

BLUTKRANKHEITEN

UND

BLUTDIAGNOSTIK

LEHRBUCH

DER MORPHOLOGISCHEN HÄMATOLOGIE

VON

DR. MED. OTTO NAEGELI

PRIVATDOZENT AN DER UNIVERSITÄT ZÜRICH

MIT 19 FIGUREN IM TEXT UND SIEBEN FARBIGEN TAFELN



LEIPZIG

VERLAG VON VEIT & COMP.

1908

SEINEM LEHRER UND MEISTER

HERRN

PROF. DR. H. SAHLI IN BERN

IN STETER DANKBARKEIT UND VEREHRUNG

GEWIDMET

Vorwort

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 differential-diagnostisch zur Entscheidung herangezogen werden können. Auch umgekehrt führt ein ungewöhnlicher Blutbefund gar nicht selten zu der Aufforderung, den Patienten von neuem aufs eingehendste zu examinieren, um eine Erklärung für das Ungewöhnliche zu finden.

Der Wert physikalisch-chemischer und rein chemischer Blutuntersuchungen wird vielleicht in kurzer Zeit gleichfalls ein sehr bedeutender sein. Vorläufig freilich halten diese Analysen, namentlich an diagnostischer Dignität, einen Vergleich mit den Ergebnissen der Morphologie nicht entfernt aus. Manche dieser Methoden sind, wie die Alkaleszenzbestimmung, die Ermittlung der Volumenprocente, wissenschaftlich nicht sicher genug basiert, andere, wie die Bestimmung des Trockenrückstandes, ergeben zwar genaue, aber sehr komplexe, von den verschiedensten Faktoren abhängige Größen, und sind daher nicht so leicht zu deuten. Jedenfalls aber stehen sie fast ohne Ausnahme nur an großen Kliniken und auch hier nur gelegentlich und zu besonderen Zwecken in Anwendung, so daß ihre Bedeutung vorläufig eine rein akademische ist. Sie verlangen auch zur Er-

reichung 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

Inhalt.

	Seite
Vorwort	V
Einleitung	1
I. Überblick auf die Entwicklung der Hämatologie	1
II. Umfang und Ziele der heutigen Blutforschungen	2

Technik der Blutuntersuchungen.

1. Die Blutentnahme	5
2. Die Herstellung ungefärbter Präparate, Nativpräparate	6
Beurteilung der Leukocytenzahl und der Menge und Art der Blutzellen	6
3. Färbungen	7
a) Blutausstrichpräparate	7
Natur der Färbungen. Singuläre, panoptische Färbungen	7
Prinzipien der Färbungen	7
Herstellung gefärbter Präparate	8
Fixationen	9
Farbstoffe	10
Reine Methylenblaufärbung	10
Reine Hämatoxylinfärbungen	11
Reine Eosinfärbungen	11
Succedanfärbungen	11
Methode von Müllern	12
Kombinierte Färbungen	12
Jenner-, May-Grünwald-Färbung	12
Azurfärbungen	13
Giemsa-Färbung	14
Färbung nach Leishman	14
Triacidfärbung	14
Pyronin-Methylgrünfärbung	15
Dahliafärbung } für Mastzellen	15
Methylenblaujodfärbung }	15
Schriddes Methode zur Darstellung der Lymphocytengranula für Blutpräparate	16
b) Organschnitte. Methoden von Benda, Sternberg, Leishman, Schridde, Zieler, Aßmann, Fischer	17
Literatur über Blutfärbungen	19
4. Kammerfärbungen nach Zollikofer, Riebes, Türk	20
5. Vitalfärbungen	22
6. Die Zählung der Blutzellen	23
a) Erythrocytenzählung	23
b) Die Zählung der Leukocyten	27

	Seite
c) Zählung der Blutplättchen	29
d) Zählung der Leukocytenarten in gefärbten Trockenpräparaten	30
7. Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes.	
Nach Tallqvist, nach Sahli-Gowers	32. 33
Hämometer von Sahli	35
Das Fleischsche Hämometer	36
Das Fleisch-Mieschersche Hämometer	37
Das Hämospektrophotometer. Kolorimetrische Doppelpipette	39
8. Andere physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden des Blutes.	
Allgemeine Vorbemerkungen	39
Bestimmung des spezifischen Gewichtes	
a) des Gesamtblutes	41
b) des Serums	43
[Gewinnung von Plasma und Serum]	44
Bestimmung des Trockenrückstandes	44
Bestimmung des Eiweiß	45
Bestimmung des Eisens	45
Permeabilität und Resistenz der roten Blutkörperchen	46
Osmotischer Druck des Blutes	48
Volumenprocente	49
Die Bestimmung der Gerinnungszeit	53
Die Viskosität des Blutes	54
Alkaleszenzbestimmungen des Blutes	54
Die Jodreaktion des Blutes und der Leukocyten	56
Die Guajakreaktion des Blutes und der Leukocyten	61

Die roten Blutkörperchen. (R.)

1. Physiologische Verhältnisse.	
Allgemeine Verhältnisse	62
Neuere Ansichten über den Bau der R.	63
Funktion. Zahl. Farbeindex	65
Untergang	66
Physiologische Schwankungen	66
Bildung der R. im postfötalen Leben	67
Normoblasten und Megaloblasten	67
Entkernung	69
Embryonale Blutbildung	71
Vergleichende Anatomie und Embryologie der R.-Bildung	73
Ursprung der roten Blutkörperchen	74
Abweichende Ansichten über Erythropoëse	76
2. Pathologische Verhältnisse.	
Abnorme Zahl	78
Abnormer Hämoglobingehalt	79
Farbeindex	80
Größen- und Gestaltveränderungen	81
Anisocytose	81
Poikilocytose	82
Kernhaltige rote Blutkörperchen	83
Artefakte und Nekrobiosen	85
Veränderungen der Tinktionsverhältnisse	87
Polychromasie	88
Basophil reagierende Substanzen im Erythrocytenprotoplasma	90
Pathologisches Wiederauftreten der Erythropoëse in Leber, Milz und Lymphdrüsen	98

Die weißen Blutkörperchen, Leukocyten.		Seite
Die Lymphocyten. (L.)		101
„Große mononukleäre Zellen“ und „Übergangsformen“		105
Die neutrophilen polymorphkernigen Leukocyten. (N.)		107
Die eosinophilen Zellen. (Eos.)		110
Die Mastzellen. (Ma.)		112
Pathologisch im Blute auftretende Leukocyten		113
Myelocyten		113
Große Lymphocyten		115
Myeloblasten (ungranulierte Knochenmarkszellen)		116
Plasmazellen (Reizungsformen, Türk)		119
Abnormitäten der normalen Blutleukocyten		120
Kriterien der Jugend und des Alters der Leukocyten		121
Spezifität der Leukocytenarten		123
Die Bildung der Leukocyten.		126
Blut der Embryonen. Embryonale Leukopoëse		128
Vergleichende Embryologie, Anatomie und Histologie der Leukopoëse		132
Pathologische Leukopoëse der Organe		133
Untergang der Leukocyten		136
Die vitalen Phänomene und die Funktion der Leukocyten		137
Das Knochenmark als Organ.		142
Die Leukocytose		147
Therapeutische Anwendung der Leukocytose		155
Verschiedene Arten der Leukocytose		156
1. Physiologische Leukocytosen.		
Die Verdauungsleukocytose		156
Die Graviditätsleukocytose		158
Die Leukocytose der Neugeborenen		159
Die Leukocytose nach körperlichen Anstrengungen und thermischen Reizen		160
2. Pathologische Leukocytosen.		
Die Leukocytose bei Infektionskrankheiten		162
Die Leukocytose bei Intoxikationen (Toxische Leukocytose)		165
Die Leukocytose bei Blutungen (posthämorrhagische Leukocytose)		166
Die Leukocytose bei malignen Tumoren		167
Die Leukocytose bei Kachexien		167
Die Leukocytose der Agone		167
Die Leukocytenschwankungen in der experimentellen Pathologie und bei Röntgenbestrahlung		168
Die Leukopenie oder Hypoleukocytose		171
Die Lymphdrüsen und das lymphatische System als Gewebe.		173
Die Milz als Organ		177
Histioide Leukocyten		178
Die prinzipielle Trennung der lymphatischen und myeloiden Leukocyten.		184
Abstammung der Blutzellen.		198
Stammbäume anderer Autoren		200
Prinzipien der Blutzellenbildung		204
Nomenklatur		204

Die Blutplättchen.

Die Blutplättchen	Seite 208
-----------------------------	--------------

Die Anämien.

Allgemeines	216
Vorgetauschte Anämien	224
Einteilung der Anämien	224
Beziehungen der Anämien zur Leukopoëse	227
Die posthämorrhagische Anämie	227
Die Chlorose	230
Die perniziöse Anämie	252
Die Anaemia pseudoleucaemica infantum	290
Anämien des Kindesalters	295
Leukanämie	298

Die Leukämien.

Allgemeines	301
Die chronische lymphatische Leukämie	304
Die akute lymphatische Leukämie	313
Histogenese und Wesen der lymphatischen Leukämie	324
Das lymphatische Chlorom, Chloroleukämie	332
Plasmazellenleukämie	335
Die chronisch myeloische Leukämie	336
Die akute myeloische Leukämie	358
Myeloisches Chlorom, myeloische Chloroleukämie	362
Atypische Leukämien	364
Übergänge von Blutkrankheiten in Leukämie	366
Wesen der myeloischen Leukämie	369

Die Pseudoleukämien.

Allgemeines und Einteilung	372
Aleukämische Lymphocytomosen	378
Die Lymphosarkomatose	382
Die Granulome	388

Anhang.

Morbus Banti und Megalosplenie	395
Splenomegalie Typ Gaucher	400
Das Myelom	401
Die Krankheit Polyglobulie	405
Polyglobulie unter anderen Verhältnissen	409
Hämorrhagische Diathesen	417

Infektionskrankheiten.

Allgemeines	421
Pneumonia crouposa	424
Typhus abdominalis	427
Typhus exanthematicus	437
Diphtherie	437
Scarlatina	438

	Seite
Morbilli	441
Rubeolae	442
Erysipelas }	443
Varicellen }	
Variola }	
Influenza }	446
Parotitis epidemica }	
Tetanus }	
Lyssa }	
Anthrax }	447
Actinomycosis }	
Cholera }	
Maltafieber }	
Febris recurrens }	448
Polyarthrit. acuta }	
Sepsis	449
Eiterungen	450
Gynäkologische Affektionen mit Eiterungen	454
Leberabsceß	455
Eiterige Meningitis und Genickstarre	456
Tuberkulose	457
Syphilis	463
Pertussis	466
Malaria	467

Helminthiasis.

Ankylostomum duodenale	472
Botriocephalus latus	474
Tänien	475
Trichocephalus dispar.	476
Ascaris lumbricoides und Oxyuris vermicularis *	476
Anguillula stercoralis und intestinalis }	477
Distomum haematobium. Bilharzia }	
Filaria sanguinis	
Trichinosis	478
Echinokokkus	479

Maligne Tumoren.

