

BLUTKRANKHEITEN UND BLUTDIAGNOSTIK

Lehrbuch der klinischen Hämatologie

von

Dr. med. Otto Naegeli

o. ö. Professor der inneren Medizin an der Universität Zürich
und Direktor der medizinischen Universitätspoliklinik

Dritte vollkommen umgearbeitete und vermehrte Auflage

Mit 34 Figuren im Text und 18 Tafeln



Berlin und Leipzig 1919

Vereinigung wissenschaftlicher Verleger

Walter de Gruyter & Co.

vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung :: J. Guttentag, Verlags-
buchhandlung :: Georg Reimer :: Karl J. Trübner :: Veit & Comp.

Alle Rechte, einschließlich des Übersetzungsrechts, vorbehalten.

SEINEM VATER

Bezirksarzt DR. NAEGELI in Ermatingen

zur Feier seiner 50jährigen ärztlichen Tätigkeit

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 Bluthistologie. 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 Gesichtspunkten 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 Alkaleszenz-

bestimmung, die Ermittlung der Volumenprozente, 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 vortrefflichen 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 histogenetischen 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 Ehrlichschem 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, soviel 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 inneren 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 daherkommt, 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 Pseudo-leukämie 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.

Vorrede zur dritten Auflage.

Die Neuauflage steht vor allem unter dem Zeichen eigener eingehender klinischer Forschung und Erweiterung unseres Wissens auf allen Gebieten der Hämatologie. Neue Untersuchungsmethoden, die von mir und meinen Schülern ausgearbeitet worden sind, und von denen ich mit Bestimmtheit eine wesentliche Vertiefung unseres Wissens und unserer Erkenntnis erwarte, sind in großer Zahl aufgenommen. An Stelle der ungenauen und veralteten Bestimmung der Konzentration von Serum und Plasma arbeiten wir jetzt mit der Refraktion und der Viskosimetrie und gewinnen rasch sichere und genaue Werte. Ich bestimme nach der von mir und Rohrer ausgearbeiteten kombinierten Refraktometrie und Viskosimetrie in rascher Weise durch Funktionskurven die Zusammensetzung des Eiweißes in Albumin und Globulinanteile und erhalte neue wertvolle Aufschlüsse. Die Untersuchung auf Serumfarbe verrät uns das Vorliegen von Blutzerfall und trennt die Anämien in natürliche Gruppen. Die refraktometrische und viskosimetrische Bestimmung der Blutkörperchenvolumenprocente (Alder) läßt uns die durchschnittliche Größe des einzelnen roten Blutkörperchens feststellen und gibt uns neue Gesichtspunkte für Diagnose und Genese mancher Anämien. So erkennen wir mit jeder Sicherheit den abnormen Bau der Erythrozyten bei den hereditären, familiären, hämolytischen Anämien.

Im morphologischen Teil ist die histologische Charakterisierung der Monozyten, Myelozyten und Plasmazellen weiter ausgebaut und wohl nahezu zum Abschluß gekommen. Meine Lehre der Myeloblasten hat in der ganzen Welt Anerkennung gefunden und brauchte nicht weiter gestützt zu werden. Die Einwände der Gegner sind zusammengebrochen und entkräftet, vor allem vor dem Forum der Klinik.

Im Kapitel der Anämien hat die scharfe Charakterisierung der verschiedenen Arten der Blutarmut weitere, erhebliche Fortschritte gemacht. So gelingt es heute, nach den von mir aufgestellten Kriterien die Frühdiagnose der perniziösen Anämie selbst bei 100 Proz. Hämoglobin zu stellen. Viele Arten von Blutarmut habe ich auf Störungen innersekretorischer Organe zurückgeführt und damit den Gesichtskreis erweitert. Das gilt ganz besonders für die Chlorose, für die ich hier eine ganz neue und viel tiefer das Wesen erfassende Darstellung gegeben habe.

Die Leukämien haben eine gründliche Durcharbeitung nach klinischen Erscheinungsformen erfahren, so daß die Diagnose auch bei den atypischen und selteneren Formen immer leichter möglich sein sollte. Dabei habe ich den Versuch gemacht, die Leukämien als Korrelationsstörungen zu erklären, als Störungen einer sonst fein arbeitenden innern Regulation. Damit ist das Wesen der Prozesse tiefer erfaßt und die äußere Ähnlichkeit mit Tumoren verständlicher geworden.

Die Kapitel über Infektionskrankheiten sind erweitert, während die Abschnitte über Erkrankungen innersekretorischer Organe erst einen

Versuch der Darstellung enthalten. Hier muß mit größter Kritik und Gründlichkeit weiter geforscht werden, da die Verhältnisse nicht so einfach liegen, wie man früher geglaubt hatte.

Immer mehr scheint mir auch für das hämatologische Bild bei diesen Erkrankungen das Zusammenwirken vieler oder aller endokriner Organe von Bedeutung.

Die Literatur ist mit großer Genauigkeit zitiert und berücksichtigt, obwohl der breit dahinfließende Strom kaum in das enge Beet eines kurzgefaßten Lehrbuches zu bändigen ist.

Einige sehr schöne neue Abbildungen konnten dem Buche mitgegeben werden.

So stellt die Neuauflage in fast allen Teilen eine außerordentliche Erweiterung dar, obwohl durch die knappe Fassung des Ausdruckes der Umfang des Buches noch eingeengt werden konnte.

Zürich, April 1919.

O. Naegeli.

Inhalt.

Vorwort zur ersten Auflage	Seite V
Vorrede zur zweiten Auflage	VII
Vorrede zur dritten Auflage	IX
Einleitung	1
I. Überblick auf die Entwicklung der Hämatologie	1
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	9
a) Blutausstrichpräparate	9
Natur der Färbungen. Singuläre, panoptische Färbungen	10
Prinzipien der Färbungen	10
Herstellung gefärbter Präparate	11
Fixationen	12
Wahl der Färbung	13
Übersicht über die geeignetsten Färbungen für spezielle Zwecke	14
Vornahme der Färbungen	15
Giemsafärbung	16
— kombinierte	16
— einfache	16
Ergebnisse der Färbungen	16
Modifikationen der Giemsafärbung	18
Färbung mit eosinsaurem Methylenblau	18
Jenner-, May-Grünwaldfärbung (Eosinsaures Methylenblau)	18
Eosin-Hämatoxylinfärbungen	20
Triazidfärbungen	20
Reine Methylenblaufärbungen	21
Karbopyronin-Methylgrünfärbung	22
Dahliafärbung	22
Methylenblaujodfärbung nach Türk	23
Methoden für die Färbung der Altmann-Schriddeschen Lymphocytengranula (Mitochondrien, Chondriokonten)	23
Sudanfärbung	24
b) Färbungen an Organschnitten	24
1. Triazidfärbungen nach Sternberg, Fabian	25
2. Färbungen mit eosinsaurem Methylenblau nach Zieler, Assmann, Butterfield, Fischer	25
3. Giemsafärbungen nach Giemsa, Schridde	27
4. Färbungen in der Zählkammer nach Zollikofer, Riebes, Dunger, Türk	28
5. Vitalfärbungen	29
6. Die Zählung der Blutzellen	32
a) Erythrocytenzählung	32
b) Die Zählung der Leukocyten	37
c) Zählung der Blutplättchen	40
d) Zählung der Leukocytenarten in gefärbten Trockenpräparaten	41
7. Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes	43
Hämometer von Sahli	44
Eichung des Hämometers	46
Das Hämoglobinometer von Sahli-Gowers	47
Das Fleischl-Mieschersche Hämometer	47
Das Kolbenkeilhämometer von Plesch	47
Das Hämometer von Haldane	47
Das Hämokolorimeter	47
Das Hämatospektrophotometer	48
Die kolorimetrische Doppelpipette	48
Die Hämoglobinskala von Tallqvist	49

Klinische physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden des Blutes.

	Seite
Allgemeine Vorbemerkungen	49
Viskosität des Blutes	50
Das Viskosimeter von Hess	51
Die Gewinnung von Serum und Plasma	59
Die Bestimmung des Eiweißes	60
Andere Methoden zur Ermittlung des Eiweißgehaltes	63
Die viskosimetrische Eiweißbestimmung	63
Die Bestimmung der Albumin- und Globulinprocente im Serum	64
Die Bestimmung des Fibrinogens im Plasma	68
Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes	69
a) des Gesamtblutes	69
b) des Serums	71
Der Salzgehalt des Serums	71
Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehaltes	72
Die Bestimmung des Eisens	73
Die Untersuchung der Serumfarbe	74
Der osmotische Druck des Blutes	76
Permeabilität und Resistenz der roten Blutkörperchen	77
Technik der Resistenzbestimmung	79
Ergebnisse der Resistenzprüfungen	80
Volumenprocente	83
Technik der Volumenbestimmung	86
1. Refraktometrische Bestimmung	86
2. Viskosimetrische Bestimmung	88
Die Blutgerinnung und die Bestimmung der Blutgerinnungszeit	90
Gerinnungsbestimmung nach Klinger und Herzfeld	96
Ergebnisse der Blutgerinnungsuntersuchung	97
Alkaleszenzbestimmungen des Blutes	98
Die Bestimmung der Gesamtblutmenge	99
Sauerstoffzehrung des Blutes	103
Die Oxydasenreaktionen	103
1. Die Guajakreaktion	103
2. Die Indophenolblausynthese	104
Die Jodreaktion des Blutes und der Leukocyten	107

Die roten Blutkörperchen (R.).

I. Physiologische Verhältnisse	112
Allgemeine Verhältnisse	112
Neuere Ansichten über den Bau der R.	112
Funktion. Zahl. Farbeindex	116
Untergang	117
Physiologische Schwankungen	117
Die Erythroblasten und die Bildung der R. im postfötalen Leben	119
Normoblasten und Megaloblasten	119
Lymphatische Vorstufen der Erythroblasten	121
Entkernung	122
Embryonale Blutbildung	123
Vergleichende Anatomie und Embryologie der R.-Bildung	126
Ursprung der roten Blutkörperchen	127
II. Pathologische Verhältnisse	130
Abnorme Werte der R. in der Raumeinheit	130
Abnahme des Hämoglobingehaltes	131
Farbeindex	132
Größen- und Gestaltsveränderungen	134
Anisocytose. Makrocyten. Megalocyten. Pessarformen	134
Poikilocytose	138
Kernhaltige rote Blutkörperchen	138
Artefakte und Nekrobiosen	140
Veränderungen bei Vitalfärbungen	141
Veränderungen der Tinktionsverhältnisse	143

	Seite
Anisochromie	143
Polychromasie	144
Basophil reagierende Substanzen im Erythrocytenplasma	147
1. Kernbröckel	147
2. Eigenartige Kernabschnürungen an Megaloblasten	148
3. Howell-Jollykörper	148
4. Chromatinstäubchen	150
5. Ringkörper	151
6. Azurophilie (rote basophile) Punktierung bei Giemsa-Färbung	152
7. Azurophile (rote) Strichelung und Fleckung bei Giemsa-Färbung	153
8. Basophile Punktierung	153
--- Vorkommen	154
--- Genese der basophilen Punktierung	157
--- Nachweis des regenerativen Charakters	160
Pathologisches Wiederauftreten der Erythropoëse in Leber, Milz und Lymphdrüsen	164
 Die weißen Blutkörperchen (Leukocyten).	
Die Lymphocyten (L.)	168
Monocyten = große Mononukleäre und Übergangsformen Ehrlichs	177
Die neutrophilen polymorphkernigen Leukocyten (N.)	186
Die eosinophilen Zellen (Eos.)	189
Die Mastzellen (Ma.)	200
Pathologisch im Blute auftretende Leukocyten	205
Myelocyten	206
Myeloblasten (Naegeli) (ungranulierte myeloische Zellen)	209
Pathologische Lymphocyten	215
Plasmazellen	215
1. Lymphoblastische Plasmazellen	216
2. Lymphocytaire Plasmazellen	216
3. Radkernplasmazellen	216
4. Myeloblastische Plasmazellen	217
Megakaryocyten. Knochenmarksriesenzellen	218
Kriterien der Jugend und des Alters der Leukocyten	220
Abnormitäten der normalen Blutleukocyten	221
(Arnethsche Lehre)	
Spezifität der Leukocytenarten	225
Die Bildung der Leukocyten	228
Blut der Embryonen. Embryonale Leukopoëse, bes. nach eig. Forschungen	230
Resultate der embryonalen Forschung	234
Vergleichende Anatomie und Histologie der Leukocyten und der Leukopoëse	236
Pathologische Leukopoëse der Organe	239
Die vitalen Phänomene und die Funktionen der Leukocyten	245
Untergang der Leukocyten	250
 Das Knochenmark als Organ.	
Die Leukocytose	257
Therapeutische Anwendung der Leukocytose	262
Verschiedene Arten der Leukocytose	263
1. Physiologische Leukocytosen	263
Die Verdauungsleukocytose	263
Die Graviditätsleukocytose	265
Die Leukocytose der Neugeborenen	266
Die Leukocytose nach körperlichen Anstrengungen und thermischen Reizen	267
2. Pathologische Leukocytosen	270
Die Leukocytose bei Infektionskrankheiten	271
Die Leukocytose bei Intoxikationen (Toxische Leukocytose)	273
Die Leukocytose bei Blutungen (posthämorrhagische Leukocytose)	273
Die Leukocytose bei malignen Tumoren	273
Die Leukocytose bei Kachexien	274
Die Leukocytose der Agone	274
Die Leukocytenschwankungen in der exper. Pathologie und bei Röntgenbestrahlungen	274
Die Leukopenie oder Hypoleukocytose	277

Die Lymphknoten und das lymphatische System als Gewebe	Seite 278
Die Milz als Organ	281
Histioides Leukoeyten	287
Die prinzipielle Trennung der lymphatischen und myeloischen Leukoeyten	291
Abstammung der Blutzellen	302
Die Abstammung der Blutzellen nach anderen Autoren	306
Nomenklatur	306

Die Blutplättchen.

Die Blutplättchen	309
Entstehung und Mengenverhältnisse der Blutplättchen	311
Die Blutstäubchen	313

Die Anämien.

