

Der Hämatokrit, ein neuer Apparat zur Untersuchung des Blutes.¹

Von
S. G. Hedin.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Lund.)

Der Gedanke, die ungleich schweren festen Körper, die in einer Flüssigkeit aufgeschwemmt sind, mittelst der Centrifugalkraft voneinander zu trennen, ist schon mehrmals im Dienste der Wissenschaft angewandt worden. Besonders für Untersuchungen des Blutes hat der Centrifug nunmehr eine so grosse Bedeutung erhalten, dass er kaum in einem physiologischen Laboratorium fehlt. Auch in der Industrie ist die Centrifugalkraft mit Erfolg verwendet worden, z. B. beim Raffiniren des Zuckers, und besonders bei der Separirung der Milch. Noch eine Anwendung der Centrifugalkraft ist in den letzten Jahren mit dem Laktokrit gemacht worden, welcher eine bequeme Methode liefert, den Fettgehalt der Milch zu bestimmen. Verschiedene Versuche, einen derartigen Apparat für quantitative Untersuchungen des Blutes anzuwenden, waren von Herrn Prof. Blix schon angestellt, ehe der Laktokrit noch erfunden war. Wenn das Blut, mit einer die Coagulation hindernden Flüssigkeit gemischt, in Röhren centrifugirt wurde, mussten die Blutkörperchen in den äussersten Theilen der Röhre sich ansammeln, und man musste durch Messen ihres Volumens ein Maass des Gehaltes des Blutes an Blutkörperchen erhalten können. In der Sitzung des Vereins der Aerzte in Upsala am 4. December 1885 theilte er die Resultate seiner präliminären Versuche mit und zeigte den hierzu angewandten Apparat vor. Indessen hielt Prof. Blix die erhaltenen Resultate nicht

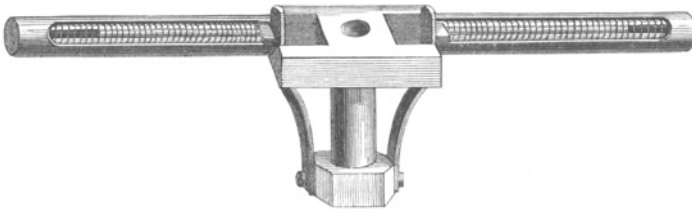
¹ Der Redaction zugegangen am 11. December 1889.

für völlig befriedigend, und er hat mir deswegen den Auftrag gegeben, neue Versuche anzustellen, um vielleicht eine praktisch anwendbare Methode für Blutuntersuchungen zu erhalten. Die ersten Resultate dieser Untersuchungen lege ich hier vor.

Meine erste Aufgabe war, die Coagulation des Blutes zu verhindern, ohne dass die Blutkörperchen ihre Form und Grösse merkbar änderten. Zugleich mussten die Blutkörperchen wenn möglich in der Weise gehärtet werden, dass sie nicht mehr als bis zu einem bestimmten Grade zusammengepresst werden könnten. Nur in diesem Falle könnte man erwarten, ein bei dem Separiren sich nicht mehr änderndes Volumen der Blutkörperchen früher oder später zu erhalten. Die Coagulation kann vermuthlich durch die meisten neutralen Natronsalze verhindert werden, wenigstens wenn die Lösungen hinreichend concentrirt sind. Während meiner Versuche habe ich verschiedene Salzlösungen gebraucht, z. B. Chlornatrium (8 procent. Lösung), Borax (4 procent.), phosphorsaures Natron (3·5 proc.). Wenn das Blut in gleichem Volumen mit einer dieser Lösungen gemischt wird, kann man durch Centrifugiren in Röhren die Blutkörperchen vom „Salzplasma“ scheiden, und man erhält wenigstens bei Anwendung von Chlornatrium früher oder später ein Volumen von Blutkörperchen, das bei fortgesetztem Centrifugiren sich nicht mehr vermindert. Indessen zeigt eine mikroskopische Untersuchung der Blutkörperchen, dass ihr Rand gezackt, ihr Volumen folglich vermindert ist. Bei Anwendung von phosphorsaurem Natron, bisweilen auch bei Anwendung von Borax oder Chlornatrium, verhalten sich die Blutkörperchen derart unzweckmässig, dass ihr Volumen nach beendetem Centrifugiren anschwillt. Wird das Blut, mit seinem gleichen Volumen 3 proc. Natriumsulfatlösung gemischt, dem Centrifugiren unterworfen, erhält man ein grösseres Volumen der Blutkörperchen als bei Anwendung der vorher erwähnten Lösungen; indessen coagulirt die Mischung binnen einiger Minuten. Dies wird durch Beimischung von saurem chromsauren Kali verhindert, ohne dass das Gesamtvolumen der Blutkörperchen geändert wird. Bei meinen späteren Versuchen habe ich deshalb zur Verhinderung der Coagulation des Blutes eine Mischung von Bichromat und Glaubersalz gebraucht und zwar in denselben Proportionen, als sie in Liquor Mülleri enthalten sind — also 1 Theil Glaubersalz, 2 Theile Bichromat, 100 Theile Wasser.