Maligne Tumoren	480
---------------------------	-----

Vergiftungen und Blutgifte.

Vergiftungen und Blutgifte	487
Bleivergiftung	488
Paroxysmale Hämoglobinurie	491

Sachregister	493
Autorenregister	502

Tafel 1

- Fig. 1. Die roten Blutkörperchen bei Triacidfärbung (Komb. Bild).
Fig. 2. Die roten Blutkörperchen bei Methylenblaufärbung (Komb. Bild).

Tafel 2

- Fig. 3. Kernzerfall bei Erythroblasten. Methylenblaufärbung.
Fig. 4. Kernzerfall und basophile Granulation im Knochenmark. Methylenblaufärbung.
Fig. 5. Ungefärbtes Blutpräparat.

Tafel 3

Die Leukocyten bei verschiedenen Färbungen.

Tafel 4

- Fig. 1. Myelocyten.
Fig. 2 u. 3. Myeloblasten.
Fig. 4. Große Lymphocyten.
Fig. 5. Blutplasmazellen.

Tafel 5

- Fig. 1. Chronisch lymphatische Leukämie.
Fig. 2. Akute lymphatische Leukämie.

Tafel 6

- Fig. 1. Chronisch myeloische Leukämie.
Fig. 2. Akute myeloische Leukämie.

Tafel 7

- Fig. 1. Chlorose.
Fig. 2. Perniziöse Anämie.

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

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

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

Ende der 70er Jahre kamen die ersten Zählapparate für rote und weiße Blutkörperchen in Anwendung und gestatteten, den Wert der Blutbefunde

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

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

II. Umfang und Ziele der heutigen Blutforschungen.

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

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

Die physikalisch-chemische Forschungsrichtung beschäftigt sich mit dem Nachweis physikalischer oder chemischer Veränderungen des Blutes. Sie studiert die Volumenverhältnisse des Blutplasmas und der Blutkörperchen, die quantitative chemische Zusammensetzung, z. B. den Gehalt an Eiweiß, Eisen und Salzen. Sie untersucht die Schwan-

kungen des spezifischen Gewichtes, der Isotonie, des osmotischen Druckes, der Gerinnungsfähigkeit usw.

Diese Forschungsrichtung beginnt gleichfalls mehr und mehr ihre Selbstständigkeit zu erringen. Ihrer allgemeinen Anwendung steht die Schwierigkeit ihrer Untersuchungsmethoden und die Notwendigkeit der Benützung größerer Blutmengen im Wege. Auch sind die Resultate selten von praktisch-diagnostischem oder prognostischem Werte oder können dann gewöhnlich auf einfacherem Wege gleichfalls erzielt werden. Immerhin ist auch für rein klinische Zwecke öfters eine Benützung mancher Methoden dieses Gebietes sehr wünschenswert. Auf's beste empfehle ich hier zum Studium das vortreffliche Werk von HAMBURGER, Osmotischer Druck und Ionenlehre.

Die morphologisch-biologische Forschungsrichtung erstrebt die genaueste Kenntnis aller morphologischen Verhältnisse an den korpuskulären Elementen des Blutes, deren genetische Erklärung, biologische Bedeutung und diagnostisch-prognostische Verwertung. Sie unterhält notwendigerweise die engsten Beziehungen zu den embryologischen, vergleichend anatomischen, experimentell pathologischen und pathologisch-anatomischen Forschungen. Ihre Hauptdomäne ist das Gebiet der eigentlichen Blutkrankheiten. Bei den schweren Anämien, den leukämischen Affektionen und auch bei manchen unter dem 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 Analyse des Blutes nicht zu sicheren Ergebnissen führen. So entscheidet der Blutbefund, und zwar mit Sicherheit, wie ich auf das nachdrücklichste betonen muß, ob eine schwere Anämie die BIERMERSche perniziöse Form ist oder nicht. Der Blutbefund klassifiziert auch ein Leiden als Leukämie, ob dann der übrige klinische Befund so oder anders ausfalle. Auch unter den pseudoleukämischen, zweifellos ganz heterogenen Affektionen, ist der morphologische Befund des Blutes von größter Wichtigkeit, wenn auch eine präzise Diagnose auf die histologische Natur des Leidens vielfach noch nicht mit Sicherheit gestellt werden kann.

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 vollster Berücksichtigung des klinischen Befundes, verwertet werden. Dann aber sprechen sie oft entscheidend. Ich erinnere nur daran, mit welcher Schnelligkeit, Sicherheit und Eleganz die früher so ungemein schwierige Frage, Typhus oder Trichinosis, heute aus der Zahl der eosinophilen Zellen beantwortet wird. Ich hebe hervor, wie selbst Chirurgen heute aus der Zahl der Leuko-

cyten 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 Knochenmarkscarcinose und damit die Diagnose eines latenten Carcinoms, durch die morphologischen Verhältnisse des Blutes sichergestellt wird. So erfährt denn heute der Satz von keiner Seite her Widerspruch, daß in allen diagnostisch nicht genügend klaren Fällen eine genaue Blutuntersuchung nicht unterlassen werden soll.

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

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

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

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

Technik der Blutuntersuchungen.

Die Blutentnahme.

Für die gewöhnlichen Untersuchungen, zu denen größere Blutmengen nicht erforderlich sind, genügt ein Einstich in die Fingerkuppe oder das Ohrläppchen mit einer scharfen Lanzette. Besonders sind zu empfehlen Instrumente, welche 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 bei der Herstellung guter Präparate sich nur als hinderlich erweist. Solche Instrumente sind die FRANCKESche Nadel, bei der durch Federkraft eine schmale Lanzette rasch bis in die vorher bestimmte Tiefe eindringt. Ähnliche Instrumente, aber ohne Verwendung von Federn, die indessen doch Garantie für eine bestimmte Stichtiefe geben, sind von SAHLI¹ und TÜRK² konstruiert worden und sehr zu empfehlen.

Vor der Blutentnahme muß die Haut mit Äther gereinigt werden. Sie ist dann auch so trocken, daß der Bluttröpfchen kugelig bleibt und nicht zerfließt. Außerdem genügt die Reinigung mit Äther vollkommen, um eine Infektion der Wunde zu vermeiden. Unter unzähligen Blutentnahmen habe ich noch nie die geringste Rötung der Stichwunde erlebt. Nach Gewinnung des nötigen Blutes verklebt die Stichwunde rasch, und nur selten ist es nötig, eine leichte Kompression anzuwenden. Ein Verband ist, seltene Fälle abgerechnet, durchaus überflüssig.

Zur Gewinnung größerer Blutmengen, namentlich für physiologisch-chemische Zwecke, ist die Venenpunktion die einzig zulässige Methode. Größere Einschnitte in die Haut genügen nur selten und sind wegen Beimischung von Gewebsplasma zu verwerfen. Ganz unbrauchbar ist das Blut aus Schröpfköpfen. Die Venaepunktion wird nach der allgemein üblichen Technik, natürlich unter strenger Asepsis, vorgenommen.



Fig. 1.
FRANCKE-
sche Nadel.

¹ Erhältlich bei Optiker Büchi in Bern.

² Bei Reiner od. Hayek, Wien IX./3.

Sehr zu beachten ist die Angabe von ZUNTZ und SAHLI, daß die Zusammensetzung des gestauten Blutes, namentlich in seinem Gehalt an festen Bestandteilen und Wasser, rasch in hohem Grade verändert wird. Man kann sich denken, wie oft frühere Untersucher mit diesen angeblich so exakten Volumenprozent- oder Trockenrückstandbestimmungen die Opfer schwerer Täuschungen geworden sind!

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

Bei der Gewinnung des Blutes aus der Fingerbeere und dem Ohr-läppchen muß natürlich jeder stärkere Druck vermieden werden, weil sonst in unkontrollierbarer Weise Gewebsplasma mitkommt.

Die Herstellung ungefärbter Präparate (Nativpräparate).

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

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

Das Deckgläschen kann gewöhnlich an zwei Ecken mit den Fingerkuppen gefaßt werden. Wenn diese aber durch Wasserausdunstung einen Beschlag erzeugen, muß eine Pinzette gebraucht werden. Das Deckgläschen soll rasch mit dem Blutropfen beschickt werden. Auch so kommt es oft vor, daß es sich durch die Wasserverdunstung der Haut des Patienten beschlägt, indessen verschwindet der Beschlag schnell wieder, wenn man nachher einen Augenblick zuwartet. Jetzt wird das Blut so auf den Objektträger gelegt, daß es ohne Druck nur durch Kapillarität sich gleichmäßig kreisförmig ausbreitet. Den Druck kann man freilich viel besser vermeiden, wenn das Gläschen von der Hand an zwei Ecken als mit einer Pinzette gehalten werden.

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 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.

Das ungefärbte Präparat zeigt auch die verschiedenen Leukocytenarten. Die kleinen Lymphocyten fallen schnell auf, besonders aber die wie Fett glänzenden Granula der eosinophilen Zellen, neben denen die neutrophilen Körnchen sehr fein und matt glänzend erscheinen. Man bekommt also bei einiger Übung rasch auch Anhaltspunkte über die Mischung der Leukocytenarten.

Sodann nimmt man die Blutplättchen und Stäubchen wahr und die Zahl und Dichtigkeit der Fibrinfäden, die sich zu Sternfiguren durchflechten. Für alle diese Verhältnisse muß auf die spezielle Erörterung dieser Gebilde verwiesen werden.

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

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

Färbungen.

Durch die verschiedene Affinität der einzelnen Zellbestandteile gegenüber Farbstoffen erzielt man bei den Blutuntersuchungen wie in der Histologie sehr feine Differenzierungen. Diese Affinität beruht wohl zum größten Teil auf chemischen und wohl nur zum kleinen Teil auf physikalischen Unterschieden. So verhält sich der Kern, der aus Nukleinsäure im wesentlichen 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 acidophilen Granulation wie der neutrophilen kann nicht

unwesentlich verändert werden. Auch ist es keineswegs gleichgültig, welche Lösungsmittel für die Farbstoffe verwendet worden sind. Es darf daher durchaus nicht wunder nehmen, wenn die gleiche Granulation bei verschiedener Fixation und verschiedener Färbung nicht im gleichen Farbenton sich präsentiert. Es spricht das nicht gegen die Einheitlichkeit der Art der Körnelung, sondern nur für die Möglichkeit einer Umprägung der Farbenaffinität unter heterogenen Verhältnissen.

Bei der Färbung mit einem einzigen Farbstoff nehmen diejenigen Zellbestandteile, die eine sehr große chemische Affinität zu dem dargebotenen Körper besitzen, diesen in intensiver Weise auf. So färben sich Kerne und basophile Granula mit basischen Reagentien und eosinophile Körner mit sauren außerordentlich stark. Oft kommt es aber zu einer leichten Übertüncung 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 weit aus 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 vielleicht auch durch sein physikalisches Verhalten bedingt ist. Es kommt aber auch vor, daß Gebilde mit acidophilem und gleichzeitig auch basophilem Charakter vorhanden sind. Sie färben sich dann in einem Mischtone. Selbst unter den sauren oder basischen Körpern gibt es verschiedene Intensitätsgrade der Acido- und Basophilie, die bei Verwendung zweier saurer oder zweier basischer Farbstoffe dann tinktoriell verschieden ausfallen. So färbt sich mit dem Triacid das acidophile Granulum leuchtend rot im Tone des Säurefuchsins, 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.