Allgemeines	316
Vorgetäuschte Anämien	322
Einteilung der Anämien	322
Beziehungen der Anämien zur Leukopoëse	324
Die posthämorrhagische Anämie	325
Experimentelle Anämien	326
Aregenerative (aplastische) Anämien	328
Die Chlorose	331
Vorbemerkungen	331
Entstehung der Chlorose	333
Frühere Auffassungen der Entstehung der Chlorose	336
Symptome	337
Klinischer Befund	338
Formen der Chlorose	342
Das Blut bei Chlorose	344
Pathologische Anatomie	350
Diagnose	351
Differentialdiagnose	352
Verlauf und Prognose	354
Therapie	354
Die perniziöse Anämie	360
Entwicklung der Lehre über Symptomatik und Wesen	360
Ätiologie	364
A. Anerkannte Ursachen	364
B. Zu Unrecht behauptete ätiologische Momente	367
Vorkommen	371
Symptomatologie	372
Blutbefunde	378
Verlauf des Leidens	384
Diagnose und Differentialdiagnose	386
Sektionsbefunde	391
Histologie	392
Wesen der Biermerschen Anämie	394
Genese der perniziösen Anämie	396
Therapie	397
Hämolytische Anämien und hämolytischer Ikterus	407
Die Anaemia pseudoleukaemica infantum	416
Anämien des Kindesalters	421
Leukanämie	425

Die Leukämien.

Allgemeines	427
Die chronisch myeloische Leukämie. Chronische Myelose	430
Klinisches Bild	431
Blutbefunde bei chronisch myeloischer Leukämie	434
Veränderungen des Blutbildes	436
Atypien des Blutbefundes bei den Myelosen	436
Stoffwechsel der myeloischen Leukämie	440
Diagnose der chronischen Myelose	442

Inhalt	XV
	Seite
Prognose und Therapie	444
Pathologische Anatomie	448
Histologische Verhältnisse	450
Die akute myeloische Leukämie	452
Diagnose der akuten Myelose	457
Myeloisches Chlorom = myeloische Chloroleukämie	460
Die chronische lymphatische Leukämie	465
Klinisches Bild	465
Verlauf des Leidens (Therapie)	471
Differentialdiagnose	472
Pathologische Anatomie und Histologie	473
Die akute lymphatische Leukämie (akute Lymphadenose)	478
Klinisches Bild	479
Klinische Formen der akuten Lymphadenose	481
Verlauf des Leidens	484
Differentialdiagnose	484
Pathologische Anatomie und Histologie	486
Das lymphatische Chlorom = lymphatische Chloroleukämie (Naegeli)	493
Plasmazellenleukämie	495
Histiogenese und Wesen der Lymphadenose	496
Atypische Leukämien und scheinbare Übergänge der Leukämien und von Blutkrankheiten in Leukämie	497
Histiogenese und Wesen der Leukämien	500
Die Tumorauffassung der Leukämien	502
Die Leukämien als Korrelationsstörungen	506
Leukämie bei Tieren	508

Der Symptomenkomplex Pseudoleukämie.

Allgemeines	510
Einteilung des klinischen Symptomenkomplexes Pseudoleukämie.	
A. Lymphocytome	511
B. Myelosen	512
C. Granulome	512
Die Lymphosarkomatose	514
Klinische Formen	515
Das Lymphogranulom	518
Formen des Lymphogranuloms	520
Das tuberkulöse Granulom. Tuberkulöse Pseudoleukämie	527
Dasluetische Granulom	529
Die Megalosplenien und die Bantische Krankheit	529
Splenomegalie Typ Gaucher	536
Das Myelom	538
Die Krankheit Polyglobulie	543
Polyglobulie unter anderen Verhältnissen	550
Polyglobulie im Höhenklima	553
Erklärung der Höhenpolyglobulie	555
Hämorrhagische Diathesen	558
Skorbut	560
Hämophilie	560

Infektionskrankheiten.

Allgemeines	564
Kruppöse Pneumonie	566
Typhus abdominalis	568
Abnorme und komplizierte Formen	572
Diagnostischer Wert der Leukocytenuntersuchung bei Typhus	572
Typhus exanthematicus	577
Febris wolhynica	578
Icterus infectiosus	578
Dysenterie	579
Pappataciefieber	579

	Seite
Diphtherie	579
Scarlatina	580
Morbilli	583
Rubeolae	584
Erythema infectiosum	585
Erysipelas	585
Variola	586
Varicellen	588
Influenza	588
Grippe	589
Tetanus	590
Parotitis epidemica	590
Lyssa	591
Anthrax	591
Actinomycosis	591
Cholera	591
Maltafieber	592
Dengue	592
Leishmaniosis	592
Trypanosomiasis	593
Febris recurrens	593
Polyarthrits acuta	593
Sepsis	594
Eiterungen	595
Gynäkologische Affektionen mit Eiterungen	599
Leberabszeß	600
Eiterige Meningitis und Genickstarre	601
Tuberkulose	602
Tuberkulininjektionen	603
Lymphknotentuberkulose	604
Lepra	607
Syphilis	607
Pertussis	610
Malaria	610

Helminthiasis.

Ankylostomum duodenale und Necator americanus	614
Botriocephalus latus	616
Tänien	617
Trichocephalus dispar	617
Ascaris lumbricoides und Oxyuris vermicularis	618
Anguillula stercoralis und intestinalis	618
Distomum haematobium. Bilharzia	618
Filaria sanguinis	619
Trichinosis	619
Echinokokkus	621

Maligne Tumoren.

Maligne Tumoren	622
---------------------------	-----

Vergiftungen und Blutgifte.

Vergiftungen und Blutgifte	628
Globulicide Gifte	629
Bleivergiftung	629
Intoxikationen, die das Hämoglobin chemisch verändern	633
Gifte, die das Hämoglobin in Methämoglobin verwandeln	633
Hämolytische Gifte	634
Paroxysmale Hämoglobinurie	635

Erkrankungen der Organe mit innerer Sekretion	639
Affektionen des vegetativen Nervensystems	640

Sachregister	648
------------------------	-----

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 anderseits 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 besondere Krankheit des Blutes, und zeichnete ihre Symptome, so daß fortan die Diagnose dieser Affektion gestellt werden konnte. Ins gleiche Jahr fällt die Entdeckung von Neumann in Königsberg, daß das Knochenmark die Bildungsstätte der roten Blutzellen beim erwachsenen Menschen darstellt, und bald entstand 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 Abstammung der Blutzellen, die Spezifität der verschiedenen Arten, die Entstehung der verschiedenen Blutveränderungen und die Funktion der Zellen beschäftigt.

Nach vieljährigem Studium ist heute die Zytogenese der Blutzellen sehr weitgehend geklärt und es bestehen fast nur noch in bezug auf Einzelfragen Abweichungen in den Ansichten der hauptsächlichsten Forscher. Namentlich in der Klinik ist der hier vorgetragene, von mir durch die Aufstellung der Myeloblasten erweiterte Ehrlichsche Dualismus ganz allgemein durchgedrungen, die Lehre nämlich, nach der zwei verschiedene Blutbildungssysteme, das myeloische und das lymphatische, alle Blutzellen bilden, ihre eigenen Vorstufen haben, den Myeloblasten und den Lymphocyten, die nie ineinander übergehen.

Auch die Forscher der pathologischen Anatomie stehen in ganz überwiegender Zahl fest auf dem von der Klinik geschaffenen Boden, während einzelne Autoren der normalen Anatomie immer noch zurückhaltend oder gar ablehnend sich verhalten.

Dies ist nicht so überraschend, weil viele der hier erörterten Fragen durch morphologisches Studium allein nicht gelöst werden können. Als mindestens ebenso wichtig für die Aufklärung der oft verwickelten Verhältnisse hat sich die funktionell-biologische von der Klinik gepflegte Forschungsrichtung erwiesen. Außerdem reichen die von der normalen Histologie geübten technischen Methoden der Schnittfärbung für die Darstellung der Kernstruktur nicht aus.

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 häufig auch die absolut beweisenden Befunde. Diese Forschungsrichtung hat volle Selbständigkeit entsprechend ihrer hohen Bedeutung gewonnen.

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.

Manche dieser Untersuchungsmethoden haben vorläufig nur wissenschaftlichen Wert und werden wohl immer rein klinische Methoden bleiben. Andere beginnen mehr und mehr praktisch diagnostische Bedeutung zu gewinnen und dürfen heute für die Klärung gewisser Erkrankungen nicht übergangen werden. Hierher zählt die Prüfung der osmotischen Resistenz der roten Blutkörperchen für die Aufklärung mancher Anämien und Milztumoren.

Eine sehr wertvolle, noch lange nicht genügend durchgeführte Prüfung ist die Viskositätsuntersuchung. Sie gibt einen ausgezeichneten Einblick in das Zusammenwirken einer großen Zahl von Einzelfaktoren (Hb-Wert, R-Zahl, Eiweißwert des Plasmas, Größe und Volumen der Zellen usw.) und eignet sich trefflich als Generalkontrolle der Richtigkeit aller Einzelbestimmungen. Dabei ist die Untersuchung sehr genau, einfach und rasch beendetigt.

Sehr wertvoll werden Prüfungen über den Eiweißgehalt des Plasmas und des Serums, erschlossen durch Refraktometrie oder Viskosimetrie, deren klinischer Wert sich mir in zahllosen Untersuchungen der letzten sechs Jahre als sehr erheblich erwiesen hat. Auch die von mir eingeführte kombinierte Refraktometrie und Viskosimetrie zur Ablesung der Albumin- und Globulinwerte des Serums nach der Rohrschen Tabelle eröffnet neuen klinischen Boden zur Diagnose und Prognose (Karzinom, Tuberkulose, Chlorose).

Ausgezeichnet bewährt hat sich ferner die so leicht durchführbare Prüfung auf die Farbe des Serums, die besonders für die Erkennung der perniziösen Anämie und der wahren Chlorose so wertvoll ist.

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 Pseudoleukämie 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 morphologische 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.

Wie lange ist dieser Satz selbst von bedeutenden Blutforschern bestritten worden und wie gefestigt ist heute unsere Überzeugung von der Richtigkeit meiner Behauptung. Daß das Blutbild allein die perniziöse Anämie in den frühesten Frühstadien erkennen läßt, habe ich eben gezeigt (D. A. 124, 1918. S. 221), selbst dann, wenn der gewiegteste Kliniker noch nicht einmal einen Verdacht für das Bestehen einer so schweren Krankheit hegt und die Hb-Werte völlig normale sind.

Desgleichen klassifiziert der Blutbefund ein Leiden als Leukämie, ob der übrige klinische Befund so der anders ausfällt.

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 und unter dem Gesichtspunkt biologischen Denkens 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.

Auch für die rasche Erkennung zweifelhafter, oder schon fast abgeblaßter Exantheme ist der morphologische Blutbefund recht oft sofort ausschlaggebend, so für Scharlach durch die Leukocytose und Eosinophilie, für Röteln durch die große Zahl prachtvoller Plasmazellen.

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 rechtzeitig werden, ist vielfach betont worden. Dasselbe gilt für die Prognose. Wir fürchten die geringe Leukocytose bei krupöser Pneu-

monie; 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 (Sonnenburg), wenn abnorm niedrige Leukocytenzahl vorliegt.

Dies führt mich zur biologischen Bedeutung des Blutbefundes. Die Zellen, die wir im Blute finden, sind das Produkt einer Organ-tätigkeit, 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 andern, 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 noch weit mehr als bisher die Deutung der Blutbefunde leiten und beherrschen. Wenn ich 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 Naegeli, Die Prinzipien der morphologischen Blutuntersuchungen. Korresp.-Bl. f. Schweizer Ärzte. 1905. Nr. 24.

Technik der Blutuntersuchungen.

Die Blutentnahme.

Allgemeine Vorbemerkungen. Die richtige Blutentnahme ist ein sehr wichtiger Punkt für genaue Untersuchungen. Es läßt sich 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.

Ein unzulässiger Druck auf die Stichwunde bringt gestauttes Blut mit mehr roten Blutkörperchen und mehr Hämoglobin zum Vorschein, wie dies am raschesten durch die erhöhte Viskosität des Bluttröpfens bewiesen wird.

Erst wenn fast kein Blut mehr ausfließt, tritt der andere Fall ein, daß auf Pressen mit Gewebeflüssigkeit 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 Hb.-Untersuchung ist diese Art der Blutentnahme allein zulässig, weil sonst Abweichungen von über 10% vorkommen.

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, sofern nicht ein leichtes Klaffen der Wunde Erfolg bringt.

Das spontan herausfließende Blut der aktiven Hyperämie aus der Fingerkuppe nach warmem Handbad zeigt völlig konstante Zusammensetzung in bezug auf Erythrocytenzahl, Hb., Leukocyten, Viskosität des Gesamtblutes und des Serums, Eiweißwerte und Globulin- und Albuminwerte 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 eher Blut in die Lymphgefäße eindringt, als daß Lymphe dem Blute sich beimischen könnte. Erst bei ganz schlechtem Ausfließen des Blutes vermag Lymphe auszuströmen.

Die Blutentnahme am Ohrläppchen sollte verlassen werden. 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. Die Erzeugung aktiver Hyperämie kann nie so sicher wie am Finger erzielt werden.

Für die gewöhnlichen Untersuchungen benutzt man zum Einstiche am besten scharfe Lanzetten, besonders 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 anderseits die hervorströmende Blutmenge nicht zu groß ist, was die Herstellung guter Präparate verhindert. 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.

Unter unzähligen Blutentnahmen habe ich nie die geringste Infektion der Stichwunde erlebt. Nach Gewinnung des Blutes verklebt die Stichwunde rasch, und nur selten ist es nötig, eine leichte Kompression anzuwenden. Ein Verband ist durchaus überflüssig.

Zur Gewinnung größerer Blutmengen, namentlich für physiologisch-chemische Zwecke, ist die Venenpunktion die einzig zulässige Methode. Größere Einschnitte in die Haut sind zu verwerfen. Ganz unbrauchbar, wegen Gewebsplasmabeimischung, ist das Blut aus Schröpfköpfen. Bei der Venenpunktion ist leider oft ein gewisser Grad von Stauung unvermeidbar.

Nun zeigten aber 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.

Unter günstigen Verhältnissen und bei Übung und Vorsicht können, wie dies Alder in meiner Poliklinik gezeigt hat, genau gleiche Werte wie am Fingerblut für alle Teile des Blutbefundes gewonnen werden.



Fig. 1.
Francke-
sche Nadel.

¹ Erhältlich bei Optiker Büchi in Bern.

² Bei Reiner od. Hayek, Wien IX./3.

Die Zusammensetzung des Blutes ist also in arterialisierten Kapillaren und in den Venen in bezug auf Hb-, R-Zahl, L-Zahl, Eiweißgehalt des Serums und Plasmas, Albumin- und Globulinwert genau gleich;¹ einzig der Volumenwert der R ist in der Vene etwas höher.