Zur Abmessung der Müller'schen Flüssigkeit sowie des Blutes habe ich ein Glasröhrchen angewandt, das in eine feine Spitze ausgezogen ist. Oberhalb der Spitze ist das Rohr erweitert, wird weiter hinauf wieder schmaler und ist da mit einem Index versehen. Die Mischung des Blutes mit der Müller'schen Flüssigkeit habe ich so

gemacht, dass ich das Messrohr mit der letzteren bis an den Index durch Saugen gefüllt und den Inhalt in ein Porzellantiegelchen entleert habe; hierauf wird das Rohr in derselben Weise mit Blut gefüllt und in das Tiegelchen entleert, wonach man die Mischung mit einem Glasstab umrührt. Eine so bereitete Mischung von Blut und Müller'scher Flüssigkeit in gleichen Volumen coagulirt nicht binnen einer Stunde. Nach dem Umrühren kann man sogleich mit der Blutmischung das Rohr füllen, in welchem das Separiren ausgeführt wird. Hierzu habe ich dickwandige Glasröhrchen angewandt, die 35^{mm} lang und in ihrer ganzen Länge gleich weit sind. Gewöhnlicher Weise habe ich Röhren mit einem Lumen von ungefähr 1^{qu}mm angewandt, bisweilen aber und besonders bei Untersuchung kranker Personen, denen man nur wenig Blut entnehmen kann, habe ich feinere Röhren gebraucht (mit einem Lumen von etwa 0.4 und 0.2^{qu}mm). Die Röhre, welche ich bei den meisten von meinen Untersuchungen benutzt habe, sind in 35 gleiche Theile graduirt; zweckmässiger ist es, sie in 50 Theile zu graduiren,



weil man dann den Gehalt des Blutes an Blutkörperchen leichter berechnen kann. Ein solches Rohr kann leicht gefüllt werden, wenn man am Ende des Rohres einen Kautschukschlauch ansetzt und die Blutmischung so hoch gesaugt wird, dass sie in den Schlauch übergeht. Hierauf wird das Rohr, wie die vorstehende Figur zeigt, in der Weise befestigt, dass es in einer Rinne aus Messing ruht und die beiden Enden gegen Kautschukplatten mittelst einer Feder gepresst werden. Bei der Befestigung muss man Sorge tragen, dass keine Flüssigkeit aus dem Rohre austritt. Wie aus der Figur hervorgeht, kann man gleichzeitig zwei Blutproben centrifugiren. Der Apparat, in dem die Röhren befestigt werden, ist in seinem mittleren Theile durchbohrt; dadurch kann er auf eine Achse befestigt werden, die in Rotation versetzt wird. Der Rotationsapparat, den ich gebraucht habe, wird durch Handkraft getrieben und ist derart eingerichtet, dass sich die Achse, um welche die Röhren sich schwingen, 100 mal dreht, wenn die Kurbel einmal herumgedreht wird. Bei meinen Versuchen habe ich 80 Schläge in der Minute gedreht, die Röhren haben folglich 8000 Schläge gemacht. Mit dieser