Herstellung gefärbter Präparate.

Die sorgfältige Reinigung und Entfettung der benützten Deckgläschen ist hier zur Herstellung guter Präparate unerläßlich. Man bringt die Deckgläschen einzeln in eine Schale von Äther und Alkohol ää ,

läßt sie eine Viertelstunde darin verweilen und trocknet sie mit einem leinenen Lappchen.

Jetzt wird die Unterseite eines Deckgläschens mit dem hervorquellenenden etwa stecknadelkopfgroßen Blutropfen rasch in Berührung gebracht; es wird ein Augenblick gewartet, wenn der Finger des Patienten durch Wasserdampfausdunstung einen hauchartigen Beschlag erzeugt hat, der rasch wieder vergeht, und nun der Blutropfen ohne Druck, nur durch Kapillarität, zwischen zwei Deckgläschen ausgebreitet. Ist die gleichmäßige Verteilung erzielt, so zieht man die beiden Deckgläschen mit einem einzigen raschen Zug, aber sanft und ohne Gewalt, parallel auseinander. Dies muß von Hand geschehen, weil es viel sorgfältiger ausfällt als unter Benützung von Pinzetten. An der Luft trocknet ein richtig hergestelltes Präparat sehr rasch und kann jetzt jahrelang aufbewahrt werden. Man bringt die lufttrockenen Ausstrichpräparate in eine Papierdüte, schreibt sofort Name und Datum darauf und kann die Weiterbehandlung zu gelegener Zeit durchführen.

Zuerst muß das lufttrockene Präparat fixiert werden. Die Fixation erfolgt auf eine der folgenden Arten:

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

2. Fixation auf der Kupferplatte. Diese Art der Fixation geht viel rascher und einfacher und ist ganz besonders zu empfehlen. Man benützt eine der gewöhnlichen überzinneten Kupferplatten, wie sie als Platten oder Ständer zur Färbung der Tuberkelbazillen auf Objektträgern überall gebräuchlich sind. Die Kupferplatte wird auf der freien Seite durch die Flamme eines Bunsenbrenners erhitzt, bis allmählich eine gewisse Konstanz der Temperaturen in den verschiedenen Teilen der Platte eingetreten ist. Auf den sehr heißen Partien (140°) rollt ein Tropfen Wasser sofort als Kugel ab (LEIDENFROST'sches Phänomen), auf den kälteren verdunstet er rasch unter Zischen. Man sucht jetzt diejenige Stelle herauszubekommen, wo der Tropfen gerade noch sphärisch abrollt und legt hierher das Präparat, läßt es 5—10—20 Sekunden, je nach der Dünne der Blutschicht, verweilen, und die Fixation ist gelungen.

Außer den Hitzefixationen, die besonders für die Triacidfärbungen sehr geeignet sind, kann man vornehmen:

3. Fixation in absolutem Methylalkohol (3—5 Minuten). Der Alkohol muß aber absolut rein sein.

4. Fixation in reinem Aceton 5 Minuten.

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

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

7. Fixation in absolutem Alkohol 10, 20 Minuten und länger, besonders für Färbungen nach GIEMSA, JENNER, MAY-GRÜNWALD, zu empfehlen.

8. Manche Farblösungen enthalten die Farbe schon in der fixierenden Flüssigkeit; so werden die sehr bequemen Tabletten der verschiedensten Farbstoffe (für JENNER-Färbung, ROMANOWSKY-Färbung nach LEISHMAN) direkt in 10 ccm Methylalkohol gelöst. Fixation und Färbung erfolgt also gleichzeitig. Dies ist auch bei den gewöhnlichen Färbungen nach JENNER und MAY-GRÜNWALD der Fall.

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

Die Herstellung guter Farbstoffe ist ungemein schwer. Die Reinheit, die so wichtig ist, kann oft nur durch mehrfaches Umkristallisieren erzwungen werden. Man lasse sich daher niemals darauf ein, Farbstoffe vom Chemiker oder gar vom Apotheker herstellen zu lassen. So färbten mir z. B. solche Triacidlösungen 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. in Leipzig oder BURROUGHS WELLCOME Co. in London kommen zu lassen und auch die erhältlichen Farblösungen, z. B. diejenige von GIEMSA, nicht selbst herzustellen, wenn man nicht große Enttäuschungen erleben will.

I. Isolierte Färbungen.

Reine Methylenblaufärbung mit Methylenblau medicinale purissimum HÖCHST, Methylenblau rectificatum EHRlich oder Methylenblau (B. pat. Dr. GRÜBLER).

Man verwendet 1% oder $\frac{1}{4}$ % wässrige Lösungen oder sog. LÖFFLER-sches alkalisches Methylenblau.

Man benützt reine Methylenblaufärbungen für gute Kernfärbung, für die Darstellung der Polychromasie und der basophilen Granulation der roten Blutkörperchen. Für den Nachweis der beiden letztgenannten Zustände leistet die isolierte Methylenblaufärbung das beste und ist daher ausschließlich zu empfehlen. Färbedauer bei LÖFFLERSchem Methylenblau nur 5 Sekunden! nachher gute Wasserspülung.

Die Kerne sind bei diesen Methoden außerordentlich deutlich; die roten Blutkörperchen haben einen leicht grünlichen Farbenton, die polychromatischen sind hellblau bis ganz tiefblau, je nach der Stärke der Polychromasie. Die basophile Granulation ist distinkt tiefblau.

Reine Methylenblaufärbungen sind ferner vorzüglich geeignet zum Nachweis des basophilen Protoplasmaretikulums der Leukocyten. Alsdann erhitzt man die Präparate bei der Fixation noch stärker als gewöhnlich. An manchen Zellen verliert jetzt der Kern seine Basophilie, ganz besonders der Lymphocytenkern und erscheint nahezu oder völlig ungefärbt. Sein Kernkörperchen tritt aber mit deutlich und scharf gefärbter Nukleoluswand hervor, ebenso wie das Protoplasmnetzwerk, dessen Knotenpunkte fast wie Granula erscheinen. Man überzeugt sich mit guter Immersion indessen leicht, daß keine distinkte Granulation vorliegt. Auch „große Mononukleäre“, Myelocyten, Myeloblasten und jugendliche polymorphkernige Zellen zeigen das Protoplasmaretikulum. Tiefblau erscheinen die Plasmazellen.

Reine Hämatoxylinfärbungen mit DELAFIELDSchem Hämatoxylin oder Hämatoxylin sauer, nach EHRLICH, beide als fertige Lösungen zu beziehen. Färbungsdauer 10—15 Minuten. Lösungen filtrieren!

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

Reine Eosinfärbungen mit Eosin B. A. HÖCHST oder Eosin rein französisch in 1% oder $\frac{1}{2}$ % wässriger oder alkoholischer Lösung färben die roten Blutkörperchen und die eosinophilen Zellen. Färbungszeit 3 bis 5 Minuten.

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

Methode v. Müllerns, eines Schülers von TÜRK; die an Sicherheit wie an Schönheit Hervorragendes leistet. Prachtige Färbungen erzielte z. B. FISCHER unter meiner Leitung an Kaninchenknochenmark.

1. Fixation in Methylalkohol 3 Minuten.
2. Direkte Übertragung in $\frac{1}{2}$ % alkoholische Eosinlösung, deren Alkoholgehalt 60—70% erreicht. Färbung 3 bis höchstens 5 Minuten.
3. Abspülen in Aq. destill. und Trocknen zwischen Fließpapier.
4. Einlegen in sorgfältig abgemessene, gut verrührte frische Mischung von 20 Tropfen Methylenblaulösung (Tropffläschchen) und 10 Tropfen Eosinlösung (Tropffläschchen). Färbedauer $\frac{1}{2}$ bis höchstens 1 Minute.
5. Rasches, kurzes Abspülen in Aq. destill., Trocknen zwischen Fließpapier oder über der Flamme. Einbettung in neutralen Canadabalsam.

Indem die 2. Lösung außer Methylenblau noch Eosin enthält, verdrängt das sonst so aggressive Methylenblau das locker gebundene Eosin nicht so stark. So bleiben auch die neutrophilen Granula rot gefärbt. Die Färbung gelingt nur gut an lufttrockenen Präparaten, die nicht älter als 1—2 Tage sind.

II. Kombinierte Färbungen.

Es handelt sich hier entweder um Mischungen verschiedener Farbstoffe, wie das EHRLICHsche Eosin-Hämatoxylingemisch (Färbungsdauer 1—3 Stunden!) oder um chemische Bindungen von sauren und basischen Körpern wie im eosinsauren Methylenblau (JENNER, MAY-GRÜNWARD, LEISHMAN) oder im Triacid. Die Wirkung der chemisch gebundenen Körper erfolgt entweder infolge von Dissoziation schon in der Lösung oder durch chemische Zerlegung des Farbstoffes in seine Komponenten unter dem Einfluß der Gewebe.

Färbung mit eosinsaurem Methylenblau (JENNER, MAY-GRÜNWARD). JENNER hat zuerst die chemische Bindung der beiden Farbstoffe als färbendes Prinzip in Anwendung gebracht und den neuen Körper in reinem (acetonfreien) Methylalkohol gelöst, so daß Färbung und Fixation gleichzeitig erfolgen.

Die fertigen Farblösungen von JENNER und MAY-GRÜNWARD sind von GRÜBLER oder BURROUGHS WELLCOME Co. erhältlich. Letztere Firma bereitet auch Tabloids des Farbstoffes, die in 10 ccm Methylalkohol gelöst werden.

Zur Färbung müssen die Blutpräparate lufttrocken, frisch! und möglichst dünn sein.

1. Färbung 2—3 Minuten (nicht länger!) in der Farblösung, die auf die Präparate in einem Blockschälchen aufgegossen wird. Luftabschluß!
2. Verdünnung und Farblösung auf das doppelte Volumen mit Aq. destill. Fortsetzung der Färbung 5—15 Minuten.

3. Abspülen mit Aq. destill.

4. Abtupfen mit Fließpapier oder Trocknen bei gelinder Wärme. Einschluß in neutralen Canada.

Ältere oder schwer färbare Ausstriche sind folgendermaßen zu behandeln.

1. Fixation in absolutem Alkohol (Äthylalkohol) 10—20—mehr Minuten.

2. Übergießen mit einem frisch hergestellten Gemisch von einem Teil der Farblösung und zwei Teile Aq. destill. Färbung 5—15 Minuten.

3. und 4. wie oben.

