernehmen, wenn das Buch einen Wert beanspruchen darf. So verlangen ja z. B. selbst heute Werke von referierendem Charakter, wie die Ergebnisse der innern Medizin und Kinderheilkunde, von den Autoren eine Darstellung nach persönlicher Auffassung.

Der zweiten Auflage sind eine außerordentlich große Zahl von eigenen klinischen Beobachtungen und histologischen Untersuchungen zugrunde gelegt. Rein äußerlich zeigt sich das schon in der Vermehrung der Tafeln und des Inhaltes. Desgleichen hat die Literatur, deren Strom auf diesem Gebiete mit unverminderter Kraft daherfließt, eine sehr starke Berücksichtigung gefunden. Für einen Teil der fremdsprachigen Erscheinungen war das nur möglich durch die ausgezeichneten Referate der *Folia haematologica*, was ich gerne anerkenne; denn schon heute wäre

es niemandem mehr möglich, selbst auf diesem beschränkten Gebiete alles in Originalen einzusehen.

Vor allem ist in der Neuauflage die eingehendste Darstellung der Morphologie zur Geltung gekommen und wie ich annehmen zu dürfen glaube, in einem Umfang, den keine andere Bearbeitung dieses Gebietes erreicht. Es erschien mir eine so weit gehende Berücksichtigung morphologischer Fragen durchaus nötig, geben sie uns doch die Basis für die Auffassung und Kritik vieler klinischer Verhältnisse.

Ich hoffe, daß meine stetige und intensive Beschäftigung mit den Naturwissenschaften, speziell mit systematischer Botanik, mich in der Beobachtung und ganz besonders in der Bewertung morphologischer Befunde gefördert hat; handelt es sich doch in der Histologie wie in den Naturwissenschaften um die gleichen Prinzipien, um die Abstraktion allgemeiner Gesichtspunkte aus der Vielheit und Variation der äußeren Formen.

Gleichwohl sind aber auch die physikalischen Methoden sehr stark berücksichtigt worden, so beispielsweise die Viskosimetrie, der ich in Verbindung mit der Morphologie einen wichtigen Platz in der klinischen Blutuntersuchung vindiziere.

Im wesentlichen sind es aber auch in der Neuauflage biologisch-klinische Gesichtspunkte, welche auf der Basis eingehendster Morphologie in inniger Verbindung mit pathologischer Anatomie und in Berücksichtigung experimenteller und embryologischer Forschungen den Grundplan dieses Werkes gelegt haben.

Trotz aller Hochschätzung der Morphologie erscheint es mir zweifellos, daß in vielen hier erörterten Problemen die reine morphologische Untersuchung nicht zu sichern Ergebnissen führt, da ja verschiedene Forscher bei gleichen oder doch wenig abweichenden Befunden zu ganz verschiedenen Deutungen und Schlüssen kommen. Da verlangt die klinisch-biologische Forschungsrichtung mit Recht ihre volle Gleichwertigkeit und vermag manche Probleme

einer Lösung näher zu führen, wenn die reine Morphologie uns kein unzweideutiges Ergebnis bietet.

Die stärksten Erweiterungen betreffen den ersten Teil meines Werkes (Untersuchungsmethoden und Histologie), während die klinische Darstellung der Blutkrankheiten keine größeren Änderungen erfordert hat, zumal schon in der ersten Auflage die Kapitel Leukämie und Pseudoleukämie völlig in der heute wohl allgemein anerkannten Auffassung als Systemaffektionen niedergelegt worden sind.

Meinem Freunde, Prof. Dr. ERICH MEYER in Straßburg, verdanke ich die Darstellung des Kapitels der paroxysmalen Hämoglobinurie, auf welchem Gebiete er mit eigenen Forschungen, unser Verständnis des Leidens fördernd, eingegriffen hat.

Ich hoffe, daß auch diese neue Auflage in manchen Fragen der Hämatologie Anregung und Aufklärung bringt und zu der Erweiterung unseres Wissens beiträgt.

Zürich, Oktober 1911.

O. Naegeli

Inhalt

	Seite
Vorwort zur ersten Auflage	V
Vorwort zur zweiten Auflage	VIII
Einleitung	I
I. Überblick auf die Entwicklung der Hämatologie	I
II. Umfang und Ziele der heutigen Blutforschungen	2
Technik der Blutuntersuchungen	
1. Die Blutentnahme	6
2. Die Herstellung ungefärbter Präparate, Nativpräparate	8
Beurteilung der Leukocytenzahl und der Menge und Art der Blutzellen	8
3. Färbungen	10
a) Blutaussstrichpräparate	10
Natur der Färbungen. Singuläre, panoptische Färbungen	10
Prinzipien der Färbungen	10
Herstellung gefärbter Präparate	11
Fixationen	12
Wahl der Färbung. Übersicht über die geeignetsten Färbungen für spezielle Zwecke	14
Vornahme der Färbungen	16
Reine Methylenblaufärbung	17
Reine Eosinfärbungen	18
Eosin-Methylenblaufärbungen	18
Methode nach v. MÜLLERN	18
Jenner-, May-Grünwaldfärbung (Eosinsaures Methylenblau)	19
Eosin-Hämatoxylinfärbungen	21
Triazidfärbung	22
Giemsafärbung	23
— Agar-Osmiummethode für Giemsafärbung	26
— Neuere Modifikationen und Kombinationen der Giemsafärbung	27
Leishmanfärbung	28
Karbopyronin-Methylgrünfärbung	29
Dahliafärbung	29
Methylenblaujodfärbung nach TÜRK	30
Methoden für die Färbung der ALTMANN-SCHRIDDESchen Lymphocytengranula (Mitochondrien, Chondriokonten)	30
Sudanfärbung	32
Färbungen an Organschnitten	32
1. Triazidfärbungen nach STERNBERG, FABIAN	33
2. Färbungen mit eosinsaurem Methylenblau nach ZIELER, ASSMANN, BUTTERFIELD, FISCHER	33
3. Giemsafärbungen nach GIEMSA, SCHRIDDE	35
Literatur über Blutfärbungen	36

	Seite
4. Kammerfärbungen nach ZOLLIKOFER, RIEBES, TÜRK	36
5. Vitalfärbungen	38
6. Die Zählung der Blutzellen	41
a) Erythrocytenzählung	41
b) Die Zählung der Leukocyten	46
c) Zählung der Blutplättchen	49
d) Zählung der Leukocytenarten in gefärbten Trockenpräparaten	50
7. Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes	51
Nach TALLQVIST, nach SAHLI-GOWERS	53, 54
Hämometer von SAHLI	55
Das FLEISCHLsche Hämometer	59
Das FLEISCHL-MIESCHERSche Hämometer	59
Das Kolbenkeilhämometer von PLESCH	61
Das Hämometer von HALDANE	63
Das Hämokolorimeter	63
Das Hämatospektrophotometer	63
Die kolorimetrische Doppelpipette	63

Andere physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden des Blutes

Allgemeine Vorbemerkungen	63
Bestimmung des spezifischen Gewichtes	65
a) des Gesamtblutes	65
b) des Serums	67
Gewinnung von Plasma und Serum. Untersuchungen des Serums	68
Bestimmung des Trockenrückstandes	69
Bestimmung des Eiweißes	71
Bestimmung des Eisens	72
Permeabilität und Resistenz der roten Blutkörperchen	74
Technik der Resistenzbestimmung	74
Osmotischer Druck des Blutes	77
Volumenprocente	78
Die Bestimmung der Gerinnungszeit	81
Alkaleszenzbestimmungen des Blutes	83
Die Bestimmung der Gesamtblutmenge	84
Sauerstoffzehrung des Blutes	87
Die Jodreaktion des Blutes und der Leukocyten	88
Die Guajakreaktion des Blutes und der Leukocyten	93
Die Indophenolblausynthese	94
Die Viskosität des Blutes	97

Die roten Blutkörperchen (R.)

1. Physiologische Verhältnisse	112
Allgemeine Verhältnisse	112
Neuere Ansichten über den Bau der R.	113
Funktion. Zahl. Farbeindex	116
Untergang	117
Physiologische Schwankungen	118
Die Erythroblasten und die Bildung der R. im postfötalen Leben	119
Normoblasten und Megaloblasten	120
Entkernung	123

	Seite
Embryonale Blutbildung	125
Vergleichende Anatomie und Embryologie der R.-Bildung	128
Ursprung der roten Blutkörperchen	129
Abweichende Ansichten über Erythropoëse	131
2. Pathologische Verhältnisse	133
Abnorme Werte der R. in der Raumeinheit	133
Abnahme des Hämoglobingehaltes	134
Färbeindex	135
Größen- und Gestaltveränderungen	137
Anisocytose. Makrocyten. Megalocyten	137
Poikilocytose	139
Kernhaltige rote Blutkörperchen	140
Artefakte und Nekrobiosen	142
Veränderungen bei Vitalfärbungen	143
Veränderungen der Tinktionsverhältnisse	144
Anisochromie	144
Polychromasie	145
Basophil reagierende Substanzen im Erythrocytenplasma	148
1. Kernbröckel	149
2. Eigenartige Kernabschnürungen an Megaloblasten	149
3. Howell-Jollykörper	150
4. Chromatinstäubchen	151
5. Ringkörper	151
6. Rote basophile Punktierung bei Giemsa-Färbung	153
7. Rote Strichelung und Fleckung bei Giemsa-Färbung	153
8. Basophile Punktierung	154
— Vorkommen	155
— Genese der basophilen Punktierung	159
— Nachweis des regenerativen Charakters	163
— Literatur	166
Pathologisches Wiederauftreten der Erythropoëse in Leber, Milz und Lymphdrüsen	167
Die weißen Blutkörperchen, Leukocyten	
Die Lymphocyten (<i>L.</i>)	173
„Große mononukleäre Zellen“ und „Übergangsformen“	180
Die neutrophilen polymorphkernigen Leukocyten (<i>N.</i>)	196
Die eosinophilen Zellen (<i>Eos.</i>)	199
Die Mastzellen (<i>Ma.</i>)	210
Pathologisch im Blute auftretende Leukocyten	215
Myelocyten	216
Myeloblasten (ungranulierte myeloische Zellen)	219
Pathologische Lymphocyten	227
Plasmazellen	228
Reizungsformen	229
Megakaryocyten	230
Kriterien der Jugend und des Alters der Leukocyten	230
Abnormitäten des normalen Blutleukocyten	233
(ARNETHsche Lehre)	
Spezifität der Leukocyten	237
Die Bildung der Leukocyten	241

Das Blut der Embryonen. Embryonale Leukopoëse	Seite 243
Vergleichende Anatomie und Histologie der Leukocyten und der Leukopoëse	250
Pathologische Leukopoëse der Organe	254
Die vitalen Phenomene und die Funktionen der Leukocyten	261
Untergang der Leukocyten	267

Das Knochenmark als Organ

Die Leukocytose	276
Therapeutische Anwendung der Leukocytose	284
Verschiedene Arten der Leukocytose	285
1. Physiologische Leukocytosen	285
Die Verdauungsleukocytose	285
Die Graviditätsleukocytose	288
Die Leukocytose der Neugeborenen	290
Die Leukocytose nach körperlichen Anstrengungen und thermischen Reizen	291
2. Pathologische Leukocytosen	294
Die Leukocytose bei Infektionskrankheiten	294
Die Leukocytose bei Intoxikationen (Toxische Leukocytose)	298
Die Leukocytose bei Blutungen (posthämorrhagische Leukocytose)	298
Die Leukocytose bei malignen Tumoren	299
Die Leukocytose bei Kachexien	300
Die Leukocytose der Agone	300
Die Leukocytenschwankungen in der experimentellen Pathologie u. bei Röntgen- bestrahlung	300
Die Leukopenie oder Hypoleukocytose	304
Die Lymphknoten und das lymphatische System als Gewebe	306
Die Milz als Organ	310
Histioide Leukocyten	313
Die prinzipielle Trennung der lymphatischen und myeloischen Leukocyten	318
Abstammung der Blutzellen	335
Stammbäume anderer Autoren	337
Nomenklatur	339

Die Blutplättchen

Die Blutplättchen	342
Die Blutstäubchen	351

Die Anämien

Allgemeines	354
Vorgetäuschte Anämien	362
Einteilung der Anämien	363
Beziehungen der Anämien zur Leukopoëse	365
Die posthämorrhagische Anämie	366
Experimentelle Anämien	369
Aplastische Anämien	370
Hämolytische Anämien und hämolytischer Ikterus	373
Die Chlorose	376
Die perniziöse Anämie	401
Die Anaemia pseudoleukaemia infantum	449
Anämien des Kindesalters	455
Leukanämie	458

Die Leukämien		Seite
Allgemeines		462
Die chronische lymphatische Leukämie		467
Die akute lymphatische Leukämie		477
Histogenese und Wesen der lymphatischen Leukämie		490
Das lymphatische Chlorom, Chloroleukämie		499
Plasmazellenleukämie		503
Die chronisch myeloische Leukämie		504
Die akute myeloische Leukämie		529
Myeloisches Chlorom, myeloische Chloroleukämie		536
Atypische Leukämien		540
Scheinbare Übergänge von Blutkrankheiten in Leukämie		542
Wesen der myeloischen Leukämie		546
Leukämie bei Tieren		549

Der Symptomenkomplex Pseudoleukämie

Allgemeines und Einteilung	551
Aleukämische Lymphadenosen	558
Die Lymphosarkomatose	563
Das maligne Granulom	569
Das tuberkulöse Granulom	578
Dasluetische Granulom	580
Die Megalosplenien und die Bantische Krankheit	581
Splenomegalie Typ Gaucher	589

Anhang.

Das Myelom	591
Die Krankheit Polyglobulie	596
Polyglobulie unter anderen Verhältnissen	604
Polyglobulie im Höhenklima	608
Hämorrhagische Diathesen	613
Skorbut	616
Hämophilie	617

Infektionskrankheiten

Allgemeines	619
Pneumonia crouposa	620
Typhus abdominalis	625
Typhus exanthematicus	635
Diphtherie	636
Scarlatina	637
Morbilli	640
Rubeolae	642
Erysipelas	643
Varicellen	643
Variola	644
Influenza	646
Parotitis epidemica	647
Tetanus	647
Lyssa	647

	Seite
Anthrax	647
Actinomycosis	647
Cholera	648
Maltafieber	648
Dengue	648
Trypanosomiasis	648
Febris recurrens	649
Polyarthritis acuta	649
Sepsis	650
Eiterungen	652
Gynäkologische Affektionen mit Eiterungen	656
Leberabszeß	658
Eiterige Meningitis und Genickstarre	659
Tuberkulose	660
Lepra	666
Syphilis	667
Pertussis	670
Malaria	671

Helminthiasis

Ankylostomum duodenale	677
Botriocephalus latus	678
Tänien	680
Trichocephalus dispar	681
Ascaris lumbricoides und Oxyuris vermicularis	682
Anguillula stercoralis und intestinalis	682
Distomum haematobium, Bilharzia	682
Filaria sanguinis	683
Trichinosis	683
Echinokokkus	685

Maligne Tumoren

Maligne Tumoren	686
---------------------------	-----

Vergiftungen und Blutgifte

Vergiftungen und Blutgifte	694
Bleivergiftung	695
Paroxysmale Hämoglobinurie	702
Anhang. Blutveränderungen bei Erkrankungen der Schilddrüse	707
Sachregister	710

Einleitung.

I. Überblick auf die Entwicklung der Hämatologie.

Das Blut ist zu allen Zeiten und in allen Zonen stets als etwas besonders Wichtiges angesehen worden. In zahllosen Sprichwörtern und Sentenzen kommt denn auch diese Auffassung zum Ausdruck. Schon ARISTOTELES, der am bebrüteten Vogelei die rhythmischen Bewegungen der ersten Herzanlage beobachtete, erschien dieses Punctum saliens als Urquell des Lebens, ja direkt als die Seele selbst.

LEEUWENHOEK in Delft entdeckte 1673 die roten Blutkörperchen und die Lymphocyten in den Lymphgefäßen; erst später fand HEWSON auch im Blute die Leukocyten.

Noch in der Krasentheorie von ROKITANSKY spielte, wie ganz selbstverständlich auch in den früheren nosologischen Systemen, das Blut eine wichtige Rolle. Wenn auch VIRCHOW mit der Zellulärpathologie zwar alle diese Spekulationen zerstörte, so wußte er doch andererseits durch die Entdeckung der Leukämie (1845) als einer spezifischen Erkrankung der blutbildenden Organe das Interesse neuerdings dem Blute zu erhalten. MAX SCHULTZE und VIRCHOW unterschieden bereits Lymphocyten und größere Leukocyten. Es wurde jetzt der Begriff der Leukocytose geprägt und in Gegensatz zu Leukämie gebracht.

Im Jahre 1868 erkannte BIERMER in Zürich die progressive perniziöse Anämie als eine besondere Krankheit des Blutes, und zeichnete ihre Symptome mit klassischer Schärfe, so daß fortan die Diagnose dieser Affektion mit großer Sicherheit gestellt werden konnte. Ins gleiche Jahr fällt die epochemachende Entdeckung von NEUMANN in Königsberg, daß das rote Knochenmark die Bildungsstätte der roten Blutzellen beim erwachsenen Menschen darstellt, und bald entstand auch die Gewißheit, daß kein anderes Organ jenseits der embryonalen Epoche diese lebenswichtigen Zellen zu erzeugen vermag. Die fötalen Blutbildungsstätten dagegen waren schon 1845 durch KOELLIKER in Zürich bekannt geworden.

Schon 1870 entdeckte NEUMANN auch die Bedeutung des Knochenmarkes für die Genese der Leukämie und später verfocht er immer entschiedener die Auffassung, daß jede Leukämie myelogener Genese sei.

Ende der 70er Jahre kamen die ersten Zählapparate für rote und weiße Blutkörperchen in Anwendung und gestatteten, den Wert der Blutbefunde über bloße Schätzungen hinaus zu erheben. Bald gelang auch die Bestimmung der Hämoglobinmenge, wenn freilich wirklich zuverlässige Methoden auf diesem Gebiete noch lange einen sehr fühlbaren Mangel bedeuteten. In den 80er Jahren schuf EHRLICH in genialer Weise das stolze Gebäude der Blutmorphologie durch seine farbenanalytischen Untersuchungen. Er lernte uns fast alle heute bekannten Arten und Veränderungen der roten und weißen Blutkörperchen kennen, so die Megaloblasten, die Myelocyten und die nach der Art der Granulation voneinander abweichenden Leukocyten. Er baute die ganze Lehre von der Spezifität und der Funktion der Granula auf und begann, die neu gewonnenen Kenntnisse für die Klinik nutzbar zu machen. Seither ist denn auch besonders diese Richtung mit der größten Ausdauer verfolgt worden und hat auch zu einer schönen Anzahl diagnostisch und prognostisch wichtiger Resultate geführt.

In den letzten Jahren hat viele Autoren die Cytogenese der Blutzellen, die Spezifität der verschiedenen Arten, die Entstehung der verschiedenen Blutveränderungen und die Funktion der Zellen beschäftigt. Hier bestehen auch heute noch die größten Kontroversen, und dürfte eine Einigung immer noch weit entfernt sein. Natürlich sind gerade diese Fragen wegen ihrer großen prinzipiellen Bedeutung von dem hervorragendsten Interesse.

II. Umfang und Ziele der heutigen Blutforschungen.

Man kann auf dem Gebiete der Blutuntersuchungen heute drei große Forschungsrichtungen unterscheiden, die bakteriologisch-serologische, die physikalisch-chemische und die histologische, welche letztere, von biologischen Gesichtspunkten mehr und mehr geleitet, schon besser eine morphologisch-biologische genannt zu werden verdient.

Die bakteriologischen Untersuchungen erstreben den Nachweis der Infektionserreger oder ihrer Toxine, Antitoxine, Agglutine usw. im Blute. Sie liefern der Klinik die allerwertvollsten und zugleich häufig auch die absolut beweisenden Befunde. Diese Forschungsrichtung hat bereits eine volle Selbständigkeit entsprechend ihrer hohen Bedeutung gewonnen. Niemand wird heute noch in einem Lehrbuch der Blutkrankheiten und der Blutmorphologie Angaben über die spezielle bakteriologische Technik und deren Resultate suchen, und ich vermag, angesichts der vorliegenden speziellen Werke auf diesem Gebiete, die Notwendigkeit nicht einzusehen, irgend welche Angaben darüber in meine Ausführungen hineinzubringen.

Die physikalisch-chemische Forschungsrichtung beschäftigt sich mit dem Nachweis physikalischer oder chemischer Veränderungen des Blutes. Sie studiert die Volumenverhältnisse des Blutplasmas und der Blutkörperchen, die quantitative chemische Zusammensetzung, z. B. den Gehalt an Eiweiß, Eisen und Salzen. Sie untersucht die Schwankungen des spezifischen Gewichtes, der Isotonie, des osmotischen Druckes, der Gerinnungsfähigkeit, der Klebrigkeit (Viskosität) usw.

Diese Forschungsrichtung beginnt gleichfalls mehr und mehr ihre Selbständigkeit zu erringen. Ihrer allgemeinen Anwendung steht die technische Schwierigkeit ihrer Untersuchungsmethoden und die Notwendigkeit der Benützung größerer Blutmengen im Wege, wobei außerdem die einwandfreie Blutentnahme zu den schwierigsten Problemen zählt. Auch sind die Resultate der physikalisch-chemischen Methoden selten von praktisch-diagnostischem oder prognostischem Werte oder können dann gewöhnlich auf einfacherem Wege gleichfalls erzielt werden. Eine Ausnahmestellung gegenüber all diesen Einwänden scheint mir die Viskositätsuntersuchung einzunehmen, deren Ergebnisse sehr rasch und einwandfrei gewonnen werden, wobei freilich zunächst nur eine komplexe, von zahlreichen Einzelfaktoren abhängige Größe, gewonnen wird, die sich aber zur Generalkontrolle aller Untersuchungsbefunde vortrefflich eignet. Immerhin ist, von der hohen wissenschaftlichen Bedeutung dieser Untersuchungen ganz abgesehen, auch für rein klinische Zwecke öfters eine Benützung mancher Methoden dieses Gebietes sehr wünschenswert. Auf's beste empfehle ich hier zum Studium das vortreffliche Werk von HAMBURGER, Osmotischer Druck und Ionenlehre.

Die morphologisch-biologische Forschungsrichtung erstrebt die genaueste Kenntnis aller morphologischen Verhältnisse an den korpuskulären Elementen des Blutes, deren genetische Erklärung, biologische Bedeutung und diagnostisch-prognostische Verwertung. Sie unterhält notwendigerweise die engsten Beziehungen zu den embryologischen, vergleichend anatomischen, experimentell pathologischen und pathologisch-anatomischen Forschungen. Ihre Hauptdomäne ist das Gebiet der eigentlichen Blutkrankheiten. Bei den schweren Anämien, den leukämischen Affektionen und auch bei den meisten unter dem klinischen Bilde der Pseudo-leukämie verlaufenden Erkrankungen hat heute der morphologische Blutbefund die erste Bedeutung gegenüber allen andern Untersuchungsmethoden. Alle klinische Erfahrung, alle noch so scharfsinnigen Kombinationen aus den übrigen Symptomen, können ohne eingehende Analyse des Blutes nicht zu sicheren Ergebnissen führen. So entscheidet der Blutbefund, und zwar mit Sicherheit, wie ich auf das nachdrücklichste betonen muß, ob eine schwere Anämie die BIERMERSche perniziöse Form ist oder nicht. Der

Blutbefund klassifiziert auch ein Leiden als Leukämie, ob dann der übrige klinische Befund so oder anders ausfalle.

Bei vielen Infektionskrankheiten geben genaue Leukocytenuntersuchungen, besonders wenn sie wiederholt durchgeführt werden, wertvolle Aufschlüsse. Freilich sollten sie nur differential-diagnostisch, nach der genauesten klinischen Untersuchung, und in voller Berücksichtigung des klinischen Befundes, verwertet werden. Dann aber sprechen sie oft entscheidend. Ich erinnere nur daran, mit welcher Schnelligkeit, Sicherheit und Eleganz die früher so ungemein schwierige Frage, Typhus oder Trichinosis, heute aus der Zahl der eosinophilen Zellen beantwortet wird. Ich hebe hervor, wie selbst Chirurgen heute aus der Zahl der Leukocyten die in manchen Fällen so schwierige Differentialdiagnose, Typhus oder Perityphlitis, mit Sicherheit durchführen, so daß unnötige Operationen unterbleiben. Ich weise darauf hin, wie manchmal eine latente krupöse Pneumonie, eine Eiterung, ja selbst eine Knochenmarkskarzinose und damit die Diagnose eines latenten Karzinoms, durch die morphologischen Verhältnisse des Blutes sichergestellt wird. So erfährt denn heute der Satz von keiner Seite her Widerspruch, daß **in allen diagnostisch nicht genügend klaren Fällen eine genaue Blutuntersuchung nicht unterlassen** werden soll.

Daß auch für die Therapie mitunter sehr wichtige Ergebnisse gezeitigt werden, ist schon vielfach betont worden. Dasselbe gilt für die Prognose. Wir fürchten die geringe Leukocytose bei krupöser Pneumonie; denn ein sehr hoher Prozentsatz dieser Erkrankungen endigt letal, und wir beurteilen einen Fall von klinisch schwerer Perityphlitis als ganz besonders ungünstig, ja für die Operation als durchaus kontraindiziert (FEDERMANN, SONNENBURG), wenn eine abnorm niedrige Leukocytenzahl vorliegt.