Für die Verwertbarkeit des der Vene entnommenen Blutes muß aber in wissenschaftlichen Arbeiten stets der Nachweis geleistet werden, daß auch das Fingerblut des gleichen Falles die gleiche Zusammensetzung geboten hat.

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

Die Herstellung ungefärbter Präparate (Nativpräparate).

Abbildung des ungefärbten Präparates Tafel VI oben links.

Der Blutropfen wird mit der Unterseite eines vorher in Äther und Alkohol gereinigten Deckgläschens in Berührung gebracht und sodann auf einen sauberen Objektträger gelegt, worauf das Blut ohne Anwendung von Druck sich durch Kapillarität gleichmäßig ausbreitet.

Das Deckgläschen wird hierzu an einer Ecke mit den Fingerkuppen gefaßt. Es 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 nachher einen Augenblick zuwartet.

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 Blutropfens 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 der weißen Blutzellen 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.)

¹ Die gleiche Zusammensetzung des Blutes in bezug auf Hb- und R-Werte hat auch Bürker (Pflüg. Arch. 1917) für Finger, Cubitalvene und Ohrläppchen bewiesen.

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

Die neutrophilen Granula zeigen 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 Protoplasmasaum kann man eine undeutlich granuläre Beschaffenheit oft wahrnehmen. (Zelle 110.)

Die Monocyten verraten sich durch erhebliche Zellgröße und meist 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 oft 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 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 anderen 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 Benutzung 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. Besonders für die Beurteilung des Fibrin gehaltes ist das Nativpräparat wertvoll; sonst aber wird es heute in jeder anderen Hinsicht durch die Vitalfärbung übertroffen.

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, wie dick die Präparate gestrichen, welche Lösungsmittel für die Farbstoffe verwendet worden sind. Es darf daher nicht wundernehmen, wenn die gleiche Granulation bei verschiedener Fixation und verschiedener Färbung nicht im gleichen Farbenton sich zeigt. Ja selbst an dünnen und dickeren Stellen des gleichen Präparates können die Granula verschieden gefärbt sein. Es spricht das nicht gegen die Einheitlichkeit der Art der Körnelung, sondern nur für die Möglichkeit einer Umprägung der Farbenaffinität unter anderen Verhältnissen und für den Einfluß physikalischer Bedingungen.

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 Übertünchung 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 (halbreife Granula) 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 und Rosin. Berlin 1903.

Herstellung gefärbter Präparate.

Manche Autoren stellen **Objektträgerpräparate** her. Ich möchte davor sehr warnen! Auch bei der besten Technik werden auf solchen Präparaten die Erythrocyten zumeist gequetscht und für die Beurteilung fast ungeeignet. Die Verteilung der Leukocyten ist ungleich; die Hauptmenge klebt am Rande und ist oft deformiert. Von vielen mir zur Beurteilung eines Blutbildes zugeschickten Objektträgerpräparaten war auch nicht eines gut, die meisten erwiesen sich als fast unbrauchbar. Die Methode der Objektträgerausstriche ist also zu verlassen.

Die sorgfältige Reinigung und Entfettung der benutzten **Deckgläschen** ist zur Herstellung guter Präparate unerlässlich. Man bringt die Deckgläschen einzeln in eine Schale von Äther und Alkohol $\overline{aa}$, läßt sie eine Viertelstunde verweilen und trocknet sie mit einem leinenen Lappchen.

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 sanften Zug ohne Gewalt auseinander. Dies muß unbedingt von Hand geschehen, weil es viel sorgfältiger ausfällt als unter Benutzung 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:

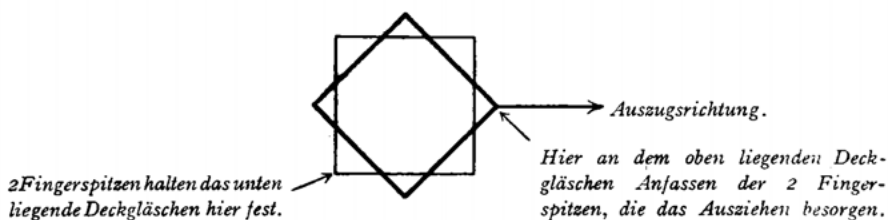


Fig. 2.

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, sofern nicht die Fixation, wie bei der wichtigsten Färbung (kombinierte Giemsa-färbung) gleichzeitig mit dem Färben vorgenommen wird.

Die Fixation

erfolgt auf eine der folgenden Arten:

1. Fixation im Thermostaten, einige Minuten bei 120—125°. Für manche Färbungen ist eine längerdauernde oder eine höhere Temperatur nötig.

2. Fixation auf der Kupferplatte. Diese Fixation geht viel rascher und einfacher und ist ganz besonders für Triazidfärbung zu empfehlen. Man benutzt überzinnte 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 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, 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. Ältere, mehr als 12 Stunden lufttrockene Präparate verlangen nur 2 Minuten Fixation. Dies ist heute die am meisten vorgenommene Fixation.

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

5. Fixation in Aceton und Methylalkohol aa. 5 Minuten.

6. Fixation in abs. Alkohol und Äther aa. 10—30' unter Luftabschluß.

7. Fixation in absolutem Alkohol. 20—30' unter Luftabschluß, für Färbungen nach Giemsa, Jenner, May-Grünwald, zu empfehlen.

8. Manche Farblösungen enthalten die Farbe schon in der fixierenden Flüssigkeit, so die Jenner- und May-Grünwald-Lösungen in Methylalkohol, oder es werden die sehr bequemen Tabletten der verschiedensten Farbstoffe (für Jennerfärbung, Romanowskyfärbung nach Leishmann) direkt in 10 ccm Methylalkohol gelöst.

Bei der heute gebräuchlichsten kombinierten Pappenheimischen Färbung mit Jenner- und dann Giemsalösung wird die Fixation mit der Jennerlösung vorgenommen.

9. Fixation mit Osmium siehe die Agar-Osmiummethode von Weidenreich (S. 18) und die Methoden von Schridde (S. 23) und von Freifeld (S. 23) 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 1proz. Osmiumsäurelösung gegeben hat. Dann Ausstreichen des Bluttropfens 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.

13. Von Szécsi ist Lucidol (Verein. Chem. Werke Charlottenburg) als neues gutes Fixiermittel empfohlen (D. m. W. 1913, S. 1584). Nach Langeron (soc. biol. 1914) macht es auch alte Präparate wieder zur Färbung geeignet.

Die Färbungen.

Die Zahl der Färbungen ist Legion, aber eine einzige, die Giemsa-Färbung, besonders in ihrer von Pappenheim ausgebildeten Kombination mit Jenner-(May-Grünwald-)Färbung, überragt alle andern so sehr in der Differenzierung, daß seit einer Reihe von Jahren nahezu überall nur noch diese Färbung vorgenommen wird und höchstens für seltene Spezialfragen noch eine andere Methode in Frage kommt.

Ich kann daher in dieser 3. Auflage das Kapitel der Färbungen kurz behandeln und verweise für weitere Methoden auf die 2. Auflage meines Lehrbuches.

So prachtvoll die heutigen Färbungsmethoden die Blutzellen in strahlenden Farben zur Darstellung bringen, so muß doch vor einseitiger Überschätzung der Bedeutung tinktorieller Methoden gewarnt werden. Manche Entscheidungen über Verwandtschaft der Zellen, über Abstammung, Entwicklung, Reifung, über das Wesen gewisser Veränderungen können aus biologischen Untersuchungen viel sicherer gewonnen werden. Die gleiche Farbenreaktion spricht an sich niemals für volle Wesensgleichheit und hat nicht selten in unseren Argumentationen nur so lange Wert, bis neue Färbungen doch Differenzen ergeben.

Die Hämatologie ist reich an Irrtümern, die aus der Überschätzung kleiner Farbunterschiede oder auch des übereinstimmenden färberischen Verhaltens gewisser Zellteile entstanden sind. Weil die zur Erörterung stehenden Fragen gewöhnlich biologischer Natur sind, so hat die Farbenreaktion stets nur den Wert eines Argumentes, neben dem viele andere biologische Ergebnisse mitberücksichtigt werden müssen.

Gerade weil die Färbungen nicht ausschließlich chemisch bedingt sind, sondern von physikalischen Momenten stark mitbeeinflusst werden, so ist größte Vorsicht bei allen Deutungen angezeigt.

Ich habe auch immer betont, daß die bei den Färbungen zum Ausdruck kommende chemische Reaktion nur eine kleine Nebenfrage berührt, nämlich die, ob saure, neutrale oder basische Reaktion vorliegt.

Die Farbenreaktion enthüllt uns also nie die chemische Struktur der Gebilde. Das sollte gewiß von vornherein zu größter Zurückhaltung zwingen, weil das Problem chemisch an der Oberfläche haften bleibt und nicht in das Wesen der Dinge eindringt.

Die Herstellung guter Farbstoffe ist ungemein schwer. Die Reinheit, die so wichtig ist, kann 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 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.

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. Jenner- und Leishmanfärbung. |
| 6. Für Myelocyten. | | Triazidfärbung und Giemsafärbung. Jennerfärbung. |
| 7. Für Myeloblasten | } | Giemsafärbung oder deren Kombinationen mit Jenner- oder Panchromfärbung. |
| 8. Für Azurgranulation der Lymphocyten | | Ausschließlich Giemsafärbungen und Leishmanfärbung. |
| 9. Für Mitochondrienfärbung | } | Altmann-Schriddesche Färbung. Freifeldsche Färbung. Methode von Butterfield. |
| 10. Für Plasmazellen | | Giemsafärbungen. Hämatoxylinfärbung. Karbol-Methylgrün-Pyroninfärbung. |
| 11. Für Polychromasie | } | Methylenblaufärbung noch besser als Giemsa, Jenner und Triazid. |
| 12. Für basophile Punktierung der roten Blutkörperchen | | Reine Methylenblaufärbung noch besser als Giemsa und Jenner. |
| 13. Für Ringkörper und kleine Chromatinkörnchen in roten Blutkörperchen . . | } | Ausschließlich Giemsafärbungen und lange Färbungsdauer. |
| 14. Für azidophile Fleckung der Erythrocyten | | Freifeldsche Färbung. |

15. Für Kernstruktur	}	Hämatoxylinfärbung, Methylenblaufärbung. Jenner-Giemsafärbung.
16. Für Nukleolen		Vitalfärbung, Giemsafärbung, Pyronin-Methylgrünfärbung. Methylenblaufärbung.
17. Für Oxychromatinstruktur		Freifeldsche Färbung.
18. Für Centrosomen	}	Weidenreichsche Fixation und Giemsafärbung. Freifeldsche Färbung.
19. Für Blutplättchen		Giemsafärbungen. Deetjensche Methode.
20. Für Fibrin und Blutstäubchen		Nativpräparat.
21. Für Parasiten	}	Für Blutparasiten und Bakterien
		Giemsafärbungen; Darstellung nach der Methode von Stäubli.

Vornahme der Färbungen.

1. Deckglasausstrich mit Strichseite nach unten in ein Uhrschälchen oder ein Blockglas legen.

2. Zufließenlassen der Farblösung von der Seite her, so daß das Präparat schwimmt und alle eventuellen Niederschläge zu Boden sinken.

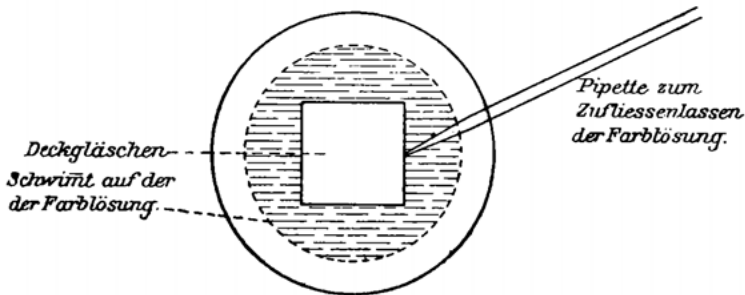


Fig. 3.

3. Nach Ablauf der Färbezeit Deckgläschen mit Pinzette wegnehmen. Kräftige Wasserspülung mit Aq. dest.

4. Trocknen zwischen glattem Fließpapier unter mehrmaligem Wechseln der Lage des Deckgläschens.

Weiteres Trocknen in der Nähe der Flamme (Vorsicht!) oder besser eine Reihe von Stunden zuwarten.

5. Einbetten in **neutralen** Kanadabalsam.

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

Der gewöhnliche Balsam enthält Säure, die meist bald die Präparate entfärbt.

Giemsafärbung.

Erklärungen u. Abbildungen Tafeln II Zellen 1—3; III; V; Zellen 113—118, 127 u. 128; VII; VIII; X—XV; XVI Fig. 1; XVII; XVIII; XX.

Kombinierte Giemsafärbung.

Dies ist die panoptische, beste Färbung der Gegenwart, daher die stets vorzunehmende Darstellung der Blutpräparate.

Die Lösung enthält Methylenazur neben Eosin und Methylenblau in Glyzerin und Methylalkohol gelöst.

1. Herstellung einer verdünnten Giemsalösung.

15—16 Tropfen der käuflichen Lösung auf einen kleinen Meßzylinder von 10 ccm Aq. dest.

2. Präparat wird mit der käuflichen Lösung von eosinsaurem Methylenblau (= Jennerlösung, = May-Grünwald-Lösung) unterschichtet. Dauer 3 Minuten (ältere Präparate, mehr als 24 Stunden alt, 2 Minuten).

Der Methylalkohol der Farblösung nimmt die Fixation vor.

3. Zufließenlassen von Aq. dest. in abgemessener, genau gleicher Menge wie eosinsaures Methylenblau.

Zuwarten 1 Minute. Jetzt tritt die Färbung ein.

4. Mit Pinzette Abheben des Deckgläschens und Auf-die-Kantestellen über Fließpapier. Dadurch Abfließen der überschüssigen Farblösung. Jetzt Abwischen der allfällig auf die nicht bestrichene Seite gekommenen Farblösung.

5. Präparat mit bestrichener Seite nach unten wird mit der unter 1) hergestellten Giemsalösung unterschichtet. Färbedauer 10—12 Minuten.

6. Kräftiges Abspülen mit Wasserstrahl (Aq. dest.).

7. Trocknen zwischen Fließpapier.

(8. Kontrolle der Färbungen mit schwacher Vergrößerung auf gute Kernfärbung.)

9. Kanadabalsam.

Einfache Giemsafärbung.

1. Fixation mit absol. Methylalkohol 3 Minuten in Blockschälchen, das gut zugedeckt wird (Vermeidung von Verdunstung); 2 Minuten bei über 24 Stunden alten Ausstrichen.