Diese Färbungen haben außerordentlich schnelle Aufnahme gefunden; doch waren die früheren Vorschriften zu wenig genau und hat man viele Mißerfolge erzielt. Mit der jetztigen Methodik erzielt man nun ausgezeichnete Präparate.

Die Kernfärbung gelingt gut; alle Granulationen, selbst die basophilen, werden vorzüglich gefärbt. Die neutrophilen nehmen einen rötlichen Farbenton an, die Polychromasie und die basophile Granulation der roten Blutkörperchen hebt sich deutlich ab.

Auf einem ganz anderen Prinzip beruhen die gleichfalls mit Methylenblau und Eosin erzielten Azurfärbungen, die sich an einen Versuch von ROMANOWSKY anschlossen, und dann von einer großen Zahl von Autoren weiter gefördert worden sind. Unter bestimmten Mischungsverhältnissen und in alten Methylenblaulösungen, z. B. in UNNASchem polychromem Methylenblau, bildet sich ein neuer roter Körper aus Methylenblau, der sich in Chloroform löst, und ganz andere Farbreaktionen aufweist, vor allem an den Malariaparasiten gewisse bisher nicht gefärbte Stellen in glänzender Weise zur Darstellung bringt.

Es ist das der schon früher bekannte Körper Methylenazur (MICHAELIS), ein Umwandlungsprodukt des Methylenblaus, der auch in älteren Methylenblaulösungen die Metachromasie der Mastzellen erzeugt. Während aber alle bisherigen Autoren (ROMANOWSKY, ZIEMANN, NOCHT, REUTER, L. MICHAELIS usw.) zwar mitunter prächtige Färbungen erzielt, aber recht oft auch völlige Mißerfolge erlebt hatten, und daher allen bisher angegebenen Methoden eine große Unzuverlässigkeit anhaftete, geben jetzt die neuesten von GIEMSA empfohlenen bessere Resultate.

Die GIEMSA-Färbung hat alle anderen sehr unzuverlässigen Azurmethoden verdrängt. Ich sehe die Notwendigkeit nicht ein, hier auch die früher empfohlenen weniger guten Verfahren zu reproduzieren. Wer sich dafür interessiert, verweise ich auf die Darstellung in TÜRKs klinischer Hämatologie oder auf die Originalpublikationen.

Giemsa-Färbung. Die Lösung, die Methylenazur neben Eosin und Methylenblau in Glyzerin und Methylalkohol gelöst enthält, muß direkt von GRÜBLER bezogen werden, da eine zuverlässige Herstellung mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden ist.

1. Fixation des lufttrockenen Präparates 20 Minuten in Alkohol absolutus,
2. Herstellung einer Verdünnung der Farblösung, unmittelbar vor dem Gebrauche, 1 Tropfen auf 1 ccm Aq. destill.
3. Übergießen der Präparate. Färbedauer 10—30 Minuten.
4. Abspülen in Aq. destill.
5. Abtupfen mit Fließpapier, trocken werden lassen und Einbetten in neutralen Canadabalsam.

Bei Färbung besonderer Gebilde, wie *Spirochaeta pallida*, *Trypanosoma*, Kapseln der Malariahalbmonde, setzt man zu 10 ccm der nach 2. verdünnten Farblösung 1—2 Tropfen einer einprozentigen Kaliumkarbonatlösung hinzu.

An sehr dünn ausgestrichenen Präparaten werden jetzt die Kerne rot bis rotblau, die basophilen Granula der Mastzellen und roten Blutkörperchen blau, die eosinophilen rot, die neutrophilen violettrot-blaßrot, die Blutplättchen ebenfalls rot.

Einige Autoren verwenden den isolierten Farbstoff Azur, mischen ihn mit Eosin und bringen ihn als Pulver in den Handel oder auch in Tabletten.

Methode von Leishman.

1. Auflösen einer Tablette oder 0,2 g des Pulvers in 10 ccm Methylalkohol.
2. Übergießen des lufttrockenen Präparates (Fixation und Färbung) 1 Minute.
3. Verdünnung der Farblösung mit gleicher Menge Aq. destill.
4. Abspülen in Aq. destill., Trocknen, Einbetten.

Während die früheren Eosin-Methylenblaufärbungen eine sichere und unbedingt zuverlässige Färbung der neutrophilen Granulation nicht ergeben haben, ist durch die EHRLICHsche Triacidfärbung die Darstellung dieser am schwierigsten darstellbaren, aber außerordentlich wichtigen Granulation stets mit Leichtigkeit zu erzielen.

Die **Triacidfärbung** ist für Übersichtsbilder und für neutrophile Granulation ganz besonders, in erster Linie zu empfehlen. Sie allein ist imstande, Zellen mit wenig neutrophilen Körnchen mit großer Deutlichkeit und Sicherheit zu färben. Die Lösung enthält Methylgrün, dessen drei basische Gruppen (daher der Name triacide Lösung) mit den beiden sauren Farbstoffen Orange G. und Säurefuchsin gesättigt sind. Es entsteht dadurch eine neutrale Verbindung, die neutrophile Granula vorzüglich darstellt.

Der neutrale Farbstoff ist erst in einem Überschuß von sauren Verbindungen löslich, hier in Säurefuchsin.

1. Starke Hitzefixation der lufttrockenen Präparate.
2. Einige Tropfen Triacid mit Pipette entnommen (die Flasche muß stets sorgfältig vor dem Schütteln bewahrt werden). Färbung 5 Minuten.
3. Sorgfältiges Abwaschen in Wasser, bis dieses keine Farbe mehr auszieht.

4. Trocknen zwischen Fließpapier und an der Wärme. Einbetten. Basophile Granula der roten Zellen sind nicht gefärbt, diejenigen der Leukocyten auch nicht, können aber als ungefärbte Körnchen erkannt werden. Die Kerne sind grünlich-bläulich, Strukturen sind nicht deutlich, öfters zeigen die Kerne einzelne schwärzliche Niederschläge: Artefakte, stets ein Zeichen einer nicht mehr tadellosen Lösung! Die eosinophilen Granula erscheinen leuchtend rot, die neutrophilen violettrot. Das Protoplasma der Lymphocyten und „großen Mononukleären“ ist ungefärbt oder (bei stärkerer Hitzefixation) schwach rosa. Die Erythrocyten nehmen Orange an.

Wegen der wenig befriedigenden Kernfärbung versucht man öfters noch eine nachträgliche Methylenblautinktion anzuschließen, wodurch dann die Strukturen deutlich werden.

Die **Pyronin-Methylgrünfärbung** von PAPPENHEIM enthält zwei basische Körper, von denen das Pyronin die viel stärkere Base ist, und daher die stark basophilen Substanzen rot färbt. So erhält man leuchtende Rotfärbung des Lymphocytenprotoplasmas, aber auch der Sarkomzellen, der kleineren Myeloblasten, der Plasmazellen und der stark polychromatischen Erythroblasten.

Die Färbung beweist zwar keineswegs die Lymphocytennatur einer Zelle; aber das ist ganz sicher, daß ein Gebilde kein Lymphocyt sein kann, dessen Protoplasma nicht leuchtend rot sich tingiert. Dieser negative Nachweis ist nicht selten recht wertvoll.

Besonders trefflich werden die Nukleolen, und zwar ebenfalls rot gefärbt.

1. Hitzefixationen, event. andere Fixationen.
2. Färbung 5—10 Minuten mit der Lösung von GRÜBLER.
3. Abwaschen. Trocknen. Einbetten.

Dahliafärbung für basophile Granula nach EHRlich.

Die käufliche Lösung enthält Dahlia in alkoholischer Lösung.

Färbung 4—6 Stunden; kurzes Abspülen in Wasser. Entfärben in Alkohol bis kein Farbstoff mehr abgeht.

Die Mastzellen sind violett granuliert.

Methylenblaujodfärbung nach TÜRK für Mastzellenfärbung.

1. Fixation in der Hitze bei 120° oder in Methylalkohol.

2. Färbung mit 1% Methylenblaulösung in 50% Alkohol unter vorsichtiger Erwärmung bis zur ersten Rauchbildung.
3. Erkaltenlassen. Ganz kurzes Abspülen mit Wasser.
4. Präparat kommt für $\frac{1}{2}$ Minute in wässrige Jod-Jodkalilösung (1 : 2 : 300).
5. Ganz rasches Abspülen mit Wasser, Trocknen.
6. Einbetten in Jodgummisirup (Jodi puri 1,0, Kal. jod. 3,0, Aq. destill. 100,0, Gummi arabic. q. s. bis zu Sirupkonsistenz).

Die Mastzellen werden tief schwarz, neutrophile und eosinophile Granula nur spurweise gelblich durch Jod. Erythrocyten dunkelgrün.

SCHRIDDE hat in neuerer Zeit eine besondere Methode angegeben (Anatom. Hefte. Bd. 28, 1905, S. 2), mit der auch in den Lymphocyten eine Granulation zum Vorschein kommt. Da aber die Ergebnisse dieser Färbung sehr mühsam zu erhalten sind, so hat SCHRIDDE folgende neue Methode für Blutausrichthe vorgeschlagen:

1. Ausbreiten des Blutes in dünner Schicht auf dem Objektträger.
2. Objektträger kommen sofort und für 12 Stunden in Formol-Müller (1 : 9).
3. Einlegen in Müllersche Flüssigkeit 12 Stunden.
4. Abspülen einige Minuten in gewöhnlichem Wasser, dann in Aq. destill.
5. Einlegen in einprozentiger Osmiumlösung für $\frac{1}{2}$ —1 Minute unter Lichtabschluß.
6. Kurzes Abspülen.
7. Färbung mit ALTMANNscher Anilinwasser-Säurefuchsinlösung. (100 ccm kalt gesättigte filtrierte Lösung von Anilin in Aq. destill. + 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.

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

Differenzierung mit Pikrinsäure-Alkohol (gesättigte alkoh. Pikrinsäurelösung 1 : 20% Alkohol 7 Teile). Mehrmaliges Auftropfen, bis das Präparat gelblich oder hellgelblich aussieht.

9. Kurzes Abspülen in Alkoh. absolut.
10. Toluol oder Xylol.
11. Einbetten in Canadabalsam.

Bei dieser Färbung werden die eosinophilen Granula schwarzrot, die neutrophilen (amphophilen) blaß bräunlich-rot; die basophilen bleiben farblos und sehen wie Vakuolen aus.

In den Lymphocyten erscheinen gelblich-karmoisinrote Körnchen, die in ihrer Größe die Mitte zwischen den neutrophilen und eosinophilen inne halten.

Über den Nachweis dieser Lymphocytengranula auf Schnittpräparaten mit der Azur II. Eosin-Aceton-Methode von SCHRIDDE siehe S. 17.

FÄRBUNGEN AN ORGANSCHNITTEN.

Eine absolut sichere und schöne Färbung aller Blutzellen in Geweben würde als wichtiger Fortschritt zu begrüßen sein. Leider sind fast alle bisherigen Resultate nur zum Teil befriedigend.