Dies führt mich zur biologischen Bedeutung des Blutbefundes. Die Zellen, die wir im Blute finden, sind das Produkt einer Organtätigkeit, das Ergebnis der Funktion der blutbildenden Gewebe, also des Knochenmarkes und des lymphatischen Systems. Wenn wir unreifen Gebilden (kernhaltige rote, Myelocyten usw.) in der Peripherie begegnen, so liegt sicher eine gewisse Funktionsstörung vor. Wenn wir aber bei krupöser Pneumonie in dem einen Falle eine hochgradige Leukocytose und in dem anderen, gewöhnlich letalen Fall, sogar eine Verminderung der weißen Zellen beobachten, so müssen wir unbedingt histologisch von Hyperfunktion und pathologischer Hypofunktion, d. h. biologisch von Suffizienz und Insuffizienz sprechen. Wir führen also die ganz verschiedenen Reaktionen, trotz Gleichheit der Infektionserreger und Gleichheit der anatomischen Verhältnisse auf die Verschiedenheit der Organtätigkeit zurück und somit, wie überall in der Physiologie und Pathologie, auf die Erscheinungen der Reizung und Lähmung der Organfunktion. Daß nur diese Auffassung richtig sein kann, darüber belehren uns eine große Zahl klinischer Befunde, und die experimentelle

Pathologie liefert die direkten Beweise: Geringe Toxinmenge: mäßige Reaktion, stärkere Toxinmenge: hochgradige Leukocytose, sehr große Dosis: von vornherein Fehlen aller Reaktion.

Diese Auffassung¹ muß meines Erachtens noch weit mehr als bisher die Deutung der Blutbefunde leiten und beherrschen. Wenn ich also in zwei Worten sagen soll, worin die Prinzipien der morphologischen Blutuntersuchungen bestehen, so sind es die **Grundsätze der Funktionsdiagnostik** und die **innigste Verbindung der Morphologie mit biologischen Gesichtspunkten**.

¹ Siehe NÄGELI, Die Prinzipien der morphologischen Blutuntersuchungen. Korresp.-Bl. f. Schweizer Ärzte. 1905. Nr. 24.

Technik der Blutuntersuchungen.

Die Blutentnahme.

Allgemeine Vorbemerkungen. Eine richtige Blutentnahme ist ein sehr wichtiger Punkt für genaue Untersuchungen. Es läßt sich sofort zeigen, daß die Hauptfehler bei nacheinander vorgenommenen und nicht übereinstimmenden Ergebnissen von Hämoglobin- oder Erythrocytenbestimmungen nicht durch die Instrumente, sondern durch die Blutentnahme bedingt sind. Der geringste Druck auf die Stichwunde bringt gestautes Blut mit mehr roten Blutkörperchen und mehr Hämoglobin zum Vorschein, wie dies am raschesten durch die erhöhte Viskosität des Blutropfens bewiesen wird.

Erst wenn fast kein Blut mehr ausfließt, tritt der andere Fall ein, daß auf Pressen mit Plasma vermengtes Blut zum Vorschein kommt und die Werte für Erythrocyten, Hämoglobin, Viskosität usw. sinken.

Für jede genauere, nicht bloß orientierende Untersuchung ist die Verabreichung eines warmen Handbades und nachfolgendes tüchtiges Abreiben und Trocknen bis zur Erzeugung einer aktiven Hyperämie notwendig. Jetzt fließt das Blut viel besser aus der kleinen Stichwunde und seine Zusammensetzung ist eine ganz gleichmäßige. Das zeigen die konstanten Ergebnisse bei verschiedenen Einstichen an mehreren Fingern und die genau übereinstimmenden Viskositätswerte, während ohne Handbad erhebliche Schwankungen bemerkt werden.

Selbst für eine genaue Hämoglobinuntersuchung ist diese Art der Blutentnahme die allein zulässige.

Die aktive Hyperämie durch ein kurz dauerndes warmes Handbad macht keine lokale Leukocytose und ändert gegenüber einer trägen lokalen peripherischen Blutzirkulation die Verhältnisse im Sinne der Blutzusammensetzung in den größeren Blutgefäßen.

Das Blut muß bei jeder wichtigen Untersuchung nach dem Einschnitt spontan herausquellen. Geschieht dies nicht, so ist ein tieferer Einstich nötig.

Das spontan herausfließende Blut der aktiven Hyperämie aus der Fingerkuppe nach warmem Handbad zeigt völlig konstante Zusammensetzung in bezug auf Erythrocytenzahl, Hämoglobin, Leukocyten, Viskosität des Ge-

samtblutes und des Serums, wie vergleichende Untersuchungen ergeben. Die Lymphbeimengung ist daher bei Fingerblut nach Wegwischen des ersten Tropfens konstant minimal oder wahrscheinlich null, da wegen des viel höheren Druckes in den Blutgefäßen viel eher Blut in die Lymphgefäße eindringt als daß Lymphe dem Blute sich beimischen könnte. Erst bei ganz schlechtem Ausfließen des Blutes und Auspressen vermag Lymphe auszufließen.

Die von einzelnen Autoren bevorzugte Blutentnahme am Ohrläppchen ist weit weniger einwandfrei. Die Außentemperatur beeinflusst hier sehr stark die Gefäßweite und damit die Durchströmung. Die am Ohrläppchen vorhandenen feinen Härchen können einzelne Blutelemente wie Blutplättchen und Leukocyten zurückhalten.

Für die gewöhnlichen Untersuchungen benutzt man zum Einstiche am besten scharfe Lanzetten. Besonders sind zu empfehlen Instrumente, die den Einschnitt nur bis zu einer bestimmten, gewollten Tiefe gelangen lassen, so daß einerseits der Patient nicht unnötige Schmerzen empfindet, und sich dann auch willig öfters wiederholten Untersuchungen unterzieht, und andererseits die hervorströmende Blutmenge nicht zu groß ist, was bei der Herstellung guter Präparate sich nur als hinderlich erweist. Solche Instrumente sind die FRANCKESche Nadel, bei der durch Federkraft eine schmale Lanzette rasch bis in die vorher bestimmte Tiefe eindringt. Ähnliche Instrumente, aber ohne Verwendung von Federn, die indessen doch Garantie für eine bestimmte Stichtiefe geben, sind von SAHLI¹ und TÜRK² konstruiert worden und sehr zu empfehlen.

Falls nicht, wie oben empfohlen, der Blutentnahme ein warmes Handbad vorausgeschickt worden ist, sollte eine kurze Ätherreinigung der Fingerkuppe vorgenommen werden.

Infektionen der kleinen Stichwunde kommen nie vor. Unter unzähligen Blutentnahmen habe ich noch nie die geringste Rötung der Stichwunde erlebt. Nach Gewinnung des nötigen Blutes verklebt die Stichwunde rasch, und nur selten ist es nötig, eine leichte Kompression anzuwenden. Ein Verband ist, seltene Fälle abgerechnet, durchaus überflüssig.

Zur Gewinnung größerer Blutmengen, namentlich für physiologisch-chemische Zwecke, ist die Venenpunktion die einzig zulässige Methode. Größere Einschnitte in die Haut genügen nur selten und sind zu verwerfen. Ganz unbrauchbar wegen Gewebsplasmabeimischung ist das Blut



Fig. 1.
FRANCKESche Nadel.

¹ Erhältlich bei Optiker Büchi in Bern.

² Bei Reiner od. Hayek, Wien IX./3.

aus Schröpfköpfen. Die Venenpunktion wird nach der allgemein üblichen Technik, natürlich unter strenger Asepsis, vorgenommen. Dabei ist leider ein gewisser Grad von Stauung unvermeidbar. Nun zeigen aber die Angaben von ZUNTZ und SAHLI, daß die Zusammensetzung des gestauten Blutes, namentlich in seinem Gehalt an festen Bestandteilen und Wasser, rasch in hohem Grade verändert wird. Man kann sich denken, wie oft frühere Untersucher mit diesen angeblich so exakten Volumenprozent- oder Trockenrückstandbestimmungen die Opfer schwerer Täuschungen geworden sind!

Es ist also unbedingt nötig, nach Einführung der Kanüle die Stauung durch Weglassen der Aderlaßbinde wieder aufzuheben.

Allein auch so sind die Ergebnisse nie ganz einwandfrei, weil fast immer das Blut nach Weglassen der Binde nicht mehr oder nur noch schlecht fließt und man doch wieder stauen muß.

Sehr zahlreiche von HESS vorgenommene vergleichende Untersuchungen ergaben, daß durch Venenpunktion ein konstanter Viskositätswert des Blutes, mithin eine gleichmäßige Zusammensetzung des Blutes an Erythrocyten + Hämoglobin + Plasma + usw. nie erzielt wird, während dies durch Einstich in die Fingerkuppe nach warmem Wasserbad so überaus leicht gelingt.

Es haften daher allen Blutuntersuchungen des durch Venenpunktion gewonnenen Blutes unkontrollierbare und nicht unerhebliche Fehler an!

Wollen derartige Untersuchungen Anspruch auf Zuverlässigkeit erheben, so müßte der Autor jede Analyse mehrfach vornehmen und die völlige Übereinstimmung der Einzelwerte nachweisen.

Besonders große Schwierigkeiten bietet die Blutentnahme bei Tieren, wie jeder bei eigenen Untersuchungen bald herausfinden wird. Auf die vielen Fehlermöglichkeiten haben besonders KLIENEGER und CARL hingewiesen: Zentralbl. f. innere Med. 1910, Nr. 24.

Die Herstellung ungefärbter Präparate (Nativpräparate).

Abbildung des ungefärbten Präparates Tafel VI oben links.

Die ungefärbten Präparate haben einen großen Wert und dürfen durchaus nicht zugunsten der Trockenpräparate vernachlässigt werden.

Der hervorquellende Blutropfen wird mit der Unterseite eines vorher in Äther und Alkohol gereinigten Deckgläschens in Berührung gebracht und sodann auf einen sauberen Objektträger gelegt.

Das Deckgläschen kann gewöhnlich an einer Ecke mit den Fingerkuppen gefaßt werden. Wenn diese aber durch Wasserausdunstung einen Beschlag erzeugen, muß eine Pinzette gebraucht werden. Das Deckgläschen soll rasch mit dem Blutropfen beschickt werden. Auch so kommt es oft vor, daß es sich durch die Wasserverdunstung der Haut des Patienten beschlägt, indessen verschwindet der Beschlag schnell wieder, wenn man nach-

her einen Augenblick zuwartet. Jetzt wird das Blut so auf den Objektträger gelegt, daß es ohne Druck nur durch Kapillarität sich gleichmäßig kreisförmig ausbreitet.

Es empfiehlt sich ein dünneres und ein dickeres Nativpräparat anzufertigen. Im ersteren sollen die Blutkörperchen isoliert, im letzteren in Geldrollen sich zeigen. Je nach der Größe des verwendeten Bluttropfens läßt sich ein dünneres oder dickeres Präparat erzielen.

Im Nativpräparat erkennt man die Größe und Gestalt der Erythrocyten, erhält sehr rasch Aufschluß, ob die Zahl der Leukocyten normal, erheblich vermehrt oder vermindert ist. Der Geübte vermag sogar den Grad der Verminderung sehr gut zu taxieren, ebenso mäßige Vermehrungen. Dazu muß das Präparat nach allen Richtungen durchforscht werden. Niemals aber darf man, wie das so häufig geschieht, die Beurteilung nach einer fixen Zahl, etwa drei Leukocyten im Gesichtsfeld bei mittelstarker Vergrößerung, vornehmen. Es ist ja leicht einzusehen, daß diese Zahl ganz anders in dicken als in dünnen Präparaten ausfallen muß. Man kann also nur Schätzungen nach der Häufigkeit der Leukocyten im Verhältnis zur Erythrocytenmenge wagen. Das ist Sache der Übung und Erfahrung. Wenn gar die Zahl der roten Blutkörperchen nicht annähernd normal ist, dann werden diese Schätzungen unsicher. Man kommt leicht in Versuchung, eine Leukocytose anzunehmen, die eben nur scheinbar ist und durch die einseitige Abnahme der Erythrocyten vorgetäuscht wird.

Im ungefärbten Präparat erkennt man bereits die verschiedenen Leukocytenarten. (Siehe Tafel VI, oben links.)

Am auffälligsten und sofort erkennbar sind die eosinophilen Zellen, deren Körnchen wie Fett glänzen und groß sind. (Zelle 109.)

Die neutrophilen Granula sind sehr leicht zu unterscheiden als viel feinere Körnchen ohne Glanz und finden sich in den gewöhnlich vorherrschenden Zellen. (Zelle 111.)

Die Lymphocyten erkennt man an ihrer geringen Größe und dem relativ bedeutenden, die Zelle fast ganz erfüllenden, runden oder ovalen Kern. Im Protoplasmaraum kann man eine undeutlich granuläre Beschaffenheit oft wahrnehmen. (Zelle 110.)

Die großen Mononukleären und Übergangsformen verraten sich durch die erhebliche Zellgröße und, wenigstens die Übergangsformen, auch durch den polymorphen Kern. Im Protoplasma sieht man ebenfalls auf deutlichste eine Art feiner Granulation.

Die Mastzellen, gewöhnlich ein sehr geringer Bruchteil der vorhandenen Leukocyten, sind relativ klein, haben große, nicht lichtbrechende Granula.

Nach einiger Übung unterscheidet man also alle Leukocytenarten und vermag ganz gut sich ein Bild über die gegenseitigen Mengenverhältnisse zu machen. So wird z. B. eine Eosinophilie, eine Lymphocytose oder eine

Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Zellen sehr rasch bemerkbar werden.

An den roten Zellen kann man speziell im Nativpräparate die Poikilocytose und Anisocytose wahrnehmen. Auch ist wohl ganz rasch zu erkennen, ob der Hämoglobingehalt der Scheiben ein guter oder ein schlechter ist. Nach etwa 5—10 Minuten zeigen sich die Fibrinfäden (Tafel VI, oben links), die sich regelmäßig an kleine Plättchenhaufen anschließen. Bei exsudativ-entzündlichen Prozessen werden die Fibrinsterne bald sehr zahlreich und sehr groß. In andern Erkrankungen besteht Fibrinmangel (Hypinose).

Sodann sieht man im Blutpräparat die Blutplättchen als kleine, matt grauliche, rundliche Körperchen, die oft traubenartig zusammenhängen und bald miteinander verschmelzen, und schließlich auch die Blutstäubchen, welche im Gesichtsfeld eigenartig tanzende Bewegungen ausführen.

Endlich gewinnt man einen Einblick darüber, ob eine wesentliche Polyplasmie oder Hydrämie des Blutes besteht. Diese ist sicher anzunehmen, wenn die Zellen auch bei Benützung größerer Blutropfen abnorm weit auseinander liegen oder wenn die Plasmaräume zwischen den Geldrollen der Erythrocyten viel beträchtlicher als in der Norm ausfallen.

Man kann also dem Nativpräparate mit einiger Übung außerordentlich viel entnehmen. Schon wegen der nur hier darstellbaren Verhältnisse des Fibrins, die eine erhebliche Bedeutung besitzen, sollte dieses Präparat stets hergestellt werden. — Besonders empfehlenswert für gewisse Verhältnisse wie amöboide Beweglichkeit ist auch die Untersuchung auf dem heizbaren Objektisch.

Färbungen.

Durch die verschiedene Affinität der einzelnen Zellbestandteile gegenüber Farbstoffen erzielt man bei den Blutuntersuchungen wie in der Histologie sehr feine Differenzierungen. Diese Affinität beruht wohl zum größten Teil auf chemischen und wohl nur zum kleinen Teil auf physikalischen Unterschieden. So verhält sich der Kern, der im wesentlichen aus Nukleinsäure besteht, ausnahmslos basophil, d. h. er bindet die basischen Farbstoffe, ist mithin selbst ein saurer Zellbestandteil. Immerhin erfolgen die meisten Färbungen nicht wie reine chemische Prozesse, und es kommt sehr darauf an, wie Fixation und Färbung vorgenommen wird. So geht z. B. die Affinität des Lymphocytenkernes gegenüber dem stark basischen Methylenblau bei höherer Hitzefixation verloren, und die Farbnuance der azidophilen Granulation wie der neutrophilen kann nicht unwesentlich verändert werden. Auch ist es keineswegs gleichgültig, welche Lösungsmittel für die Farbstoffe verwendet worden sind. Es darf daher durchaus nicht wundernehmen, wenn die gleiche Granulation bei verschiedener Fixation und verschiedener Färbung nicht im gleichen Farbenton sich präsentiert. Es spricht das an sich nicht

gegen die Einheitlichkeit der Art der Körnelung, sondern nur für die Möglichkeit einer Umprägung der Farbenaffinität unter heterogenen Verhältnissen.

Bei der Färbung mit einem einzigen Farbstoff nehmen diejenigen Zellbestandteile, die eine sehr große chemische Affinität zu dem dargebotenen Körper besitzen, diesen in intensiver Weise auf. So färben sich Kerne und basophile Granula mit basischen Reagenzien und eosinophile Körner mit sauren außerordentlich stark. Oft kommt es aber zu einer leichten Überfärbung auch anderer Substanzen. Dies letztere unerwünschte Ereignis kann bei kurzdauernder Färbung, starker Verdünnung der Lösung und sorgfältiger Auswaschung ganz oder nahezu vermieden werden, so daß für gewisse Zwecke (z. B. für reine Kernfärbungen, basophile Körner der Erythrocyten, Polychromasie) die singuläre Färbung weitaus die geeignetste ist.

Übersichtlicher, panoptischer indessen gestalten sich die Bilder, wenn gleichzeitig basische und saure oder gar außerdem noch neutrale Farbstoffe angeboten werden. Dies kann in sukzedaner oder zuverlässiger in simultaner Färbung geschehen. Alsdann geht jeder Zellbestandteil elektiv diejenige Bindung ein, die durch seine chemische Natur, zum Teil auch durch sein physikalisches Verhalten bedingt ist. Es kommt aber auch vor, daß Gebilde mit azidophilem und gleichzeitig auch basophilem Charakter vorhanden sind. Sie färben sich dann in einem Mischtone. Selbst unter den sauren oder basischen Körpern gibt es verschiedene Intensitätsgrade der Azido- und Basophile, die bei Verwendung zweier saurer oder zweier basischer Farbstoffe dann tinktoriell verschieden ausfallen. So färbt sich mit dem Triazid das azidophile Granulum leuchtend rot im Tone des Säurefuchsin, das gleichfalls säureliebende Hämoglobin der roten Blutkörperchen aber matt in der Nuance des Orange.

Bei diesen komplexen Färbungen besteht die Gefahr, daß bei nicht ganz tadelloser Technik oder ungenügender Fixation einzelne Reaktionen versagen. Richtig vorgenommen, gestatten sie aber die größte elektive Färbung der Zellbestandteile und damit die beste Differenzierung.

Literatur über die Theorie der Färbungen: Die Lehrbücher der Farbchemie von L. MICHAELIS und von PAPPENHEIM. Enzyklopädie der mikroskop. Technik von EHRLICH, KRAUSE, MOSSE u. ROSIN. Berlin 1903.

Herstellung gefärbter Präparate.

Die sorgfältige Reinigung und Entfettung der benutzten Deckgläschen ist hier zur Herstellung guter Präparate unerläßlich. Man bringt die Deckgläschen einzeln in eine Schale von Äther und Alkohol $\bar{a}\bar{a}$, läßt sie eine Viertelstunde darin verweilen und trocknet sie mit einem leinenen Läppchen.

Jetzt wird die Unterseite eines Deckgläschens mit dem hervorquellenden etwa stecknadelkopfgroßen Blutropfen rasch in Berührung gebracht;

es wird ein Augenblick gewartet, wenn der Finger des Patienten durch Wasserdampfausdunstung einen hauchartigen Beschlag erzeugt hat, der rasch wieder vergeht, und nun der Blutropfen ohne Druck, nur durch Kapillarität, zwischen zwei Deckgläschen ausgebreitet. Ist die gleichmäßige Verteilung erzielt, so zieht man die beiden Deckgläschen mit einem einzigen raschen Zug, aber sanft und ohne Gewalt auseinander. Dies muß von Hand geschehen, weil es viel sorgfältiger ausfällt als unter Benützung von Pinzetten. Dabei wird am besten die Haltung der Finger und das Auseinanderziehen der Deckgläschen nach folgendem Verfahren (Ausziehen über Eck) vorgenommen, wobei die bestrichene Fläche nie mit den Fingern in Berührung kommt:

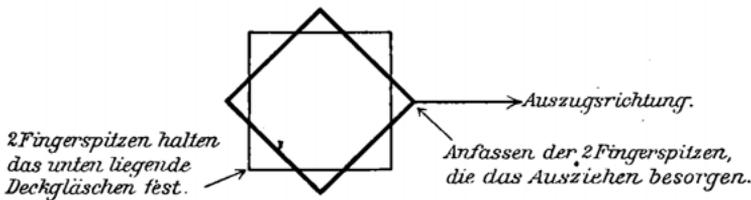


Fig. 2.

An der Luft trocknet ein richtig hergestelltes dünnes Präparat sehr rasch und kann jetzt jahrelang aufbewahrt werden. Man bringt die lufttrockenen Ausstrichpräparate in eine Papierdüte, schreibt sofort Name und Datum darauf und kann die Weiterbehandlung zu gelegener Zeit durchführen.

Zuerst muß das lufttrockene Präparat fixiert werden.

Die Fixation

erfolgt auf eine der folgenden Arten:

1. Fixation im Thermostaten, einige Minuten bei $120-125^{\circ}$. Für manche Färbungen ist eine längerdauernde oder eine höhere Temperatur nötig.

2. Fixation auf der Kupferplatte. Diese Art der Fixation geht viel rascher und einfacher und ist ganz besonders für Triazidfärbung zu empfehlen. Man benützt eine der gewöhnlichen überzinneten Kupferplatten, wie sie als Platten oder Ständer zur Färbung der Tuberkelbazillen auf Objektträgern überall gebräuchlich sind. Die Kupferplatte wird auf der freien Seite durch die Flamme eines Bunsenbrenners erhitzt, bis allmählich eine gewisse Konstanz der Temperaturen in den verschiedenen Teilen der Platte eingetreten ist. Auf den sehr heißen Partien (140°) rollt ein Tropfen Wasser sofort als Kugel ab (LEIDENFROSTsches Phänomen), auf den kälteren verdunstet er rasch unter Zischen. Man sucht jetzt diejenige Stelle herauszubekommen, wo der Tropfen gerade noch sphärisch abrollt und legt hierher

das Präparat, läßt es 5—10—20 Sekunden, je nach der Dünne der Blutschicht, verweilen, und die Fixation ist gelungen.

3. **Fixation in absolutem Methylalkohol** (3 Minuten) unter Luftabschluß in einem Blockschälchen. Der Alkohol muß aber absolut sein. Ältere, mehr als 12 Stunden lufttrockene Präparate verlangen nur 2 Minuten Fixation. Dies ist die heute wohl am meisten vorgenommene Fixation.

4. Fixation in reinem Aceton (5 Minuten). Wenig empfehlenswert.

5. Fixation in Aceton und Methylalkohol $\bar{a}\bar{a}$. 5 Minuten.

6. Fixation in absolutem Alkohol und Äther $\bar{a}\bar{a}$. 10—30 Minuten unter Luftabschluß.

7. Fixation in absolutem Alkohol. 20—30 Minuten unter Luftabschluß, besonders für Färbungen nach GIEMSA, JENNER, MAY-GRÜNWARD, zu empfehlen.

8. Manche Farblösungen enthalten die Farbe schon in der fixierenden Flüssigkeit, so die JENNER- und MAY-GRÜNWARD-Lösungen in Methylalkohol und werden die sehr bequemen Tabletten der verschiedensten Farbstoffe (für Jennerfärbung, Romanowskyfärbung nach LEISHMANN) direkt in 10 ccm Methylalkohol gelöst.

9. Fixation mit Osmium siehe die Agarosmiummethode von WEIDENREICH (S. 13 unten) und die Methoden von SCHRIDDE (S. 30) und von FREIFELD (S. 31) zur Darstellung der Chondriokonten.

Wenn auch die Osmiummethode für die Darstellung gewisser Zellbestandteile Vorzügliches leistet, so eignen sich osmierte Präparate nach GIEMSA's Ausspruch wenig zur Darstellung der Giemsa-Färbungen. Die schwierige Färbbarkeit hebt auch HEIDENHAIN hervor.

10. MARCHAND (Münch. med. W. 1908, Nr. 8) empfiehlt, die **feuchten** Abstriche vor dem Antrocknen sofort in Fixationsflüssigkeit zu bringen und verwendet dazu die in der Histologie üblichen Fixationen in Zenker, Formol, Alkohol usw. Auch die weitere Behandlung wird nach den Prinzipien der Histologie vorgenommen: Auswaschen, Färben, Entwässerung in Alkohol, Karbolxylol, Xylol, Kanadabalsam.

11. HEIDENHAIN hat für die Darstellung der Zentriolen mit Eisenhämatoxylin die Sublimatfixation eingeführt. (Plasma und Zelle, Jena 1907.)

12. WEIDENREICH (Die Leukocyten, Wiesbaden 1911) rät ebenfalls zur Fixation der feuchten Ausstriche mit Osmiumsäure.

Er bringt die gereinigten Objektträger für 1 Minute auf eine Glasschale, in die man einige Kubikzentimeter einer 1 proz. Osmiumsäurelösung gegeben hat. Dann Ausstreichen des Blutropfens auf der den Dämpfen ausgesetzten Seite des Objektträgers, den man jetzt für 20 Sekunden wieder in die Schale zurückbringt und den Dämpfen zur Fixation aussetzt.

Zur besseren Darstellung der Kernstruktur kann man der Osmiumsäure Eisessig (höchstens 2 Tropfen auf 1 ccm) zusetzen.

Die Färbungen.

Die Zahl der Färbungen ist Legion, und fast täglich werden neue vorgeschlagen. Ich beschränke mich darauf, nur durchaus brauchbare, erprobte Methoden anzugeben. So empfehlenswert es ist, bei einer Untersuchung verschiedene Methoden anzuwenden, so nötig ist es andererseits, einige der wichtigsten Färbungen vollkommen zu beherrschen. Man muß auch Dinge sehen lernen, die sich nicht aufdringlich gefärbt entgegenstellen, und manches kann nur durch das Auge und nicht durch leuchtende Farben differenziert werden. Überhaupt muß auch auf dem Gebiet der Hämatologie vor einseitiger Überschätzung nur tinktorieller Verhältnisse auf das nachdrücklichste, bei aller Anerkennung der Wichtigkeit dieser Methodik, gewarnt werden. Manche Entscheidungen können aus biologischen Untersuchungen viel sicherer gewonnen werden. Die gleiche Farbenreaktion spricht an sich auch niemals für volle Wesensgleichheit und hat nicht selten in unseren Argumentationen nur so lange Wert, bis neue Färbungen doch Differenzen ergeben.