2. Färbung wie oben unter 5.

3. Alles wie oben unter 6., 7., 8., 9.

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.

Ergebnisse der Färbungen.

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 die 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, hell leuchtendrote Azurgranulation (Taf. V, Zellen 88—90), seltener auch eine feine und dann etwas zahlreichere Azurkörnelung (besonders 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 feinen rotgefärbten Granulationen. In dünnen und etwas länger gefärbten Ausstrichen tritt die bläuliche Protoplasmafärbung dieser Monocyten zurück, erscheint nur noch matt schieferfarben, düster grau-blau 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.

Bei Färbungen an etwas dickeren Ausstrichen versagt die Granulation der Myelocyten fast ganz oder ganz, und sprechen Unerfahrene solche Zellen für große Lymphocyten oder Myeloblasten an. Die Durchsicht gut gefärbter dünner Stellen klärt aber sofort auf.

In den roten Blutkörperchen wird die Polychromasie deutlich durch eine mehr oder weniger starke 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 in ganz dünnen Ausstrichen 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-Jolly-Körper 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 setzen sich nach einiger Zeit Niederschläge ab; 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 Neuananschaffung erfolgen. Manchmal liegt es am Wasser, wenn solche Niederschläge entstehen; daher soll nur Aq. dest. verwendet werden.

Wenn die Färbung nicht gelingen will, so spielen in irgend einer Weise Unreinigkeiten eine Rolle.

Besonders versagen alle Präparate, wenn die Blockgläschen oder Uhrschaalen mit einer Säure gereinigt worden sind. Die minimalste Säuremenge verhindert den GiemsaEffekt der Färbung und zerstört das Methylenazur. Selbst wiederholtes Auswaschen der Schalen mit destilliertem Wasser genügt nicht.

Es müssen jetzt alle Schalen in alkalischer Lösung (verd. Lauge) gebracht und nachher vielfach mit destilliertem Wasser ausgewaschen werden.

Modifikationen der GiemsaFärbung:

Agar-Osmiummethode für GiemsaFärbung nach Weidenreich (Arch. f. mikr. An. u. Entw. 1908. Bd. 72; siehe 2. Aufl.

Feuchtfärbung nach Giemsa: D. m. W. 1909. S. 1751; siehe 2. Aufl.

Panchromfärbung nach Pappenheim: Fol. haem. Arch. Bd. XI. S. 194; siehe 2. Aufl. — Die Färbung erfolgt völlig wie die GiemsaFärbung.

Färbung mit Kardosmischung (Fol. haem. Arch. Bd. XII. S. 39) von Grüber.

Leishmanfärbung: Brit. med. Journ. 1901. Sept. 21; siehe 2. Aufl.

Färbung mit eosinsaurem Methylenblau.

(Jenner und May-Grünwald.)

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

Jenner (1899 Lancet) hat zuerst die chemische Verbindung Eosin-Methylenblau als färbendes Prinzip in Anwendung gebracht, und in ganz ähnlicher Weise nachher auch May und Grünwald (1902). Bei den heutigen von Großbetrieben erhältlichen Jenner- und May-Grünwald-Lösungen handelt es sich um absolut dasselbe Präparat: eosinsaures Methylenblau, gelöst in reinem (acetonfreiem) Methylalkohol.

Die Firma Grüber, Leipzig, hat auch Tabloids des Farbstoffes in den 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. 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.

2. Färbung durch Verdünnung der Farblösung, indem man ebensoviele Aq. dest. 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 Liter 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 eintauchen und sofort wieder herauszunehmen.

4. Weitere Behandlung wie immer.

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 Mastzellengranulation, 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 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 Giemsaefärbung dargestellt. Ganz unmöglich fällt die Trennung mancher Lymphocyten von großen Mononukleären, und dies **ist ein schwerer Nachteil dieser Färbung**.

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. dest. + 5 Tropfen 1 prom. Kaliumkarbonatlösung 1 Minute.

3. Abspülen in Aq. dest.

Klein, Fol. haem. X. 1910 sucht eine distinkte Kernfärbung zu erzielen nach folgender Methode, für die Dr. Grübler-Leipzig eine besondere Jennerlösung in den 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 Min. erreicht ist;

2. dann setzt er 5—10 ccm Aq. dest. und einen Tropfen 1 prom. 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 rötlichviolett und ganz deutlich strukturiert, die Nukleolen blau, alle Granula deutlich, auch die Azurgranula; besonders deutlich ist der Unterschied zwischen jungen und alten neutrophilen Granula.

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-Hämatoxylinfärbung 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 Delafieldschem 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 Delafieldschem 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.

Sehr gut wird auch das Protoplasmaresikulum der Zellen dargestellt.

Triazidfärbungen.

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

Das Ehrlichsche 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 Ehrlichs 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 Lufttrocknenwerden. Sahli empfiehlt auch Fixation in absolutem Methylalkohol, während 5 Minuten bis zu einigen Stunden in gut verschlossenem Gefäß unter wiederholter Erneuerung des Methylalkohols.

2. Unterschichtung 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.

Die Triazidfärbung ist 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 als spezifisch verschiedene 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 Giemsa-Färbungen, 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.

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 1proz. bis $\frac{1}{4}$ proz. wäßrige Lösungen oder auch sog. Löffler-sches 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; Tafel II, Figg. 3 u. 4) und für eine sehr distinkte Färbung der basophilen Punktierung in den roten Blutkörperchen. — Gut erkennbar

sind auch die Plasmazellen durch die intensive Blaufärbung des Protoplasmas, in dem mehr oder weniger zahlreiche Vakuolen vorhanden sind. (Taf. VI, Zellen 118—121, 122—128 Plasmazellen).

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 Nachweis des basophilen Protoplasma-*retikulums* 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 (Taf. 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 Protoplasma-*retikulum*.

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 (Taf. VI, Zelle 123), ebenso das tief basophile Protoplasma der Plasmazellen (Taf. VI, Zellen 124—126) und die stärkeren Grade der Polychromasie. Die Lymphocytenkerne sind blaugrünlich, die Leukocytenkerne mehr violett, besonders auch diejenigen der Plasmazellen. 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 (Naegeli). 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 1 Minute auf der Kupferplatte, Färbung mit den sehr verschieden guten Lösungen 10 Minuten bis 24 Stunden.

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.

Methylenblaujodfärbung nach Türk für Mastzellen, siehe 2. Aufl.**Methoden für die Färbung der Altmann-Schridde'schen Lymphocytengranula (Mitochondrien, Chondriokonten).****a) Nach Schridde.**

Neuere Vorschrift publiziert in: Naegeli, Ehrlichs 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. dest.
4. Einlegen in 1proz. 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. dest. + 20 g Säurefuchsin. Filtrieren.)

Man bringt eine hohe Schicht der Lösung auf den Objektträger, erwärmt 5—6mal 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: 1 Teil gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung, 7 Teile 20proz. Alkohol.

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.

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

2. Kurzes Abspülen in Aq. dest.

3. Färbung 15—20 Minuten mit Altmann'scher 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 Erkaltenlassen 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 neutralen 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 rotgefärbte 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 rötlichbraun-violett. Zwischen den Einbuchtungen des Kerns ist das Centrosom stark rotgefärbt. 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, aber im Unterschied von den Lymphocyten ganz diffus im Protoplasma in großer Zahl und morphologisch verschieden.

Eine dritte Methode von Butterfield, Heineke, Erich Meyer und Merrian siehe Fol. haem. 1909, S. 328.

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 eine wichtige 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, 4proz. Formol allein, Sublimatalkohol, 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 5proz. Formol 10proz. 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 Vakuolisierung 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 $5\ \mu$) herzustellen.

Mit älterem Leichenmaterial ist nie mehr eine gute Färbung möglich.

Einige besonders bewährte Verfahren für Schnittfärbungen sind die folgenden:

1. Für Triazidfärbungen.

Sternberg empfiehlt nach Alkoholfixation Giemsaefärbung (0,5 Farblösung auf 20 ccm gekochtes Aq. dest.) — 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).

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

Darauf Eintauchen in absoluten 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 grau-blau-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-Grünwald-Färbung vor. Die Schnitte dürfen bis $15\ \mu$ dick sein. Ziegler färbt mit der Grüblerschen Lösung unverdünnt, 2—3 Minuten, wäscht in Aq. dest. 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, neutrophil 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. dest., dem 5 Tropfen 1 prom. 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. dest. + gleichfalls 5 Tropfen 1 proz. Essigsäure. Verweilen 15 Minuten.

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

4. Entwässern, Einbetten.

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

Bedecken mit dicker Schicht der Jennerlösung, 2—5 Minuten. Dann 3—5 Tropfen Aq. dest. 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 gröber und meist leuchtend rot, die Mastzellgranula 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 Proz. Alkohol), bis das Protoplasma farblos erscheint.

3. Auswässern in gewöhnlichem Wasser 5—15 Minuten.

4. Abspülen in Aq. dest.

B. 1. Färbung in einer Mischung von 30 ccm Aq. dest., 7 Tropfen 1 prom. Essigsäure und 60 Tropfen May-Grünwaldschem Eosin-Methylenblau während 1—24 Stunden.

2. Abspülen in Brunnenwasser und Differenzieren in 150 ccm Aq. dest. 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. dest.

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 prom. 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. dest. 100,0 Lugolsche Lösung 3 ccm, oder in Lugolscher Lösung allein, oder in alkoholverdünnter Jodtinktur.

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

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

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

Schridde Azur II.-Eosin-Acetonmethode. Fixation beliebig, z. B. Formol-Müller (Formol 40proz. 1 Teil, Müller 9 Teile), Färbung Giemsa-Lösung (2 Tropfen auf je 1 ccm Aq. dest.), 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.

Pappenheim hat (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 Kerndarstellung 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. — Downey u. Weidenreich, Arch. f. mikroskop. Anat. 80. 1912. — Ehrlich, Farbenanalytische Untersuchungen. Berlin 1891; Die Anämie. Bd. I. Nothnagelsche Sammlung. — Fabian, Zieglers Beitr. 1908. S. 51. — Gamma, Giemsa-Schnittfärbung. Wien. kl. W. 1914. S. 1589. — Giemsa, Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. 31. S. 429; Bd. 32. S. 307; Bd. 37. S. 308; Deutsch. m. W. 1905. Nr. 26; 1910. Nr. 12. — Hauswald, Deutsch. m. W. 1901. Nr. 46 u. Fol. haem. III. 1906. S. 344; Fol. haem. O. XI. S. 373; XII.

S. 178. — Jenner, Lancet 1899. I. S. 370. — Kiyono, Altmanngranulafärbung ohne Osmiumsäure. Zentralbl. f. Path. 1914. Nr. 11. — Klein, Polychromfärbung. Deutsch. m. W. 1913. Nr. 46. — 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. m. W. 1906. Nr. 8. — May u. Grünwald, Zentralbl. f. inn. Med. 1902. — Michaelis, Zentralbl. f. Bakt. 1901. Bd. 29; Einführung in die Farbstoffchemie. Berlin 1902. Karger. — Mosse, Zieglers Zentralbl. 1905. — Nocht, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 24 u. 25; Enzyklopädi. d. mikroskop. Technik. 1903. — Pappenheim, Virchows Arch. Bd. 157. 1899; Grundriß der Farbchemie. Berlin 1901; Festschr. f. Unna 1910; Fol. haem. A. XIII. 1912. S. 339. — Pröscher, Zieglers Zentralbl. 1905. Nr. 21. — Reuter, Zentralbl. f. Bakt. 1901. Nr. 6. — Romañowsky, St. Petersburg. m. W. 1891. — Rubinstein, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 14. 1898. — Schridde, Giemsa-Färbung f. Gefrierschnitte. Zieglers Zentralbl. 1912. S. 625; 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, Verhandl. d. deutsch. Path. Ges. 1903; Zentralbl. f. Pathol. 1905. Nr. 8. — Szécsi, Deutsch. m. W. 1912. S. 1082. — Türk, Vorlesungen über klin. Hämatologie. 1904; 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.

Färbungen in der Zählkammer.

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, so liegt es nahe, Färbungen in der Zählkammer selbst vorzunehmen.

Diese Färbungen sind aber insofern unvollständig, als es bisher nie gelang, alle Leukocytenarten völlig differenziert und erkennbar darzustellen. Daher sind die Ausstrichpräparate immer außerdem noch nötig. Gleichwohl ist eine Kammerfärbung recht wertvoll, da ihre Resultate für bestimmte Zwecke 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. Mikroskop. 1900) nach diesem Prinzip Färbungen vorgenommen. Er bezweckte namentlich eine Kammerfärbung der eosinophilen Zellen, um deren Zahl mit größerer Genauigkeit festzustellen. Seine Färbungsmethode (siehe 2. Aufl.) ist später von Riebes modifiziert worden (siehe 2. Aufl.).

Weit besser ist die folgende Färbung von Dunger (Münch. m. W. 1910, Nr. 37) für eine rasche und zuverlässige Zählung der Eosinophilen:

1proz. wäßrige Eosinlösung		} gut verkorkt, } lange haltbar.
Aceton	aa 10,0	
Aq. dest.	ad 100,0	

Die Eosinophilen sind durch die glänzend rot gefärbten Körner auffallend. Dunzelt (Münch. m. W. 1913. S. 2616), Lenzmann (Med. Kl. 1913. S. 587), van Walsem, Schüffner (Münch. m. W. 1911. S. 1451) haben weitere Methoden zur Kammerfärbung und Differenzierung aller Leukocytenarten angegeben.

Es muß aber stets betont werden, daß eine Scheidung der Leukocyten schon in guten Ausstrichen in bezug auf einzelne Zellen Schwierigkeiten

für den nicht völlig Geübten bereitet und daß daher eine sichere Erkennung einzelner Leukocytenarten in der Kammer stets unmöglich ist und damit die ganze Methode nur ein Notbehelf sein kann.

Am besten empfiehlt sich die kleine Modifikation von Türk, bei der Leukocytenzählung 1 Proz. und nicht $\frac{1}{3}$ Proz. Essigsäure zu gebrauchen und Gentanaviolett zuzusetzen.

Acidi acetici glacial. 3,0

Aq. dest. 300,0

1 proz. wäßrige Gentanaviolettlösung 3,0

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

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 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 machte 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 absol. 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. 24 erwähnt. Cesaris-Demel (Virch. Arch. 195) verwendet Brillantkresylblau und Sudan III in alkoh. Lösung.