Geschwindigkeit werden die Blutkörperchen sogleich gegen das äussere Ende des Rohres gedrängt; daselbst werden sie immer mehr zusammengepresst, bis ihr Volumen, nachdem das Separiren 5—7 Minuten gedauert hat, nicht mehr vermindert wird. Vermehrt man darnach die Geschwindigkeit bis auf 9000 Schläge, so wird das Volumen nicht mehr merkbar geändert. Bei einer Geschwindigkeit von 6000 Schlägen wird das Volumen constant erst nach Separiren während 10—12 Minuten. Nachdem das Volumen constant geworden ist, bestimmt man so genau wie möglich den Punkt, wo die Grenze zwischen Plasma und Blutkörperchen liegt. Da die Röhren dickwandig sind und die Graduierung auf ihrer Oberfläche angebracht ist, können bei der Ablesung leicht Fehler entstehen durch ungenaue Einstellung des Auges. Derartigen Fehlern habe ich in der Weise zu entgehen versucht, dass ich bei der Ablesung den Blick einer senkrecht gegen das Rohr gehaltenen Glasscheibe habe folgen lassen. Mit solcher Vorsicht und ein wenig Uebung kann dieser Fehler, wie ich glaube, auf 0.2 Theile der Graduierung beschränkt werden. In jedem Falle kann der Fehler dadurch vermindert werden, dass die Graduierung auf einer plangeschliffenen Fläche des Rohres angebracht wird. Aus dem abgelesenen Volumen kann man den Gehalt des Blutes an Blutkörperchen, in Volumenprocent ausgedrückt berechnen: ist das Rohr in 50 gleiche Theile graduirt, erhält man das Procent, wenn man das abgelesene Volumen mit 4 multiplicirt. An der Grenze zwischen der Säule der rothen Blutkörperchen und dem Plasma kann man eine hellere Schicht sehen, die aus weissen Blutkörperchen besteht. Beim Separiren normalen Blutes ist diese Schicht äusserst dünn; im Blute gewisser Kranken wie auch im Kaninchenblute habe ich eine breitere Schicht wahrgenommen.

Das auf die beschriebene Weise erhaltene Gesamtvolumen der Blutkörperchen kann natürlich kein exacter Ausdruck für ihr wirkliches Volumen sein, weil immer ein wenig Plasma unter den Blutkörperchen zurückbleibt; und wenn auch das erhaltene Volumen sich bei meinen Versuchen von der Geschwindigkeit unabhängig gezeigt hat, so oft man nur das Separiren lange genug fortsetzt, kann man doch nicht sicher sein, dass die Blutkörperchen durch eine grosse Vermehrung der Geschwindigkeit nicht weiter zusammengepresst werden könnten. Ausserdem ist es ja möglich, dass Müller's Flüssigkeit das Volumen der Blutkörperchen vergrössert oder vermindert. Das erhaltene Volumen hat also eine Bedeutung nur beim Vergleichen des Blutes von verschiedenen Personen oder Thierarten. Wenn die Methode so gebraucht wird, entspricht sie auch, wie ich glaube, allen billigen Ansprüchen der Genauigkeit.

Als ich die Zuverlässigkeit der Methode prüfen wollte, hatte ich zuzusehen, ob ich in verschiedenen Versuchen mit demselben Blute dasselbe Volumen von Blutkörperchen erhielt. Die erste Schwierigkeit war also, dasselbe Blut bei verschiedenen Versuchen zu erhalten, wozu ich in der Weise zu gelangen suchte, dass ich in kurzen Zwischenzeiten Blut aus verschiedenen Fingern derselben Personen genommen habe. Natürlich habe ich keine absolute Sicherheit dafür, dass die Absicht gewonnen ist; folgende Versuche zeigen aber, dass dies meistens der Fall gewesen ist.

Viermal habe ich mit einer Zwischenzeit von 1—12 Minuten zwei Blutproben von derselben Person genommen. Beide wurden gleichzeitig in verschiedenen Röhren separirt, und jedesmal wurde in beiden Röhren dasselbe Volumen von Blutkörperchen erhalten. Da indessen das Separiren beider Blutproben gleichzeitig vorgenommen wurde, hat natürlich eine möglicher Weise vorhandene Unregelmässigkeit bei dem Separiren auf beide Proben dieselbe Einwirkung gehabt. Diese Versuche können deswegen nicht die Anwendbarkeit der Methode völlig darlegen. Darum habe ich eine andere Versuchsserie vorgenommen. Hierbei dauerte es eine längere Zeit — bis auf eine halbe Stunde — zwischen dem Entnehmen der beiden Blutproben; diese wurden zu verschiedenen Zeiten separirt und sind also von Anfang bis Ende von einander getrennt behandelt worden. Jedoch war es, weil längere Zeit als vorher zwischen dem Entnehmen der Blutproben verging, weniger wahrscheinlich als bei den Versuchen der vorhergehenden Serie, dass die beiden Proben gleich concentrirt waren. Hier unten sind die so erhaltenen Resultate zusammengestellt. Wenn das Volumen der Blutkörperchen in beiden Röhren ungleich gefunden ist, ist das arithmetische Mittel der beiden Volumina als der richtige Werth angenommen worden. Der „Fehler“ ist demnach die Hälfte der „Differenz“.