Die Herstellung guter Farbstoffe ist ungemein schwer. Die Reinheit, die so wichtig ist, kann oft nur durch mehrfaches Umkristallisieren erzwungen werden. Man lasse sich daher niemals darauf ein, Farbstoffe vom Chemiker oder gar vom Apotheker herstellen zu lassen. So färbten mir z. B. solche Triazidlösungen nicht einmal am ersten Tag genügend und waren schon nach acht Tagen völlig verdorben. Nur der Großbetrieb kann hier Garantie geben. Ich empfehle daher, alle Farbstoffe von Dr. GRÜBLER & Co. (Inhaber Dr. HOLLBORN) in Leipzig kommen zu lassen und auch die erhältlichen Farblösungen, z. B. diejenige von GIEMSA, nicht selbst herzustellen, wenn man nicht große Enttäuschungen erleben will.

Übersicht über die geeignetsten Färbungen für spezielle Zwecke:

- | | | |
|--|---|--|
| 1. Die am meisten Einzelheiten gleichzeitig darstellende panoptische Färbung ist die | } | Giemsafärbung und deren Kombination mit anderen Färbungen, z. B. Jenner-Giemsa oder Panchromfärbung. |
| 2. Für Darstellung der reifen neutrophilen Granula | | Triazidfärbung, in zweiter Linie Jennerfärbung. Giemsa manchmal nicht gut. |
| 3. Für jugendliche neutrophile Granulation mit noch erheblicher basophiler Jugendquote | } | Giemsafärbung. Jennerfärbung. |
| 4. Für eosinophile Granulation | | Jennerfärbung. Giemsa weniger schön, besser in Kombination. |

5. Für Mastzellenfärbung	} Dahliafärbung, Methylenblaujodfärbung. Jennerfärbung und Leishmanfärbung.
6. Für Myelocyten	} Triazidfärbung und Giemsa-Färbung. Jennerfärbung.
7. Für Myeloblasten	} Giemsa-Färbung oder deren Kombinationen mit Jenner- oder Panchromfärbung.
8. Für Azurgranulation der Lymphocyten	} Ausschließlich Giemsa-Färbungen und Leishmanfärbung.
9. Für Mitochondrienfärbung	} ALTMANN - SCHRIDDESche Färbung. FREIFELDSche Färbung. Methode von BUTTERFIELD.
10. Für Reizungsformen	} Giemsa-Färbungen, viel weniger gut Triazidfärbung.
11. Für Plasmazellen	} Hämatoxylinfärbung für sicheren Nachweis nach vorhergehender Giemsa-Färbung eines ersten Präparates. Karbol-Methylgrün-Pyroninfärbung.
12. Für Polychromasie	} Methylenblaufärbung noch besser als Giemsa, Jenner und Triazid.
13. Für basophile Punktierung der roten Blutkörperchen	} Reine Methylenblaufärbung noch besser als Giemsa und Jenner; Triazid versagt.
14. Für Ringkörper und kleine Chromatinkörnchen in roten Blutkörperchen	} Ausschließlich Giemsa-Färbungen und lange Färbungsdauer.
15. Für azidophile Fleckung der Erythrocyten	} Freifeldsche Färbung.
16. Für Kernstruktur	} Hämatoxylinfärbung und Methylenblaufärbung. Jenner-Giemsa- und Panchromfärbung.
17. Für Nukleolen	} Vitalfärbung, Giemsa-Färbung, Pyronin-Methylgrünfärbung, Methylenblaufärbung.
18. Für Oxychromatinstruktur	} FREIFELDSche Färbung.
19. Für Centrosomen	} WEIDENREICHSche Fixation und Giemsa-Färbung. FREIFELDSche Färbung.
20. Für Blutplättchen	} Giemsa-Färbungen. DEETJENSche Methode.
21. Für Fibrin und Blutstäubchen	} Nativpräparat.
22. Für Parasiten	} Für Blutparasiten und Bakterien Giemsa-Färbungen; Darstellung nach der Methode von STÄUBLI,

Die Vornahme der Färbungen.

Man bringt bei einzelnen Färbungen die Farblösung auf das Deckgläschen oder den Objektträger, z. B. bei Triazid.

Bei manchen Methoden bilden sich aber sehr leicht störende und schwer wegzubringende Niederschläge. Daher färbt man am besten nicht durch Aufgießen, sondern durch Schwimmenlassen der Ausstrichspräparate auf der Farblösung. Ganz besonders gilt dies für die Giemsa-Färbungen, bei denen sich sehr rasch an der Oberfläche der Lösung ein irisierendes Häutchen bildet, durch das die Präparate meist sehr stark verunreinigt werden. Daher färbt man am besten nach folgendem Verfahren:

Man benützt eine vollkommen reine, gut gewölbte Uhrschale, legt das Deckgläschen mit der bestrichenen Fläche nach unten hinein, läßt langsam

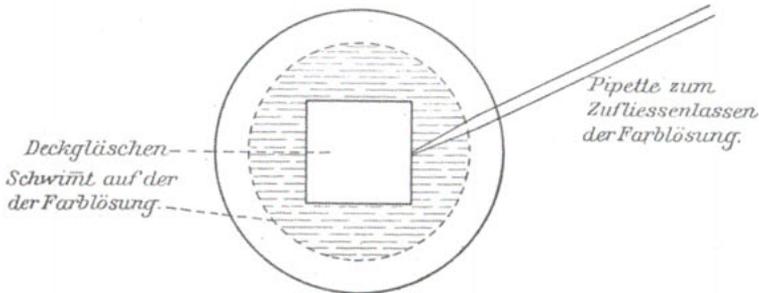


Fig. 3.

aus einer Pipette mit enger Öffnung Farblösung zufließen, indem man die Pipette an den Rand des Deckgläschens zum Ausfließen anbringt.

Bald schwimmt das Präparat auf der Farblösung und kommt bei den Giemsa-Färbungen mit dem Oberflächenhäutchen nicht in Berührung.

So erhält man völlig niederschlagfreie Präparate, weil alle Ausfällungen sich gemäß der Schwere auf den Boden des Uhrschälchens senken.

Nach Ablauf der zur Färbung nötigen Zeit nimmt man das Deckgläschen rasch mit einer Pinzette weg und beseitigt die Farblösung durch Wasserspülung.

Darauf Trocknen zwischen glatten feinem Fließpapier unter mehrmaligem Wechseln der Lage des Deckgläschens.

Wenn nötig, noch etwas vollständigeres Trocknen vorsichtig in der Nähe einer Flamme.

Einbetten in neutralen (!) Kanadabalsam.

Der neutrale Kanadabalsam (zu beziehen von der Firma Dr. GRÜBLER, Inhaber D. K. HOLLBORN, Leipzig) ist außerordentlich wichtig, wenn man die Präparate lange Zeit, eventuell jahrelang, in guter Färbung konservieren will.

Der gewöhnliche Kanadabalsam enthält etwas Säure und diese Spur von Säure genügt, um oft nach relativ kurzer Zeit eine Entfärbung von manchen Einzelheiten zu erzeugen.

I. Reine Methylenblaufärbungen.

Abbildungen Tafel I Fig. 2, Tafel II Fig. 3 u. 4, Tafel IV Zellen 63—74.

Man verwendet Methylenblau medicinale purissimum Höchst, Methylenblau rectificatum Ehrlich oder Methylenblau (B. pat. Dr. GRÜBLER) und benutzt davon 1 proz. bis $\frac{1}{4}$ proz. wäßrige Lösungen oder auch sog. Löfflerisches alkalisches Methylenblau oder MANSONSche Boraxmethylenblaulösung.

1. Fixation: Methylalkohol, Äthylalkohol und Hitze besonders zu empfehlen.

2. Färbedauer: je nach der Färbekraft der Lösung wenige, z. B. 5 Sekunden bis 20 und mehr.

Die Lösungen sind, je nach Alter und Beimischungen, außerordentlich verschieden kräftig und müssen ausprobiert werden.

3. Tüchtige Wasserspülung.

4. Trocknen und Einbetten.

Manche Methylenblaulösungen nehmen mitunter schon nach kurzer Zeit einen violetten Farbenton an und sind für die Färbungen nicht mehr zu verwenden.

Die reine Methylenblaufärbung ist besonders empfehlenswert für eine gute Darstellung der Zellkerne, in denen sich oft auch die Nukleolen deutlich abheben, ferner für die Darstellung des basophilen Protoplasma-Retikulums. Besonders geeignet ist diese Färbung für die Darstellung selbst der leichtesten Grade von Polychromasie (Tafel I, Fig. 2; II, Fig. 3 u. 4) und für eine sehr distinkte Färbung der basophilen Punktierung in den roten Blutkörperchen. — Leicht erkennbar sind auch die Reizungsformen und Plasmazellen durch die intensive Blaufärbung des Protoplasmas, in dem mehr oder weniger zahlreiche Vakuolen vorhanden sind. Für die Unterscheidung der Reizungsformen, die sehr oft im Blut vorkommen, von den ganz seltenen Plasmazellen muß die Prüfung auf Radkernstruktur durch Hämotoxylinfärbung eines zweiten Präparates vorgenommen werden. Nur der Radkern beweist das Vorliegen von Plasmazellen. (Tafel VI, Zellen 118—121 Plasmazellen, Zellen 122—128 Reizungsformen.)

Die normalen roten Blutkörperchen färben sich leicht gelblich-grünlich, die polychromatischen tiefblau-hellblau, je nach der Stärke der Polychromasie.

Von den Leukocytengranula tingieren sich nur die Mastzellen blauviolett, sind aber meist nicht erhalten, weil wasserlöslich.

Reine Methylenblaufärbungen sind ferner vorzüglich geeignet zum Nach-

weis des basophilen Protoplasmaretikulums der Leukocyten. Alsdann erhitzt man die Präparate bei der Fixation noch stärker als gewöhnlich. An manchen Zellen verliert jetzt der Kern seine Basophilie, ganz besonders der Lymphocytenkern (Tafel IV, Zellen 64—66) und erscheint nahezu oder völlig ungefärbt. Sein Kernkörperchen tritt aber mit deutlich und scharf gefärbter Nukleoluswand hervor, ebenso wie das Protoplasmanetzwerk, dessen Knotenpunkte fast wie Granula erscheinen. Man überzeugt sich mit guter Immersion indessen leicht, daß keine distinkte Granulation vorliegt. Auch große Mononukleäre und Übergangsformen, Myelocyten, Myeloblasten und jugendliche polymorphkernige Zellen zeigen das Protoplasmaretikulum.

II. Reine Eosinfärbungen.

Mit Eosin B. A. HÖCHST oder Eosin rein französisch in 1 Prozent oder $\frac{1}{2}$ Prozent wäßriger oder alkoholischer Lösung färben sich die roten Blutkörperchen und die eosinophilen Zellen. Fixation in Äthylalkohol 20' oder Methylalkohol 3' oder mit Hitze. Färbungszeit 3 bis 5 Minuten.

III. Eosin-Methylenblaufärbungen, Sukzedanfärbungen.

Man kann jetzt **Sukzedanfärbungen**, z. B. zuerst mit Eosin- und nachher mit Methylenblau vornehmen. Nach diesem Prinzip gibt es eine Menge von Methoden, z. B. nach CHENZINSKY, EHRLICH-LAZARUS, v. WILLEBRAND usw., die alle nicht völlig befriedigten und heute verlassen sind. Überhaupt sind solche zweizeitige Färbungen durch die kombinierten Färbungen nahezu verdrängt, zumal die letzteren gewöhnlich an panoptischer Kraft sich bedeutend überlegen zeigen und dabei mehr die chemische und weniger die physikalische Färbung zur Geltung kommt. Einzig vortrefflich und aufwärmste zu empfehlen ist von diesen Eosin-Methylenblau Sukzedanfärbungen die

Eosin-Methylenblaufärbung nach v. Müllern

(v. MÜLLERN, Grundriß der klin. Blutuntersuchung, Wien 1909, S. 46) die an Sicherheit wie an Schönheit Hervorragendes leistet. Prächtige Färbungen erzielte z. B. FISCHER unter meiner Leitung am Kaninchenknochenmark.

1. Fixation in Methylalkohol 3 Minuten.
2. Unterschichtung ohne Abspülen des Deckgläschens mit $\frac{1}{2}$ Prozent alkoholischer Eosinlösung (Eosin rein französisch), deren Alkoholgehalt 70 Prozent erreicht. Färbung 3 bis höchstens 5 Minuten.
3. Abspülen in Aq. destill. und Trocknen zwischen Fließpapier.
4. Unterschichten mit sorgfältig abgemessener, gut verrührter frischer

Mischung 20 Tropfen $\frac{1}{4}$ proz. wäßriger Methylenblaulösung (Methylenblau B. pat. oder Methylenblau rectificat. Ehrlich, nicht aber Methylenblau medicinale) aus einem Tropffläschchen und 10 Tropfen $\frac{1}{2}$ proz. alkoholischer (70 Proz.) Eosinlösung aus einem Tropffläschchen. — Färbedauer $\frac{1}{2}$ bis höchstens 1 Minute.

5. Rasches kurzes Abspielen in Aq. destill. Sehr rasches Trocknen zwischen Fließpapier oder vorsichtig in der Nähe der Flamme, Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß durch Zugabe von Eosin bei der nachfolgenden Methylenblaufärbung das sonst sehr aggressive Methylenblau das locker gebundene Eosin nicht so stark verdrängt; deshalb bleiben hier die feinen neutrophilen Granula rot gefärbt.

Die Färbung bietet eine ausgezeichnete Kernfärbung und eine gute Färbung der neutrophilen und eosinophilen Granula.

Die Methode gelingt nur gut, wenn lufttrockene Präparate, die nicht älter als 1—2 Tage sind, benützt werden.

IV. Färbung mit eosinsaurem Methylenblau.

(JENNER und MAY-GRÜNWARD.)

Abbildung Tafel IV Zellen 54—62, Tafel VI Zelle 112.

Die Eosin-Methylenblaufärbung gelingt besonders sicher und schön, wenn man nicht Mischungen verschiedener Farbstoffe benützt, sondern die chemische Verbindung, das eosinsaure Methylenblau. Bei der Färbung wird der leicht dissoziierbare Farbstoff in seine Komponenten gespalten und die einzelnen Zellbestandteile färben sich daher elektiv nach ihrem chemischen Verhalten.

JENNER¹ hat zuerst die chemische Verbindung Eosin-Methylenblau als färbendes Prinzip in Anwendung gebracht und in ganz ähnlicher Weise nachher auch MAY und GRÜNWARD². Bei den heutigen von Großbetrieben erhältlichen JENNER- und MAY-GRÜNWARD-Lösungen handelt es sich um absolut dasselbe Präparat: eosinsaures Methylenblau, gelöst in reinem (acetonfreiem) Methylalkohol.

Die Firmen GRÜBLER, Leipzig und BURROUGHS WELLCOME Co., London haben auch Tabloids des Farbstoffes in Handel gebracht, die in 10 ccm Methylalkohol gelöst werden, so daß man sich die Lösung selber herstellen kann.

Haupterfordernis für das Gelingen der Färbung ist Verwendung möglichst frischer, eben lufttrockener und möglichst dünner Ausstrichpräparate.

¹ JENNER, Lancet 1899, I, S. 370.

² MAY u. GRÜNWARD, Zentralbl. f. innere Medizin. 1902, Nr. 11.

1. Fixation: Aufschichten, oder noch viel besser Unterschichten der Deckgläschen mit der Farblösung, z. B. 0,5 ccm, 2—3 Minuten (Luftabschluß bei Unterschichtung nicht notwendig), Dauer 2—3 Minuten, nicht länger.

Durch diese Vorbehandlung wird die Fixation erzielt. Die eigentliche Färbung erfolgt erst mit 2.

2. Färbung durch Verdünnung der Farblösung, indem man ebensoviel Aq. destill. zugießt als vorher reine Farblösung zugesetzt worden war. Färbedauer 5—10—15 Minuten.

Nach Zusetzen des destillierten Wassers, was am besten wiederum mit der Pipette durch Unterschichtung erfolgt, sorgt man für eine gute Mischung der Farblösung und des Wassers, indem man mit der Pipette mehrmals aufsaugt und wieder ausbläst; dabei bleibt das Deckgläschen auf der Mischung schwimmend.

3. Ganz kurzes Eintauchen des Präparates in ein Glas mit gewöhnlichem Wasser, oder gründliches Abspülen mit destilliertem Wasser, bis das Präparat rosafarben aussieht. Von vielen Autoren wird 1—2 Tropfen Essigsäure auf 1 l Wasser zur Differenzierung zugefügt.

Das Abspülen darf nur ganz kurze Zeit erfolgen, weil sonst die Färbung der Kerne oder der Granulationen leidet. Man tut daher am besten, nur kurz einmal das Präparat in Wasser einzutauchen und sofort wiederum herauszunehmen.

4. Trocknen zwischen Fließpapier und nachher bei gelinder Wärme in der Nähe der Flamme. — Einbetten in Kanadabalsam, neutraler Kanadabalsam besonders notwendig.

Vorschrift für ältere oder schwer färbbare Ausstriche.

1. Fixation in absolutem Äthylalkohol oder Methylalkohol 10—20 und mehr Minuten.

2. Unterschichten oder Übergießen mit einem frisch hergestellten Gemisch von einem Teil Farblösung und zwei Teilen Aq. destill. — Färbedauer 5—15 Minuten. — 3. und 4. wie oben.

Diese Färbungen (siehe Tafel IV und Erklärungen zu den Zellen 54—62) zeichnen sich aus durch gute Darstellung der Kerne, durch vorzügliche (metachromatische) violette Färbung der Mastzellgranulation, durch sehr gute Darstellung der eosinophilen Granula und durch gute Färbung der reifen neutrophilen Körnelung. Nicht, oder nur selten durch Azurbeimischung, gefärbt wird die Azurgranulation der Lymphocyten; nicht immer genügend deutlich und zuweilen nicht sichtbar bleibt die jugendliche neutrophile Granulation und die Körnelung der großen mononukleären und Übergangsformen, indem bei den letzteren die starke Blaufärbung des Protoplasmas ganz dominiert; überhaupt wird die neutrophile Granulation doch nicht mit dieser Sicherheit wie etwa bei Triazidfärbung oder gut gelungener

Giemsafärbung dargestellt. Ganz unmöglich fällt die Trennung mancher Lymphocyten von großen Mononukleären.

Bei den roten Blutkörperchen kommt die Polychromasie und die basophile Punktierung sehr gut zum Vorschein, Ringkörper und Chromatinpartikelchen dagegen werden nicht gefärbt.

Die Jennerfärbung wird in verschiedenen Modifikationen vorgenommen.

ASSMANN (Inaug.-Diss. Leipzig 1908)

1. übergießt die Objektträgerausstriche des eben luftgetrockneten Präparates mit 40 Tropfen der Lösung in Petrischalen für $\frac{1}{2}$ Minute.

2. Zusatz von 20 ccm. Aq. destill. + 5 Tropfen 1 $\frac{0}{00}$ Kaliumkarbonatlösung 1 Minute.

3. Abspülen in Aq. destill.

KLEIN, Fol. haem. X. 1910 sucht eine distinkte Kernfärbung zu erzielen nach folgender Methode, für die Dr. GRÜBLER-Leipzig eine besondere Jennerlösung in Handel bringt.

1. Auf das Deckgläschen mit der Schicht nach oben in einer Glasschale gießt er 5—10 Tropfen Lösung, die nicht über den Rand laufen darf, läßt die Lösung an der Luft ohne Bedeckung dick werden, was in 5—10 Minuten erreicht ist;

2. dann setzt er 5—10 ccm Aq. destill. und einen Tropfen 1 $\frac{0}{00}$ Kaliumkarbonatlösung zu. Jetzt wird die Schale hin und her bewegt, bis eine ganz gleichmäßige, durchsichtige, blauviolette Lösung erzielt ist, worin das Präparat 20 Minuten verweilt.

3. Trocknen ohne vorhergehende Spülung zwischen Fließpapier (ganz kurzes Abspülen kann zuweilen gut sein).

Die Kerne sind rötlich violett und ganz deutlich strukturiert, die Nukleolen blau, alle Granula deutlich, auch die Azurgranula; besonders deutlich ist der Unterschied zwischen jungen und alten neutrophilen Granula.

V. Eosin-Hämatoxylinfärbungen.

Abbildungen u. Erklärungen Tafel IV Zellen 75—83, Tafel VI Zellen 119—122.

Die reine Hämatoxylinfärbung hat keinerlei Vorzug. Man wendet daher besser die sukzedane Eosin-Hämatoxylin doppelfärbung an.

Hämatoxylin an sich ist schwach sauer; enthält aber die Lösung einen Überschuß von Alaun als Beize, so hat das Hämatoxylin jetzt gegenüber den Kernen stark basische Eigenschaft und gibt die ausgezeichnetste Kernfärbung.

Als besonders geeignet empfehle ich die Färbung mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin. (Lösung vor Gebrauch filtrieren!)

1. Fixation in Methylalkohol 3—5 Minuten.

2. Das Deckgläschen wird herausgenommen und mit $\frac{1}{2}$ proz. alkoholischer Eosinlösung unterschichtet. Färbedauer 3—5 Minuten.

3. Wasserspülung; sehr gutes Trocknen, erst zwischen Fließpapier, dann in der Nähe der Flamme.

4. Unterschichten mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin. Färbedauer 3 bis 5 Minuten.

Wenn die Hämatoxylinlösungen älter sind, muß die verwendete Farblösung mehrmals filtriert werden; bei frischen Lösungen ist das nicht nötig, namentlich nicht bei der Methodik des Unterschichtens.

5. Abspülen, Trocknen, Einbetten.

Die neutrophilen Granulationen sind zerstört, sehr gut gefärbt sind die eosinophilen, besonders schön sind alle Kernstrukturen zur Darstellung gebracht. Die Färbung eignet sich besonders für Lymphocyten und lymphatische Leukämien, deren Lymphocyten sonst oft nicht gut färbbar sind, ebenso für Myeloblasten zur Darstellung der Kerne.

Die Hämatoxylinfärbung ist wohl auch die weitaus beste Färbung zum Nachweis der Kernstruktur der Kerne und ist deshalb ausschlaggebend für die Unterscheidung der Plasmazellen (mit Radkernen) von den Reizungsformen ohne Radkerne (siehe Tafel VI, 119—121 Plasmazellen, 122 Reizungsform).

Sehr gut wird auch das Protoplasmaresikulum der Zellen dargestellt.

VI. Triazidfärbungen.

Erklärungen u. Abbildungen Tafel I Fig. 1. Tafel IV Zellen 42—53, Tafel IX u. XIX.

Das EHRlich'sche Triazid enthält in Lösung Methylgrün, dessen drei basische Gruppen (daher der Name Triazidlösung) mit den beiden sauren Farbstoffen Orange G. und Säurefuchsin gesättigt sind. Es entsteht dadurch eine neutrale Verbindung und die Möglichkeit, neutrophile Granula in vorzüglicher und sicherster Weise darzustellen. Der neutrale Farbstoff ist erst im Überschuß einer sauren Verbindung löslich; bei EHRlich's Triazid ist der neutrale Farbstoff in Säurefuchsin gelöst.

1. Fixation: weitaus am besten Hitzefixation der lufttrockenen Präparate, und besser erst einige Stunden, z. B. 24 Stunden nach Herstellung der Ausstriche, nicht sofort nach dem Lufttrockenwerden. SAHLI empfiehlt auch Fixation in absolutem Methylalkohol, während 5' bis zu einigen Stunden in gut verschlossenem Gefäß unter wiederholter Erneuerung des Methylalkohols.

2. Überschichtung mit Triazid. Die Lösung wird mit der Pipette aus der Flasche entnommen, weil die Flasche stets sorgfältig vor Schütteln bewahrt werden muß. — Färbedauer 5 Minuten. —

3. Sorgfältiges Abwaschen in Wasser unter dem Wasserstrahl, bis das Präparat keine Farbe mehr abgibt.

4. Trocknen, Einbetten.

Zur Vermeidung von Niederschlägen kann man die Triazidlösung auf einen Objektträger auftropfen und alsdann das Deckgläschen auf der Farblösung schwimmen lassen (Vorschrift von RUBINSTEIN).

Die Triazidfärbung ist besonders geeignet für Übersichtsbilder und die beste Methode der Darstellung für die neutrophile Granulation, namentlich für die reife neutrophile Granulation. Ganz feine neutrophile Körnchen, wie sie sich in Vorstufen von Myelocyten und, wenn auch wohl nicht als

identische Gebilde in einem Teil der großen Mononukleären und Übergangsformen finden, heben sich vielfach nicht deutlich ab, weil der Kontrast fehlt und das Protoplasma einen gleichmäßig rötlichen Farbenton angenommen hat.

Zur Kontrolle der Giemsafärbungen, besonders bei Leukämien, ist die Triazidfärbung dringend anzuraten, da manchmal wesentliche Differenzen aufgedeckt werden.

Die Zellkerne sind grünlich-bläulich, Kernstruktur nicht deutlich, ein empfindlicher Mangel der Färbung! Oft zeigen sich auf den Kernen einzelne schwärzliche Niederschläge (Taf. IV, Zellen 43, 49—51). Die feinen neutrophilen Granula sind violettrot, die groben eosinophilen leuchtend rot. Das Protoplasma der Lymphocyten und großen Mononukleären ist ungefärbt oder schwach rosa. Die roten Blutkörperchen erscheinen rot-orange. Die Polychromasie ist wenigstens bei stärkeren Graden durch ihre tief rotviolette Färbung leicht erkennbar. Gar nicht gefärbt werden die Mastzellengranulationen, von denen man nur ab und zu einzelne schwärzliche Flecken noch bemerken kann. Nicht gefärbt werden ferner basophile Punktierung, Azurgranulation der Lymphocyten, Ringkörper und feinste Chromatinpartikelchen.