Zur **Fixation** der Gewebsteile ist empfehlenswert Zenkersche Lösung und Formol-Müller (ZIELER, SCHRIDDE), Zenker-Formol (PAPPENHEIM, MAXIMOW), endlich Methylalkohol + Aceton + Formol (5 : 2 : 1) nach PAPPENHEIM. BENDA hat früher Formol-Chromsäurefixation empfohlen, STERNBERG Alkohol für Giemsa-Färbung oder Sublimat-Pikrinsäure (für Triacidfärbung), doch scheinen diese letzteren Methoden zumeist nicht distinkte Granulafärbung zu geben.

Als bestes Fixationsmittel von allen dürfte sich die ZENKERSche Flüssigkeit bewähren.

Die Paraffinschnitte müssen sehr dünn sein und dürfen $5\ \mu$ kaum erreichen.

Die **Färbung** kann mit Triacid gelingen. Dies ist nach meiner Erfahrung indessen nur bei Gewebe der Fall, das nicht länger als wenige Stunden nach dem Tode entnommen worden ist. Dieses Moment spielt für eine gute Färbung stets eine große Rolle.

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

Leishman färbt nach komplizierter Vorbehandlung (siehe Original!) 1— $1\frac{1}{2}$ Stunden mit 2 Teilen LEISHMANScher Lösung auf 3 Teile Aq. destill. — Nachher Differenzierung in Essigsäure 1 : 1500 und Natronlauge 1 : 7000.

Schriddes Azur II.-Eosin-Acetonmethode. Fixation beliebig, z. B. Formol-Müller (Formol 40prozentig 1 Teil, Müller 9 Teile), Färbung Giemsa-Lösung (2 Tropfen auf je 1 ccm Aq. destill.), 20 Minuten. Sorgfältiges Waschen. Trocknen mit Fließpapier; dann für 1 Minute in wasserfreies Aceton puriss. (KAHLBAUM). Überführung in säurefreies Xylol oder Toluol. Neutraler Canadabalsam. 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.

Eigene Versuche befriedigten bisher nicht vollständig.

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 μ dick sein. ZIELER färbt mit der GRÜBLERSchen Lösung unverdünnt 2 bis 3 Minuten, wäscht in Aq. destill. bis zur ordentlichen Rotfärbung aus, trocknet zwischen Fließpapier, bringt die Präparate wie SCHRIDDE in säurefreies Aceton, wo noch einige blaue Wolken abgehen, dann Xylol und säurefreier Canadabalsam.

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

Assmann bringt folgende Methode in Vorschlag.

Die Gewebeschnitte dürfen 5 μ nicht überschreiten.

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

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

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

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

Bei zahlreichen Untersuchungen von FISCHER, die unter meiner Leitung vorgenommen worden sind, wurden die besten Resultate nach der ASSMANNschen Methode erzielt. Allein auch diese befriedigte häufig nicht, indem bei deutlicher Granulafärbung meist die Kernfärbung nicht genügend ausfiel und andererseits bei guter Kerntinktion die Granulation versagte. Nach vielen Versuchen hat sich die folgende Methode von FISCHER, die eine Alaunkarminvorfärbung vorausschickt, als die geeignetste erwiesen.

Fischersehe 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 konc. HCl : 100 cm³ 70% Alkohol), bis das Protoplasma farblos erscheint.
3. Auswässern in gewöhnlichem Wasser 5—15 Minuten.
4. Abspülen in Aq. destill.

- B. 1. Färbung in einer Mischung von 30 ccm Aq. destill., 7 Tropfen 1 promilliger Essigsäure und 60 Tropfen MAY-GRÜNWALDSchem Eosin-Methylenblau während 1—24 Stunden.
2. Abspülen in Brunnenwasser und Differenzieren in 150 ccm Aq. destill. und 1—2 Tropfen Eisessig während einiger Sekunden bis Minuten, bis die Granula distinkt zum Vorschein kommen (Kontrolle unter dem Mikroskop!).
3. Abspülen in Aq. destill.
4. Abtrocknen des Objektträgers bis an den Rand des Schnittes und Absaugen des Wassers vom Schnitte mit Fließpapier.
5. Schnelles Entwässern in absolutem Alkohol eine bis mehrere Sekunden, je nach der Intensität der Mythylenblaufärbung.
6. Aufhellen in säurefreiem Xylol. Canada.

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

Literatur über Blutfärbungen.

ASSMANN, Münch. m. W. 1906. Nr. 28. S. 1350. — EHRlich, Farbenanalytische Untersuchungen. Berlin 1891; Die Anämie. Bd. I. Nothnagelsche Sammlung. — GIEMSA, Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. 31. S. 429. Bd. 32. S. 307. Bd. 37. S. 308; Deutsch. m. W. 1905. Nr. 26. — JENNER, Lancet 1899. I. S. 370. — LAPORTE, Fortschritte d. Med. 1903. Nr. 11. — LEISHMAN, British med. Journal. 1901. 21. Sept; Journal of Hygiene. Bd. 4. 1904. — MAY, Münch. med. W. 1906. Nr. 8. — MAY u. GRÜNWALD, Zentralbl. f. inn. Med. 1902. — L. MICHAELIS, Zentrbl. f. Bakt. 1901. Bd. 29; Einführung in die Farbstoffchemie. Berlin. 1902. KARGER. — MOSE, Zieglers Zentralbl. 1905. — Nocht, Centralbl. f. Bact. Bd. 24 u. 25; Enzyklopäd. d. mikrosk. Technik. 1903. — PAPPENHEIM, Virchows Arch. Bd. 157. 1899; Grundriß der Farbchemie. Berlin. 1901. HAUSWALD; Deutsch. m. W. 1901. Nr. 46 u. fol. häm. III. 1906. S. 344. — PRÖSCHER, Zieglers Zentralbl. 1905. Nr. 21. — REUTER, Zentralblatt f. Bakt. 1901. Nr. 6. — ROMANOWSKY, St. Petersburg m. W. 1891. — RUBINSTEIN, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 14. 1898. — Schridde, Münch. m. W. 1905. S. 1233. 1906. S. 160; Zieglers Zentralbl. 1905. Nr. 19; Zentralbl. f. Physiolog. Bd. 19. 1905. — STERNBERG, Verhandlg. d. deutsch. Path. Ges. 1903; Zentralbl. f. Pathol. 1905. Nr. 8. — TÜRK, Vorlesungen über klin. Hämatologie. 1904; Wiener kl. W. 1901. Nr. 18. — v. WILLEBRANDT, Deutsch. m. W. 1901. Nr. 4. — ZIELER, Zieglers Zentralbl. 1906. Bd. 17. Nr. 11. — ZIEMANN, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 24. 1898.

KAMMERFÄRBUNGEN.

Da bei der Herstellung von Ausstrichpräparaten häufig einzelne Zellen zerstört werden und auch die Leukocyten in nicht völlig tadellosen Präparaten sich oft etwas ungleich verteilen (polymorphkernige sind häufiger in den dünneren Randschichten, Lymphocyten mehr in den dickeren zentralen), so liegt es nahe, Färbungen in der Zählkammer selbst vorzunehmen.

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

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

Man macht sich 2 Lösungen, die in dunklen Gläsern aufbewahrt werden.

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

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

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

Im allgemeinen muß man gleiche Tropfenzahl beider Lösungen zur sicheren Granulafärbung mischen, mitunter kann man aber etwas variieren, wenn die Färbung der Granulation oder der Kerne zu ungenügend ist. Im

ersteren Falle hat man etwas zu viel Methylenblau, im letzteren zu wenig. Eine genügende Tinktion sowohl der Kerne wie der Granula gelingt indessen nicht, so daß man eben am besten auf eine gute Tinktion der Körner tendiert.

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

TÜRK empfiehlt als Verdünnungsflüssigkeit für die Leukocytenzählung nicht wie sonst $\frac{1}{3}$ prozentige Essigsäure, sondern folgende Lösung zu verwenden.

Acidi acetici glacial.	3,0
Aq. destillat.	300,0
1% wässrige Gentianaviolettlösung	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 Benützung 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 eingeerbten 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.

Literatur über Kammerfärbungen.

RIEBES, Münch. m. W. 1906. Nr. 31. — TÜRK, Vorlesungen über klinische Hämatologie. Wien 1904. — ZOLLIKOFER, Zeitsch. f. wissensch. Mikroskopie. 1900.

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, Brilliant-Kresylblau, Methylgrün, Methylazur 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, die der Geübtere indessen unschwer erkennt.

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 und Eintrocknenlassen einer dünnen Schicht der Farblösung 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.

An den roten Blutkörperchen verrät sich die Polychromasie; ferner erscheint eine Art basophiler Körnelung, die aber mit der S. 90 erwähnten Granulation der fixierten Präparate absolut nichts zu tun hat. Aufs schönste färbt sich gewöhnlich sehr früh der Erythrocytenkern.

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

An den Leukocyten bemerkt man zuerst eine diffuse Protoplasma-durchtränkung, die bei basischen Farbstoffen wieder verschwindet, sobald der Kern intensiv die Farbe angenommen hat. Nachher treten Granulafärbungen ein, je nach der sauren, neutralen oder basischen Natur des Farbstoffes. An den Lymphocyten heben sich die Nukleolen aufs deutlichste ab, ebenso die azurophilen Granula. Für viele Einzelheiten verweise ich auf die Arbeiten von PAPPENHEIM und von ROSIN und BIBERGEIL.

Literatur über Vitalfärbungen.

Vergleiche auch rote Blutkörperchen und Blutplättchen.

ARNOLD, Virch. Archiv. Bd. 157 u. Anat. Anzeiger. Bd. 16. — BLOCH, Beiträge zur Hämatologie, Zeitschr. f. kl. M. Bd. 43. — EHRLICH, Die Anämie. I. Teil. Nothnagelsche Sammlung. — NAKANISHI, Münch. m. W. 1901. — PAPPENHEIM, Virchows Arch. Bd. 143, 157, 169; Münch. m. W. 1901. Nr. 24; fol. hämat. 1905. S. 260. — PLATO, Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 56 u. Münch. m. W. 1900. S. 1257. — PREISICH u. HEIM, Deutsch. m. W. 1903. — PUCHBERGER, Virch. Arch. Bd. 171. — ROSIN u. BIBERGEIL, Zeitschrift f. klin. Med. 1904. Bd. 54; Virch. Archiv. Bd. 178; Deutsch. m. W. 1902; Berl. kl. W. 1904. — SACERDOTTI, Berl. kl. W. 1905.

DIE ZÄHLUNG DER BLUTZELLEN.

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

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

Die Zählung der roten Blutkörperchen.

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

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

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

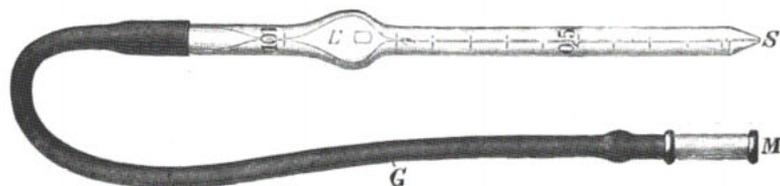


Fig. 2. Mischpipette für rote Blutkörperchen nach THOMA.