Sabrazès (Gaz. hebd. Bordeaux 1908, 29. XI.; 1909, 28. II, 4. u. II. IV.) stellt in gewohnter Weise lufttrockene Blutausstriche auf Deckgläschen her und nimmt die Färbung sofort oder beliebig später vor, indem er das Deckgläschen auf einen kleinen Tropfen von Methylenblau medic. pur. in Aq. dest. 1:500 legt.

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

Diese Methode benutze ich regelmäßig seit vielen Jahren. **Sie sollte Allgemeingut der Ärzte für die rasche (vorläufige) Beurteilung des Blutes werden.**

Sofort überblickt man, ob Leukocytose oder Leukocytenverminderung besteht, welche Zellen vorliegen, die prachtvoll granulierten Neutrophilen oder die eine Färbung zuerst ablehnenden Eosinophilen. Auch die Lymphocyten sind augenblicklich erkennbar, nur von Monocyten nicht stets sicher zu trennen.

Trefflich kann man die Kernstruktur der Zellen beurteilen, besonders auch die Kerne aller Monocyten auf alte oder junge Kerne prüfen, wobei die scharfe Ausprägung des Basichromatinnetzes für einen alten Kern spricht.

Ausgezeichnet sind die Blutplättchen als rosarote kleine Kugeln gefärbt. An den roten Blutkörperchen sieht man eine nur durch Vitalfärbung darstellbare Veränderung, die vital basophile Granulierung (siehe diese).

In Lymphocyten und Myeloblasten erkennt man oft sehr schön die Nukleolen.

Es sind noch viele andere Vitalfärbungen empfohlen, so von Schilling-Torgau eine kombinierte Brillantkresylblau-Giemsafärbung (siehe 2. Aufl.).

Eine ganz andere Art der Vitalfärbung beruht darauf, daß Versuchstieren intravenös Farblösungen injiziert werden und dann nachgesehen wird, an welchen Orten und in welchen Zellen die Farbstoffe gespeichert werden. Die wichtigsten Studien auf diesem Gebiet stammen von Ribbert, Aschoff, Goldmann, Kiyono.

Goldmann nahm eine Pyrrholblauspeicherung bei Mäusen vor und zeigte, daß die Ablagerung in besonderen Zellen, seinen Pyrrholzellen, stattfindet.

Aschoff und Kiyono gingen zur Ribbertschen Karminspeicherung zurück und suchten besonders für die Entzündungslehre Aufschluß zu gewinnen. Dann aber war ihr hauptsächlichstes Ergebnis, daß nur bestimmte Gewebszellen die Speicherung vornehmen, die in den Milchflecken des Netzes, im interfollikulären Gewebe der Lymphknoten und der Milz (Pulpa), gelegen sind; ferner färben sich die Klastocyten der Gefäße, die Kupferschen Sternzellen der Leber, die Retikuloendothelien.

Alle diese Zellen bilden nach Aschoff eine biologische Einheit. Sie sind die Histiocyten, kommen auch ins Blut als normales und besonders als pathologisches Blutelement, wo sie einen Teil der Monocyten ausmachen als Abkömmlinge bestimmter sesshafter Mesenchymzellen.

Die Lymphocyten färben sich nie, sind also prinzipiell verschieden; die Serosaendothelien der großen Körperhöhlen nehmen nur eine eigenartige feine Speicherung an.

So wertvoll besonders in prinzipieller Hinsicht für die Blutzellenbildung diese Aschoffsche Lehre fraglos geworden ist, so vermag ich bisher besonders charakterisierte Histiocyten im Blute nicht zu unterscheiden. Vgl. später: Endothelzellen und Histioide Zellen.

Haupttätliche Literatur der Vitalfärbungen.

- Achard et Aynaud, Soc. biol. 14. 11. 1908. Plättchen. — Aschoff, Pathol. Tagung 1913, Marburg. — Aschoff u. Kiyono, Fol. haem. XV. 1913. — 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. 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. coeur. 1909. S. 454. — Fleischmann, Med. Klinik. 1905. Nr. 11. — Foà, Ziegl. Beitr. Bd. V. — Giglio-Tos, siehe Ferrata. — Goldmann, Pathol. Tagung 1910, Monogr. Tübingen 1912; Berl. kl. W. 1912. Nr. 36. — 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.! — Herzog, Ziegl. Beitr. Bd. 53. — Hofmann, Fol. haem. XVIII. 1914. S. 136. — Horsley, Münch. med. W. 1897. S. 625; granuläre R bei Vitalfärbungen. — Israel u. Pappenheim, Virch. Arch. 143. — Jolly, Arch. mal. coeur. 1908. Nr. 5. — Kiyono, Die vitale Karminspeicherung. Fischer 1914. — Maximow, Arch. f. Anat. u. Phys. 1899, anat. Abt. — Nakanishi, Münch. med. W. 1900. S. 187 u. 680. — Noël, Fiessinger et Peigney, Arch. mal. coeur. 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. — Pappenheim u. Nakano, Fol. haem. A. XIV. 1913. S. 260. — 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. coeur. 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. — Schulemann, Arch. mikrosk. A. 79. 1912. — 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 und 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 benutzt man physiologische Kochsalzlösung 0,9 Proz., oder Toissonsche Flüssigkeit (nicht empfehlenswert), oder weitaus am besten

Hayemsche Lösung: Hydrarg. bichlor. 0,5 oder besser 0,1
 Natr. sulfur. 5,0
 Natr. chlorat. 1,0
 Aq. dest. 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

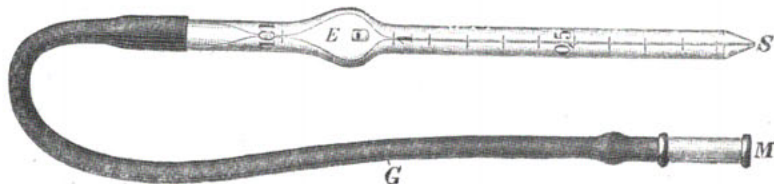


Fig. 4. Mischpipette für rote Blutkörperchen nach Thoma.

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 (bzw. 1,0), so fängt man besser von vorn an. Durch Vorsicht und Benutzung eines genügend großen Bluttröpfens 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 Pipette durch leichtes Drehen oder gelindes Schütteln die Luft an die Oberfläche der Flüssigkeit hinauftreibt. 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 heraustritt und erzielt nun eine gleichmäßige Suspension unter leichtem Schütteln durch die Bewegung der Glasperle in der Ampulle. Diese Prozedur muß 2 bis 3 Minuten durchgeführt werden.

Statt der gewöhnlichen Mischpipette sind in letzter Zeit verschiedene Präzisionsauger 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 deutsche Klinik usw. 1909), wonach alle Präzisionsauger 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 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.

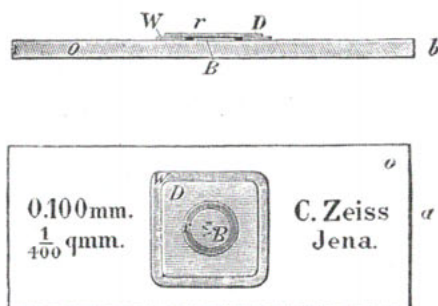
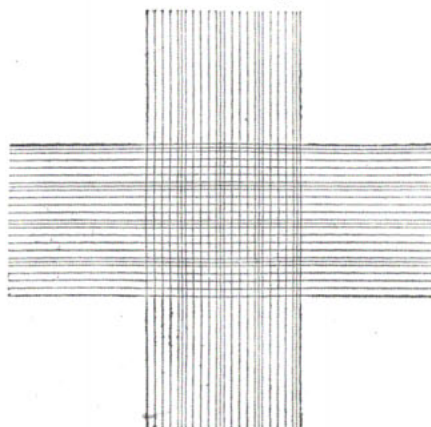


Fig. 5. Zählkammer.

a) Aufsicht, b) Durchschnitt ($\frac{1}{2}$ nat. Größe).Fig. 6. Netzteil nach Thoma.
(20 mal vergr.)

Türk und Bürker haben indessen darauf 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.

Noch empfehlenswerter ist es, das Deckglas wie bei der Bürkerschen Kammer (S. 36) schon vorher so aufzulegen, daß die Newtonschen Ringe

entstanden sind, und daß nur eine kleine Zone der Kammer nicht vom Deckglas bedeckt ist. Hier setzt man jetzt die Spitze der Mischpipette an und die Flüssigkeit strömt sofort ein und breitet sich in dem kapillären Raum gleichmäßig aus. Damit ist die Kammer nach dem Bürkerschen Prinzip durch Kapillarität gefüllt. Diese sehr gute Methode verwende ich seit Jahren regelmäßig.

Ist die Kammerfüllung vollendet, so wartet man 20 Minuten oder besser noch länger ab, damit sich die Blutkörperchen absetzen. Jetzt kontrolliert 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!) benutzt 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 stets 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 der Thoma-Zeissschen Kammer ist dies freilich nicht möglich; aber mit den von Zappert, Elzholtz, Türk usw. angegebenen, auf S. 38 u. 39 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 stets 10 Reihen in der Mitte und dann 10 Reihen in der Peripherie zu zählen. So ermittle ich, links unten beginnend, die 3 übereinanderstehenden peripheren Reihen der Kammer von Türk (S. 39), dann die Reihen *a* und *b*, sodann die 3 Reihen in der Peripherie rechts und endlich die Reihen *c* und *d*.

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, Elzholtz, 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 korpuskulären Elemente zählt und nachher in Essigsäure die Leukocyten bestimmt und die Erythrocyten dann aus der Gesamtsumme — weiße Zellen berechnet.

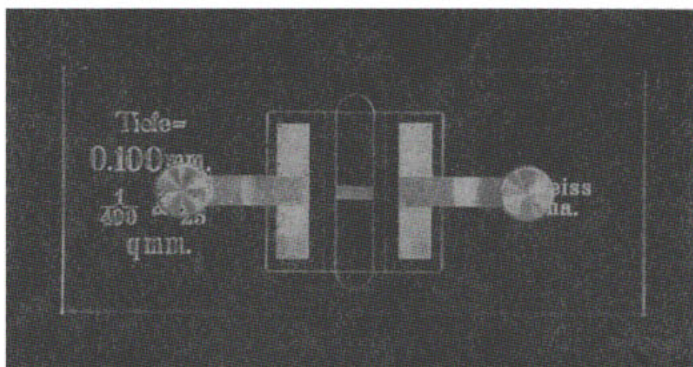


Fig. 7. Zählkammer von Bürker.

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 bei fest aufgelegtem oder mit Klemmen angepreßtem, die Newtonschen Ringe deutlich zeigendem Deckglas das Blut von der Seite aus der Mischpipette einfließen, wobei

durch Kapillarwirkung eine möglichst gleichmäßige Verteilung erzielt wird.

Für rote Zellen benutzt Bürker als Zählereinheit die kleinen, für weiße Zellen die großen Quadrate.

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.

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.

Bürker empfiehlt (in Tigerstedts Handb. d. phys. Methodik, Bd. 2 u. Pflüg. Arch. 142. S. 337; 152. 1913. S. 271 u. 153. S. 128), das Blut mit der Verdünnungsflüssigkeit in Glaskölbchen zu bringen. Hier erhalten sich die Zellen tagelang, so daß nach späterem Aufschütteln wieder die Kammer beschickt werden kann.

Neue Kammern, neue Mischpipetten werden jedes Jahr vorgeschlagen.

Die Apparate (Hämatimeter bezeichnet, von Hayem-Nachet und Hayem-Sahli) gestatten, die Zählungen nach Gesichtsfeldern mit Okular-Diaphragma ohne Zählnetz vorzunehmen, indem eine Kammer von bestimmter Tiefe benutzt wird, das Zählgitter vom Mikroskop selbst geliefert wird und sich also nicht auf dem Kammerboden befindet.

Die Zählkammer von Liebreich (D. m. W. 1916. Nr. 15) eignet sich wegen ihrer Größe und Tiefe besonders für die genauere Berechnung von selteneren Blutzellen und für Zählung von Parasiten und Mikroben.

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 Ampulle die Marke 11 (nicht 101).

Als Verdünnungsflüssigkeit benutzt man $\frac{1}{3}$ Proz. oder besser 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.

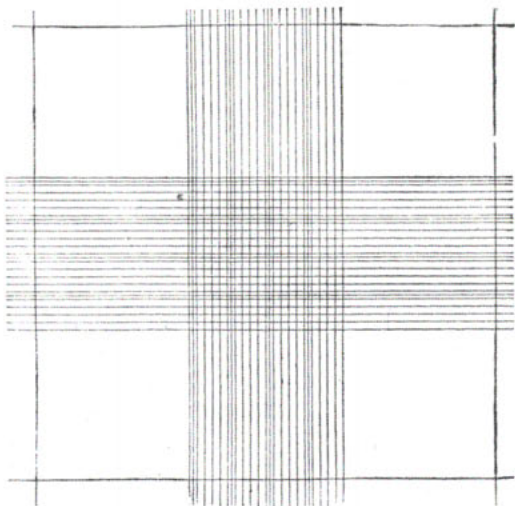


Fig. 8. Netzteilung nach Zappert
(20mal vergr.)

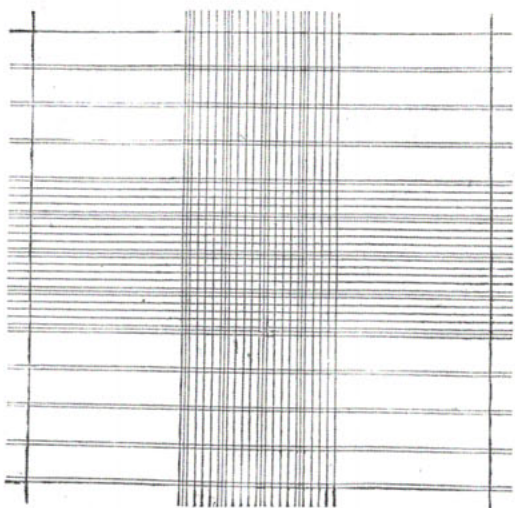


Fig. 9. Netzteilung nach Elzholz
(20mal vergr.)

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 dahergefärbten 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 Zellkerne 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 benutzen:

Acid. acet. glac.	3,0
1proz. wäßrige Gentianaviolettlösung	3,0
Aq. dest.	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. 41 Gesagte.

Endlich ist auch hier die gewöhnliche Thoma-Zeiss'sche 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 anliegende

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

Hier sind 9 Thoma-Zeiss'sche Felder aneinander gereiht und können 5 Felder genau gezählt und 4 weitere wenigstens abgeschätzt werden. Dasselbe Prinzip verfolgen die noch geeigneteren Zählkammern nach Elzholtz 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 erheben dürfen.