Man kann auf die Triazidfärbung noch eine Methylenblaufärbung folgen lassen, wodurch die Kernstrukturen deutlicher werden und benutzt am besten eine $\frac{1}{4}$ proz. wäßrige Methylenblaulösung zur kurzen Nachfärbung.

PAPPENHEIM hat ein Methylenblautriazid bei GRÜBLER herstellen lassen, das mich bisher nicht befriedigte, während von anderer Seite günstige Resultate gemeldet werden.

VII. Giemsafärbung.

Erklärungen u. Abbildungen Tafeln II Zellen 1—13; III; V; VI Zellen 113—118, 127 u. 128; VII; VIII; X—XV; XVI Fig. 1; XVII; XVIII; XX.

Aus Methylenblau bildet sich unter bestimmten Verhältnissen ein neuer Körper, „Rot aus Methylenblau“, der als Methylenazur bezeichnet wird. Dieses Methylenazur liefert ganz ausgezeichnete Färbungen, ganz besonders in Kombination mit Eosin und Methylenblau.

Es gibt eine ganze Menge von Azurfärbungen, z. B. diejenige von ROMANOWSKI¹, ZIEMANN², NOCHT³, REUTER⁴, L. MICHAELIS⁵. An Schönheit, ganz besonders aber an Sicherheit und Zuverlässigkeit sind alle diese Methoden von der Giemsafärbung⁶ so weit überholt, daß sie wohl heute nahezu völlig verdrängt sind.

¹ ROMANOWSKY, St. Petersburger med. Wochenschr. 1891.

² ZIEMANN, Über Malaria u. andere Blutparasiten. Jena. Fischer 1898.

³ NOCHT, Zentralbl. f. Bakteriologie 1898, Bd. XXIV, Nr. 22.

⁴ REUTER, *ibid.* 1901, Bd. XXX, Nr. 6.

⁵ L. MICHAELIS, *ibid.* 1901, Bd. XXIX, Nr. 19.

⁶ GIEMSA, *ibid.* 1902, Bd. XXXI.

Die Giemsalösung enthält Methylenazur neben Eosin und Methylenblau in Glycerin und Methylalkohol gelöst. Ich empfehle dringend den direkten Bezug von der Firma Dr. GRÜBLER (Inhaber Dr. K. HOLLBORN), Leipzig.

1. Fixation der lufttrockenen Präparate; ganz frische 3 Minuten in absolutem Methylalkohol, nach 24 Stunden nur 2 Minuten in Methylalkohol, oder Fixation 20 Minuten in absolutem Äthylalkohol.

2. Herstellung einer Verdünnung der Farblösung unmittelbar vor dem Gebrauch, nachdem die aus dem Methylalkohol herausgenommenen Präparate wieder durch Verdunsten des Methylalkohols vollkommen lufttrocken geworden sind. Man nimmt einen Tropfen Farblösung auf je 1 ccm Aq. destill. und verwertet eher große Tropfen.

3. Unterschichten der Deckgläschen mit der verdünnten Farblösung. Färbedauer 10—20—30—60 Minuten. Je nach Farblösung oder Intention der Färbung. Kurze Färbung 5—10 Minuten gibt gute Kernstruktur, aber schlechte Granuladarstellung, lange Färbung bis zu einer Stunde unklare Kernstruktur der Lymphoidzellen, aber gute Granulafärbung.

4. Abspülen mit dem Wasserstrahl, gewöhnliches Wasser.

5. Trocknen zwischen Fließpapier und in der Nähe der Flamme, Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Die Präparate müssen dünn ausgestrichen sein, nur in solch dünnen Ausstrichen gelingt die Färbung der neutrophilen Granulation in zuverlässiger Weise.

Das Unterschichten mit der Farblösung ist hier ganz besonders empfehlenswert, damit die sonst so lästigen und kaum mehr zu entfernenden Niederschläge vermieden werden.

Bei Verwendung von Objektträgerausstrichen legt man diese auf zwei kleine Glasklötzchen in einer Petrischale und gießt jetzt die Lösung zu.

Zur Färbung besonderer Gebilde, wie z. B. *Spirochaeta pallida*, Trypanosomen, Kapseln der Malariahalbmonde, setzt man zu 10 ccm der nach 2. verdünnten Farblösung 1—2 Tropfen einer 1proz. Kaliumkarbonatlösung zu.

Manche Autoren empfehlen die Färbung mit leicht erwärmter Farblösung bzw. die Färbung im Brutschrank zu einer möglichst zuverlässigen Färbung der Granulation.

Die gelieferten Farblösungen sind nicht vollkommen gleich zuverlässig. Mit einzelnen Lösungen bekommt man ohne jede Schwierigkeit eine tadellose Färbung der neutrophilen Granulationen. Mit anderen Fläschchen bekommt man weniger sichere Resultate, d. h. es färbt sich wohl ein Teil der neutrophilen Granula in der Zelle, aber es färben sich nicht alle. Besonders gilt das auch für die Myelocyten, während im Vergleich dazu die Triazidlösung eine viel größere Zahl neutrophiler Granula in den Zellen ergibt. In dieser Beziehung muß wohl die Darstellung der Farblösung noch zuverlässiger werden.

Bei einzelnen Farblösungen versagt an etwas dickeren Ausstrichen die Granulation der Myelocyten fast oder ganz und sprechen Unerfahrene solche Zellen für große Lymphocyten an. Eine kontrollierende Triazidfärbung ist dann dringend nötig.

Nach der oben angegebenen Methodik erzielt man ausnahmslos sichere Färbungen ohne jedes Versagen, das bei den früher gelieferten Farbstofflösungen noch ziemlich häufig vorgekommen ist.

Die Giemsafärbung ist zurzeit die bei weitem bevorzugteste und beste Färbung der Blutpräparate. Sie färbt in vorzüglichster Weise die Kerne wie sämtliche Granulationen.

Die Kerne erscheinen in dünnen Ausstrichen rot, in dickeren Partien aber bläulich; auch pyknotische Kerne sind oft blau.

Nukleolen können oft aufs schönste (Taf. VII, Zellen 129—133, 136, 137, 145, Taf. XVII rechts unten) wahrgenommen werden.

Die neutrophile Granulation erscheint violettrot, in jungen Zellen dunkel purpurviolett, manchmal rotbräunlich (Tafeln VII u. XVIII), die eosinophile rot bis rotbraun bis matt rotbraun. Hellere rote Farbtöne bekommt man bei den eosinophilen Granulationen nur, wenn die Färbung sehr bald, z. B. innerhalb der ersten 24 Stunden nach Herstellung der Ausstriche, vorgenommen wird. An späteren Tagen bekommt man mehr matt braunrote Tinktion, die an Schönheit viel zu wünschen übrig läßt (so Zelle 103 im Gegensatz zu 101—102 auf Taf. V).

In den Mastzellen färben sich die durch das Wasser nicht zerstörten Granula violett malvenfarben (Taf. V, Zellen 104—108).

Die unreife azidophile (Taf. VII, Zelle 145 und Taf. XVIII, Zellen 167 und 168) und unreife Mastzellengranulation (Taf. VII, Zellen 149—151) färbt sich bläulich bis tiefblau, hat also noch rein basophilen Charakter.

In den Lymphocyten beobachtet man in einem Teil dieser Zellen meistens eine spärliche grobe Azurgranulation (Taf. V, Zellen 88—90), seltener auch eine feine und dann etwas zahlreichere Azurkörnelung (bes. Taf. XVII).

Die großen Mononukleären und Übergangsformen (Taf. V, Zellen 91—94) haben in etwas dickeren Ausstrichen und bei wenig langer Färbung eine bläuliche Protoplasmafärbung mit mehr oder weniger zahlreichen rot gefärbten Granulationen. In dünnen und etwas länger gefärbten Ausstrichen tritt die bläuliche Protoplasmafärbung der großen Mono- und Übergangsformen sehr stark zurück, erscheint nur noch matt schieferfarben und ist oft fast vollkommen überlagert von einer das ganze Protoplasma ausfüllenden, sehr feinen und sehr distinkten Granulation, die alsdann in gleicher Menge in jeder Zelle dieser Art nachweisbar ist.

In den roten Blutkörperchen wird die Polychromasie deutlich durch eine Tendenz zur Blaufärbung (Taf. III). Die basophile Punktierung (Taf. III, Zellen 17 und 25—29) hebt sich sehr gut ab, sie erscheint blau, aber bei schweren Anämien oft rot (Taf. III, Zellen 30 und 31), oder man beobachtet eine Mischung roter und blauer basophiler Punktierung (Taf. III, Zelle 24. Taf. II, Zelle 4).

Kernpartikelchen nehmen einen intensiv roten Farbenton an. Leuchtend rot erscheinen gewöhnlich in der Peripherie gelegene sehr kleine Chromatinkörnchen (Taf. III, Zellen 19—20), recht oft hebt sich in der Mitte der polychromatischen Zellen ein einzelnes rotes Korn heraus (Howell-Jollykörper, bzw. dessen Rest, Taf. III, Zellen 14—18).

Aufs schönste werden die Ringkörper rot (Taf. III, Zellen 21—24), mitunter auch bläulich dargestellt. Für die Erzielung der Ringkörperfärbung und der roten basophilen Punktierung muß die Färbung sehr lange, bis zu $\frac{1}{2}$ —1 Stunde andauern und an sehr dünnen Ausstrichen vorgenommen werden.

Auch die Punktierung der von dem Tertianparasiten der Malaria befallenen roten Blutkörperchen fällt rot aus:

Aus der verdünnten GiemsaFarblösung fallen nach einiger Zeit Niederschläge aus; alsdann muß man die Präparate herausnehmen, weil die Farblösung jede färberische Kraft verloren hat.

Schlechte GiemsaLösung ist daran zu erkennen, daß diese Niederschläge sich schon nach wenigen Minuten bilden; in solchem Falle muß eine Neuanschaffung erfolgen. Manchmal liegt es am Wasser, wenn solche Niederschläge entstehen; daher soll nur Aq. destill. verwendet werden.

Als besonders geeignet erklärt WEIDENREICH die Fixation nach der Agar-Osmiummethode und nachherige GiemsaFärbung.

Agar-Osmiummethode für GiemsaFärbung von WEIDENREICH¹.

Man stellt sich eine 1 proz. Lösung von Agar in 0,8 proz. Kochsalzlösung her und füllt sterile Reagenzgläser zu je 3—5 ccm. Die erstarrte Masse läßt sich 4 Wochen lang verwenden. Zur Untersuchung löst man den Agar durch Erhitzen in kochendem Wasser vollständig und gießt auf eine reine, völlig ebene Glasplatte in nicht zu dünner Schicht aus. Ist der Agar wieder erstarrt und gut schneidbar, so stellt man sich kleine Plättchen aus der Agarschicht her, die viereckig sein sollen und allseitig ein gutes Stück kleiner als die zur Benutzung kommenden Deckgläser sein müssen.

Diese Plättchen bringt man in größeren Abständen auf eine ebene reine Glasplatte. Jetzt entnimmt man mit einem sehr sorgfältig gereinigten Deckgläschen der Stichöffnung rasch einen nicht zu großen, aber auch nicht zu kleinen Tropfen Blut und bringt das Deckgläschen mit dem Blut auf der Unterseite vorsichtig auf das Agarplättchen. Das Blut breitet sich in dünner Schicht zwischen Agar und Deckglas aus.

Man läßt die Präparate 5—10 Minuten in gewöhnlicher Zimmertemperatur.

Darauf läßt man mit Pipette, ohne das Deckglas zu berühren, einige Tropfen 1 proz. Osmiumtetroxydlösung von der Seite her unter das Deck-

¹ WEIDENREICH, Archiv f. mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte 1908, Bd. LXXII.

glas zufließen, bis die Lösung den frei gebliebenen Rand zwischen Agar und Glas allenthalben ausfüllt.

Nach 5 Minuten hebt man sorgfältig das Deckgläschen von dem Agarplättchen ab, spült mit gewöhnlichem Wasser ab und nimmt jetzt die Giemsafärbung vor.

Neuere Modifikationen und Kombinationen der Giemsafärbung.

GIEMSA, *Deutsch. med. W.* 1909, S. 1751, empfiehlt zur besonders guten Kerndifferenzierung (Karyosomen, Zentriolen) eine Färbung von Feuchtpräparaten.

1. Fixation der Deckglausstriche in feuchtem Zustand in SCHAUDINNSchem Sublimatalkohol (2 Teile konz. wäßr. Sublimatlösung und 1 Teil Alkohol abs.) 12—24 Stunden. Präparat auf der Lösung schwimmen lassen.

2. Abwaschen in Wasser, dann Behandlung mit Lösung von Jodkali 2,0, Lig. Lugoli 3,0, Aq. destill. 100,0, während 5—10 Minuten. Deckgläschen mit der Lösung im Schälchen begießen.

3. Abwaschen, dann 10 Minuten begießen mit 0,5 proz. wäßriger Lösung von Natriumthiosulfat.

4. 5 Minuten in fließendes Wasser.

5. Giemsalösung 1 Tropfen auf 1 ccm. Dauer 1—12 Stunden, eventuell Erneuern der Farblösung.

6. Abspülen und durch folgende Reihen führen:

a) Aceton 35 ccm, Xylol 5 ccm.

b) „ 70 „ „ 30 „

c) „ 70 „ „ 50 „

d) Xylolum purum.

7. Einbetten in Zedernöl.

PAPPENHEIM, *Fol. haem.* III., S. 344 u. IX. S. 56 und *Mediz. Klinik* 1908, Nr. 32 empfiehlt die kombinierte sukzedane Jenner-Giemsafärbung.

1. Fixation mit Jennerlösung, 3 Minuten auf CORNETScher Zange.

2. Färbung durch Zusetzen von 2—3 Tropfen Aq. destill. Dauer 3—4 Min. Verwendung von 5 Tropfen Aq. destill. und Färbung 1 Minute noch besser.

3. Bloßes Abgießen der Jennerlösung und Zusatz von Giemsalösung 3 Tropfen auf 2—3 ccm Aq. destill. Färbung 4—5 Min. oder von 10 Tropfen auf 10 ccm. Dauer 12 Minuten.

4. Kräftiges Abspülen mit Aq. destill. Trocknen (nicht über der Flamme). Einbetten.

Mich hat diese Methode wohl in bezug auf Kernfärbung, nicht aber in bezug auf Granulafärbung befriedigt.

KLEIN (*Fol. haem.* X., 1910) erwähnt den verschiedenen Ausfall der Färbungen und die sehr mangelhafte Darstellung der reifen neutrophilen Körnchen.

MAY hat schon 1906 Münch. med. W. Nr. 8 die Kombination JENNER und nachträgliche Methylenazurfärbung angeraten.

In letzter Zeit hat PAPPENHEIM (Fol. haem. Arch. XI. 194) die Kombination einer Reihe von Farbstoffen zur Erweiterung der Giemsa-Färbung empfohlen und als Panchrommischung durch die Firma Dr. GRÜBLER Leipzig, in den Handel gebracht.

Man färbt nach der wie sonst vorgenommenen Fixation mit einer Lösung von 15 Tropfen Panchrommischung auf 10 ccm Aq. destill. 5—10 Minuten.

Damit ist eine weit bessere Darstellung der neutrophilen Granula und der Mastzellenmetachromasie möglich, wie ich bestätigen kann.

Ähnliche Zwecke verfolgt die Färbung mit Kardosmischung (Fol. haem. Arch. XII. 39), ebenfalls von GRÜBLER gebrauchsfertig erhältlich, bei der eine Mischung von Methylgrün-Orangerot und Giemsalösung vorliegt.

Damit wird die reife neutrophile Granulation scharf und dunkel, die unreife matt dargestellt, im übrigen die gleiche Färbungswirkung wie bei GIEMSA erzielt.

Die neueste Vorschrift lautet (Fol. haem. Arch. XII. 40):

1. Fixation 3' in Jennerlösung.
2. Hinzufügen von 20 Tropfen (0,7) Aq. destill. Färbung 3'.
3. Abgießen und ohne Waschen mit der beschickten Seite nach unten in ein Blockschälchen mit PAPPENHEIMs Kardosmischung legen. Färbung 10—15 Minuten.
4. Abwaschen. Trocknen. Einbetten.

VIII. Leishmanfärbung.

LEISHMAN, Brit. med. J. 1901, Sept. 21.

Die Farbflüssigkeit enthält ebenfalls Azur, Methylenblau und Eosin, ist aber in Analogie mit der Jennerlösung bereits in Methylalkohol gelöst.

Man benützt die fertige Lösung von GRÜBLER (Dr. HOLLBORN) oder 0,2 des Pulvers auf 10 ccm absoluten Methylalkohol, oder löst eine Tablette in Methylalkohol auf.

1. Fixation. Unterschichten des Ausstrichpräparates mit 10 Tropfen der Lösung während einer Minute.

2. Färbung durch Verdünnung der Farblösung mit gleicher Menge Aq. dest. durch sorgfältiges Zugießen mit einer Pipette und Mischung durch mehrmaliges Aufsaugen und Ausblasen; das Präparat muß schwimmend bleiben. — Färbedauer 5 Minuten.

3. Abspülen mit gewöhnlichem Wasser.

4. Trocknen mit Fließpapier und in gelinder Wärme. Einbetten.

Die Färbungen fallen sehr ähnlich aus wie bei der Giemsalösung, nur ist die Färbung der Mastzellen wegen der Benützung von Methylalkohol eine zuverlässigere.

IX. Karbolpyronin-Methylgrün-Färbung (Pappenheim-Unna).

(Siehe PAPPENHEIM, Fol. haem. IV. Supl. S. 320 und besonders Fol. haem. VI. S. 51 u. IX. Arch. 572.)

Abbildung Tafel VI Zellen 123—126.

Sie enthält zwei basische Körper; Pyronin färbt die basophilen Substanzen intensiv rot. Methylgrün färbt in spezifischer Weise das Kernchromatin (PAPPENHEIM).

1. Hitzefixation oder andere Fixationen.
2. Färbung mit der Lösung von GRÜBLER, 5—10 Minuten (FERRATA färbt nur 30 Sekunden).
3. Tüchtiges Abwaschen mit gewöhnlichem Wasser, Trocknen, Einbetten.

Besonders gut ist das Lymphocytenprotoplasma intensiv leuchtend rot gefärbt (Tafel VI, Zelle 123), ebenso das tief basophile Protoplasma der Plasmazellen und Reizungsformen (Tafel VI, Zellen 124—126) und die stärkeren Grade der Polychromasie. Die Lymphocytenkerne sind blaugrünlich, die Leukocytenkerne mehr violett, besonders auch diejenigen der Reizungsformen. Die Färbung beweist zwar keineswegs die Lymphocytennatur einer Zelle; aber das ist ganz sicher, daß ein Gebilde kein Lymphocyt sein kann, dessen Protoplasma nicht leuchtend rot sich tingiert. Dieser negative Nachweis ist nicht selten recht wertvoll. Besonders gut werden die Nukleolen, z. B. in den Lymphocyten gefärbt, indem sie sich rot aus dem blauen Kern herausheben. Für die Nukleolenfärbung empfiehlt BUTTERFIELD (D. Arch. 92, 1908) Fixation eine Minute auf der Kupferplatte, Färbung mit den sehr verschieden guten Lösungen 10 Minuten bis 24 Stunden.

X. Dahliafärbung für basophile Granula nach Ehrlich.

Die käufliche Lösung (Dr. GRÜBLER, Inhaber Dr. HOLLBORN, Leipzig) enthält Dahlia in alkoholischer Lösung.

1. Fixation. Hitze oder Methylalkohol.
2. Färbung 4—6 Stunden mit der Lösung.
3. Kurzes Abspülen in Wasser.
4. Entfärben in Alkohol, bis kein Farbstoff mehr abgeht.

Die Mastzellen sind violett granuliert.

XI. Methylenblaujodfärbung nach Türk¹ für Mastzellen.

1. Fixation in der Hitze bei 120° oder in Methylalkohol.
2. Färbung mit 10 proz. Methylenblaulösung, die 50 Proz. Alkohol enthält, unter vorsichtigem Erwärmen bis zur ersten Rauchbildung.
3. Erkaltenlassen und ganz kurzes Abspülen darauf mit Wasser.
4. Das Präparat kommt für eine halbe Minute in wäßrige Jodjodkali-lösung (1 : 2 : 300).
4. Ganz rasches Abspülen mit Wasser, Trocknen.
6. Einbetten in Jodgummisirup (Jodi puri 1,0, Kali jodati 3,0, Aq. destill. 100,0, Gummi arab. q. s. bis zu Sirupkonsistenz).

Die Mastzellen werden tiefschwarz, neutrophile und eosinophile Granula färben sich nur spurweise gelblich durch Jod. Erythrocyten dunkelgrün. Die Färbungen X und XI werden nur ausnahmsweise zum speziellen Studium der Mastzellen vorgenommen.

XII. Methoden für die Färbung der Altmann-Schridde'schen Lymphocytengranula (Mitochondrien, Chondriokonten).

a) Nach SCHRIDDE.

Neuere Vorschrift publiziert in: NAEGILI, EHRlich's Anämie, 2. Aufl., S. 70, 1909.

1. Ausbreiten des Blutes in dünner Schicht auf dem Objektträger.
2. Objektträger kommen sofort in Formol-Müller (1 : 9) und bleiben hier 1—2 Stunden.
3. Abspülen einige Minuten mit gewöhnlichem Wasser, dann mit Aq. destill.
4. Einlegen in 1 proz. Osmiumlösung für eine halbe Stunde unter Lichtabschluß.
5. Kurzes Abspülen.
6. Färbung mit ALTMANN'scher Anilinwasser-Säurefuchsinlösung (100 ccm kalt gesättigt, filtrierte Lösung von Anilin in Aq. destill. + 20 g Säurefuchsin. Filtrieren).

Man bringt eine hohe Schicht der Lösung auf den Objektträger, erwärmt 5—6 mal über der Flamme, bis jedesmal kleine Dämpfe aufsteigen und läßt zuletzt vollständig erkalten.

7. Nach Fortwischen der angetrockneten Farbstoffränder auf den Seiten des Objektträgers mit Fließpapier.

Differenzierung mit Pikrinsäurealkohol (gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung 1 : 20 Proz., 7 Teile Alkohol).

¹ TÜRK, Wiener klinische Wochenschr. 1901, Nr. 18.

Mehrmaliges Auftropfen, bis das Präparat gelblich oder hellgelblich aussieht.

8. Kurzes Abspülen mit Alkohol absol.
9. Toluol oder Xylol.
10. Einbetten in Kanadabalsam.

Die eosinophilen Granula sind schwarzrot, die neutrophilen amphophilen blaß bräunlichrot, die basophilen farblos wie Vakuolen; die Lymphocyten haben perinukleäre, gelblich-karmoisinrote Körnchen oder Stäbchen.

Zweifellos viel sicherer ist die folgende unter meiner Leitung ausgearbeitete Methode

b) Nach FREIFELD.

Inaug.-Diss., Zürich 1909, August, siehe auch KLEIN, Fol. haem. X. 1910.

1. Fixation der lufttrockenen Präparate in frischer 1 proz. Osmiumtetroxydlösung unter Luft- und Lichtabschluß, $\frac{1}{2}$ —1 Stunde.

2. Kurzes Abspülen in Aq. destill.

3. Färbung 15—20 Minuten mit ALTMANNscher Anilinwasser-Säurefuchsinlösung unter leichtem Erwärmen (keine Dampfbildung!) über einer kleinen Flamme (Spiritusflamme), indem das Präparat ca. 4—5 cm von der Flamme entfernt gehalten und etwa fünfmal langsam darüber hingezogen wird, dann Erkalten lassen und nach dem Erkalten von neuem in gleicher Weise erwärmen. (Jede starke Erwärmung ist streng zu vermeiden). Wiederholen der Prozedur während 15—20 Minuten. Die Erwärmung kann auch im Trockenschrank oder auf der Metallplatte vorgenommen werden.

4. Abspülen des vollständig abgekühlten Präparates tropfenweise mit Pikrinsäurelösung, bis die abfließende Flüssigkeit rein gelb ist und nicht mehr rötlich wird.

5. Kurzes Abspülen in Alkohol absol.

6. Kurzes Hineinbringen in säurefreies Xylol.

7. Einbetten in neutralem Kanadabalsam.

Normale rote Blutkörperchen färben sich intensiv diffus rot; unter pathologischen und embryonalen Verhältnissen erscheinen rote Blutkörperchen mit blaßrotem bis fast ganz gelbem Protoplasma mit einer azidophilen roten Fleckung. Die Oxychromatinstruktur der Kerne färbt sich bräunlich rötlich. Die Lymphocyten zeigen ungefärbtes Protoplasma, aber intensiv rot gefärbte punkt- bis stäbchenförmige azidophile SCHRIDDE-ALTMANNsche Granula; der Lymphocytenkern ist leicht gelblich tingiert. Die neutrophilen Leukocyten zeigen diffus rötlichviolett gefärbtes Protoplasma; die Granula sind sehr fein rötlichbraunviolett. Zwischen den Einbuchtungen des Kerns ist das Centrosom stark rot gefärbt. Die eosinophilen Leukocyten zeigen grobe rotviolette Granula, welche das ganze Protoplasma dicht ausfüllen. Die Mastzellen zeigen ungefärbte Granula

(negative Granulafärbung) manchmal mit leichter roter Umwandlung (wohl Differenzierungsprodukt).

In den großen Mononukleären und Übergangsformen sind die roten Stäbchen, Streifen und Körnchen viel reichlicher und gleichmäßiger im Protoplasma nachzuweisen, so daß dieses eine leicht violette Farbennuance annimmt. In den Myeloblasten erscheinen eigenartige Strichelungen, Streifen und Schleifen, oft sehr ähnlich den fuchsinophilen Granula der Lymphocyten, und davon wohl nicht prinzipiell zu trennen, aber im Unterschied von den Lymphocyten ganz diffus im Protoplasma in großer Zahl vorhanden.

Eine dritte Methode von BUTTERFIELD, HEINEKE, ERICH MEYER und MERRIAN siehe *Fol. haem.* 1909, S. 328.