Ein genügend großer Blutropfen wird vorsichtig und langsam angesaugt bis zur Marke 0,5, wenn es sich wahrscheinlich um annähernd normale Erythrocytenwerte handelt, bis 1,0 bei hochgradigen Anämien.

Sodann wird die Spitze *S* der Pipette mit dem Finger rasch von dem anhaftenden Blute befreit und jetzt die Verdünnungsflüssigkeit angesogen. Zunächst soll die Verdünnung zum Zwecke gleichmäßiger Verteilung des Blutes ziemlich rasch vor sich gehen, später aber langsamer, je mehr man mit der Füllung der Ampulle sich der Marke 101 nähert. Diese darf nicht überschritten werden.

Haben sich infolge zu langsamen Arbeitens Gerinnsel gebildet, so ist die genaue Bestimmung unmöglich, und es bleibt nichts anderes übrig als eine neue Pipette zu füllen. Mitunter bilden sich Luftblasen. Entstehen sie schon beim Ansaugen vor der Marke 0,5 (resp. 1,0), so fängt man besser von vorn an. Durch Vorsicht und Benutzung eines genügend großen Blutropfens kann diese Unannehmlichkeit erspart werden. Bilden sich Luftblasen erst in der Ampulle dadurch, daß die Glasperle nicht von allen Seiten gleichzeitig umspült wird, so läßt sich dieser Übelstand noch heben, indem man bei senkrechter Haltung der 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—3 Minuten durchgeführt werden.

II. Die Füllung der Zählkammer.

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

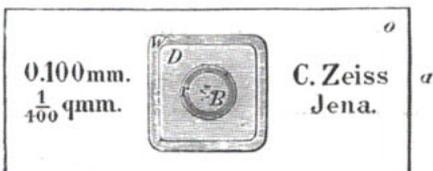
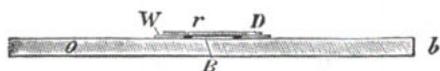


Fig. 3. Zählkammer.

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

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 Primas $\frac{1}{4000}$ mm³.

Man bläst aus der Mischpipette einen Teil des Inhaltes aus und wendet am besten einen Tropfen aus der Mitte der Ampulle zur Füllung der Kammer, nachdem unmittelbar vor der Beschickung der Zählkammer die Spitze der Mischpipette von der anhaftenden Flüssigkeit befreit worden ist. Der nicht allzu große Tropfen wird auf die Kammermitte gebracht und schnell das Deckglas angedrückt. Geschieht dies nicht rasch, so kann sich das Blut natürlich sedimentieren, und es entstehen enorme Fehler. Beim Andrücken ist die Bildung von Luftblasen absolut zu vermeiden, indem man das Deckglas zuerst auf einer Kante auflegt, dann mit dem Tropfen in Berührung bringt und erst jetzt völlig senkt. Es muß sich auch das Blut gleichmäßig ausbreiten. Unter allen Umständen soll der Boden (*B*) der Zählkammer bis zur ringförmigen Rinne *r* vollständig ausgefüllt werden, weil sonst die peripheren Schichten an Blutkörperchen außerordentlich ärmer sind als die zentralen. Es tut auch gar nichts, wenn etwas Flüssigkeit in die Rinne hineingelangt. Dagegen galt es bisher als durchaus unstatthaft, daß sich auch außerhalb der Rinne unter dem Deckglas noch etwas Flüssigkeit findet. TÜRK hat neuerdings 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 Zuverlässigkeit dieser neuen Methodik erwiesen, und ich bediene mich ihrer sehr gern, weil das Deckglas viel fester anhaftet und erst beim sicheren und konstanten Anschluß desselben die richtige Kammerhöhe garantiert ist. In der Tat kann man sich bei der (unstatthaften!) nicht vollständigen Füllung des Kammerbodens leicht überzeugen, wie verschieden weit die Flüssigkeit reicht, wenn das Deckglas sehr gut oder wenn es nur lose haftet.

Ist die Kammerfüllung vollendet, so wartet man 2 Minuten ab, damit sich die Blutkörperchen absetzen. Jetzt kontrolliert man 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 mittel-

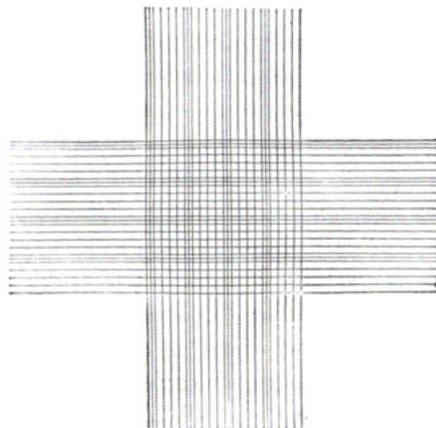


Fig. 4. Netzteilung nach THOMA.
(20 mal vergr.)

starke Vergrößerung (D des Mikroskopes von ZEISS) und eine sehr gute Lichtquelle (weiße Wolke oder am besten Auerlicht!) benützt werden. Die feine Netzteilung soll mit großer Deutlichkeit hervortreten.

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

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

Es wird jetzt durch Verschiebung der Zählkammer (am besten mit verschiebbaren 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.

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, ELZHOLZ, TÜRK usw. angegebenen, auf S. 28 u. 29 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.

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% betragen (REINERT). Bei schweren Anämien muß man daher viel mehr als 10 Reihen, ja viel mehr als 20 Reihen zählen; mithin reicht dafür die ursprüngliche THOMA-ZEISSsche Kammer gar nicht aus, und es sollte daher ganz allgemein nicht nur für die Leukocytenbestimmung, sondern schon für die Ermittlung der Erythrocytenwerte eine der größeren Kammern von ZAPPERT, ELZHOLZ 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 HAYEM'Scher Flüssigkeit alle korpuskulären Elemente zählt und nachher in Essigsäure die Leukocyten bestimmt und die Erythrocyten dann aus der Gesamtsumme — weiße Zellen berechnet.

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

Die Zählkammer darf nur mit Wasser gereinigt werden, Alkohol, Äther usw. würden den Kitt (Canadabalsam) 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.

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

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

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

Besonders empfehlenswert ist das Zusetzen eines Farbstoffes zu der Essigsäure, so daß die jetzt gefärbten Zellkerne mit größter Deutlichkeit

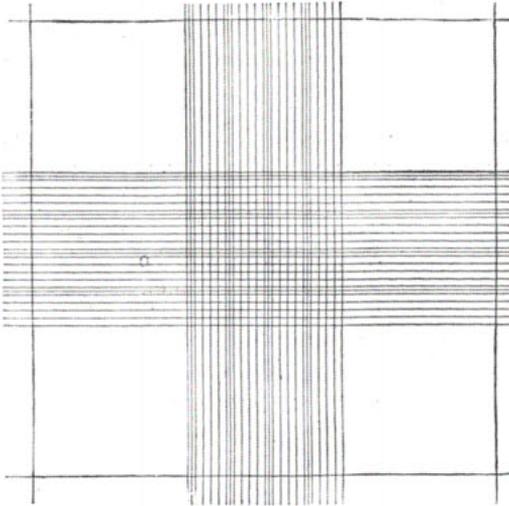


Fig. 5. Netzteilung nach ZAPPERT.
(20 mal vergr.)

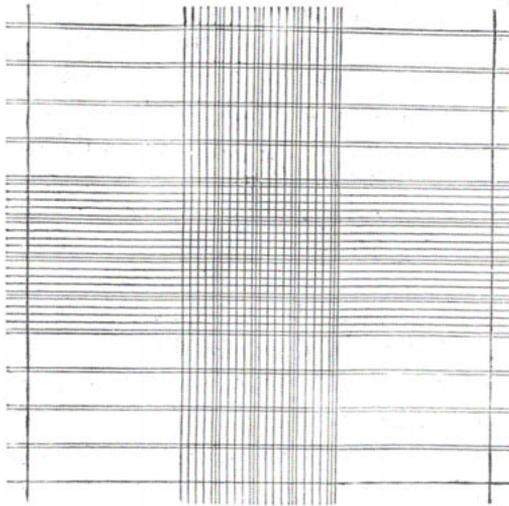


Fig. 6. Netzteilung nach ELZHOLZ.
(20 mal vergr.)

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. acetic. glac.	3,0
1 % wässrige Gentiana-violettlösung	3,0
Aq. destill.	300,0.

Die Ermittlung der Leucocytenwerte wird damit nicht nur viel rascher, sondern auch exakter erreicht und auch eine differentielle Zählung möglich. Ich verweise auf das S. 21 Gesagte.

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

Es ist daher notwendig, eine Netzteilung zu gebrauchen, die sich nicht nur auf das Zentrum der Kammer, sondern auch noch über viele anliegenden Partien erstreckt. Eine solche Netzteilung besitzt die Zählkammer nach ZAPPERT (vgl. Abbildung).

Hier sind 9 THOMA-ZEISSsche Felder aneinander gereiht und können 5 Felder genau gezählt und 4 weitere wenigstens abgeschätzt werden.

Dasselbe Prinzip verfolgen die noch geeigneteren Zählkammern nach ELZHOLZ und nach TÜRK (siehe Fig. 6 u. 7).

Es kann nicht genug betont werden, daß nur Leukocytenwerte, die mit diesen Kammern gewonnen worden sind, Anspruch auf Zuverlässigkeit erheben dürfen. Es sollten daher nur noch solche Kammern im Gebrauche stehen. Ich selbst habe seit vielen Jahren nie andere Apparate mehr benützt.

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

Eine kleine THOMA-ZEISSsche Kammer enthält normal 70—80 Leukocyten. Wenn immer möglich, soll man zur Berechnung der Gesamtzahl etwa 300 weiße Blutkörperchen verwenden. Auch hier dürfen natürlich die Einzelwerte der kleinen Kammern nicht allzu sehr divergieren. Bei starken

Leukocyten verdünnt man besser auf $\frac{1}{20}$ durch Ansaugen des Blutes bis zur Marke 0,5, bei den hohen Zahlen der Leukämie muß die Pipette für Erythrocyten, das heißt, eine Verdünnung von 1:100, benützt werden.

Das Verschieben der Zählkammer erfolgt am besten von Hand. Zur Berechnung geht man von der Einzelkammer aus, die 400 kleine Quadrate besitzt und also einen Gehalt 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).

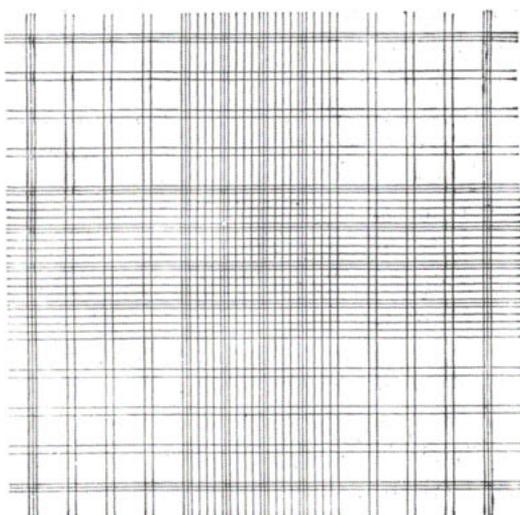


Fig. 7. Netzteilung nach TÜRK.
(20 mal vergr.)