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-Zerz'sche Kammer enthält normal 70 bis 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 allzu sehr 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, d. h. eine Verdünnung von 1:100, benutzt 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 Gesamteinhalt

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 benutzten Ellermann und Erlandsen, D. Arch. Bd. 98. Sie saugen 25 ccm Blut mit einer Kapillarpipette an, blasen es in ein Reagenzglas, in dem sich $19 \times 25 \text{ ccm}$ 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 aa.

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

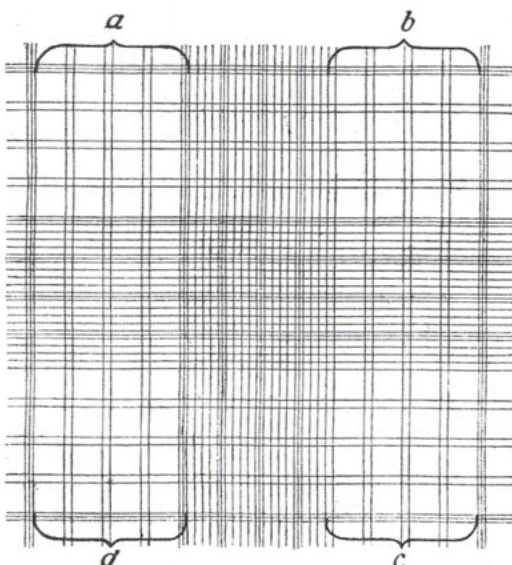


Fig. 10. Netzteilung nach Türk.
(20mal vergr.)

Zählung der Blutplättchen.

Die Zählung der Blutplättchen begegnet dadurch ganz besonderen Schwierigkeiten, daß diese Gebilde überaus rasch agglutinieren, kontluieren und sich damit einer genauen Feststellung entziehen.

Nach dem Vorschlag von Bizzozero fängt man den Blutropfen direkt in einer 14proz. Magnesiumsulfatlösung auf. 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 benutzen folgende Methode:

Venenpunktion mit paraffinierter Spritze, Verdünnung in der Spritze mit 10proz. Natriumzitat durch Zusatz von 1 Teil Natriumzitatlösung auf 9 Teile Blut, so daß jetzt das Blut in etwa 1proz. Natriumzitatlösung konserviert ist. Sie verwenden jetzt zwei weitere, Blut und Plättchen konservierende Flüssigkeiten:

- | | | | |
|----------------------------|---------|-----------------------|--------|
| A. 8prom. NaCl-Lösung | 80 ccm. | B. 8prom. NaCl-Lösung | 80 ccm |
| 10proz. Natriumzitatlösung | 20 „ | Formol | 20 „ |

2 ccm der Flüssigkeit A kommen in ein paraffiniertes Gefäß. Man läßt jetzt von dem in der paraffinierten Spritze befindlichen mit Natriumzitat 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 beste Blutplättchenzählung geschieht so, daß man im gefärbten Präparat das Verhältnis von Plättchen zu roten Blutkörperchen bestimmt und aus der im Kubikmillimeter enthaltenen Zahl die absolute, in der gleichen Volumeinheit vorhandene Zahl der Plättchen berechnet (vgl. Fonio).

Unsere Methode, die derjenigen von Fonio nachgebildet ist, wird folgendermaßen ausgeführt:

Man legt einen kleinen Hautstich an, der spontan nicht blutet. Abreiben des Fingers mit Äther. Ein kleiner Tropfen einer 14proz. Magnesiumsulfatlösung wird auf die Einstichstelle gebracht. Er behält infolge der Trockenheit der Haut seine kugelige Form. Bei geringem Druck auf den Finger fließt nun Blut in den Tropfen ein und wird mit einer fein ausgezogenen Glasfadenspitze, die man zuvor ebenfalls in die Magnesiumlösung getaucht hat, vermischt. Dann berührt man das

Gemisch mit einem Deckgläschen nach der gewöhnlichen, S. II angegebenen Art, spritzt mit schleudernder Handbewegung einen Teil des zu großen Tropfens ab und zieht das Deckglas über ein zweites. Die erhaltenen Ausstriche sind sehr gleichmäßig und lassen sich bequemer als Objektträgerpräparate färben.

Färbung: Kombiniert nach S. 16.

Eosin-Methylenblau — Giemsa.

In der Giemsalösung bleiben die Präparate ca. 1 Stunde. Man zählt mit der quadratischen Blende 1000 Rote und die auf der gleichen Fläche vorhandenen Plättchen aus und berechnet dann die absolute Zahl nach der Formel: ausgezählte Plättchen: 1000 = x : Zahl der R in 1 mm³.

Die Zählung der Leukocytenarten in gefärbten Trockenpräparaten.

Mit der Feststellung der absoluten Leukocytenzahl ist noch wenig gewonnen. Tieferen Einblick in biologisches Geschehen und in funktionelle Diagnostik gestattet erst die Ermittlung der absoluten Werte aller einzelnen Leukocytenarten.

Es kann die Gesamtzahl der weißen Blutzellen normal, ca. 7000 sein, und doch ergibt der stark abweichende Teilwert von 90 Proz. Lymphocyten, daß eine Leukämie vorliegt; oder ein Wert von 50 Proz. Eosinophilen weist auf Trichinose hin; oder eine Zahl von 25 Proz. Monocyten läßt mit Wahrscheinlichkeit an Malaria denken.

So ist denn die Auszählung der verschiedenen Leukocytenarten in den Trockenpräparaten geradezu die allerwichtigste und diagnostisch wie biologisch wertvollste Arbeit.

Man legt sich eine Tabelle mit Kolonnen an, und bringt auf die linke Seite die Namen der Blutzellen: Neutrophile, Eosinophile, Mastzellen, Monocyten, Lymphocyten. In jede Kolonne reiht man 100 Zellen ein, die durch gleichmäßige Verschiebung des Präparates auf dem verschiebbaren Objektisch durchgesehen und gesondert werden.

Oberhalb der Neutrophilen werden in besonderen Fällen, z. B. bei Leukämie, notiert: unreife, halbreife, reife Myelocyten und Metamyelocyten, je in besonderen Kolonnen, so daß man eine Vorstellung über den Grad der Unreife der Zellen erhält. Noch höher kann man Erythroblasten und Myeloblasten verzeichnen.

Bei den Lymphocyten bringt man eine Kolonne ihrer unreifen Formen, der Lymphoblasten, an. Die Plasmazellen kann man in unreife lymphoblastische, dann in lymphatische und in Radkernplasmazellen aufteilen, wozu sehr selten noch myeloische Formen kommen können.

Seit längerer Zeit trenne ich stets auch die Monocytengruppe in verschiedene Formen nach dem Alter und der Polymorphie des Kernes, um neue Einblicke zu gewinnen.

In dieser Weise gibt man sich Rechenschaft über die vorliegenden Befunde, zwingt sich selbst zu scharfer Beobachtung und Kritik und gewinnt allmählich immer tiefere Einblicke in Morphologie und Biologie.

Man beginnt zweckmäßig die Durchzählung stets oben am Präparat und geht systematisch tiefer. So wird es schon aus der Tabelle auch für später ersichtlich, in welchen Teilen des Ausstriches etwas Besonderes gefunden worden ist.

Etwaige zerquetschte Zellen müssen mitgezählt werden, sonst erhält man irrige Zahlen. Bei den Granulocyten fällt die Einordnung gequetschter Zellen leicht, weil die Granula beweisende Zeugen sind. Die Quetschformen der Lymphocyten muß man kennen lernen. Bei Lymphadenose zeigt sie jedes Präparat reichlich.

Sehr oft ist die Lymphocytennatur eines Kernflecks klar erkennbar durch die deutliche Färbung des Nukleolus.

Schwieriger deutbar sind Quetschungen der Monocyten. Hier muß man sich an die jetzt stets sichtbare, sehr feine Zellkörnclung halten.

Bei Leukämie enthält das Gesichtsfeld oft zu viele Zellen, so daß eine Sonderung schwer hält. Hier hilft nur die quadratische Okularblende, die eine beliebige Einengung gestattet.

Auch für Ausstriche aus hämopoetischen Organen kann nicht anders verfahren werden.

Für wissenschaftliche Arbeiten sollten stets 1000 Zellen aus mehreren Präparaten gesondert werden. Damit macht man sich von Zufälligkeiten unabhängig. Seit Jahren habe ich nur ausnahmsweise niedrigere Zahlen zur Berechnung herangezogen, wenn z. B. die Leukocytenzahl gar zu niedrig war.

Differenzierungen von weniger als 300 Zellen können nur orientierenden Wert beanspruchen.

Für spärlich vorhandene Zellen, z. B. für im Blut auftretende Knochenmarksriesenzellen, reicht auch die Sonderung von 1000 Zellen noch nicht aus.

Aus den Prozent- und Promillewerten läßt sich jetzt leicht die absolute Menge einer Zellart berechnen, und damit ist der eigentlich allein maßgebende Faktor gewonnen.

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 Trockenpräparat, 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!

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.

Bestimmung des Hämoglobingehaltes.

Die Bestimmung des Hämoglobinwertes ist von hervorragendem klinischen und praktischen 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 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 Blutropfen einigermaßen zu beurteilen. Nur geringer Übung bedarf es, zu erkennen, ob starke Anämie vorliegt oder nicht.

Läßt man den Blutropfen auf ein Stück Fließpapier oder saubere Leinwand auffallen, so wird eine approximative Schätzung noch leichter. Darauf basiert die Hämoglobinskala von Tallqvist, die jedoch nicht zuverlässig ist.

Die Bestimmungen des Hämoglobins können vorgenommen werden kolorimetrisch und spektrophotometrisch, ferner nach der Sauerstoffkapazität und nach dem Eisengehalt, da sich die Theorie von dem konstanten Sauerstoffbindungsvermögen und dem konstanten Eisengehalt des Hämoglobinmoleküls als richtig erwiesen hat.

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 O_2 oder CO bei 0^0 und 760 mm Hg.

Auch für Hämoglobin unter krankhaften Verhältnissen ist von den erwähnten Autoren eine völlige Parallele der O_2 -Kapazität mit der färberischen Kraft des Hämoglobins nachgewiesen, durch die Bestimmung der O_2 -Kapazität mittels Auspumpen des Blutes mit der Quecksilberpumpe nach Bunsen-Geppert und durch die Ferricyanidmethode,

bei der Ferricyankali 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 allen Autoren völlige Parallelen zwischen O_2 -Kapazität und Hämoglobin festgestellt, in Gegensatz zu früheren Angaben.

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.

Die wichtigste Untersuchung ist heute diejenige mit dem

Hämometer von Sahli.

Durch Zusatz von HCl zu einer bestimmten Blutmenge wird salzsaures Hämatin erzeugt und mit einer Lösung desselben chemischen Körpers verglichen, wobei eine 1proz. Lösung von Normalblut in HCl als Vergleich dient.

1. Ansaugen des gut fließenden Blutes mit der Kapillarpipette bis zur Marke. Abwischen des der Spitze außen anhaftenden Blutes.
2. Hineinblasen in das Röhrchen, das bis zur Marke 10 mit $\frac{1}{10}$ -Normal HCl-Lösung gefüllt ist, und Abwarten 1 Minute.
3. Zusatz von Wasser bis zur Farbgleichheit mit dem Vergleichsröhrchen und Ablesung des Wertes.

Hierbei mehrfaches Ansaugen von Wasser in die Pipette, um die letzten Hämoglobinmengen aus der Pipette herauszubringen.

Die beiden Gläschen sind 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.

Für niedrige Hämoglobinwerte empfiehlt sich die Verwendung der dreifachen Blutmenge.

So wird jetzt eine Hämoglobinbestimmung mit dem Hämometer, dessen optischer Ablesungsfehler kaum 3 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 der Perle 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.)

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 Prozentsen, sondern einfach von Vergleichswerten zu reden, z. B. Hämometerwert 70. Die Normalwerte sind nun 80 bis 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 Gesichtspunkte 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 angewiesen war. Auch da ergaben sich 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.

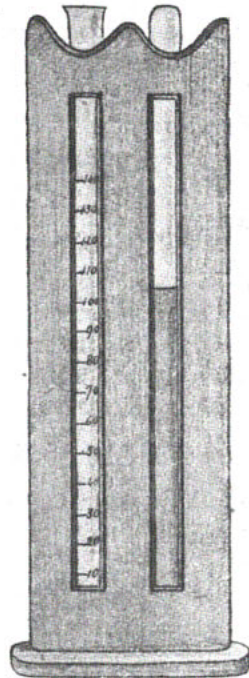


Fig. 11.
Hämometer von Sahli.

Der Kliniker möchte nun aber doch einen gewissen normalen Durchschnittswert gerne annehmen, schon deshalb, weil sonst die Berechnung des Färbeindex, 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 Härometerwert 90, wenn gleichzeitig die Erythrocytenzahl nahe um 5000000 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 1,7, der Plasmawert 1,90. 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 zeigt auch der Viskositätswert nicht den bei 6 Millionen zu erwartenden, sondern einen niedrigeren Wert.

Ebenso abnorm ist der Härometerwert 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 Aniso-, keine Mikro-Poikilocytose, keine Anisochromie, keine Megalocytose),
3. bei normalem Volumen (erschlossen aus dem Viskositätswert, entsprechend der R.-Zahl);

der Härometerwert 90 ist, wie ich das in sehr vielen Fällen konstatiert habe, dann dürfen wir für das im Gebrauch befindliche Härometer diesen Wert = 100 Proz. einsetzen, weil dann auch der Färbeindex durchschnittlich 1,0 sein muß. Wir können dann nach Sahli von korrigierten Prozentwerten des Hämoglobins sprechen.

Völlig physiologisch, wenigstens für den Erwachsenen, sind wohl nur parallel gehende R.- und Hgl.-Schwankungen, 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 Spektrophotometer (Bürker), mit dem Plesch'schen 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.

Die oben geschilderte Eichung ist meines Erachtens die einzig richtige.

Das Hämoglobinometer von Sahli-Gowers enthält im Vergleichsröhrchen 2 cm³ einer Pikrokarminlösung eingeschmolzen, die in ihrer Farbennuance möglichst genau einer 1proz. Lösung des normalen Blutes entspricht. Weil hier nicht chemisch identische Lösungen verglichen werden, ist die Methode nicht genau und deshalb heute verlassen.