XIII. Sudanfärbung.

Man benutzt eine Lösung von Sudan III in absolutem Alkohol, bringt einen Tropfen auf einen Objektträger und läßt die Lösung verdunsten. Sodann verreibt man den Rückstand gleichmäßig und bringt nun auf den so vorbereiteten Objektträger einen Tropfen frischen Blutes und bedeckt mit einem Deckgläschen.

Es tritt rasch Rotfärbung der Fettröpfchen ein.

Bei infektiösen und eitrigen Prozessen erleiden die Leukocyten des Blutes eine Fettmetamorphose.

Färbungen an Organschnitten.

Für alle wissenschaftlichen Forschungen auf dem Gebiete der Blutkrankheiten und der Genese der Blutzellen nehmen heute die Schnittfärbungen die erste Stelle ein, nachdem es gelungen ist, auch auf den Gebieten der Hämatologie eine gute Technik der Granulafärbung im Schnitte zu erzielen.

An dieser Stelle kann ich freilich nicht alle Methoden eingehend besprechen und muß ich auf die spezielle Darstellung dieses Kapitels in der Hämatologischen Technik von SCHRIDDE und NAEGELI, Jena 1909, verweisen, wo SCHRIDDE vom Standpunkt der Histologie eingehende Vorschriften wiedergegeben hat.

Zur Fixation der Gewebsteile sind für das Studium pathologisch-anatomischer Veränderungen ZENKERSche Lösung, MÜLLER-Formol, 4 Proz. Formol allein, Sublimat-Alkohol, ZENKER-Formol und Alkohol am meisten in Gebrauch, während für embryologisches Material MAXIMOW (*Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.* 1909, Bd. 26) Fixation nach HELLY (ZENKER-Formol), dabei aber statt 5 proz. Formol 10 proz. empfiehlt und nachher Zelloidinschnitte vornimmt.

Dagegen hält SCHRIDDE (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 1910, Bd. 27) die ZENKER-HELLYSche Flüssigkeit für embryonales Gewebe für ungeeignet wegen Vakkuolisierung des Protoplasmas und ungenügender Darstellung der Kernstruktur und auch die Zelloidinschnitte für Granulafärbung ungünstig; er empfiehlt für embryonales Material MÜLLER 9:Formol 1 und nachher Paraffinschnitte. Ich muß auch in dieser Frage auf die Originalvorschriften der beiden Autoren hinweisen. Sehr wichtig ist unter allen Umständen möglichst frisches Material, am besten lebenswarm zu verwenden und sehr dünne Paraffinschnitte (unter 5μ) herzustellen.

Mit älterem Leichenmaterial ist nie mehr eine gute Färbung möglich.

Einige besonders bewährte Verfahren für Schnitffärbungen sind die folgenden:

1. Für Triazidfärbungen.

Sternberg empfiehlt nach Alkoholfixation Giemsaefärbung (0,5 Farblösung auf 20 ccm gekochtes Aq. destill.) — Färbung 24 Stunden — Abspülen in Wasser — kurze Differenzierung in $\frac{1}{2}$ proz. Essigsäure, bis der Schnitt rötlich ist — Abwaschen in Wasser — kurze Differenzierung in Alkohol, wobei die Präparate wieder bläulich werden; dann die übliche Einbettung.

Fabian (ZIEGLERS Beitr. 1908, S. 51). Fixation in ORTHScher Flüssigkeit (10 Teile MÜLLERscher Flüssigkeit + 1 Teil Formol) oder in ZENKER, jedoch ohne Essigsäure, dafür mit dem entsprechenden Zusatz von 5 proz. Formol (HELLYS Gemisch). Färbung möglichst dünner Schnitte, ganz kurz, in verdünntem Triazid oder $\frac{1}{4}$ —1 Minute in unverdünnter Lösung.

Abspülen kurz mit stark verdünnter Essigsäure (1:1000 — 1:3000).

Fintauchen in Wasser, dann Objektträger äußerst sorgfältig mit Tuch und Fließpapier abtrocknen.

Darauf Eintauchen in absolutem Alkohol, bis die Schnitte bläulich oder blaugrün werden.

Aufhellung in säurefreiem Xylol.

Einbetten in säurefreiem Kanadabalsam.

Die roten Blutkörperchen sind orange, die Kerne dunkelgrün, nur diejenigen der großen Lymphoidzellen blaßgrün.

Fibrin rot, eosinophile Granula \pm intensiv rot — braunrot, neutrophile Granula graublau-blaßviolett-braunviolett.

2. Für Färbungen mit eosinsaurem Methylenblau.

Zieler erhielt nur bei dünnsten Paraffinschnitten und peinlich genauer Innehaltung der Vorschriften gute Resultate. Er schlägt daher JENNER- oder MAY-GRÜN WALD-Färbung vor. Die Schnitte dürfen bis 15μ dick sein. ZIEGLER färbt mit der GRÜBLERSchen Lösung unverdünnt. 2—3 Minuten, wäscht in Aq. destill. bis zur ordentlichen Rotfärbung aus, trocknet zwischen

Fließpapier, bringt die Präparate wie SCHRIDDE in säurefreies Aceton, wo noch einige blaue Wolken abgehen, dann Xylol und säurefreier Kanadabalsam.

Die Mastzellen sind tiefschwarz, eosinophile Granula rot, neutrophile rosa-rotviolett, Erythrocyten blaßgrün-tieforange, Kerne blau.

Assmann bringt folgende Methode in Vorschlag:

Die Gewebeschnitte dürfen $5\ \mu$ nicht überschreiten.

1. Übergießen des Präparates mit 40 Tropfen GRÜBLERSchem Eosin-Methylenblau in methylalkoholischer Lösung (fertig von GRÜBLER zu beziehen). Färbedauer mehrere Stunden.

2. Übergießen mit 20 ccm Aq. destill., dem 5 Tropfen 1 promillige Essigsäurelösung zugesetzt worden ist. Färbedauer 15 Minuten.

3. Herausnehmen. Kurzes Abspülen in Alkoh. absol. Abspülen in Xylol. Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Der Alkohol muß streng wasserfrei sein und dazu einen Bodensatz von ausgeglühtem Kupfersulfat enthalten.

Statt 3 wird auch vorgeschlagen:

Einlegen in 20 ccm Aq. destill. + gleichfalls 5 Tropfen 1 proz. Essigsäure. Verweilen 15 Minuten.

Herausnehmen, sobald makroskopisch der rote Eosinton deutlich erkennbar wird. Abwaschen im Wasserstrahl mit Aq. destill. 1 Minute.

4. Entwässern, Einbetten.

Butterfield (Deutsch. Arch. 92, 1908). Fixation in 4proz. Formol, $5\ \mu$ dicke Paraffinschnitte. Aufkleben, Entparaffinieren in Xylol. Alkohol. Aq. destill. Färbung sodann auf Objektträger.

Bedecken mit dicker Schicht der Jennerlösung, 2—5 Minuten. Dann 3—5 Tropfen Aq. destill. der Farblösung zutropfen, leises Blasen bis Methylalkohol und Wasser gleichmäßig gemischt sind.

Es entsteht ein feiner Niederschlag und die Oberfläche zeigt metallischen Glanz.

So färbt man 5—10 Minuten weiter.

Dann Abfließenlassen der Farbmischung.

Sorgfältiges Trocknen des Präparates mit Fließpapier.

Sodann möglichst schnelle Entwässerung in Alkoh. absol. 2—3 mal. Xylol. Neutraler Kanadabalsam.

Es sind die neutrophilen Granula staubartig rotviolett, die eosinophilen größer und meist leuchtend rot, die Mastzellengranula schwarzblau.

Die Kerne sind tiefblau, das Lymphocytenplasma hellblau:

Die besten Präparate erhielt ich bisher mit einer Methode, die mein Mitarbeiter FISCHER nach sehr zeitraubenden Studien ausgearbeitet hat: I. D. Zürich und Myeloische Metaplasie, Springer, Berlin 1909.

Fischersche Färbung. Fixation in ZENKER, ZENKER-HELLY, Formol-Müller oder FLEMMING (dieses speziell für Mast- und Plasmazellenfärbung).

- A. 1. Kernfärbung in Alaunkarmin 5—20 Minuten.
 2. Abspülen in Wasser und Differenzieren mit Salzsäure-Alkohol (4 Tropfen konz. HCl:100 ccm 70 Prozent Alkohol), bis das Protoplasma farblos erscheint.
 3. Auswässern in gewöhnlichem Wasser 5—15 Minuten.
 4. Abspülen in Aq. destill.
- B. 1. Färbung in einer Mischung von 30 ccm Aq. destill., 7 Tropfen 1 promilliger Essigsäure und 60 Tropfen MAY-GRÜNWALDschem Eosin-Methylenblau während 1—24 Stunden.
 2. Abspülen in Brunnenwasser und Differenzieren in 150 ccm Aq. destill. und 1—2 Tropfen Eisessig während einiger Sekunden bis Minuten, bis die Granula distinkt zum Vorschein kommen (Kontrolle unter dem Mikroskop!).
 3. Abspülen in Aq. destill.
 4. Abtrocknen des Objektträgers bis an den Rand des Schnittes und Absaugen des Wassers vom Schnitte mit Fließpapier.
 5. Schnelles Entwässern in absolutem Alkohol eine bis mehrere Sekunden, je nach der Intensität der Methylenblaufärbung.
 6. Aufhellen in säurefreiem Xylol. Kanada.

NB. Ist bei der Eosin-Methylenblaufärbung das Methylenblau zu stark in den Vordergrund getreten, so kann man das Präparat noch einige Minuten in 1 promilliger wäßriger Eosinlösung nachfärben und dann eventuell noch in Essigsäure differenzieren.

3. Für Romanowskyfärbungen:

Giemsa (Deutsch. med. W. 1910, Nr. 12, besonders auch für Parasiten.

1. 5 mm dicke Organstücke werden mit Hornpinzette in Sublimat-Alkohol für mindestens 48 Stunden eingelegt.

2. Durchführen durch Alkoholreihe. Xylol. Einbetten in Paraffin. Schnitte von 4 μ .

3. Überführen durch Xylol, Alkoholreihen in Wasser.

4. Schnitte bleiben 10 Minuten in Lösung von Jodkali 2,0 Aq. destill. 100,0 LUGOLSche Lösung 3 ccm, oder in LUGOLScher Lösung allein, oder in alkoholverdünnter Jodtinktur.

5. Kurzes Abwaschen mit Aq. destill.; dann 10 Minuten in 5 proz. wäßriger Lösung von Natr. thiosulfat, darauf 5 Minuten in Leitungswasser oder kurz in Aq. destill.

6. Giemsafärbung frisch, 3 Tropfen : 1—2 cm Wasser, Färbung 2 bis 12 Stunden und länger.

7. Abspülen in Aq. destill. und Hindurchführen durch Aceton-Xylolreihe (95 + 5; 70 + 30; 70 + 30; Xylol pur.) Zedernöl.

Schriddes Azur II. - Eosin - Acetonmethode. Fixation beliebig, z. B. Formol-Müller (Formol 40 proz. 1 Teil, Müller 9 Teile), Färbung Giemsa-Lösung (2 Tropfen auf je 1 ccm Aq. destill.), 20 Minuten. Sorgfältiges Waschen. Trocknen mit Fließpapier; dann für 1 Minute in wasserfreies Aceton puriss. (KAHLBAUM). Überführung in säurefreies Xylol oder Toluol. Neutraler Kanadabalsam. Aufbewahren im Dunkeln. In Aceton darf Entfärbung nicht eintreten, sonst ist Säure da.

Die neutrophilen Granula sind violettrot, die eosinophilen rot, Mastzellen dunkelblau, alle Kerne blau, Erythrocyten grasgrün. Bindegewebe blaßrötlich.

In allerletzter Zeit hat PAPPENHEIM, *Fol. haem. O.* XI. 373 u. XII. 178 eine kombinierte May-Giemsa-Färbung und eine Panchromfärbung auch für Schnittpräparate ausgearbeitet und empfiehlt diese Methoden für gute Kern-darstellung ganz besonders.

Literatur über Blutfärbungen

siehe auch viele Hinweise im Text.

ASSMANN, *Münch. m. W.* 1906. Nr. 28. S. 1350 u. I.-D. Leipzig 1908. — BUTTERFIELD, *D. A.* 92. 1908. — EHRlich, *Farbenanalytische Untersuchungen.* Berlin 1891; *Die Anämie.* Bd. I. Nothnagelsche Sammlung. — FABIAN, *Ziegl. Beitr.* 1908. S. 51. — GIEMSA, *Zentralbl. f. Bakteriolog.* Bd. 31. S. 429. Bd. 32. S. 307. Bd. 37. S. 308; *Deutsch. m. W.* 1905. Nr. 26; 1910. Nr. 12. — JENNER, *Lancet* 1899. I. S. 370. — LAPORTE, *Fortschritte d. Med.* 1903. Nr. 11. — LEISHMAN, *British med. Journal.* 1901. 21. Sept.; *Journal of Hygiene.* Bd. 4. 1904. — MAXIMOW, *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.* Bd. 26. 1909. — MAY, *Münch. med. W.* 1906. Nr. 8. — MAY u. GRÜNwald, *Zentralbl. f. inn. Med.* 1902. — L. MICHAELIS, *Zentralbl. f. Bakt.* 1901. Bd. 29; *Einführung in die Farbstoffchemie.* Berlin 1902. KARGER. — MOSSE, *Zieglers Zentralbl.* 1905. — NOCHT, *Zentralbl. für Bakt.* Bd. 24 u. 25; *Enzyklopäd. d. mikrosk. Technik.* 1903. — PAPPENHEIM, *Virchows Arch.* Bd. 157. 1899; *Grundriß der Farbchemie.* Berlin 1901; *Festschrift für Unna* 1910. — HAUSWALD, *Deutsch. m. W.* 1901. Nr. 46 u. *Fol. haem. III.* 1906. S. 344; *Fol. haem. O.* XI. 373; XII. 178. — PRÖSCHER, *Zieglers Zentralbl.* 1905. Nr. 21. — REUTER, *Zentralbl. f. Bakt.* 1901. Nr. 6. — ROMANOWSKY, *St. Petersburg. m. W.* 1891. — RUBINSTEIN, *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.* Bd. 14. 1898. — SCHRIDDE, *Münch. m. W.* 1905. S. 1233; 1906. S. 160; *Zieglers Zentralbl.* 1905. Nr. 19; *Zentralbl. f. Physiolog.* Bd. 19. 1905; *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.* Bd. 27. 1910. — STERNBERG, *Verhandlgn. d. deutsch. Path. Ges.* 1903; *Zentralbl. f. Pathol.* 1905. Nr. 8. — TÜRK, *Vorlesungen über klin. Hämatologie.* 1914; *Wiener kl. W.* 1901. Nr. 18. — WEIDENREICH, *Die Leukocyten.* Wiesbaden. 1911. — v. WILLEBRANDT, *Deutsch. m. W.* 1901. Nr. 4. — ZIELER, *Zieglers Zentralbl.* 1906. Bd. 17. Nr. 11. — ZIEMANN, *Zentralbl. f. Bakt.* Bd. 24. 1898.

Kammerfärbungen.

Da bei der Herstellung von Ausstrichpräparaten häufig einzelne Zellen zerstört werden und auch die Leukocyten in nicht völlig tadellosen Präparaten sich oft etwas ungleich verteilen (polymorphkernige sind häufiger in den dünneren

Randschichten, Lymphocyten mehr in den dickeren zentralen), so liegt es nahe, Färbungen in der Zählkammer selbst vorzunehmen.

Diese Färbungen sind aber insofern unvollständig, als es bisher nie gelingt, alle Leukocytenarten völlig differenziert und erkennbar darzustellen. Daher sind die Ausstrichpräparate immer außerdem noch nötig. Gleichwohl ist eine Kammerfärbung recht wertvoll, da ihre Resultate entschieden genauer und auch schneller erreichbar sind als die Ergebnisse der Ausstrichpräparate. Bedingung ist natürlich auch hier, daß mindestens 300 Leukocyten ausgezählt werden, damit der Zufall keine größere Rolle spielt.

Zuerst hat ZOLLIKOFER (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 1900) nach diesem Prinzip Färbungen vorgenommen. Er bezweckte namentlich eine Kammerfärbung der eosinophilen Zellen, um deren Zahl mit größerer Genauigkeit festzustellen. Seine Färbungsmethode ist die folgende:

Man macht sich zwei Lösungen, die in dunklen Gläsern aufbewahrt werden.

I. Eosin w. g. (GRÜBLER)	0,05
Formalin konz. (40 Proz.)	1,0
Aq. destill.	100,0
Filterieren.	
II. Methylenblau B. X. (GRÜBLER)	0,05
Formalin konz.	1,0
Aq. destill.	100,0
Filterieren.	

Zum Gebrauch werden aus Tropffläschchen beide Lösungen zu gleichen Teilen gemischt und das Blut mit der Mischpipette für Leukocyten auf $\frac{1}{10}$ mittels der hergestellten Färbungsflüssigkeit verdünnt. Während 5 Minuten wird die Pipette geschüttelt und dann sofort die Kammerzählung vorgenommen.

Die eosinophilen Granula sind gelblich-kaminrot. Die neutrophilen grauviolett. Die ungranulierten Lymphocyten und Mononukleären sind durch ihre Größe zu erkennen. Die Kernfärbung ist leider keine deutliche.

Im allgemeinen muß man gleiche Tropfenzahl beider Lösungen zur sicheren Granulafärbung mischen, mitunter kann man aber etwas variieren, wenn die Färbung der Granulation oder der Kerne zu ungenügend ist. Im ersteren Falle hat man etwas zu viel Methylenblau, im letzteren zu wenig. Eine genügende Tinktion sowohl der Kerne wie der Granula gelingt indessen nicht, so daß man eben am besten auf eine gute Tinktion der Körner tendiert.

RIEBES (Münch. med. W. 1906, Nr. 31) hat zur besseren Kernfärbung die Methode dahin modifiziert, daß er die Methylenblaulösung zuerst allein einwirken läßt und hat daher das Blut zuerst mit dieser Lösung so weit verdünnt, daß nur die halbe Ampulle der Mischpipette gefüllt wird. Zehn Sekunden später füllt er mit der zweiten Lösung vollständig unter Ansaugen bis zur Marke II. Während 5 Minuten wird geschüttelt, dann die Kammer beschickt und jetzt sind sowohl die Kerne als Granulation befriedigend gefärbt.

TÜRK (Klinische Hämatologie, Wien 1904) empfiehlt als Verdünnungsflüssigkeit für die Leukocytenzählung nicht wie sonst $\frac{1}{3}$ proz. Essigsäure, sondern folgende Lösung zu verwenden:

Acidi acetici glacial.	3,0
Aq. destill.	300,0
1 proz. wäßrige Genticanviolettlösung	3,0

Damit erzielt man nicht allein eine deutliche Darstellung der Leukocyten zur leichteren Zählung in der Kammer, sondern bereits auch schon eine weit-

gehende Differenzierung. Ich kann nach jahrelangem Gebrauch dieser Methode und nach Benutzung ganz ähnlicher Lösungen schon vor der TÜRKschen Publikation diese Technik aufs beste empfehlen. Man erkennt jetzt in der Kammer die Leukocytenkerne aufs deutlichste, und bei guter Beleuchtung unterscheidet man

die Lymphocyten an ihrem kleinen runden oder leicht eingekerbten Kern und ihrem schmalen Protoplasma.

Die polymorphkernigen Leukocyten sind durch die Kerne leicht erkennbar, leider aber können eosinophile und neutrophile Granula nicht voneinander getrennt werden.

Die Mastzellen haben intensive Färbung angenommen und erscheinen als violettblaue Kugeln, ohne daß man gewöhnlich noch den Kern zu erkennen vermöchte.

Die großen mononukleären Leukocyten haben großes Protoplasma, blasse und wenig scharf abgesetzte Kerne. Kleinere Exemplare können mit den Lymphocyten verwechselt werden.

Die Übergangsformen sind nur schwer mit Sicherheit zu erkennen, am ehesten durch den wenig gelappten Kern und das etwas bläuliche Protoplasma.

Der Geübte wird auch Myelocyten und kernhaltige Rote bald herausfinden, ebenso andere pathologische Zellformen.

DUNGER (Münch. med. W. 1910, Nr. 37) schlägt für eine rasche und zuverlässige Zählung der Eosinophilen die Benutzung der folgenden Mischflüssigkeit für die Kammerfärbung vor und die Verwendung großer Kammern, z. B. der BÜRKERSchen:

1 proz. wäßrige Eosinlösung	} gut verkorkt, lange haltbar.	
Azeton		ää 10,0
Aq. destill.		ad 100,0

Die Eosinophilen sind durch die glänzend rot gefärbten Körner auffallend.

Vitalfärbungen.

Eigentliche Vitalfärbungen kommen wohl nie vor, weil die lebendige Zelle entweder den Farbstoff nicht aufnimmt, oder wenn derselbe, wie Methylenblau, doch ins Innere der Zelle dringt, durch Oxydation oder Reduktion unschädlich macht. Dagegen sind absterbende Zellen im hohen Grade empfänglich für gewisse dargebotene Farbstoffe, wie Neutralrot, Methylenblau, Brillant-Kresylblau, Pyronin Methylgrün, Methylenazur usw.; mithin liegen stets postvitale Färbungen infolge von Nekrobiose vor. Gleichwohl sind sehr viele präformierte Zellbestandteile mit dieser Methodik elektiv zu färben, wenn auch nebenbei Artefakte entstehen, deren Deutung zuweilen Schwierigkeiten bereitet.

Viele Autoren sind gegenüber den Ergebnissen dieser Untersuchungsmethode äußerst zurückhaltend, so nennt HEIDENHAIN die Befunde ein Konvolut heterogener Erscheinungen.

Einen enormen Umfang hat zurzeit die Verwendung dieser Vitalfärbungen in Italien erlangt, während in den Ländern deutscher Zunge diese

Methoden mehr nur für besondere Zwecke im Gebrauch stehen. Sehr ausgiebigen Gebrauch macht davon ARNOLD für seine Zellstudien.

Die Technik dieser „Vitalfärbungen“ ist sehr einfach. Man bringt zu einem kleinen Korn des Farbstoffes einen Tropfen Blut, umrandet das Präparat mit Vaseline und beobachtet die eintretenden Veränderungen in den nächsten Stunden. Noch besser bewährt sich das Ausstreichen mit einem Glasstab und Eintrocknenlassen in der Nähe der Flamme einer dünnen Schicht der Farblösungen, z. B. Kresylblau in abs. Alkohol, auf einem Objektträger. Nachher breitet man den Blutropfen in der gewohnten Weise über dieser dünnen Farbstoffschicht aus (Methode von PAPPENHEIM, NAKANISHI) oder untersucht über einem hohlgeschliffenen Objektträger (ROSIN und BIBERGEIL) unter sorgfältigem Abschluß der Luft.

Von speziellen Methoden ist die vitale Sudanfärbung bereits S. 32 erwähnt. CESARIS-DEMEL (Virch. Arch. 195) verwendet Brillantkresylblau und Sudan III in alkoh. Lösung.

SABRAZES (Gaz. hebdom. Bordeaux 1908, 29. XI.; 1909, 28. II., 4. u. 11. IV.) bereitet sich in gewohnter Weise lufttrockene Blutausrüche auf entfetteten Objektträgern (oder Deckgläschen) und nimmt die Färbung beliebig später vor, indem er auf entfettetem Deckgläschen (oder Objektträger) einen kleinen Tropfen von

Methylenblau medic. pur. in Aq. destill. 1:500
ausbreitet und jetzt die Färbung vornimmt.

Man kann dann nach der Vitalfärbung Trockenpräparate machen, indem man das Deckgläschen mit einer Kante vorstehen läßt und dann nach Eintrocknenlassen während einigen Tagen abhebt. Solche vitalgefärbte Präparate lassen sich nach PAPPENHEIM (Fol. haem. VII. 1909, S. 19) fixieren und dann umfärben.

WIDAL, ABRAMI und BRULÉ benützen eine isotonische Farbstofflösung:

10 ccm polychrom. Methylenblau v. Unna.

10 ccm 8 proz. Na Cl.

1 ccm 2 proz. Natr. oxalic.

Sie saugen in eine Pipette erst Blut und dann rasch das Zehnfache der Lösung, erzeugen eine gute Mischung durch Aufsaugen und Ausblasen, lassen 10—15 Minuten stehen, zentrifugieren und streichen das Sediment aus, das dann leicht durch Hitze fixierbar ist. Nach FERRATA und BOSELLI wird auf diese Weise die Subst. granulo-filamentosa elektiv gefärbt.

FERRATA und BOSELLI (Fol. haem. X. 1910) schlagen zur präagonalen Färbung 1 proz. Methylenblaulösung in 0,85 proz. Na Cl-Lösung vor, fixieren und färben dann nach JENNER-GIEMSA weiter und können so jede Veränderung der roten Blutkörperchen zum Ausdruck bringen.

HERTZ empfiehlt besonders Brillant-Kresylblau und polychromes Methylenblau.

SCHILLING-Torgau hält eine kombinierte Brillantkresylblau-Giemsamethode für besonders geeignet.

Bestreichen der gut gereinigten Objektträger mit konzentrierter alkoholischer Lösung von Brillantkresylblau mittels eines Glasstabes. Antrocknen lassen. Objektträger muß deutlich grauviolett sein.

Ausstreichen des Blutes mit Deckglas oder Objektträger.

Fixation in Äther-Alkohol oder Methylalkohol, nur 5'.

Nachfärbung mit alkalischer Giemsalösung 20'.

„Man sieht schöne Netzstruktur und an den dünnen Stellen zahllose Übergänge zw. Polychromasie und Vitalstruktur“. Die bei Malaria tertiana vorhandene Schüffnertüpfelung wird als Fortsetzung der Vitalstruktur und Sichtbarmachung ihrer Grundlage erklärt.

Unter den roten Blutkörperchen verraten sich die polychromatischen durch tiefe Blaufärbung. (Poggikörperchen der Italiener bei vitaler Methylenblaufärbung), ferner erscheint in manchen jungen Zellen ein Netzwerk oder eine granuläre Beschaffenheit (Substantia granulo-filamentosa), die aber nicht identisch ist mit der am fixierten Präparat nachweisbaren basophilen Punktierung. Sehr früh färbt sich der Kern der Erythroblasten.