ZÄHLUNG DER BLUTPLÄTTCHEN.

Die Zählung der Blutplättchen begegnet dadurch ganz besonderen Schwierigkeiten, daß diese Gebilde überaus rasch verkleben, konfluieren und sich damit einer genauen Feststellung entziehen. Bei ganz schnellem Arbeiten mit Mischpipette und TÜRKscher Leukocytenzählflüssigkeit kann es gelingen, eine Kammerzählung zu erzielen; doch glauben manche

Autoren, daß alsdann eine unkontrollierbare Zahl von Plättchen an den Wandungen der Mischpipette hängen bleiben und daher das erhaltene Resultat zu ungenau sei.

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

SAHLI empfiehlt der Magnesiumsulfatlösung so viel Methylviolett zuzusetzen, daß die Flüssigkeit in einem Meßzylinder von 10 cm³ 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 an, sorgt durch vorsichtiges Schütteln für eine gleichmäßige Verteilung und bestimmt in der Zählkammer das Verhältnis der Plättchen zu den Erythrocyten.

DIE ZÄHLUNG DER LEUKOCYTENARTEN IN GEFÄRBTEN TROCKENPRÄPARATEN.

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

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

Zu einer sicheren Feststellung muß eine große Zahl von Leukocyten klassifiziert werden, weil sonst natürlich der Zufall bei kleiner Zahl arge Irrtümer schaffen kann. 300 Zellen müssen mindestens analysiert werden, besser noch mehr. Für eine

irgend wie sichere Feststellung einer spärlich vertretenen Art, z. B. der Plasmazellen, der Mastzellen, der Eosinophilen, muß man unbedingt 1000 Zellen durchgehen.

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

Normoblast. | Megablast. | Myelocyt. | Neutr. | Kos. | Basoph. | Lymphocyt. | Monon. | Übergf. | Plasmaz. | usw.
und notiere mit einem Strich die auftauchende Art.

Es geht natürlich nicht an, dieselbe Zelle zweimal unter die Augen zu bekommen und zu zählen. Bei einem größeren Präparate, das reich an Leukocyten ist, bleibt die Wahrscheinlichkeit, auf die gleichen Zellen wieder zu kommen, gering; man darf also hier „blind“, d. h. nach beliebigen Richtungen verschieben. Am zweckmäßigsten ist aber stets, und bei kleiner Leukocytenzahl allein zulässig, die Zählung von Gesichtsfeldreihen mit verschiebbarem Objektisch. Man geht nach bestimmter Richtung vor und analysiert systematisch das Präparat. Natürlich müssen eventuell zerquetschte Zellen auch gezählt werden. Bei den granulierten Zellen ist die Einordnung zerdrückter Exemplare wegen der sichtbaren Granulation leicht; bei den anderen kann das schwer fallen oder ganz unmöglich sein. Manche Autoren hielten diese Gebilde sogar für Degenerationsformen und zählten sie besonders. Das letztere soll man tun, auch dann, wenn man an die Präexistenz der Degeneration nicht glaubt.

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

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

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

Absolut unzuverlässig ist die Berechnung der Leukocytenzahl aus dem Verhältnis der roten zu den weißen Zellen im Trockenpräparate, wobei dann der Leukocytenwert aus der allein ermittelten Zahl der roten Blutkörperchen gewonnen wird.

Die Konstruktion eines sog. Cytenquotienten $\frac{\text{Erythrocyt}}{\text{Leukocyt}}$ hat überhaupt keinen Sinn; denn die Bildungen 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 sogar oft leichte 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 praktischem Interesse. Leider sind die bisher angewandten Methoden noch nicht absolut genau, wenn auch die Fortschritte in der letzten Zeit immerhin recht ansehnliche geworden sind.

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 Bluttröpfchen annähernd richtig zu beurteilen. Nur geringer Übung bedarf es, zu erkennen, ob Anämie vorliegt oder nicht, ebenso um heraus zu finden, ob die Blutarmut hochgradig oder mittelstark sei.

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

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

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

Auf kolorimetrischen Vergleichen beruhen auch eine große Zahl von Apparaten zur Hämoglobinbestimmung. Bei den einfacheren, aber natürlich ungenaueren Methoden, wird das Hämoglobin mit einer haltbaren Farblösung verglichen, die nicht chemisch identisch, sondern nur färberisch ähnlich beschaffen ist. Vorzuziehen ist natürlich der kolorimetrische Vergleich mit derselben Substanz, wie das in der HOPPE-SEYLER Doppelpipette und dem neuen SAHLISchen Hämometer verwirklicht ist. Hier wird das

Hämoglobin in Hämatin, dort in CO-Hämoglobin verwandelt und mit Lösungen gleicher chemischer Natur verglichen, so daß die Farbnuance wirklich dieselbe ist, was zur Gewinnung eines genauen Resultates ganz wesentlich beiträgt.

Das Hämoglobinometer von Sahli-Gowers.

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

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

Der hervorquellende Blutropfen wird in einer 20 mm^3 fassenden Kapillarpipette bis zur Marke aufgesaugt. Schon vorher ist etwas Wasser in das graduierte Röhrchen gebracht worden, und in dieses hinein wird jetzt das Blut befördert, nachdem die Pipette an ihrer Spitze von dem

äußerlich anhaftenden Blut befreit worden ist. Nun wird die Pipette mehrmals mit Wasser gefüllt, und dieses in das graduierte Röhrchen hineingeblasen, damit auch die letzten Spuren von Hämoglobin mitberechnet werden. Die Blutlösung muß jetzt weiter verdünnt werden bis zur färberischen Übereinstimmung mit dem Vergleichsröhrchen. Dazu dient ein Glasröhrchen, aus dem das Wasser tropfweise herausquillt. Es ist nötig, ein weißes Seidenpapier hinter die beiden Lösungen zu halten, um die Farben besser vergleichen zu können. Der Vergleich muß im durchfallenden Lichte geschehen und deshalb bringt man beide Röhrchen in die dazu bestimmten Öffnungen des beigegebenen Kautschukpflöckchens. Je näher man der Farbe des Vergleichsröhrchens kommt, desto vorsichtiger wird Wasser zugesetzt, um die Grenze nicht zu überschreiten. Die störende Einteilung des Röhrchens wird am besten seitwärts gedreht, um die Vergleichung besser ausführen

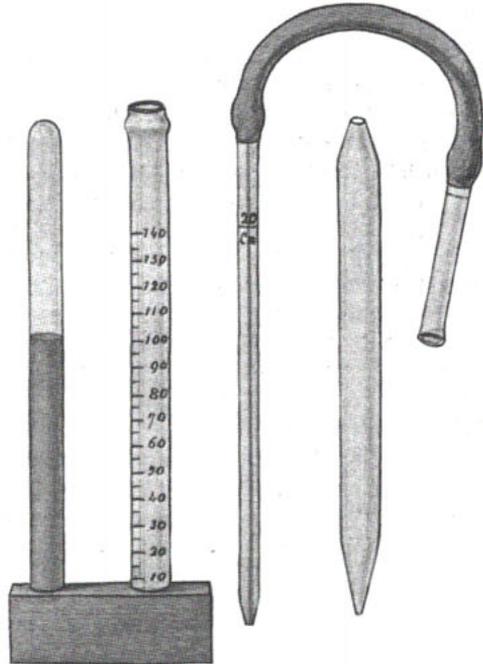


Fig. 8. Hämoglobinometer von SAHLI-GOWERS.

zu können. Stets muß die Blutlösung durch leichtes Schütteln und Umdrehen, wobei man mit dem Finger die Öffnung verschließt, sorgfältig gemischt werden; auch dürfen keine Gerinnsel sich bilden. Bei richtiger Farbenübereinstimmung erhält man den Hämoglobinwert des untersuchten Blutes in Prozenten, wobei 100% als der normale Wert betrachtet wird. Für Untersuchungen bei Nacht muß eine andere Vergleichsfarbe benützt werden; deshalb wird dem Instrumente noch ein Röhrchen für die Untersuchung bei künstlichem Lichte beigegeben, bei dem Blutlösungen einen dunkleren Farbenton zeigen.

Mögliche Fehlerquellen der Bestimmung.

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

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

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

4. Der optische Ablesungsfehler des Instrumentes beträgt mindestens 5—10%. Innerhalb dieser Breite kann man sich unsicher fühlen, ob bereits Farbengleichheit besteht oder noch nicht. Das mag man, für ungefähr normal hohe Werte schließlich, wenn auch ungenügend genug, noch hinnehmen, im Erwägen, daß so große Schwankungen schon physiologisch vorkommen. Für die Beurteilung therapeutischer Erfolge und für die Feststellung niedriger Hämoglobinwerte ist das aber zweifellos zu viel. Für den letzten Fall kann man, wie ich das seit 9 Jahren ausübe, eine vorzügliche Korrektur vornehmen, wenn man mit der zwei- oder dreifachen Blutmenge arbeitet. Vorausgesetzt, der wirkliche Wert wäre 25%, so läßt uns die gewöhnliche Prüfung oft im Zweifel, ob 20, 25 oder 30% vorhanden sind. Dies kommt zum Teil davon her, daß bei so niedrigen Hämoglobinwerten der Wasserzusatz nicht sorgfältig genug vorgenommen werden kann (SAHLI). Nehme ich nun $3 \times 20 \text{ mm}^3$ indem ich drei Kapillarpipetten fülle (jede muß natürlich vollkommen trocken sein!), so fühlt man sich zwischen den Werten 70—75—80 unsicher. Der Geübte freilich kann wohl stets noch die entferntesten Werte ausschließen und die Fehlerbreite zwischen 72—78 einengen. Nun hat man aber den erhaltenen Wert durch 3 zu teilen, und damit wird auch der Fehler auf $\frac{1}{3}$ reduziert. Man hat also $\frac{72}{3} = 24\%$ oder $\frac{78}{3} = 26\%$. Damit kann also tatsächlich eine außerordentlich genaue Bestimmung gemacht werden.

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

Hämometer von Sahli.

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

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

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

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

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

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

Für niedrige Hämoglobinwerte empfiehlt sich auch hier die Verwendung der dreifachen Blutmenge, wie dies S. 34 auseinandergesetzt ist.