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

Doch auch in dieser Form ist das Instrument durch das Hämometer überholt und überall verdrängt, so daß es kaum mehr Anwendung findet. Beschreibung siehe 2. Auflage.

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.

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.

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 Grützner (M. m. W. 1912, Nr. 14) 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.

Das Hämometer von Haldane (J. of Phys. Bd. 26, p. 501) beruht ebenfalls auf der Erfahrung, daß Hämoglobin und die gasanalytischen Werte völlig parallel gehen.

Es wird der Vergleich mit CO-Hgl.-Lösung vorgenommen, indem das Blut mit Aq. dest. lackfarben gemacht und jetzt durch Einleitung von Leuchtgas die Umwandlung in CO-Hgl. durchgeführt wird.

Das Hämokolorimeter von Autenrieth und Königsberger. Hier wird wie beim Sahli'schen Hämometer salzsaures Hämatin erzeugt, der Vergleich aber nicht mit einer Suspension von salzsaurem Hämoglobin, sondern mit einer optisch als gleichwertig erklärten, haltbaren Lösung vorgenommen.

Der Apparat hat sich gut eingebürgert. Er ist aber physikalisch nicht so gut begründet wie das Sahlische Härometer, und auch praktisch ziehe ich das Sahlische Instrument entschieden vor.

Das Hämatospektrophotometer von Vierordt-Hüfner ist sehr teuer und kompliziert, und steht daher nicht einmal in den ersten Kliniken in Anwendung. Durch Exaktheit soll dieses Instrument sich besonders auszeichnen; doch enthält die Literatur auch Angaben, daß Fehler bis

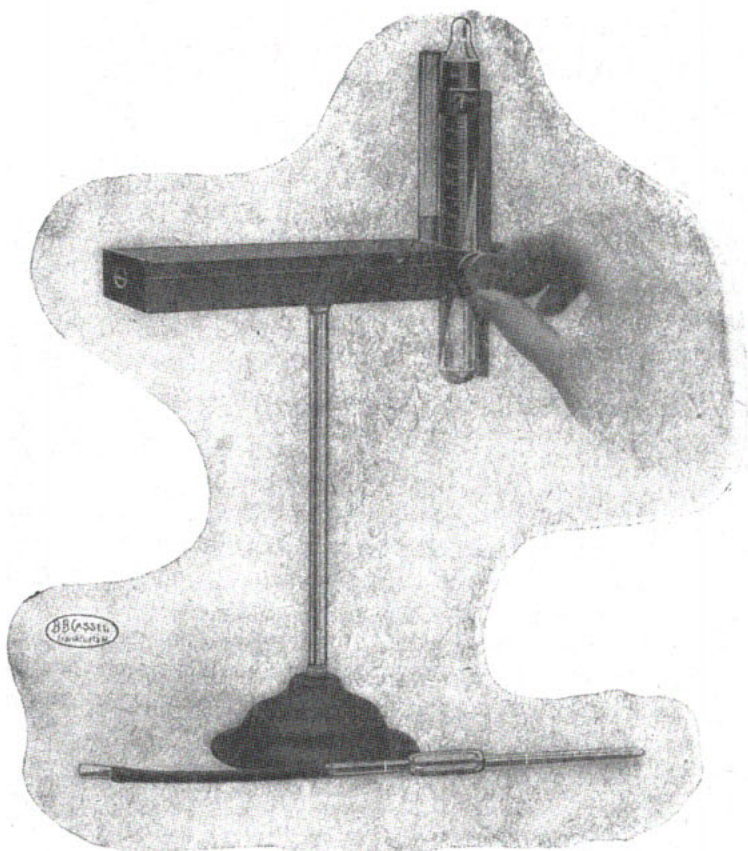


Fig. 12.

zu 5 Proz. vorkommen. Neuerdings bestreitet Plesch (Fol. haem. IX. 164) mit vielen Gründen die Exaktheit der Ergebnisse, während Bürker das Instrument nach vielfachen Prüfungen und eigenen Verbesserungen für das zuverlässigste hält.

Ich verweise auf die Publikation von Hüfner, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. III, S. 562.

Fast dasselbe gilt für die ebenfalls viel zu umständliche **kolorimetrische Doppelpipette** von Hoppe-Seyler, die als Vergleichsflüssigkeit eine CO-Hämoglobinlösung verwendet.

Siehe Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 16.

Schlesinger u. Fuld (Berl. kl. W. 1911, Nr. 18) haben ein **Kontrastkolorimeter** eingeführt, das besonders genaue Ablesungen gestatten soll.

Die Hämoglobin-Skala von Tallqvist.

Dieselbe enthält eine empirisch festgestellte Reihe von Farbnancen, 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 Blutropfen 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.

Eine eingehende Darstellung über alle Methoden der Hämoglobinbestimmung findet sich bei Bürker in Tigerstedts Handb. d. physiol. Methodik. Hirzel, Leipzig.

Sodann verweise ich auf Sahlis Buch der Untersuchungsmethoden.

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.! — Bürker (Eichung), M. m. W. 1912. S. 14; Pflügers Arch. Bd. 142. — Butterfield (Photometrie des Blutfarbstoffes), Hoppe-Seylers Zeitschr. 1912. S. 439. — 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. Gaysser, 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. — Meulengracht, Nord. Rf. Fol. haem. XVIII. 32. — 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. Med. 1905. — Müller, (Eigenschaften des Hämoglobins), Fol. haem. A. XIV. 1913. S. 251. — Oerum, Hämoglobinbestimmung, D. m. W. 1908. S. 1225. — Plesch, Objektive Hämoglobinometrie, Biochem. Zeitschr. I. 1906. — Senator, Zeitschr. f. kl. Med. Bd. 60. 1907. — Stäubli, M. m. W. 1911. S. 2429.

Klinische physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden des Blutes.

Es gibt eine große Zahl weiterer Faktoren, außer Hb.-Wert, R.- und L.-Zahl des Blutes, die zu kennen wichtig wäre, und die viele tiefe Einblicke in die Blutpathologie geben könnten. Hierher zählt in erster Linie die Erkennung des Eiweißgehaltes von Blutserum und Blutplasma und sein meist genau entsprechender Ergänzungswert, der Wassergehalt.

Lange Zeit fehlte es an sicheren und einfachen Methoden, und es wurden dafür ihrer Natur nach sehr komplexe Werte wie spezif. Gewicht von Blut, Plasma und Serum und Trockenrückstand von Blut und Serum bestimmt, die keine sichern und klaren Einblicke gestatten konnten.

Abgesehen davon, daß früher in der Blutentnahme selbst bei diesen Methoden viele Fehler gemacht wurden, die erst später erkannt worden sind, bieten diese Methoden nicht sicher zu deutende Ergebnisse. Aber heute sind wir vor allem durch die vortreffliche Methode der Refraktometrie, um deren Einführung in die Klinik sich vor allem Reiss große Verdienste erworben hat, in den Stand gesetzt, ganz zuverlässige, nicht komplexe Werte zu gewinnen, die heute zu den wichtigsten Befunden der klinischen Hämatologie zählen.

Durch die Kombination von Refraktometrie und Viskosimetrie gelang es mir dann, eine einfache Bestimmung von Albumin und Globulin im Serum herbeizuführen. Mein Mitarbeiter Rohrer hat die Methode als durchaus zuverlässig bewiesen und die Ablesung der Werte durch graphische Darstellung leicht gemacht.

In weiteren Forschungen an meinem Institut konnte dann Alder eine genaue, klinisch brauchbare Bestimmung der Volumenprocente der körperlichen Elemente des Blutes auf der Basis der Refraktometrie ermitteln und bald auch den Nachweis erbringen, daß die Viskosimetrie von Gesamtblut und Plasma auf einfache Weise auch schon recht genaue Werte der Volumenprocente zutage fördert und daß die Anwendung graphischer Methodik auch hier die Ablesung höchst einfach gestaltet.

Ein kleiner Schritt führte dann bei der Kenntnis von Blutkörperchen-volumen und R.-Zahl zu der Bestimmung der durchschnittlichen Größe des einzelnen roten Blutkörperchens, ausgedrückt in μ^3 , so daß ein für die Beurteilung der Anämien ebenfalls recht wertvoller Anhaltspunkt gewonnen worden ist.

Indem ich auch auf die klinische Bewertung der Serumfarben hingewiesen habe, besonders für die Diagnose von echter Chlorose und von perniziöser Anämie, ist weiteres Neuland gewonnen worden.

So stehen wir heute zur Beurteilung vieler wichtiger Blutbefunde auf ganz anderem Boden als noch vor wenigen Jahren, und für die klinischen Fragestellungen liegt ein weites Feld der Betätigung offen.

Im folgenden sollen die Methoden dieser Untersuchungsrichtung eingehende Schilderung finden.

Viskosität des Blutes.

Die innere Reibung des Blutes oder die Viskosität ist heute auf sehr einfache, sichere und rasche Weise meßbar und bietet in sehr vielen Krankheitsfällen, ganz speziell bei den Anämien, ein großes Interesse. Ihre Feststellung ist unerlässlich für eine genügende klinische Blutuntersuchung.

Von den zahlreichen bisher konstruierten Viskosimetern stehen am meisten diejenigen von Determann und Hess im Gebrauch; daneben gibt es noch eine große Zahl anderer Instrumente.

Das Hesssche Instrument ist nicht nur das einfachste — wodurch eine Menge von Fehlern, die in der Untersuchung selbst sich einschleichen können, dahinfallen —, sondern nach dem heutigen Stande der Kritik, z. B. nach Kagan von der Sahlischen Klinik, das zuverlässigste, insbesondere für die Bestimmung der hohen Viskositätswerte.

Das Viskosimeter benutzt das Poiseuillesche Gesetz, wonach Flüssigkeiten bei gleicher Temperatur und gleichem Druck in gleichen Kapillaren in ihrer Fortbewegung nur noch von dem Verhalten der inneren Reibung abhängig sind.

Dieses Gesetz ist zwar für die so kompliziert und ungleich zusammengesetzte Blut,,flüssigkeit“ nicht ganz gültig, zumal die festen Teile, die Erythrocyten, einen zu beträchtlichen Anteil ausmachen. Das ist besonders in der Studie von Schibig klargelegt. Für praktisch klinische Zwecke aber genügt uns der annähernd richtige Wert, den wir erhalten.

Hess (Pflüg. Arch. 140) hat ferner gezeigt, daß das Poiseuillesche Gesetz außerdem nur für starke Druckdifferenzen gilt und daß in vielen Fällen, bei hochviskösem Blut, die Apparate von Hirsch und Beck, sowie Determann, nicht mehr den Gültigkeitsbereich des Poiseuilleschen Gesetzes erreichen, mithin physikalisch unrichtig sind.

Wir verstehen jetzt, warum man mit jenen Apparaten so enorme Viskositätswerte (bis 24,5) gemessen hat, die von vornherein aus hämodynamischen Gründen als ganz unwahrscheinlich erscheinen mußten und tatsächlich beim Hessschen Instrument auch nicht annähernd mehr erreicht werden.

Das Viskosimeter von Hess.

Das Prinzip des Apparates besteht darin, daß man durch kräftiges Ansaugen mittels eines starken Gummiballons von einem T-Schlauch aus gleichzeitig, und unter völlig gleichem Druck, Blut, und in einem zweiten Röhrchen destilliertes Wasser durch gleiche Kapillaren durchtreten läßt. Bei dieser Anordnung des Apparates hängen die Durchflußvolumina von Wasser und Blut nur noch von dem Viskositätsgrade ab. Indem man die ansaugende Kraft für das Blut bis zu einem gewünschten Durchflußvolumen, das gleich 1 gesetzt wird, einwirken läßt, zeigt in dem andern Meßröhrchen für Wasser sofort das durchgetretene Wasservolumen die relative Viskosität des untersuchten Blutes an.

Der große Vorzug des Apparates besteht darin, daß der Viskosimeterwert des Blutes in wenigen Sekunden direkt abgelesen werden kann, so daß man bei nur einigermaßen Übung mit der Gerinnung nicht in Konflikt kommt, wodurch es unnötig wird, gerinnungshemmende Substanzen, welche den Viskosimeterwert verändern müssen, beizufügen.

Ein weiterer Vorzug des Apparates liegt darin, daß nur eine ganz geringe Blutmenge verwendet wird. Eine Berücksichtigung der Temperatur ist bei gewöhnlichen Verhältnissen unnötig, übrigens aber sehr leicht vorzunehmen.

Die Blutentziehung muß so gemacht werden, daß der zur Untersuchung nötige Tropfen rasch und ohne besonderen Druck erhalten wird. Dies ist leicht zu erreichen, wenn man den Patienten unmittelbar vor der Bestimmung sich die Hände in mäßig heißem Wasser (ca. 40°C) waschen läßt, bzw. ihm ein Handbad gibt. Die hierdurch und durch das folgende Abreiben und Frottieren hervorgerufene aktive Hyperämie hat außerdem noch die wichtige Folge, daß man das Blut aus kräftig durchgebluteten Geweben erhält, in welchen es nicht bereits Veränderungen erlitten hat, wie dasjenige aus träge durchbluteten Geweben oder unter Druck entnommenes Blut.

Die Untersuchung von Blut unter Oxalatzusatz ergibt erhebliche Fehler (siehe S. 59), ist also nicht statthaft.

Die Versuchstemperatur, welche das neben den Kapillaren befestigte Thermometer angibt, soll möglichst zwischen 17° und 23° liegen, was im Krankenzimmer bei geeigneter Untersuchungszeit leicht zu erreichen ist. Die innerhalb dieser genannten Temperaturgrenzen bestimmten Werte bedürfen keiner Temperaturkorrektur. Die größten Fehler, welche nämlich unter diesen Bedingungen zustande kommen können, betragen ± 3 Proz. (20°C

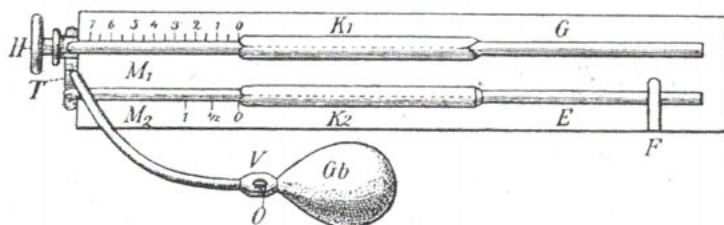


Fig. 13.

als mittlere Zimmertemperatur angenommen), Beträge, welche bei der Beurteilung der gefundenen Werte für klinische Zwecke vollständig außer Betracht fallen. Bei größeren Abweichungen der Versuchstemperatur wird diesen dadurch mit großer Annäherung Rechnung getragen, daß man für jeden Grad über 20° je 0,8 Proz. des gefundenen Wertes addiert und für niedrigere Werte als 20° ebenso für jeden Grad 0,8 Proz. abzieht.