Über Auffassung und Bedeutung dieser Befunde siehe S. 143.

Viel studiert sind die Erscheinungen an den Blutplättchen, bei denen eine blasse periphere Schicht und eine dunkelgefärbte granuläre, vielfach als Kern gedeutete, Partie zum Vorschein kommt. Auch abnorm große Plättchen sind leicht zu erkennen.

An den Leukocyten bemerkt man zuerst eine diffuse Protoplasma-durchtränkung, die bei basischen Farbstoffen wieder verschwindet, sobald der Kern intensiv die Farbe angenommen hat. Nachher treten Granulafärbungen ein. An den Lymphocyten heben sich die Nukleolen aufs deutlichste ab, ebenso die azurophilen Granula.

Besonders geeignet ist die Vitalfärbung zur Darstellung gewisser fixiert nicht darstellbarer Veränderungen an jugendlichen Erythrocyten, ferner zur sichersten Färbung der Nukleolen.

Hauptsächliche Literatur der Vitalfärbungen.

ACHARD et AYNAUD, Soc. biol. 14. 11. 1908. Plättchen. — ARNOLD, Virch. Arch. 157; Anat. Anzeiger. Bd. 16. — BIBERGEIL, I.-D. Kiel. 1903. — BIFFI, Boll. scienze med. 1908. — BIONDI, Fol. haem. VII, S. 205. — BLOCH, Beitr. z. Hämat. Zeitschr. f. kl. M. Bd. 43. 1901. Lit.! — BRULÉ, I.-D. Paris. 1909. — CADE et CHARLIER, Lyon méd. 1909. — CADWALADER, Am. J. 1905. — CAGNETTO, Rif. med. 1908. — CESARIS-DEMEL, Virch. Arch. 195. Fol. haem. Bd. IV. Suppl. 1907. S. 1. Lit.! — EHRLICH, Anämie, I. Teil, Nothnagelsche Sammlung u. Char. An. Bd. 10. — FERRATA, Fol. haem. IV. Suppl. IX. S. 253. Literatur hier zusammengestellt, bes. italienische, ferner Fol. haem. IX. Arch. S. 274. — FERRATA u. BOSELLI, Fol. haem. X. 1910. — FERRATA u. VIGLIOLI, Fol. clin. Bd. 3. 1911. — FIESSINGER et ABRAMI, Revue de méd. 1909. S. 1—40.

— FIESSINGER u. PEIGNEY, Arch. mal. cœur. 1909. S. 454. — FLEISCHMANN, Med. Klinik. 1905. Nr. 11. — FOÀ, Ziegl. Beitr. Bd. V. — GIGLIO-TOS, siehe FERRATA. — HAWES, Bost. J. 1909. — HAYEM, Du sang. Paris. 1889. — HEIDENHAIN, Plasma u. Zelle. — HEINZ, Virch. Arch. 118. 122. 168; Ziegl. Beitr. Bd. 29. — HERTZ, Fol. haem. IX. Arch. S. 293; Fol. haem. O. X. 419. Lit.! — HORSLEY, Münch. med. W. 1897. S. 625; granuläre R bei Vitalfbgn. — ISRAEL u. PAPPENHEIM, Virch. Arch. 143. — JOLLY, Arch. mal. cœur. 1908. Nr. 5. — MAXIMOW, Arch. f. Anat. u. Phys. 1899. anat. Abt. — NAKANISHI, Münch. med. W. 1900. S. 187 u. 680. — NOËL, FIESSINGER et PEIGNEY, Arch. mal. cœur. 1908. S. 454. — PAPPENHEIM, I.-D. Berlin. 1895; Virch. Arch. 143. 151. 157. 169; Münch. med. W. 1901. Nr. 24. Fol. haem. II. S. 260. Suppl. IV. S. 47. VII. S. 19. IX. S. 314 u. IX. Arch. S. 302. — PLATO, Arch. mikrosk. Anat. Bd. 56 u. Münch. med. W. 1900. S. 1257. — POGGI, Policlinico. 1898. — PREISICH u. HEIM, D. med. W. 1903. — PUCHBERGER, Virch. Arch. Bd. 171. — RAVENNA, Lav. e rivist. 1909. — RENAUX, J. méd. Brüssel. 1909. Nr. 48. — ROSIN, Phys. Ges. Berlin. 21. V. 1909. — ROSIN u. BIBERGEIL, Zeitschr. f. klin. Med. 1904. Bd. 54. Virch. Arch. Bd. 178. D. med. W. 1902. Berl. kl. W. 1904. — SABRAZÈS, Gaz. hebdomadaire. Bordeaux. 1908. 29. XI. 1909. 28. II., 4. IV., 11. IV. 1910 mehrfach. Arch. mal. cœur. 1910. — SABRAZÈS et LEURET, Fol. haem. V. S. 710. Soc. biol. 1908. Bd. 64. — SACERDOTTI, Berl. kl. W. 1905. — SCHILLING-Torgau, Fol. haem. Arch. XI. 327. — VAUGHAN, Med. Research. 1903. — WEIDENREICH, Ergebn. d. Anat. u. Entw. 1905 u. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 69. 1904. — WIDAL, ABRAMI et BRULÉ, C. R. soc. biol. 1908. Siehe auch Kapitel Erythrocyten u. hämolytischer Ikterus.

Die Zählung der Blutzellen.

Die Feststellung der Zahl der roten und weißen Blutkörperchen ist unter den verschiedensten Gesichtspunkten von größter Bedeutung. Glücklicherweise besitzen wir in den Kammerzählungen nach den Prinzipien von THOMA-ZEISS eine durchaus zuverlässige Methodik.

Zum Zwecke der Zählung der morphologischen Elemente muß das Blut verdünnt werden.

Die Zählung der roten Blutkörperchen.

Als Verdünnungsflüssigkeiten benützt man physiologische Kochsalzlösung 0,9 Prozent, oder TOISSONSche Flüssigkeit (nicht empfehlenswert) oder weitaus am besten

HAYEMSche Lösung:	Hydrarg. bichlor.	0,5
	Natr. sulfur.	5,0
	Natr. chlorat.	1,0
	Aq. destill.	200,0.

I. Die Verdünnung wird mit der Mischpipette von THOMA durchgeführt.

Ein genügend großer Blutropfen wird vorsichtig und langsam angesaugt bis zur Marke 0,5, wenn es sich wahrscheinlich um annähernd normale Erythrocytenwerte handelt, bis 1,0 bei hochgradigen Anämien. Sodann wird die Spitze *S* der Pipette mit dem Finger rasch von dem anhaftenden Blute befreit und jetzt die Verdünnungsflüssigkeit angesogen. Zunächst soll die Verdünnung zum Zwecke gleichmäßiger Verteilung des Blutes ziemlich rasch vor sich gehen, später aber langsamer, je mehr man mit der Füllung der Ampulle sich der Marke 101 nähert. Diese darf nicht überschritten werden.

Haben sich infolge zu langsamen Arbeitens Gerinnsel gebildet, so ist die genaue Bestimmung unmöglich, und es bleibt nichts anderes übrig als eine neue Pipette zu füllen. Mitunter bilden sich Luftblasen. Entstehen sie schon beim Ansaugen vor der Marke 0,5 (bezw. 1,0), so fängt man besser von vorn an. Durch Vorsicht und Benutzung eines genügend großen Blutropfens kann diese Unannehmlichkeit erspart werden. Bilden sich Luftblasen erst in der Ampulle dadurch, daß die Glasperle nicht von allen Seiten gleichzeitig umspült wird, so läßt sich dieser Übelstand noch heben, indem man bei senkrechter Haltung der

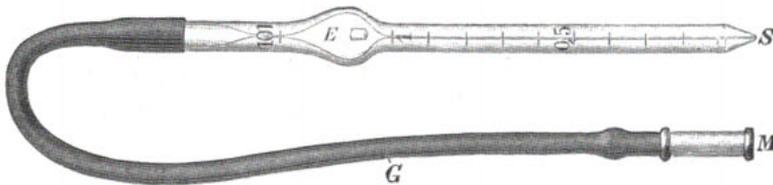


Fig. 4. Mischpipette für rote Blutkörperchen nach THOMA.

Pipette durch leichtes Drehen oder gelindes Schütteln die Luft an die Oberfläche der Flüssigkeit hinaufreibt. Wenn man schon beim Ansaugen etwas dreht, so kann auch hier die Blasenbildung vermieden werden.

Ist diese Grenze erreicht, so verschließt man mit dem Finger die Spitze *S* der Mischpipette, damit kein Inhalt mehr austritt und erzielt nun eine gleichmäßige Suspension unter leichtem Schütteln durch die Bewegung der Glasperle in der Ampulle. Diese Prozedur muß 2—3 Minuten durchgeführt werden.

Statt der gewöhnlichen Mischpipette sind in letzter Zeit verschiedene Präzisionssauger empfohlen worden, durch die eine möglichst genaue Abmessung der Blutsäule erreicht wird. Ich verweise auf die Mitteilungen von MAY, Münch. med. W. 1903, S. 251 u. von HIRSCHFELD, Berl. kl. W. 1909, Nr. 10.

Im allgemeinen scheinen diese Instrumente wegen ihrer Kompliziertheit geringen Eingang gefunden zu haben. Auch ist wohl der mögliche Fehler bei der ursprünglichen Mischpipette nur ein sehr kleiner, sorgfältiges Arbeiten vorausgesetzt. Jedenfalls liegen die Gefahren, wie bereits früher betont, viel mehr in der Art der Blutentnahme als in der Pipettenfüllung.

Beachtenswert ist der Vorschlag von HIRSCHFELD (Die deutsch. Klinik usw. 1909), wonach alle Präzisionssauger unnötig werden, wenn statt des Mundstückes

der gewöhnlichen Pipette ein kleines Glasröhrchen mit 1—2 cm lang aufgerollter Watte eingesetzt wird. Dadurch läßt sich die Aufsaugung viel genauer und sorgfältiger gestalten.

II. Die Füllung der Zählkammer.

Das Prinzip der Zählkammern besteht darin, daß ein Raum von ganz genau bekanntem Volumen hergestellt ist, und dieser Raum selbst durch eine erst mikroskopische sichtbare feine Einteilung noch in viele einzelne Quadrate geteilt wird.

Die Kammer wird durch ein besonderes, dem Instrument beigelegtes Deckgläschen *D* abgeschlossen. Es darf wegen des Fokalabstandes der Linse nicht zu dick, aber auch wegen notwendiger Vermeidung zu großer Elastizität nicht zu dünn sein. Das Deckglas ist richtig aufgelegt, wenn allseitig die NEWTONschen Farbenringe als Interferenzerscheinung auftreten und bestehen bleiben; alsdann beträgt die Kammerhöhe 0,1 mm. Auf dem Grunde der Kammer ist eine mikroskopische Gittereinteilung eingraviert, die je 20 Quadrate in 20 Reihen aufweist. Ein solches Quadrat mißt $\frac{1}{20}$ mm Seite, hat also $\frac{1}{400}$ mm² Fläche und bei der Kammerhöhe von $\frac{1}{10}$ mm beträgt mithin der Inhalt des Prismas $\frac{1}{4000}$ mm³.

Man bläst aus der Mischpipette einen Teil des Inhaltes aus und verwendet am besten einen Tropfen aus der Mitte der Ampulle zur Füllung der Kammer, nachdem unmittelbar vor der Beschickung der Zählkammer

die Spitze der Mischpipette von der anhaftenden Flüssigkeit befreit worden ist. Der nicht allzu große Tropfen wird auf die Kammermitte gebracht und schnell das Deckglas angedrückt. Geschieht dies nicht rasch, so kann sich das Blut natürlich sedimentieren, und es entstehen enorme Fehler. Beim Andrücken ist die Bildung von Luftblasen absolut zu vermeiden, indem man das Deckglas zuerst auf einer Kante auflegt, dann mit dem Tropfen in Berührung bringt und erst jetzt völlig senkt. Es muß sich auch das Blut gleichmäßig ausbreiten. Unter allen Umständen soll der Boden (*B*) der Zählkammer bis zur ringförmigen Rinne *r* vollständig ausgefüllt werden, weil sonst die peripheren Schichten an Blutkörperchen außerordentlich ärmer sind als die zentralen. Es tut auch gar nichts, wenn etwas Flüssigkeit in die Rinne hineingelangt. Dagegen galt es bisher als durchaus unstatthaft, daß sich auch außerhalb der Rinne unter dem Deckglas noch etwas Flüssigkeit findet. TÜRK und BÜRKER haben neuerdings indessen darauf

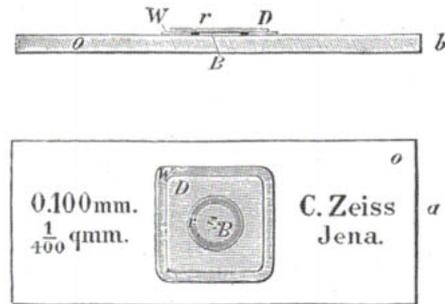


Fig. 5. Zählkammer.

a) Aufsicht, b) Durchschnit ($\frac{1}{2}$ nat. Größe).

aufmerksam gemacht, daß man sogar mit Vorteil auf beide Seiten der Rinne einen ganz kleinen Tropfen absichtlich anbringt, sofern nachher die NEWTONSchen Ringe deutlich erscheinen.

Für die richtige Höhe der Kammer ist es gleichgültig, ob unter dem Deckgläschen Luft oder Wasser sich befindet; wichtig ist allein, daß NEWTONSche Ringe erscheinen, indem jetzt die geforderte Höhe erreicht ist. Durch zahlreiche Zählungen und optische Berechnungen ist die Zulässigkeit dieser neuen Methodik erwiesen, und ich bediene mich ihrer sehr gern, weil das Deckglas viel fester anhaftet und erst beim sicheren und konstanten Anschluß desselben die richtige Kammerhöhe garantiert ist. In der Tat kann man sich bei der (unstatthaften!) nicht vollständigen Füllung des Kammerbodens leicht überzeugen, wie verschieden weit die Flüssigkeit reicht, wenn das Deckglas sehr gut oder wenn es nur lose haftet.

Ist die Kammerfüllung vollendet, so wartet man 2 Minuten oder besser noch länger ab, damit sich die Blutkörperchen absetzen. Jetzt kontrolliert

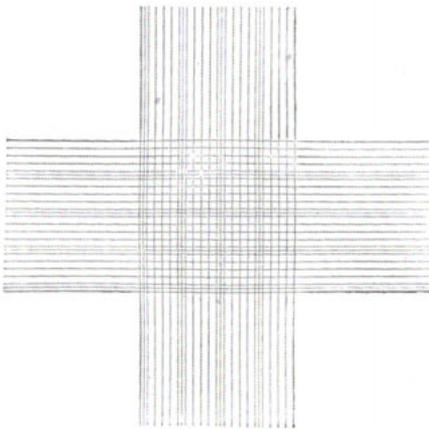


Fig. 6. Netzteilung nach THOMA.
(20mal vergr.).

man unter dem Mikroskop mit schwacher Vergrößerung, ob die Verteilung der Zellen überall gleichmäßig erfolgt ist und nicht etwa die Peripherie weniger Blutkörperchen empfangen hat. Im letzteren Falle könnte natürlich von einer richtigen Zählung keine Rede sein. Für eine sichere Berechnung der Erythrocyten muß die mittelstarke Vergrößerung (D des Mikroskopes von ZEISS) und eine sehr gute Lichtquelle (weiße Wolke oder am besten Auerlicht!) benützt werden. Die feine Netzteilung soll mit großer Deutlichkeit hervortreten.

Man beginnt jetzt die Zählung in der linken oberen Ecke der Kammer.

Zum Zwecke leichter Orientierung ist die 1., 6., 11. und 16. Reihe der kleinen Quadrate, wie das die vorliegende Reproduktion veranschaulicht, durch eine besondere Linie geteilt und dadurch gekennzeichnet. Die Erythrocyten liegen natürlich öfters auf den Grenzlinien der kleinen Quadrate. Wollte man alle nur tangierenden Zellen mitzählen, so würde selbstverständlich ein großer Fehler entstehen. Man soll daher nur diejenigen Blutzellen berücksichtigen, die wenigstens zur Hälfte dem kleinen Quadrat angehören, oder aber man zählt von den tangierenden nur diejenigen, die die linke oder obere, nicht aber die rechte und untere Grenzlinie schneiden.

Es wird jetzt durch Verschiebung der Zählkammer (am besten mit verschiebbarem Objektisch!) die Zahl der Blutkörperchen in 20 nebeneinander liegenden kleinen Quadraten, d. h. in einer Reihe ermittelt und notiert.

Jetzt wird die folgende zweite Reihe durchgezählt usw., bis wenigstens zehn Reihen bestimmt sind. Die Resultate dürfen untereinander nicht allzu stark abweichen, sonst ist die Verteilung keine gute und das Ergebnis unsicher.

Sehr zu empfehlen ist es, noch andere Reihen abseits der zentralen Partie zu bestimmen. Mit dem THOMA-ZEISSschen Kammer ist dies freilich nicht möglich; aber mit den von ZAPPERT, ELZHOLZ, TÜRK usw. angegebenen, auf S. 47 u. 48 reproduzierten Zählkammern geht das sehr wohl, und dann gewinnen die Resultate, sofern sie auch jetzt annähernd gleich ausfallen (und das muß verlangt werden!), ganz bedeutend an Zuverlässigkeit. Ich pflege regelmäßig eine größere Anzahl Reihen der äußersten Peripherie an allen Seiten durchzuzählen, um der gleichmäßigen Verteilung sicher zu sein.

Alle Ergebnisse können außerdem erst Anspruch auf Genauigkeit erheben, wenn sie aus einer sehr großen Erythrocytenzahl (etwa 1000) ermittelt sind. Dann mag der Fehler immer noch 3 Proz. betragen (REINERT). Bei schweren Anämien muß man daher viel mehr als 10 Reihen, ja viel mehr als 20 Reihen zählen; mithin reicht dafür die ursprüngliche THOMA-ZEISSsche Kammer gar nicht aus, und es sollte daher ganz allgemein nicht nur für die Leukocytenbestimmung, sondern schon für die Ermittlung der Erythrocytenwerte eine der größeren Kammern von ZAPPERT, ELZHOLZ, NEUBAUER, BÜRKER oder TÜRK angeschafft werden.

Die Berechnung der Erythrocytenzahl im Kubikmillimeter ist leicht, wenn man sich daran erinnert, daß jeder kleine Kubus mit dem kleinen Quadrat als Grundfläche = $\frac{1}{4000}$ mm³ Inhalt besitzt und daß außerdem in der Pipette beim Ansaugen des Blutes bis zur Marke 0,5 eine 200fache Verdünnung erzielt worden ist. Man zählt also 200 kleine Quadrate = 10 Reihen und multipliziert den gefundenen Wert mit 4000.

Die weißen Blutzellen dürfen natürlich nicht mitgezählt werden. Man kann sie bei Verdünnung mit HAYEMscher Lösung auch ohne Schwierigkeit erkennen, da sie nicht den gelblichen Hämoglobinfarben ton besitzen. Zwar sind sie gewöhnlich im Vergleich zu den roten Blutkörperchen so selten, daß sie gar keine Rolle spielen. Bei starken Anämien und Leukocytosen könnten aber doch wesentliche Fehler entstehen. Bei Leukämie müssen sie besondere Berücksichtigung finden und dürfen nicht mitgezählt werden. Hier kann man auch so verfahren, daß man zuerst bei Verdünnung mit HAYEMscher Flüssigkeit alle korpulären Elemente zählt und nachher in Essigsäure die Leukocyten bestimmt und die Erythrocyten dann aus der Gesamtsumme — weiße Zellen berechnet.

Die Mischpipetten müssen nach jedem Gebrauche aufs sorgfältigste (am besten mit einem Gebläse) zuerst mit Wasser, dann mit absolutem Alkohol, endlich mit Äther gereinigt werden. Von Zeit zu Zeit empfiehlt sich eine gründliche Säuberung mit Kalilauge. Diese ist auch dann nötig, wenn Koagula sich gebildet haben oder die Pipette verstopft ist. Man läßt die Kalilauge $\frac{1}{2}$ —1 Tag lang einwirken, nachher kommt langdauerndes Ausspülen mit Wasser, dann Alkohol und Äther wie sonst.

Die Zählkammer darf nur mit Wasser gereinigt werden, Alkohol, Äther usw. würden den Kitt (Kanadabalsam) auflösen. Bei stärkerer Verunreinigung kann 1 Tropfen Kalilauge zur Reinigung gebraucht werden.

Vor dem Gebrauch müssen Mischpipette und Zählkammer absolut trocken und staubfrei sein, die Glasperle soll nicht anhaften und allen Bewegungen folgen.

Einer besonderen Besprechung bedarf noch die sehr empfehlenswerte Zählkammer von BÜRKER (Münch. med. W. 1905, Nr. 19 u. Arch. f. d. ges. Phys. Bd. 107, S. 426 u. Bd. 118, S. 460).

Man läßt hier auf die Zählflächen *a* und *b* bei fest aufgelegten oder mit Klemmen angepreßtem die NEWTONschen Ringe deutlich zeigendem Deckglas das Blut von der Seite auf die Mischpipette einfließen, wobei durch Kapillarwirkung eine möglichst gleichmäßige Verteilung erzielt wird.

Für rote Zellen benutzt BÜRKER als Zählinheit die kleinen, für weiße Zellen die großen Quadrate (siehe Fig. 7).

Bei Verdünnung 1:200 muß man die Gesamtzahl der in 80 kleinen Quadraten gezählten *R* mit 0,01 multiplizieren und hat dann den Wert pro Kubikmillimeter in Millionen.

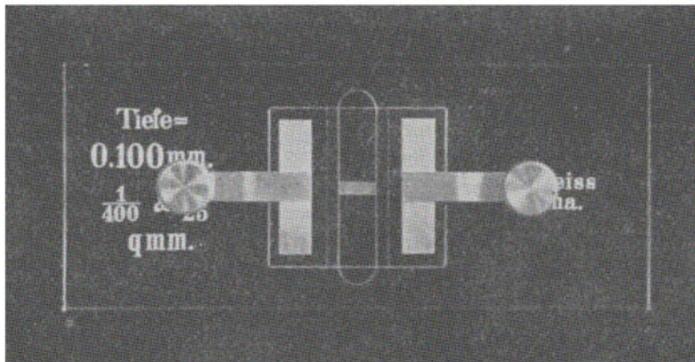


Fig. 7. Zählkammer von BÜRKER.

Bei Verdünnung 1:10 für Leukocyten zählt man 100 große Quadrate, multipliziert mit 0,025 und hat die Zahl für den Kubikmillimeter in Tausenden.
Kritik der Zählkammer, BÜRKER, Pflüg. Arch. Bd. 105, 1904.

Die Zählung der Leukocyten.

Die Ermittlung der Leukocytenzahl erfolgt nach demselben Prinzip; dagegen ist es durchaus unstatthaft, in der gleichen Kammer rote und weiße Zellen, selbst unter Methylviolettzusatz zur besseren Erkennung der Leukocyten, gleichzeitig zu zählen. Die farblosen Blutzellen sind fast stets viel zu spärlich, und nur aus großen Werten darf eine Berechnung erfolgen. Daher ist eine so starke Verdünnung des Blutes, wie sie bei der Erythrocytenzählung durchgeführt wurde (1:200), hier unbrauchbar. Man benützt

besondere Mischpipetten für weiße Blutkörperchen, die nur eine 10fache Verdünnung erzielen lassen. Sie tragen daher am Ende der Ampullé die Marke 11 (nicht 101).

Als Verdünnungsflüssigkeit benützt man $\frac{1}{3}$ Proz. oder 1 Proz. Essigsäure wegen ihrer Fähigkeit, die roten Blutkörperchen durchsichtig zu machen und die Leukocytenkerne deutlich darzustellen. Natürlich werden auch eventuell vorhandene kernhaltige rote Zellen jetzt auffällig.

Der Geübtere erkennt die Erythroblasten und kann sie einfach bei der Leukocytenzählung übergehen. Zuverlässiger ist es aber, wenn zuerst alle kernhaltigen Elemente, gleichgültig welcher Art, ermittelt werden, und wenn nachher aus den gefärbten Trockenpräparaten der Prozentsatz der Erythroblasten berechnet und dann auch die wahre absolute Leukocytenzahl festgestellt wird.

Völlig unrichtig ist die überall gelesene Angabe, daß in der Essigsäure die Erythrocyten quellen oder gar zerstört werden. Wie man sich leicht bei Zusatz von Gentianaviolett, besonders an den polychromatischen und daher gefärbten Zellen überzeugen kann, tritt eine Durchmesservergrößerung gar nicht auf. Neutralisiert man die Kalilauge, so sind die angeblich zerstörten roten Blutzellen auch wieder da.

Besonders empfehlenswert ist das Zusetzen eines Farbstoffes zu der Essigsäure, so daß die jetzt gefärbten Zell-

kerne mit größter Deutlichkeit sich dem Auge präsentieren, und nunmehr auch eine bessere Differenzierung möglich ist. Wir haben dies bereits bei den Kammerfärbungen erörtert. Als solche Verdünnungsflüssigkeit ist vor allem die von TÜRK vorgeschlagene zu benützen:

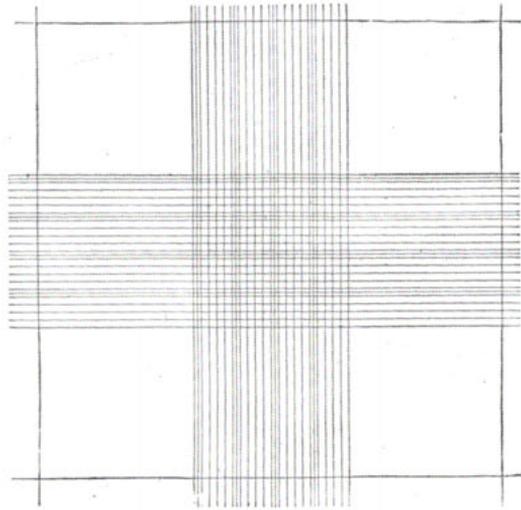


Fig. 8. Netzteilung nach ZAPPERT.
(20mal vergr.)