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

Mögliche Fehler. 1. Bei der Herstellung der Standardröhrchen kann ein Fehler dadurch entstehen, daß der Glasbläser den Flüssigkeitsvorrat ungenügend um-

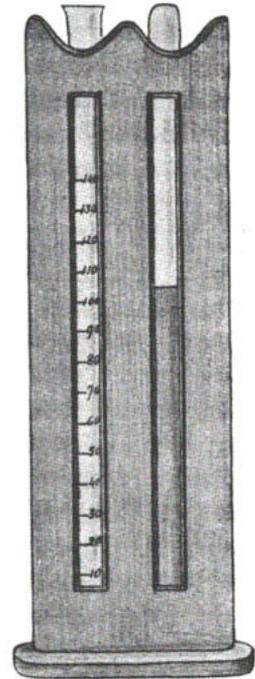


Fig. 9.
Hämometer von SAHLI.

schüttelt. 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% des Wertes abgezogen werden. Die neueren Standardröhrchen sind jetzt erheblich dunkler, seitdem man diesen Fehler ausgeschaltet hat.

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% 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% Hämoglobin besitzen. Die Differenzen bei gesunden Menschen sind überhaupt recht beträchtlich und gehen nach SAHLI bis zu 20%.

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

Das Fleischlsche Hämometer.

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

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

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

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

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

Die Mischpipette gleicht derjenigen für die Zählung der roten Blutkörperchen. Die 200fache Verdünnung wird mit 1% Sodalösung durch-

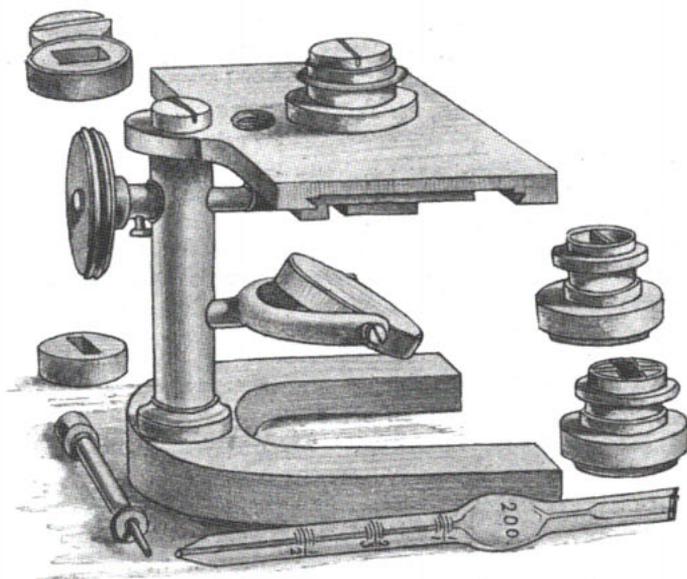


Fig. 10. FLEISCHL-MIESCHERSches Hämometer.

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

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

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

Eine genaue Gebrauchsanweisung ist dem Apparat beigegeben. Die verschiedene Verdünnung des Blutes ist sehr zweckmäßig, damit man die geeignetsten Partien des Keiles (das sind die mittleren) zur Verwendung ziehen kann. Man soll daher bei voraussichtlich hohem Hämoglobingehalt 1:400 verdünnen.

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

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

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

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

Es scheint mir daher der FLEISCHLSche Apparat selbst in der so erheblichen Verbesserung durch MIESCHER prinzipiell dem neuen SAHLischen Hämometer keineswegs gleichwertig. Dieses ist in seiner wissenschaftlichen

Grundlage viel besser fundiert. Ganz besonders aber möchte ich davor warnen, dem scheinbar genauen Mittelwert des FLEISCHL-MIESCHERSCHEN Hämometers eine größere Bedeutung zuzusprechen.

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

Das **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 zu 5% vorkommen.

Ich verweise auf die Publikation von HÜFNER, Zeitschrift für physiologische Chemie, 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, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 16.

Andre physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden des Blutes.

In den folgenden Abschnitten werden eine große Anzahl physikalisch-chemischer Untersuchungsmethoden besprochen, deren wissenschaftliche Bedeutung unbestritten, deren praktische Verwendung aber sehr beschränkt ist. Das liegt zum Teil an der Umständlichkeit der Methodik, zum Teil daran, daß die erhaltenen Resultate nicht so einfach zu deuten sind. Es gibt einige Autoren, welche den Wert gerade dieser Untersuchungen, wie des Trockenrückstandes, der Volumenprocente außerordentlich hoch bemessen, ja direkt zur Vernachlässigung morphologischer Verhältnisse und zur Geringschätzung der Hämoglobin- und Erythrocytenwerte gekommen sind. Gegen diese Tendenz muß des entschiedensten Front gemacht werden, selbst wenn ja alle diese Stimmen ziemlich ungehört verhallt sind, und die heutige Zeitströmung vollkommen ins morphologische Fahrwasser geführt hat.

Zunächst sind die Ergebnisse aller physikalisch-chemischen Methoden außerordentlich von einer richtigen Technik abhängig. Es führt aber häufig erst der Fortschritt der Wissenschaft zur Erkenntnis, welche Methodik richtig und welche falsch ist. So wissen wir heute, daß alle Untersuchungen auf spezifisches Gewicht, Trockensubstanz, Eiweißgehalt usw. mit Blut aus Schröpfköpfen durchaus unzuverlässig, diejenigen aus Hautschnitten auch nicht völlig einwandfrei sind, weil eine Beimischung von

Gewebsflüssigkeit nie völlig ausgeschlossen werden kann. Ferner wissen wir, daß das gestaute Blut bei der Venenpunktion sehr rasch große Veränderungen aufweist und die Verwendung von Blut, das unter Luftzutritt defibriert worden ist, für die Bestimmung der Volumenprocente sich nicht eignet. Viele scheinbar einfache Methoden, wie die spontane Sedimentierung, die Bestimmung der Gerinnungszeit usw. sind ganz unwissenschaftlich und hängen von den verschiedensten äußeren Faktoren wie Temperatur, Weite des Lumens und ähnlichen, gewöhnlich völlig vernachlässigten Momenten ab.

Die Verwendung kleiner Blutmengen für chemische Analysen wie die N-Bestimmung ist auch durchaus nicht angängig.

Wenn man heute die Technik früherer Blutuntersuchungen auf diesem Gebiete durchgeht, so wird man keine große Zuverlässigkeit, häufig aber völlig unrichtige Methodik antreffen, und es ist begreiflich, daß gerade hier die Anschauungen und Resultate der Autoren so weit auseinander gehen.

Man kommt daher zu dem Schluß, daß eine ganze Reihe von Untersuchungen heute mit verbesserter Technik wiederholt werden sollten und vorläufig große Kritik geboten ist, wenn man aus den bisherigen Resultaten Schlüsse ziehen will.

Ein zweites Moment spielt bei den Ergebnissen der physikalisch-chemischen Methoden eine große Rolle, und das ist der Umstand, daß die erhaltenen Werte nicht wie Hämoglobin und Erythrocytenzahl einfache, von nichts weiter abhängige, sondern ganz komplexe Größen darstellen. So ist die Resistenz der Blutkörperchen von einer Reihe von Faktoren abhängig. Der Trockenrückstand, ein an sich sehr genau eruiertbarer Wert, hängt nicht nur von der Blutkörperchenzahl und dem Eiweißgehalt, sondern auch von der Menge der Salze ab. Alle Schlüsse auf die Konzentration des Blutes, auf eventuelle Verwässerung aus dem Trockenrückstand sind daher zum mindesten ganz ungenau; denn es kann in pathologischen Fällen durch Salzretention der Trockenrückstand sogar erhöht und das Blut dennoch verdünnt sein.

Bei der N-Bestimmung trübt der Extraktiv N die Berechnung auf Eiweiß; bei der Volumenbestimmung spielt der osmotische Druck eine wichtige Rolle und kann nicht vernachlässigt werden. In der Alkalinitätsbestimmung sind wir über die ersten, prinzipiell sehr angreifbaren Versuche kaum hinaus.

Es kommt nun endlich hinzu, daß eine ganze Anzahl der Befunde außerordentlich vom Austausch zwischen Blutplasma und Gewebeplasma beeinflußt werden und zwar in unverhältnismäßig höherem Grade als die Zahlen für Hämoglobin und Blutkörperchen, weil diese ja doch in einer geschlossenen Bahn sich bewegen. Daher spielt der Tonus der Gefäße, die Ernährung, die Gesamtblutmenge, bei den verschiedensten Affektionen

für die Gestaltung der Resultate eine bedeutende Rolle, so daß manche pathologischen Befunde gar nicht von der Krankheit an sich, sondern von sekundären Momenten abhängen. Auch diese Tatsache findet entweder keine oder doch nicht genügende Berücksichtigung. So ist es nicht im mindesten verwunderlich, wenn die physikalisch-chemischen Methoden bei derselben Krankheit geradezu entgegengesetzte Resultate zeitigen. Für die Werte des Hämoglobins und der korpuskulären Elemente ist manche sekundäre Erscheinung gewiß auch nicht gleichgültig, spielt aber quantitativ eine viel unbedeutendere Rolle.

Vollkommen verfehlt sind alle Bestrebungen, die Hämoglobin- und Erythrocytenwerte durch spezifisches Gewicht, Trockenrückstand, Volumenprocente ersetzen wollen. Das ist, wie später genauer ausgeführt werden wird, völlig unmöglich.

Alle diese Einwände berühren den bedeutenden, namentlich wissenschaftlichen, Wert richtig vorgenommener physikalisch-chemischer Methoden an sich nicht; aber bevor aus einem Resultat so weitgehende Schlüsse, wie das vielfach geschehen ist, gezogen werden, sollten die einzelnen Faktoren genauer analysiert werden. Eine Trockenrückstandbestimmung allein z. B. ist in ihrem Ergebnis sehr vieldeutig. Erst wenn eine Reihe anderer physikalisch-chemischer Ermittlungen, wie spezifisches Gewicht, osmotischer Druck usw. noch außerdem vorgenommen ist; wenn auch die Werte für Hämoglobin und Erythrocyten bekannt sind, dann, aber auch nur dann, vermag die Bestimmung einen guten Einblick zu gestatten.

DIE BESTIMMUNG DES SPEZIFISCHEN GEWICHTES.

Bei großen Mengen Blutes kann das spezifische Gewicht direkt aräometrisch durch Einsenken eines genauen Instrumentes oder pyknometrisch durch Abwägen einer gewissen Blutmenge in einem Gefäße und Vergleich mit dem Gewicht der gleichen Menge Wasser festgestellt werden. Dabei muß die Temperatur in Berechnung gezogen werden.

Nach denselben Prinzipien, nur unter bestimmten Modifikationen wird auch das spezifische Gewicht kleiner Blutmengen festgestellt. Es dienen hierzu

1. Die kapillarpyknometrische Methode von Schmaltz. Man benützt Glasröhrchen mit sorgfältig abgeglätteten Enden. Im Gebrauch stehen gewöhnlich Röhrchen von 12 cm Länge und 1½ mm innerem Durchmesser, die ca. 0,1 cm³ fassen. Viel richtiger wäre die Verwendung von Röhrchen, die mindestens das Doppelte fassen.

Zuerst wird das Röhrchen sorgfältig gereinigt und getrocknet (Alkohol und Äther), dann mit einer guten analytischen Wage, die 1/10 mg genau