Für die Vermeidung und Beseitigung von Störungen und Fehlerquellen werden dem Apparate besondere Vorschriften mitgegeben; besonders notwendig ist die stete und sofortige Reinigung der Blutkapillare mit konzentriertem Ammoniak.

Zur Vermeidung aller Störungen ist als weitaus Wichtigstes auf das dringendste anzuraten, augenblicklich nach der Ablesung des Viskosimeterwertes die Blutsäule aus der Meßröhre und der Kapillare zurückzutreiben und sofort mehrmals mit Ammoniak zu reinigen; nur in dieser Weise kann das Gerinnen in der Blutkapillare vermieden werden.

Man tut gut, sich in den Gebrauch des Instrumentes zuerst mit Zuckertlösungen, Alkohol, Blutserum usw. einzüben, damit nicht bei der ersten Anwendung für die Viskosimetrie des Blutes der Ungeübte Gerinnung bekommt und das Instrument unter Umständen zur Reparatur schicken muß.

Wenn einigermaßen Übung in der Handhabung des Instrumentes erzielt ist, so wird eine Gerinnung niemals eintreten.

Die dem Apparate beigegebene Beschreibung wird die weitere Handhabung leicht gestalten.

Die Viskosität η ist eine sehr komplexe Größe und von zahlreichen Einzelfaktoren abhängig. Sie eignet sich daher wie keine zweite Methode zu einer **raschen Orientierung über das Blut**; denn jede Abweichung zeigt, daß in irgendeiner Weise das Blut abnorm ist.

Dabei sind die Oszillationen bei normalen oder hohen η -Werten besonders starke, weil die Zunahme der η -Werte dabei nach einer Hyperbelkurve und nicht nach arithmetischer Progression erfolgt (Begründung dieser Tatsache siehe Hess, Arch. f. Phys. 1911. Bd. 140).

So sieht man schon auf geringe Stauung (Determann, Hess u. a.) η ganz bedeutend ansteigen, während z. B. das Hämoglobin noch wenig zugenommen hat. Mithin ist die Viskositätsmessung besonders berufen, die Blutentnahme (S. 6) zu kontrollieren. Mit dieser Methodik ist es dann auch leicht, zu zeigen, daß manche unvorsichtige Venenpunktionen in ganz unberechenbarer Weise gestautes Blut zur Untersuchung liefern und überhaupt bei mehrfachen Untersuchungen nie zu einem konstanten oder auch nur vergleichbaren Wert führen, während nach warmem Handbad das arterialisierte Blut der Finger bei mehrfachen Prüfungen immer in konstanten Werten herausströmt. Zahllose eigene Kontrollen gestatten mir diese Angabe.

Der Viskositätswert des Blutes ist nach heutigem Wissen und eingehenden eigenen klinischen Studien von folgenden Faktoren abhängig:

1. Vom Viskositätswert des Serums oder Plasmas = η_1 und η_2 ;
2. vom Gesamtvolumen der roten Blutkörperchen (wichtigster Faktor!) und damit auch von der Zahl der R.;
3. bei erheblicher Leukocytose von der Zahl und dem Gesamtvolumen der weißen Zellen;
4. von der Größe und dem Volumen der Einzelzelle der R.;
5. von der Beschaffenheit dieser Zellen, z. B. von der Hämoglobinfüllung und dem Wassergehalt, aber auch von dem inneren Bau der Blutkörperchen;
6. von der Kohlensäure des Blutes.

Eine Abhängigkeit vom Hb.-Wert ist nur insofern vorhanden, als eben dem höheren Hb.-Gehalt auch ein größeres R-Volumen entspricht.

Es ist leider nicht möglich, an dieser Stelle alle Punkte eingehend zu begründen, und ich muß auf die Arbeiten von Hess, Determann (Monographie), Adam, Kagan verweisen; dagegen will ich doch alles Wichtige kurz durch einige Beispiele belegen.

1. Die Werte des Serums (Plasma weicht davon in der Regel um 0,2—0,3 ab) betragen normal 1,7—2,0; verglichen mit Aq. dest. — Mein tiefster Wert war bisher 1,45 (perniziöse Anämie), mein höchster 2,3 (Plethora).

Da nach den experimentellen Forschungen die Salze an sich auf die innere Reibung keinen Einfluß haben (Hess) und nach den Literaturangaben der Kohlensäuregehalt keinen merklichen Einfluß auf den Serumwert besitzt, so ist dieser so gut wie ganz vom Eiweißgehalt

abhängig und kann (siehe S. 63) für diesen als wichtiger indirekter Anhaltspunkt dienen (gewisse Einschränkung siehe S. 64). Erniedrigter η_1 -Befund zeigt uns daher wohl mit Sicherheit Hydrämie an, während aus später zu erwähnenden Gründen normale Werte in gewissen seltenen Fällen (Nephritis) Hydrämie noch nicht ganz ausschließen.

2. Die Abhängigkeit des η von der Erythrocytenzahl ist eine augenfällige und verrät sich (bei Färbeindex 1,0!) durch eine Hyperbelkurve, die bei steigender R.-Zahl rapid progressiv in die Höhe geht. Auf S. 88 findet sich bei gleicher R.-Größe die Viskositätskurve der steigenden R.-Volumenprocente in einem Koordinatensystem. Die Abhängigkeit der Viskosität ($\eta - \eta_2$) ist so groß, daß daraus direkt eine Methodik der Volumenbestimmung möglich ist.

Natürlich gehen aber die η -Werte nicht mit den R.-Werten parallel, weil eben die R. klein oder groß sein können und die Viskosität mit dem Volumen ansteigt.

3. Eine gewisse Beziehung des Wertes η zum Hb. ist allen Untersuchern ganz klar geworden. So ist in einem Falle von Bachmann beim niedrigsten Hb.-Wert 10 Proz. (Karzinom) η geradezu = η_1 geworden, beide 1,61. Bei genauem Viskosimeter wäre der Wert η ja wohl etwas über 1,60 gekommen.

Es kann aber von einer Parallele des Viskositätswertes mit dem Hb.-Wert nicht die Rede sein. So finde ich bei Hb. 100 Proz. η zwischen 3,6 und 5,4 schwanken und bei 30—35 Proz. finde ich η zwischen 1,9 und 2,8, entsprechend den ganz verschiedenen großen Volumenwerten.

Daher kann ich der alleinigen Ermittlung des Quotienten Hb./ η , den Bachmann vorschlägt, nicht größeren Wert beilegen.

Immerhin muß man zugeben, daß η größere Parallele mit dem Hb. zeigt als mit der R.-Zahl; das erscheint natürlich, weil nur gut Hb.-haltige Zellen ein größeres Volumen der korpuskulären Elemente ausmachen.

4. Da die innere Reibung von der Zahl der zirkulierenden Zellen stark abhängig ist, so macht eine starke, besonders eine leukämische Leukocytose eine erhebliche Steigerung aus, wie man bei der Prüfung des leukämischen Blutes sofort findet.

Dagegen ist ein Schwanken der weißen Blutkörperchen um die Normalwerte herum erfahrungsgemäß ohne ersichtlichen Einfluß, ebenso eine Verschiebung der Leukocytenarten innerhalb der Normalzahl um ca. 10000 L. Anders ist es dagegen bei Leukämie.

Beispiel: D. ♂ myel. Leuk. Hb. 90 Proz. R. 4,54 F. I. 1,0 L. 391. 600.
 $\eta = 7,3!$ statt etwa 4,0.

D. ♂ lymph. Leuk. Hb. 110 Proz. O₂ Cap. 114 Proz. R. 5,65
F. I. 1,0. L. 44,240. η : 4,1 u. 4,0.

η_1 1,45 auch später so auffällig niedrig. Fast
alles kleine L.! Neutroph. nur 2480.

Z. ♂ myel. Leuk. Hb. 67 Proz. O₂ Cap. 60 Proz. R. 2,814
F. I. 1,2. L. 165,200. η 3,6 η_1 1,6.

5. Der entscheidende Faktor bei der Viskosimetrie ist das **Volumen der zirkulierenden Zellen**, wobei nach physikalischen Gesetzen große Zellen eine viel stärkere innere Reibung bedingen als kleinere. Dafür gibt es zwei sehr schöne Beispiele. Eine starke Vermehrung kleiner Lymphocyten bei lymphatischer Leukämie steigert η nur gering oder nicht, während eine ungefähr gleich große Zunahme der myeloischen Zellen mit den Myelocyten einen viel stärkeren Ausschlag gibt.

Das unter 4. gegebene Beispiel zeigt, daß die sehr erhebliche Vermehrung kleiner Lymphocyten so gut wie keinen Ausschlag gibt.

Das zweite Beispiel betrifft die Megalocyten der perniziösen Anämie im Gegensatz zu den zur Mikropoikilocytose neigenden Erythrocyten der sekundären Anämie.

So ist es auffällig, daß selbst bei einer ganzen Reihe von perniziösen Anämien trotz enorm niedrigen Erythrocyten- und Hämoglobinkwerten die Differenzen zwischen η und η_1 (oder η_2) immer sehr deutlich und bei allen Prüfungen konstante blieben, während schwere sekundäre Anämie die Unterschiede sehr gering ausfallen läßt oder sogar völlig aufheben kann.

Beispiele: Perniziöse Anämie. Selbst bei 13 Proz. Hämoglobin η und η_1 noch aufs deutlichste um 0,3 verschieden, während bei 10 Proz. Hämoglobin bei den vielfach kleinen (und hämoglobinarmer!) Erythrocyten Bachmann $\eta = \eta_1$ fand.

Es können daher die Viskositätsuntersuchungen hier direkt praktisch klinischen Wert für die Diagnose der perniziösen Anämie haben. Vor allem wichtig ist aber, daß sie die erhebliche Megalocytose der perniziösen Anämie, die ja zu Unrecht von einzelnen Autoren bestritten oder als nicht erheblich (Grawitz) hingestellt worden ist, auf dem Wege einer ganz anderen Beweisführung bestätigen.

Die Viskositätsuntersuchung zeigt in einwandfreier Weise und viel sicherer als die unzuverlässigen Zentrifugier- und Hämatokritmethoden direkt, daß die Zellen der perniziösen Anämie ein ganz erheblich größeres Volumen haben. Wir haben gesehen, daß Mikropoikilocyten wegen der geringen Volumina η sehr gering beeinflussen. Wenn ja zugegebenerweise auch diese Zellen meist bei perniziöser Anämie da sind und η herabdrücken, so muß die ausschlaggebende Bedeutung der Megalocyten eine besonders große sein, da sie selbst die Mikropoikilocytose im Viskositätswert so weit überkompensieren.

6. Schließlich ist nicht allein die Größe der roten Zellen von Einfluß, sondern auch die Beschaffenheit, wobei es in erster Linie auf die Hämoglobinfüllung (den Färbeindex) ankommt. Es ist ganz klar, daß es für die innere Reibung nicht gleichgültig sein kann, ob Zellen gegeneinander drücken, die hämoglobinarmer und daher plasmareich, oder strotzend mit Hämoglobin gefüllt und gespannt sind. Im letzteren Falle ist die Oberflächenspannung eine viel größere und der Widerstand bei der Reibung ein weit höherer.

7. Die Kohlensäure hat Einfluß, indem sie die osmotischen Verhältnisse ändert (siehe S. 77). Es treten bei der Anwesenheit von erheblichen Mengen Kohlensäure Cl' -, CO_3'' -, SO_4'' -, NO_3' -Ionen in die Erythrocyten ein und ändern das R.-Volumen und damit die Viskosität.

Es ist schon lange das größere Volumen der Erythrocyten des Venenblutes bekannt, und dementsprechend ist daher auch die Viskosität des Venenblutes höher gefunden als diejenige der arteriellen (siehe eigenen Wert S. 87 unten).

Es fragt sich nun, ob die Kohlensäure bei den physiologischen Schwankungen des arteriellen Blutes eine nennenswerte Rolle spielt. Nach der bisherigen Erfahrung ist das ganz unwahrscheinlich, weil fast alle Schwankungen nach den 1—6 aufgezählten Gründen so gut wie restlos erklärt und die Unterschiede zwischen arterialisiertem Fingerbeerblut und Venenblut gering sind.

Ganz besonders gering wird der Einfluß der Kohlensäure auf das arterielle Blut der schweren Anämien sein, weil hier das Objekt für den Angriff der Kohlensäure, die roten Blutkörperchen, so außerordentlich reduziert ist.

Bachmann (in Schibig) suchte den Einfluß der Kohlensäure an defibriniertem Blut viskosimetrisch nachzuweisen, konnte aber keine Erhöhung entdecken. Damit dürfte die geringe Bedeutung des Kohlensäureinflusses auf die Blutviskosität erwiesen sein.

8. Die Salze des Serums an sich hätten zwar keinen Einfluß, aber indirekt können sie freilich — und, wie es scheint, in gar nicht unbedeutender Weise — η verändern, indem sie die Oberflächenspannung des Serumeiweißes verändern und ferner bei Anwesenheit von viel Kohlensäure durch die oben erwähnten osmotischen Vorgänge das R.-Volumen verändern. Nach den meisten Untersuchungen ist aber der Salzgehalt des Serums (siehe S. 71) ein sehr konstanter und nur geringen Schwankungen unterworfen. Freilich ist das bei Nephritis unter Umständen ganz anders, und ähnliche Abweichungen des Salzstoffwechsels kommen, wenn auch seltener, doch vor.

9. Daß auch die Blutplättchen eine nennenswerte Rolle spielen, ist wenig wahrscheinlich, weil sie ihrem Volumen nach so kleine Elemente sind. Dieser Faktor darf daher wohl praktisch vernachlässigt werden.

Es stellt somit der Wert η die eine Seite einer Gleichung dar, bei der auf der andern Seite mindestens acht variable, zunächst unbekannte Faktoren stehen. Dabei gestaltet sich das Zusammenwirken dieser Unbekannten bei dieser dynamischen und nicht statischen Prüfung nicht als Summation, sondern nach Art einer Hyperbelkurve, wenigstens zum Teil und besonders bei den hohen Zahlen. Nun lassen sich aber die meisten dieser Unbekannten rasch ermitteln.

1. η_2 durch Viskosimetrie des Plasmas oder η_1 , des Serums nach spontaner Gerinnung, nachdem man ca. 20 spontan ausfließende Blut-