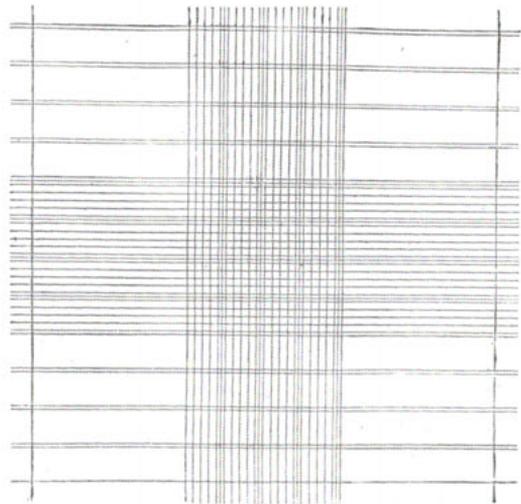


Fig. 9. Netzteilung nach ELZHOLZ.
(20mal vergr.)

Acid. acetic. glac.	3,0
1 proz. wäßrige Gentianaviolettlösung	3,0
Aq. destill.	300,0

Die Ermittlung der Leukocytenwerte wird damit nicht nur viel rascher, sondern auch exakter erreicht und auch eine differentielle Zählung möglich. Ich verweise auf das S. 37 Gesagte.

Endlich ist auch die gewöhnliche THOMA-ZEISSsche Kammer zur Gewinnung eines sicheren Resultates zu klein; denn nur aus einer großen Zahl der Elemente kann ein genauer Wert gewonnen werden.

Es ist daher notwendig, eine Netzteilung zu gebrauchen, die sich nicht nur auf das Zentrum der Kammer, sondern auch noch über viele anliegen-

den Partien erstreckt. Eine solche Netzteilung besitzt die Zählkammer nach ZAPPERT (vgl. Fig. 8).

Hier sind 9 THOMA-ZEISSsche Felder aneinander gereiht und können 5 Felder genau gezählt und vier weitere wenigstens abgeschätzt werden. Dasselbe Prinzip verfolgen die noch geeigneteren Zählkammern nach EIZHOLZ und nach TÜRK (siehe Fig. 9 u. 10) und nach NEUBAUER.

Es kann nicht genug betont werden, daß nur Leukocytenwerte, die mit diesen Kammern gewonnen worden sind, Anspruch auf Zuverlässigkeit er-

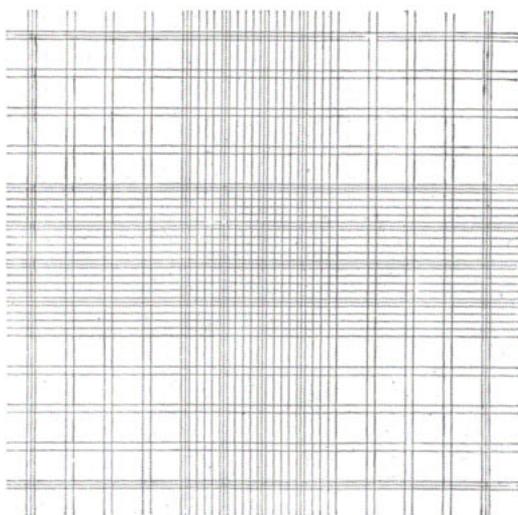


Fig. 10. Netzteilung nach TÜRK.
(20mal vergr.)

heben dürfen. Es sollten daher nur solche Kammern im Gebrauche stehen. Ich selbst habe seit vielen Jahren nie andere Apparate mehr benützt.

Die Herstellung der Verdünnung, die Füllung der Kammer und die Zählung der Leukocyten erfolgt ganz in derselben Weise wie bei roten Blutkörperchen.

Eine kleine THOMA-ZEISSsche Kammer enthält normal 70—80 Leukocyten. Wenn immer möglich, soll man zur Berechnung der Gesamtzahl etwa 300 weiße Blutkörperchen verwenden. Auch hier dürfen natürlich die Einzelwerte der kleinen Kammern nicht allzusehr divergieren. Bei starken Leukocytosen verdünnt man besser auf $\frac{1}{20}$ durch Ansaugen des Blutes bis zur Marke 0,5, bei den hohen Zahlen der Leukämie muß die Pipette für Erythrocyten, das heißt, eine Verdünnung von 1:100, benützt werden.

Das Verschieben der Zählkammer erfolgt am besten auf verschiebbarem Objektivtisch. Zur Berechnung geht man von der Einzelkammer aus, die 4000 kleine Quadrate besitzt und also einen Gesamtinhalt von $400 \times \frac{1}{4000} \text{ mm}^3 = 0,1 \text{ mm}^3$ aufweist. Da die Verdünnung auf $\frac{1}{10}$ durchgeführt wurde (Ansaugen bis Marke 1,0), so muß der für die Einzelkammer erhaltene durchschnittliche Wert aus den 9 Bestimmungen einfach mit 100 multipliziert werden (mit 200 bei Ansaugen auf 0,5).

Ein anderes Prinzip als dasjenige der Zählkammern benutzen ELLERMANN und ERLANDSEN, D. Arch. Bd. 98. Sie saugen 25 cmm Blut mit einer Kapillarpipette an, blasen es in ein Reagenzglas, in dem sich 19×25 cmm der folgenden Mischungsflüssigkeit befinden: $\frac{1}{10}$ N · HCl 45 ccm, 0,9 proz. NaCl 45 ccm, Formalin 10 ccm. Dann wird das Gläschen tüchtig geschüttelt. Hernach werden 10 ccm mit einer Pipette entnommen und auf eine markierte Kreisfläche von 2 cm Durchmesser auf einen Objektträger mit einem Platindraht ausgebreitet. Jetzt erfolgt Fixation in der Flamme und Färbung mit 1 proz. wäßriger Methylenblaulösung + 0,2 proz. NaOH ää.

Bei 200facher Vergrößerung Auszählung von 100 Gesichtsfeldern und Multiplikation mit 50.

Zählung der Blutplättchen.

Die Zählung der Blutplättchen begegnet dadurch ganz besonderen Schwierigkeiten, daß diese Gebilde überaus rasch agglutinieren, konfluieren und sich damit einer genauen Feststellung entziehen. Bei ganz schnellem Arbeiten mit Mischpipette und TÜRKSCHER Leukocytenzählflüssigkeit kann es gelingen, eine Kammerzählung zu erzielen; doch glauben manche Autoren, daß alsdann eine unkontrollierbare Zahl von Plättchen an den Wandungen der Mischpipette hängen bleibt und daher das erhaltene Resultat zu ungenau sei.

Es ist daher zweckmäßiger, nach dem Vorschlag von BIZZOZERO den Blutropfen direkt in einer 14 proz. Magnesiumsulfatlösung aufzufangen. Hierin werden zwar die Plättchen etwas deformiert, aber sie bleiben isoliert und können in der Zählkammer ermittelt werden, indem man das Verhältnis zwischen roten Blutkörperchen und Plättchen bestimmt und nachher durch eine Erythrocytenzählung die gewünschten absoluten Werte erhält.

SAHLI empfiehlt, der Magnesiumsulfatlösung so viel Methylviolett zuzusetzen, daß die Flüssigkeit in einem Meßzylinder von 10 ccm noch gut durchsichtig erscheint. Jetzt sind die Plättchen auch gefärbt und können nun leicht in ihrem Verhältnis zu den Erythrocyten in der Zählkammer bestimmt werden.

Man bringt also nach gründlicher Reinigung der Fingerkuppe einen Tropfen dieser Verdünnungsflüssigkeit auf die Haut, sticht durch den Tropfen durch, saugt mit der Mischpipette für Erythrocyten an, sorgt durch vorsichtiges Schütteln für eine gleichmäßige Verteilung und bestimmt in der Zählkammer das Verhältnis der Plättchen zu den Erythrocyten.

ACHARD und AYNAUD (siehe Kap. Blutplättchen) halten alle diese Methoden für prinzipiell unrichtig, weil durch Kontakt mit Gewebesafte stets Plättchen in unkontrollierbarer Weise zerstört werden und daher bei der Prüfung falsche Resultate entstehen. Sie selbst benützen folgende Methode:

Venenpunktion mit paraffinierter Spritze, Verdünnung in der Spritze mit

10 proz. Natriumzitrat durch Zusatz von 1 Teil Natriumzitratlösung auf 9 Teile Blut, so daß jetzt das Blut in etwa 1 proz. Natriumzitratlösung konserviert ist. Sie verwenden jetzt 2 weitere, Blut und Plättchen konservierende Flüssigkeiten:

A. $8\frac{0}{100}$ NaCl-Lösung 80 ccm. B. $8\frac{0}{100}$ NaCl-Lösung 80 ccm
 $10\frac{0}{100}$ Natriumzitratlösung 20 „ Formol 20 „

2 ccm der Flüssigkeit A kommen in ein paraffiniertes Gefäß. Man läßt jetzt von dem in der paraffinierten Spritze befindlichen mit Natriumzitrat verdünnten Blut einen Tropfen hineinfallen. Jetzt Zusatz von 2 ccm der Lösung B, mischen und jetzt Feststellung des Verhältnisses von Blutplättchen zu Erythrocyten in der Zählkammer.

Die Zählung der Leukocytenarten in gefärbten Trockenpräparaten.

In neuerer Zeit hat man immer mehr erkannt, daß mit der Feststellung der absoluten Leukocytenzahl die Untersuchung keineswegs zu Ende geführt ist, sondern daß gar nicht selten dem absoluten Werte der verschiedenen Arten von weißen Blutkörperchen die weitaus größere Bedeutung zufällt. So kann die Gesamtzahl ganz normal sein, aber ein stark abweichender Teilwert z. B. der Lymphocyten oder der Eosinophilen zeigt doch pathologische Verhältnisse an. Neben der Kammerfärbung und Differenzierung der einzelnen Arten kommt der Auszählung in den Trockenpräparaten die größte Wichtigkeit zu.

Wenn man in tadellos hergestellten gefärbten Präparaten eine große Zahl von Leukocyten durchsieht und in einer Tabelle klassifiziert, so erhält man leicht die Prozentwerte der einzelnen Arten und kann aus der vorher bestimmten Gesamtzahl der weißen Blutzellen auch die Partialwerte berechnen.

Zu einer sicheren Feststellung muß eine große Zahl von Leukocyten klassifiziert werden, weil sonst natürlich der Zufall bei kleiner Zahl arge Irrtümer schaffen kann. 300 Zellen müssen mindestens analysiert werden, besser noch mehr. Für eine irgendwie sichere Feststellung einer spärlich vertretenen Art, z. B. der Plasmazellen, der Mastzellen, der Eosinophilen, muß man unbedingt 1000 Zellen durchgehen.

Ich lege eine kleine Tabelle neben mich, die an ihrem Kopfe die verschiedenen Namen der einzelnen Arten trägt, z. B.

Normoblast. | Megaloblast. | Myelocyt. | Neutr. | Eos. | Basoph. | Lymph. | Übergf. | Reizungsf.

und bei Bedarf erweitert z. B. in der Gruppe der Myelocyten oder Lymphocyten und notiere mit einem Strich die auftauchende Art.

Es geht natürlich nicht an, dieselbe Zelle zweimal unter die Augen zu bekommen und zu zählen. Bei einem größeren Präparate, das reich an Leukocyten ist, bleibt die Wahrscheinlichkeit, auf die gleichen Zellen wieder zu kommen, gering; man darf also hier „blind“, d. h. nach beliebigen Richtungen verschieben. Am zweckmäßigsten ist aber stets, und bei kleiner Leukocytenzahl allein zulässig, die Zählung von Gesichtsfeldreihen mit verschiebbarem Objektisch. Man geht nach bestimmter Richtung vor und analysiert systematisch das Präparat. Natur-

lich müssen eventuell zerquetschte Zellen auch gezählt werden. Bei den granulierten Zellen ist die Einordnung zerdrückter Exemplare wegen der sichtbaren Granulation leicht; bei den anderen kann das schwer fallen oder ganz unmöglich sein. Manche Autoren hielten diese Gebilde sogar für Degenerationsformen und zählten sie besonders. Das letztere soll man tun, auch dann, wenn man an die Präexistenz der Degeneration nicht glaubt.

Die Analyse nach einzelnen Gesichtsfeldern ist für gewöhnlich abzuraten, weil es außerordentlich lange dauert, bis eine Zählung vollendet ist. Viel zweckmäßiger analysiert man bei langsamem Verschieben, wobei natürlich auch die periphersten Partien des Kreises, in denen die Leukocyten nur kurz auftauchen, sorgfältig beachtet werden müssen. Einzig bei Leukämie, wenn im Gesichtsfeld die Zahl der verschiedenen Gebilde zu groß wird, benützt man die quadratische Okularblende, welche die Ausschaltung der peripheren undeutlicheren Zellen gestattet und das Gesichtsfeld nach Bedarf einengt. Auch für Ausstrichpräparate aus hämopoetischen Organen ist die Verwendung dieses Instrumentes nicht zu umgehen.

Früher wurden häufig die Prozentverhältnisse allein ermittelt; ja es gibt große Arbeiten, die nur solche Angaben enthalten. Das ist durchaus unzulässig und kann zu groben Täuschungen¹ führen. Der Organismus kümmert sich nicht um Prozente. Wichtig ist allein der absolute Wert. Lediglich der Bequemlichkeit wegen mag man an den prozentigen Angaben festhalten, indessen nur unter gleichzeitiger Angabe der Gesamtleukocytenzahl, so daß der Partialwert leicht berechnet werden kann.

Besonders übersichtlich ist die graphische Darstellung fortlaufender Leukocytenbefunde in sog. Leukocytenkurven, aus denen sehr wichtige Aufschlüsse über die Funktion der blutbildenden Organe erhalten werden.

Absolut unzuverlässig ist die Berechnung der Leukocytenzahl aus dem Verhältnis der roten zu den weißen Zellen im Trockenpräparate, wobei dann der Leukocytenwert aus der allein ermittelten Zahl der roten Blutkörperchen gewonnen wird. Die Konstruktion eines sog. Cytenquotienten $\frac{\text{Erythrocyt}}{\text{Leukocyt}}$ hat überhaupt keinen Sinn; denn die Bildung der beiden Zellformen ist voneinander unabhängig. Fort also mit solch erzwungenen Relationen, die nur täuschen und zu den ärgsten Irrtümern führen!

Bestimmung des Hämoglobingehaltes.

Die Bestimmung des Hämoglobinwertes ist von hervorragendem klinischem und praktischem Interesse. Die heutigen Methoden sind, wenn auch nicht absolut genau, doch an Exaktheit den anderen Untersuchungsmethoden kaum nachstehend.

Es ist ein weitverbreiteter und trotz vielfacher Mahnungen noch durchaus nicht überwundener Irrtum, wenn viele, selbst Ärzte, den Hämoglobinmangel aus der blassen Gesichtsfarbe erkennen wollen. SAHLI hat schon vor langen

¹ Beispiel: Perniziöse Anämie hat oft 50 und mehr Prozent Lymphocyten. Dies ist nur eine prozentliche Vermehrung; absolut besteht wegen der niedrigen Gesamtzahl der Leukocyten und der verminderten Gesamtblutmenge sogar oft Verminderung. Es ist daher ein grober Irrtum, wenn einzelne Autoren hier an lymphatische Überproduktion, ja sogar an Pseudoleukämie gedacht haben.

Jahren auf das Irrige dieser Auffassung hingewiesen und die Erklärung gegeben, daß lediglich Undurchsichtigkeit der Haut oder geringer Blutgehalt derselben recht bedeutende Blässe hervorbringen kann. Gewöhnlich sind diese Zustände schon daran erkennbar, daß die Konjunktiva, das Zahnfleisch und die Lippen keineswegs an dieser Anämie teilnehmen. Doch darauf wird kaum geachtet. Ungezählte werden mit Eisenpräparaten behandelt, die absolut normale Hämoglobinwerte besitzen. Welchen Erfolg eine solche Therapie zeitigt, läßt sich leicht ausmalen. Man muß heutzutage überhaupt verlangen, daß jeder Eisenmedikation eine Blutuntersuchung und außer sorgfältiger Anamnese, mindestens doch eine Hämoglobinbestimmung vorausgehen soll.

Der Geübtere vermag schon den hervorquellenden Bluttröpfchen annähernd richtig zu beurteilen. Nur geringer Übung bedarf es, zu erkennen, ob Anämie vorliegt oder nicht, ebenso um herauszufinden, ob die Blutarmut hochgradig oder mittelstark sei.

Läßt man den Bluttröpfchen auf ein Stück Fließpapier oder saubere Leinwand auffallen, so wird eine approximative Schätzung noch leichter. Darauf basiert die Hämoglobinskala von TALLQVIST.

Die Bestimmungen des Hämoglobins können vorgenommen werden kolorimetrisch und spektrophotometrisch, ferner nach der Sauerstoffkapazität und nach dem Eisengehalt, sofern die Theorie von dem konstanten Sauerstoffbindungsvermögen und dem konstanten Eisengehalt des Hämoglobinmoleküls richtig ist.

Letztere, von HÜFNER und seiner Schule aufs entschiedenste verteidigte Ansicht hat in neueren Untersuchungen, die gleichzeitig von BUTTERFIELD und von MASING vorgenommen worden sind, volle Bestätigung erfahren, desgleichen treten BÜRKER und MORAWITZ für diese Auffassung ein, so daß die eine Zeitlang mehr Anhänger zählende Theorie von BOHR über die Existenz verschiedener Hämoglobinarten mit wechselndem Sauerstoffbindungsvermögen und verschiedenem Eisengehalt kaum mehr haltbar erscheint.

1 g Hämoglobin bindet 1,34 ccm O₂ oder CO bei 0° und 760 mm Hg.

Auch für pathologisches Hämoglobin ist von den erwähnten Autoren eine völlige Parallele der O₂-Kapazität mit der färberischen Kraft des Hämoglobins nachgewiesen durch die Bestimmung der O₂-Kapazität mittels Auspumpen des Blutes mit der Quecksilberpumpe nach BUNSEN-GEPPERT und durch die Ferricyanidmethode, bei der Ferricyanalkali bei der Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin das an das Oxyhämoglobin gebundene Gas quantitativ in Freiheit setzt.

Auf diesem Prinzip basieren die Apparate zur Bestimmung der Blutgase von HALDANE und BARCROFT und PLESCH.

Die Ferricyanidmethode gibt bis auf 1 Proz. gleiche Werte wie die kolorimetrische (HALDANE, BARCROFT, MORAWITZ und RÖMER).

Sogar für die Fälle von Polycythaemia vera sind jetzt von BUTTER-

FIELD und MORAWITZ völlige Parallelen zwischen O_2 -Kapazität und Hämoglobin festgestellt worden, im Gegensatz zu den Angaben von SENATOR, MOHR, LOMMEL.

Weniger übereinstimmend sind noch die Ansichten über den konstanten Eisengehalt, indem BRUGSCH inkonstante Werte zu verzeichnen hatte, während die HÜFNERsche Schule auf das Hämoglobinmolekül 1 Atom Eisen und den Eisenwert zu 0,336 Proz. annimmt. Auch die Frage der Parallele zwischen Hämoglobin und dem daraus entstehenden Hämatin scheint nach MORAWITZ noch nicht völlig gelöst.

Literatur über Hämoglobin, Sauerstoffbindungsvermögen, Eisengehalt, Lichtabsorption.

BOHR in Nagels Handbuch der Phys. I. 1. 1905. — BORNSTEIN u. MÜLLER, Arch. f. Phys. 1907. S. 470. — BRUGSCH, Fol. haem. IX. Arch. S. 210. 1910. — BÜRKER, Monogr. in Tigerstedts Handbuch der physiolog. Methoden. 1910. Lit! — BUTTERFIELD, Zeitschr. f. phys. Chemie. 1909. Bd. 62. — HALDANE u. SMITH, J. of Phys. 16. 468. 1894. — HÜFNER, Arch. f. Phys. 1894. 1901. 1902. 1904. — HÜFNER u. GAUSSER, Arch. Anat. u. Phys., phys. Abt. 1907. S. 209. — KRAUS, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 42. — LOMMEL, D. Arch. Bd. 87. 1906 u. Bd. 92. 1907. — MASING, D. Arch. Bd. 98. 1910. — MASING u. SIEBECK, D. Arch. Bd. 99. 1910. — MORAWITZ, D. Arch. Bd. 94. 1908. — MORAWITZ u. RÖHMER, D. Arch. Bd. 94. 1908. — MOHR, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. Bd. 2 u. Kongr. f. inn. M. 1905. — OERUM, Hgl.-Bestimmung. D. m. W. 1908. S. 1225. — PLESCH, Objektive Hglometrie, Biochem. Zeitschr. I. 1906. — SENATOR, Zeitschr. f. kl. Med. Bd. 60. 1907.

Hämoglobinometrie.

Auf kolorimetrischen Vergleichen beruhen eine große Zahl von Apparaten zur Hämoglobinbestimmung. Bei den einfacheren, aber natürlich ungenaueren Methoden, wird das Hämoglobin mit einer haltbaren Farblösung verglichen, die nicht chemisch identisch, sondern nur färberisch ähnlich beschaffen ist. Vorzuziehen ist natürlich der kolorimetrische Vergleich mit derselben Substanz, wie das in der HOPPE-SEYLER-Doppelpipette und dem neuen SAHLischen Hämometer verwirklicht ist. Hier wird das Hämoglobin in Hämatin, dort in CO-Hämoglobin verwandelt und mit Lösungen gleicher chemischer Natur verglichen, so daß die Farbnuance wirklich dieselbe ist, was zur Gewinnung eines genauen Resultates ganz wesentlich beiträgt.

Die Hämoglobin-Skala von Tallqvist.

Dieselbe enthält eine empirisch festgestellte Reihe von Farbnuancen, die in ihren Abstufungen ungefähr den Farbentönen von Blutlösungen entsprechen, deren Hämoglobinwerte je 10 Proz. auseinander liegen. Für die Zwecke des Praktikers mag diese Bestimmung genügen.

Man bringt einen Bluttröpfchen auf das der Skala beigegebene Filtrierpapier, worin er sich verteilt und bald eintrocknet. Jetzt kann die Färbung mit der Skala verglichen und der ungefähre Hämoglobinwert eruiert werden.

Das Hämoglobinometer von Sahli-Gowers.

Dieses Instrument, wohl lange Zeit weitaus am meisten gebraucht, enthält in einem Röhrchen 2 cm^3 einer Pikrokarmindlösung eingeschmolzen, die in ihrer Farbnuance möglichst genau einer 1 proz. Lösung des normalen Blutes entspricht.

Ein zweites Röhrchen ist oben offen und so graduiert, daß 2 cm^3 Flüssigkeit bis zur Marke 100 reichen. Bei richtiger Kalibrierung muß die Höhe der Marke 100 der Höhe der Flüssigkeit im Vergleichsröhrchen entsprechen. Die Graduierung ist bis 140 durchgeführt und geht bis auf die Einer.

Der hervorquellende Blutropfen wird in einer 20 mm^3 fassenden Kapillarpipette bis zur Marke aufgesaugt. Schon vorher ist etwas Wasser in das

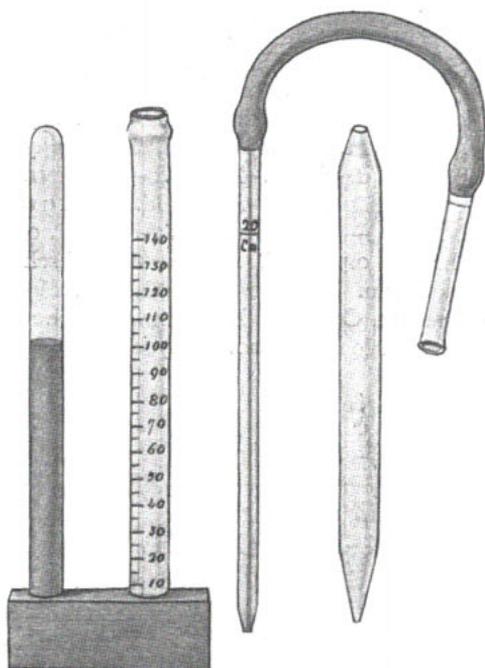


Fig. 11. Hämoglobinometer von SAHLI-GOWERS.

graduierte Röhrchen gebracht worden, und in dieses hinein wird jetzt das Blut befördert, nachdem die Pipette an ihrer Spitze von dem äußerlich anhaftenden Blut befreit worden ist. Nun wird die Pipette mehrmals mit Wasser gefüllt und dieses in das graduierte Röhrchen hineingeblasen, damit auch die letzten Spuren von Hämoglobin mitberechnet werden. Die Blutlösung muß jetzt weiter verdünnt werden bis zur färberischen Übereinstimmung mit dem Vergleichsröhrchen. Dazu dient ein Glasröhrchen, aus dem das Wasser tropfweise herausquillt. Es ist nötig, ein weißes Seidenpapier hinter die beiden Lösungen zu halten, um die Farben besser vergleichen zu können. Der Vergleich muß im durchfallenden Lichte geschehen

und deshalb bringt man beide Röhrchen in die dazu bestimmten Öffnungen des beigegebenen Kautschukpföckchens. Je näher man der Farbe des Vergleichsröhrchens kommt, desto vorsichtiger wird Wasser zugesetzt, um die Grenze nicht zu überschreiten. Die störende Einteilung des Röhrchens wird am besten seitwärts gedreht, um die Vergleichung besser ausführen zu können. Stets muß die Blutlösung durch leichtes Schütteln, Umdrehen und Lufteinblasen, wobei man mit dem Finger die Öffnung verschließt, sorgfältig gemischt werden; auch dürfen keine Gerinnsel sich bilden. Bei richtiger Farbenübereinstimmung erhält man den Hämoglobinwert des untersuchten

Blutes in Prozenten, wobei 100 Proz. als der normale Wert betrachtet wird. Für Untersuchungen bei Nacht muß eine andere Vergleichsfarbe benützt werden; deshalb wird dem Instrumente noch ein Röhrchen für die Untersuchung bei künstlichem Lichte beigegeben, bei dem Blutlösungen einen dunkleren Farbenton zeigen.

Mögliche Fehlerquellen der Bestimmung.

1. Der größte Fehler des Instrumentes besteht in der geringen Haltbarkeit der Vergleichslösung. Wenn man alte Röhrchen mit neuen vergleicht, so können ungeheure Unterschiede hervortreten. Es bleibt daher nichts anderes übrig, als diese Vergleichsröhrchen alle 1—2 Jahre neu anzuschaffen oder wenigstens sich zu überzeugen, daß eine Ablassung nicht eingetreten ist.

2. Ein anderer Übelstand ist die Tatsache, daß die Standardlösung nur schwer so hergestellt werden kann, daß ihre Farbennuance mit derjenigen einer Blutlösung übereinstimmt. Für ein farbenempfindliches Auge ist dies überhaupt nie ganz der Fall. Dadurch wird natürlich die Ablesung erschwert und ungenau.

3. Beim Umdrehen der Blutlösung gehen unkontrollierbare Mengen verloren, indem sie an dem Finger haften bleiben, der das Röhrchen verschließt. Man tut daher gut, das Umstülpen unter Fingerabschluß erst bei annähernder Farbengleichheit vorzunehmen und vorher durch Schütteln die Lösung zu mischen. Das Umdrehen ist schließlich für die völlige Gleichmäßigkeit durchaus nötig. Daher kann man zur Vermeidung dieser Fehlerquelle einen kleinen Kautschukpfropf zum Abschluß des Röhrchens benutzen.

4. Der optische Ablesungsfehler des Instrumentes beträgt mindestens 5—10 Proz. Innerhalb dieser Breite kann man sich unsicher fühlen, ob bereits Farbengleichheit besteht oder noch nicht. Das mag man, für ungefähr normal hohe Werte schließlich, wenn auch ungern genug, noch hinnehmen, im Erwägen, daß so große Schwankungen schon physiologisch vorkommen. Für die Beurteilung therapeutischer Erfolge und für die Feststellung niedriger Hämoglobinwerte ist das aber zweifellos zu viel. Für den letzten Fall kann man, wie ich das seit Jahren ausübe, eine vorzügliche Korrektur vornehmen, wenn man mit der zwei- oder dreifachen Blutmenge arbeitet. Vorausgesetzt, der wirkliche Wert wäre 25 Proz., so läßt uns die gewöhnliche Prüfung oft im Zweifel, ob 20, 25 oder 30 Proz. vorhanden sind. Dies kommt zum Teil davon her, daß bei so niedrigen Hämoglobinwerten der Wasserzusatz nicht sorgfältig genug vorgenommen werden kann (SAHLI). Nehme ich nun $3 \times 20 \text{ mm}^3$, indem ich drei Kapillarpipetten fülle (jede muß natürlich vollkommen trocken sein!), so fühlt man sich zwischen den Werten 70—75—80 unsicher. Der Geübte freilich kann wohl stets noch die entferntesten Werte ausschließen und die Fehlerbreite zwischen 72—78 einengen. Nun hat man aber den erhaltenen Wert durch 3 zu teilen, und damit wird auch der Fehler auf $\frac{1}{3}$ reduziert. Man hat also $72/3 = 24$ Proz. oder $78/3 = 26$ Proz. Damit kann also tatsächlich eine außerordentlich genaue Bestimmung gemacht werden.

Um den Übelstand zu heben, daß Standardlösung und Blutflüssigkeit wegen chemischer Verschiedenheit in ihrer Farbennuance divergieren, hat SAHLI ein neues Instrument konstruiert, das nun tatsächlich Vorzügliches leistet. Es ist dies das

Hämometer von Sahli.

Es wird das Blut der Kapillarpipette in die 10 fache Menge Zehntel-Normal-salzsäure hineingeblasen, die man bis zur Marke 10 des Röhrchens aufgefüllt hat.

In wenigen Sekunden ändert sich der rote Hämoglobinfarbbenton in ein dunkles Braun, indem salzsaures Hämatin entstanden ist. Die Standardlösung enthält denselben chemischen Körper, der vollkommen haltbar darin konserviert ist. Damit ist absolute Gleichheit der Farbnuance gewonnen und die Ablesung außerordentlich erleichtert.

Die Blutlösung wird jetzt mit gewöhnlichem Wasser so weit verdünnt, bis Standard- und Blutflüssigkeit übereinstimmen, und man liest wiederum den Gehalt in Prozenten ab.

Die Herstellung der Vergleichslösung ist prinzipiell völlig dieselbe wie beim SAHL-GOWERSschen Instrument. Es handelt sich auch hier um eine Konzentration, die einer 1 proz. Lösung normalen Blutes entspricht.

Die beiden Gläschen sind ferner in einem durchbrochenen schwarzen Gestell von Hartgummi zur Abblendung des seitlichen Lichtes untergebracht und befinden sich vor einer Milchglasscheibe, die das Licht diffus macht. Dadurch wird der gleiche optische Effekt erzielt, wie wenn die Flüssigkeiten in planparallelen Glaskästchen sich befänden. Für genaue kolorimetrische Bestimmungen werden solche planparallele Glaskästchen verlangt, damit man völlig gleichmäßig gefärbte Flächen vergleichen kann. Die getroffene Abblendung und die Erzeugung eines diffusen Lichtes ersetzt diese teuren Einrichtungen.

Sehr zweckmäßig ist auch hier der Abschluß der Blutlösung durch einen Kautschukpfropf an Stelle des Fingers, damit man durch Umdrehen eine gleichmäßige Mischung erzeugen kann und doch keinen Inhalt verliert.

Für niedrige Hämoglobinwerte empfiehlt sich auch hier die Verwendung der dreifachen Blutmenge, wie dies S. 55 auseinandergesetzt ist.

So wird jetzt eine Hämoglobinbestimmung mit dem Hämometer, dessen optischer Ablesungsfehler kaum 5 Proz. beträgt, in einer Genauigkeit erreicht, wie sie selbst die kompliziertesten und teuren Apparate nicht zu geben vermögen.

Mögliche Fehler. 1. Weil eine Suspension und keine Lösung dem Vergleichsröhrchen zugrunde liegt, so kann es bei längerem Nichtgebrauch zu einer Sedimentierung kommen. Es bildet sich ein schwarzer Niederschlag auf der tiefsten Stelle des Röhrchens. Durch leichtes Schütteln und vielfaches Hin- und Herwenden gelingt es wieder, eine gleichmäßige Suspension zu schaffen. (Heftiges Schütteln ist streng zu vermeiden! Es bilden sich Luftblasen, die eine richtige Vergleichung verhindern und erst langsam wieder verschwinden.) In neuester Zeit wird eine

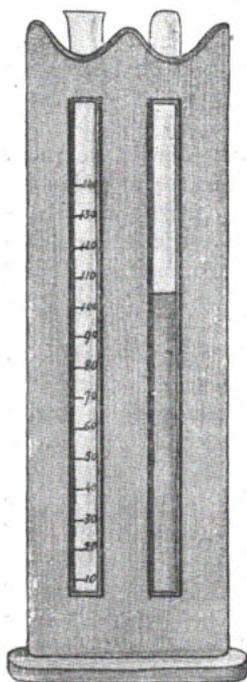


Fig. 12.
Hämometer von SAHL.

Glasperle in die Standardlösung eingeschmolzen, so daß die Mischung der Suspension leicht erzielt werden kann.

2. Bei der Herstellung der Standardröhrchen kann ein Fehler dadurch entstehen, daß der Glasbläser den Flüssigkeitsvorrat ungenügend umschüttelt. Weil das salzsaure Hämatin eine Suspension und keine Lösung darstellt, so können dann verschiedene Farbstoffmengen in die einzelnen Röhrchen gelangen. In der Tat wurden anfänglich viel zu helle Vergleichsröhrchen geliefert und mußte 20—25 Proz. des Wertes abgezogen werden. Die neueren Standardröhrchen sind jetzt erheblich dunkler, seitdem man diesen Fehler ausgeschaltet hat.

Wichtig ist das Aufbewahren des Röhrchens im Dunkeln, um eine Farbveränderung zu vermeiden.

Die jetzt gelieferte Farblösung entspricht einem hohen absoluten Hämoglobingehalt. SAHLI hat den Vergleich mit dem FLEISCHL-MIESCHERSchen Instrument vorgenommen und gefunden, daß der Wert 100 Proz. dem absoluten Hämoglobingehalt des Blutes von 17,2 mg gleichkommt. Man braucht sich daher nicht zu verwundern, wenn ganz Gesunde mit dem neuen Hämometer nicht mehr 100 Proz. Hämoglobin besitzen. Die Differenzen bei gesunden Menschen sind überhaupt recht beträchtlich und gehen nach SAHLI bis zu 20 Proz., so daß SAHLI empfiehlt, nicht mehr von Prozenten, sondern einfach von Vergleichswerten zu reden, z. B. Hämometerwert 70. Die Normalwerte sind nun 80—100 Mann und 70—90 für die Frau, die physiologischen Schwankungen sind also sehr erhebliche. Es ist gewiß außerordentlich wichtig, daß man sich dieser physiologischen Schwankungen des Hämoglobinwertes bewußt ist, aber es darf dieses Problem nicht wie bisher, fast ausschließlich vom Gesichtspunkt der Hämoglobinschwankung beurteilt werden; denn in mindestens gleichem Umfang schwanken auch die Erythrocytenzahlen. Dies ist mir besonders klar geworden, als ich zur Erklärung der Viskositätswerte bei einer großen Zahl von Personen auch auf die genaueste Ermittlung der R.-Zahlen (siehe S. 45) angewiesen war. Auch da ergaben sich (für Zürich und für Normale) Schwankungen von 4,6—6,0 Millionen.

Interessant ist jetzt, wie diese beiden physiologischen Schwankungen sich zueinander verhalten. Fast ausnahmslos gehen sie, wie zu erwarten stand, bei anscheinend Gesunden einander parallel, und daher erhält man denn bei den hohen Werten auch völlig entsprechend höhere Viskositätswerte.

Der Kliniker möchte nun aber doch einen gewissen normalen Durchschnittswert gerne annehmen, schon deshalb, weil sonst die Berechnung des Farbeindex, dessen Wichtigkeit eine hohe ist, zu kompliziert wird.

Die Eichung des Hämometers und die Ermittlung des Prozentwertes kann man in folgender Weise vornehmen:

Ich finde als weitaus häufigsten mittleren physiologischen Hämometerwert 90, wenn gleichzeitig die Erythrocytenzahl nahe um 500000 R.

schwankt und mikroskopisch keinerlei Poikilocytose oder Mikrocytose und tadellose Hämoglobinfärbung (keine blassen anisochromen Zellen)! besteht. Unter diesen Umständen ist dann der Viskositätswert 4,2, bei Serumwert 1,8. Abweichende Viskositätswerte würden auf abnormes ErythrocytENVOLUMEN schließen lassen, wobei bei Fehlen von Anisocytose alle R. entweder zu groß oder zu klein sein müßten.

Finde ich nun (Fall von leichter Bleikolik, aber auch nach der Heilung und 1 Jahr später ganz gleich) $R = 6,0$ Hgl. = 90, so ist dies entschieden abnorm und mikroskopisch erfolgt die Aufklärung durch Anwesenheit von vielen Mikro- und Poikilocyten, vielen blassen R. und dementsprechend auch zeigt der Viskositätswert nicht den bei 6 Millionen zu erwartenden, sondern einen niedrigeren Wert.

Ebenso abnorm ist der Hämometerwert 90 bei $R = 4,2$, wobei das mikroskopische Präparat als Ursache eine Megalocytose, die Viskositätsprüfung ein zu großes Volumen angibt. (Fall von perniziöser Anämie in Remission.)

In analoger Weise liegen pathologische Verhältnisse vor, wenn bei $R = 5,0$ die Hämoglobinwerte erheblich unter 90' oder über 90 betragen.

Wir dürfen daher sagen, wenn bei einer Reihe von anscheinend Gesunden:

1. bei R.-Werten nahe um 5,0 Millionen,
2. bei mikroskopisch völlig normalen R. (keine Miso-, keine Mikro-Poikilocytose, keine Anisochromie, keine Megalocytose),
3. bei normalem Volumen (erschlossen aus dem Viskositätswert, entsprechend der R.-Zahl);

der Hämometerwert 90 ist, wie ich das in sehr vielen Fällen konstatiert habe, dann dürfen wir für das im Gebrauch befindliche Hämometer diesen Wert = 100 Proz. einsetzen, weil dann auch der Farbeindex durchschnittlich 1,0 sein muß.

Völlig physiologisch, wenigstens für den Erwachsenen, sind wohl nur parallel gehende R. und Hämoglobinschwankungen, z. B. $R = 5,0$ Hgl. 90 Proz., $R = 5,5$ Hgl. 110 Proz., bei gleichzeitig völlig normalen R.-Verhältnissen nach den oben erwähnten Gesichtspunkten (Form, Größe, Hämoglobinfüllung, Volumen) und dann sind auch die Viskositätswerte entsprechend parallel, wie sie schon aus der R.-Zahl theoretisch abgeleitet werden können.

In diesen Fällen ist dann auch bei Schwankungen der Werte der Farbeindex immer = 1,0.

Eine weitere Eichung ist möglich mit dem PLESCHSchen Kolbenkeilhämogasometer (oder mit dem FLEISCHL-MIESCHERSchen Apparat). Ich finde dann Hämometerzahl 90 = 20 Volumenprozent Sauerstoffkapazität für den Erwachsenen, sofern die gleich strengen Bedingungen wie oben zu Recht bestehen.

Dies ist meines Erachtens die einzig richtige Eichung eines Instrumentes.

Sie gestattet, korrigierte Prozentwerte (SAHLI), (wie sie im folgenden stets durchgeführt sind) einzusetzen.

Dabei besteht natürlich immer noch die SAHLISCHE Angabe zu Recht, daß normale Schwankungen zwischen 90 und 110 korr. Prozentwerten vorkommen.

Das Fleischlsche Hämometer.

Das Prinzip dieses Apparates besteht darin, daß eine bestimmte Blutmenge nach der nötigen Verdünnung in Wasser mit einem beweglichen Glaskeil verglichen wird, der mit Goldpurpur rot gefärbt ist. Ein Mischgefäß ist durch eine Scheidewand in zwei Abteilungen getrennt. In die eine wird die Blutlösung, in die andere Wasser gebracht. Unter dieser letzteren Abteilung ist der graduierte Glaskeil verschieblich. Von einer Gipsplatte her empfangen beide Abteilungen ein gleichmäßiges gelbes Licht. Man verschiebt nun so lange, bis beide Hälften des Mischgefäßes eine möglichst gleichstarke Rotfärbung aufweisen; dann gibt eine Skala direkt den Hämoglobingehalt in Prozenten an. Die Untersuchung muß bei Kerzen- oder Petroleumlicht erfolgen. Nach einer Reihe von Ablesungen berechnet man einen Mittelwert als Ergebnis der Bestimmung.

Die Fehlerquellen des Apparates sind so groß, daß in dieser Form wenigstens heute keine Hämoglobinbestimmungen mehr gemacht werden sollten. Ein Hauptfehler ist die Verwendung eines chemisch differenten Körpers mit verschiedener Farbnuance, dann aber die Benutzung eines Keiles. Einmal ist schon die Herstellung eines gleichmäßigen Keiles außerordentlich schwierig; dann ist die Farbenübereinstimmung nur in den mittleren Skalenteilen relativ gut durchführbar. Direkt unrichtig fallen die Ablesungen bei niedrigem Hämoglobingehalt aus. Außerdem ist die verwendete Blutmenge viel zu klein, so daß geringe Fehler in der Füllung der Kapillare zu bedeutend werden. Von einer großen Zahl technischer Mängel will ich gar nicht sprechen.

Es kann daher das ursprüngliche FLEISCHLSche Hämometer nicht mehr empfohlen werden. Für eine eingehendere Kritik verweise ich auf die Ausführungen TÜRKs (Vorlesungen über klin. Hämatologie).

Das Fleischl-Mieschersche Hämometer ist eine außerordentlich weitgehende Verbesserung des ursprünglichen Apparates, dessen gute Prinzipien beibehalten sind.

Die Vervollkommnungen betreffen die Mischpipette, die richtigere Einteilung des Kernes, sowie dessen bessere Färbung, endlich die Einrichtung der Kammer.

Die Mischpipette gleicht derjenigen für die Zählung der roten Blutkörperchen. Die 200fache Verdünnung wird mit 1 Proz. Sodalösung durchgeführt, so daß die Blutlösung vollkommen klar ausfällt. Die Mischpipette

gestattet auch Verdünnungen von 1:300 oder 1:400 durchzuführen, so daß aus zwei Bestimmungen eine Kontrolle möglich wird. Endlich sind auch oberhalb und unterhalb der Hauptmarken kleine Nebenmarken angebracht, um bei nicht ganz vollständiger Füllung der Pipette bis zur Hauptmarke die Blutmenge abzuschätzen, welche zu viel oder zu wenig verwendet wurde. Es ist eben besser, rascher zu arbeiten, um Gerinnung zu vermeiden, als jeweils bis zur Hauptmarke anzufüllen. Die Hilfsmarken entsprechen dem hundertsten Teil der Blutsäure bis zu 1,0. Es läßt sich also leicht das veränderte Volumen der aspirierten Blutsäule in Berechnung ziehen.

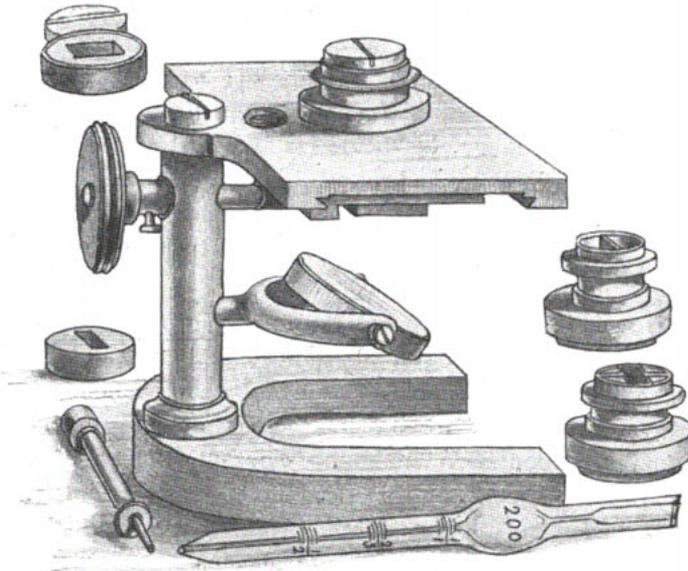


Fig. 13. FLEISCHL-MIESCHERSches Hämometer.

Bei der Kammer sind durch Metallfüllungen die dünnsten und dicksten Partien des Keiles der Beobachtung entzogen, so daß die vorher lästigen Differenzen auf beiden Seiten der Kammer nicht mehr existieren. Auch der Verschuß der Kammer ist wesentlich verbessert und durch besondere Blenden eine Einschränkung der zur Beobachtung kommenden roten Flächen erzielt, so daß nur planparallele Schichtdichten verglichen werden.

Der Keil selbst ist jetzt technisch vollkommener hergestellt und nicht mehr oder weniger willkürlich eingeteilt, sondern nach einer Originalhämoglobinlösung geeicht. Aus der Skalenablesung bekommt man durch die beigegebene „Kalibrierungstabelle“ den absoluten Hämoglobingehalt in Milligrammen.

Eine genaue Gebrauchsanweisung ist dem Apparat beigegeben. Die verschiedene Verdünnung des Blutes ist sehr zweckmäßig, damit man die

geeignetsten Partien des Keiles (das sind die mittleren) zur Verwendung ziehen kann. Man soll daher bei voraussichtlich hohem Hämoglobingehalt 1:400 verdünnen.

Fehler des Apparates. 1. Die Verwendung eines Keiles ist aus physikalischen Gründen zur sicheren kolorimetrischen Bestimmung unter allen Umständen nicht zweckmäßig. So kommt man zu der Tendenz, alle Bestimmungen durch passende Verdünnung bei den mittleren Teilen der Skala vorzunehmen. Für sehr niedrige Hämoglobinwerte geht das aber nicht mehr, wenigstens nicht mit der heutigen Ausstattung des Apparates.

2. Die Verwendung sehr geringer Blutmengen ist schon überhaupt, dann auch gerade bei starken Anämien nicht unbedenklich. Kleine technische Fehler gewinnen einen relativ großen Einfluß. Auch ist es zweifellos richtiger, wenn größere Blutmengen rasch die Stichöffnung verlassen als nur kleinere, die eine größere Beimengung von Gewebeflüssigkeit erhalten können. Ich erachte es daher gerade bei schweren Anämien für geboten, eine tiefere Wunde zu machen und größere Blutmengen zur Bestimmung zu verwenden, wie ich das auch für niedrige Hämoglobinwerte des SAHLISCHEN Hämometers empfehle.

3. Die Möglichkeit einer wiederholten Ablesung und die Berechnung eines Mittelwertes erscheint sehr vielen als großer Vorzug, und fast allen imponiert der so ermittelte genaue Befund. Ich halte das zum größten Teil für einen Selbstbetrug. Es ist bei einer Methodik, die stets mit den gleichen Faktoren und daher auch mit den gleichen Fehlern rechnet, durchaus nicht gesagt, daß ein Mittelwert richtiger ist als der maximale Wert nach der einen oder anderen Richtung. Es wäre etwas anderes, wenn jedesmal eine ganz neue Bestimmung durchgeführt würde. So aber bekommt man nur die mögliche optische Fehlerbreite. Den Mittelwert als richtiger anzusehen als die anderen geht nicht an. Gerade diese so genaue Zahl hat dem Apparat die Gloriele größter Exaktheit verschafft; diese Exaktheit ist aber zum guten Teil nur eine scheinbare.

4. Als Fehler ist es selbstverständlich endlich anzusehen, daß die verglichenen Objekte chemisch völlig verschieden sind.

Es scheint mir daher der FLEISCHLSche Apparat selbst in der so erheblichen Verbesserung durch MIESCHER prinzipiell dem neuen SAHLISCHEN Hämometer keineswegs gleichwertig. Dieses ist in seiner wissenschaftlichen Grundlage viel besser fundiert. Ganz besonders aber möchte ich davor warnen, dem scheinbar genauen Mittelwert des FLEISCHL-MIESCHERSchen Hämometers eine größere Bedeutung zuzusprechen.

Immerhin wird jeder anstandslos erklären, daß dieser Apparat doch zu den besten für die Hämoglobinbestimmung gehört.

Das Kolbenkeilhämometer von Plesch.

Lit.: Chromophotometer von PLESCH, Arch. Anat. Phys., phys. Abt. 1907 S. 374. Zeitschr. f. kl. Med. Bd. 63. 1907. Hämoglobinometrie, Zentralbl. Phys. Bd. 23. 1910. S. 957. Kolbenkeilhämoglobinometer Münch. m. W. 1910 S. 406 u. Deutsch. Arch. Bd. 99. 1910.

Dieses ganz ausgezeichnete Instrument kann ich aufs wärmste empfehlen.

Es beruht gleichfalls auf dem Keilprinzip und dem Vergleich zweier chemisch gleicher Substanzen, CO-Hgl.

Man saugt mit der beigegebenen Pipette bis zur Marke Blut und verdünnt sofort auf $\frac{1}{100}$ durch CO-haltiges Wasser. Dieses stellt man sich her, indem man in ein Kölbchen mit Wasser Leuchtgas einströmen läßt. In wenigen Minuten ist eine genügende Menge CO physikalisch vom Wasser absorbiert.

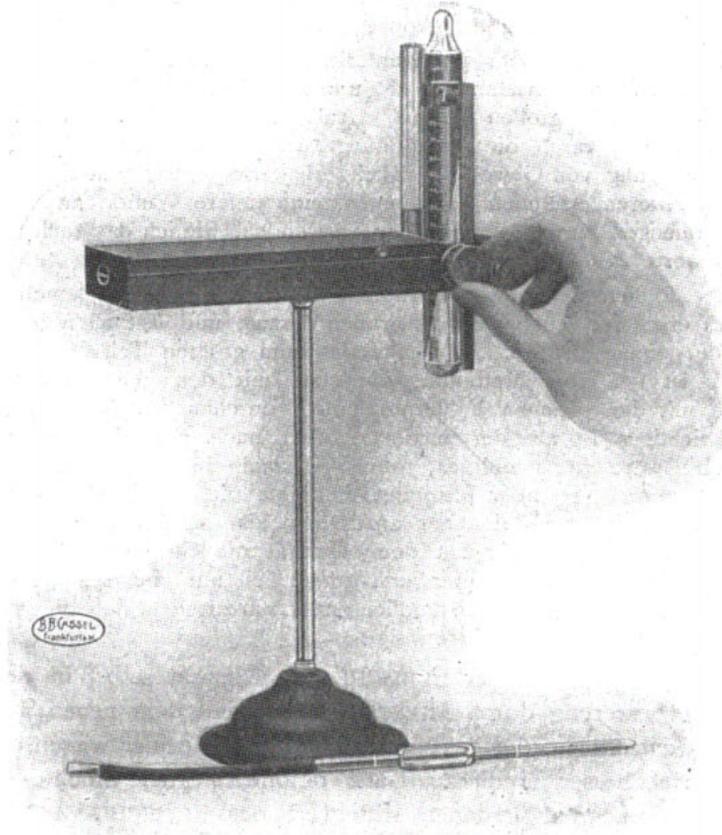


Fig. 14.

Man kann durch wiederholte Ablesungen den gefundenen Wert kontrollieren. Selbst bei geringer Übung ist die Fehlerbreite tatsächlich nur 2—4 Proz. und allmählich lernt man die Ablesung immer genauer vornehmen.

Das Keilhämometer von HUFNER beruht auf ähnlichen Prinzipien wie das FLEISCHL-MIESCHERSche Instrument. Die Herstellung eines stets gleichmäßig beschaffenen und haltbaren Keils ist aber auf fast unüberwindbare Schwierigkeiten gestoßen.