Bei 9 Versuchen war die Differenz		0	Procent	und somit der Fehler	0	Procent.
„ 1	„	„	„	„	0.4	„
„ 2	„	„	„	„	0.5	„
„ 2	„	„	„	„	1.2	„
„ 1	„	„	„	„	1.7	„
						0.2
						0.25
						0.6
						0.85

Wenn eine Differenz der Volumina erhalten worden ist, so kann der Grund dazu zweifach gewesen sein: Verschiedenheit der Blutproben oder Fehler in der Methode. Um die Zuverlässigkeit der Methode schätzen zu können, nehme ich indessen an, dass die „Fehler“ nur von derselben herrühren. Der Fehler der Methode wird auf diese Weise zu gross gefunden oder wenigstens nicht minder als der wirkliche. Die Summe

der „Fehler“ in den 15 Versuchen ist 2.75 Procent; der Mittelfehler wird also $\frac{2.75}{15} = 0.17$ oder 0.2 Procent. Hierin ist jedoch nicht der Fehler inbegriffen, welcher aus unrichtiger Ablesung stammt. Wie ich vorher erwähnt habe, mag dieser Fehler 0.2 Theile der Scala oder 0.8 Volumenprocent nicht übersteigen. Erst wenn die Differenz mehr als 0.8 Procent betragen hat, habe ich ihn demnach mit Sicherheit observiren können. Berücksichtigt man diese Ungenauigkeit der Ablesung, so findet man, dass der Gesamtfehler bei meinen Versuchen unter 1 Volumenprocent des Blutes liegt.

Ich meine also erwiesen zu haben, dass die Methode für die Untersuchungen des Blutes, welche ich im Vorhergehenden beschrieben habe, anwendbar ist und hinreichend genaue Resultate liefert. Sie kann keine der vorher angewandten Methoden völlig ersetzen. Am nächsten steht sie der Zählungsmethode, welche sie ersetzen könnte, wenn ein ungleiches Gesamtvolumen der Blutkörperchen in gleich grossem Blutvolumen nur von einer ungleichen Zahl der Blutkörperchen abhinge, was nicht immer der Fall ist, da auch die einzelnen Blutkörperchen unter verschiedenen Verhältnissen ihr Volumen ändern können. Es kann doch ebenso wichtig scheinen, das Gesamtvolumen der Blutkörperchen als ihre Zahl kennen zu lernen, und ich wage deswegen die Vermuthung auszusprechen, dass die volumetrische Untersuchungsmethode, sobald hinreichende Untersuchungen an gesunden und kranken Menschen gemacht worden sind, ebenso wichtige Dienste leisten als die Zählungsmethode und wenigstens in mehreren Fällen dieselbe ersetzen könne. Vor dieser hat die volumetrische Bestimmungsweise den Vorzug, dass sie schneller und leichter ausgeführt werden kann. Dabei bietet sie, wie ich sogleich zeigen will, ebenso grosse Genauigkeit wie die Zählungsmethode.

Rücksichtlich der Zuverlässigkeit der Zählungsmethode ist Abbe durch Wahrscheinlichkeitsrechnung zu folgenden Resultaten gekommen: Zählt man 4 Quadrate des Thoma-Zeiss'schen Apparates, so beträgt der wahrscheinliche Fehler 10 Procent der Gesamtmenge der Blutkörperchen; bei 16 Quadraten würde der Fehler auf 5 Procent gebracht werden; beobachtet man 100 Quadrate, so geht der Fehler auf 2 Procent herunter, und durch Zählen aller 400 Quadrate kann man den wahrscheinlichen Fehler auf 1 Procent einschränken.

Diese Berechnungen setzen jedoch voraus, dass das Präparat sehr gut gemacht ist, so dass theils das Deckglas so dicht am Objectglase liegt, dass die Newton'schen Farbenkreise erscheinen, theils die Blutkörperchen im Gesichtsfelde so weit wie möglich gleichförmig vertheilt

sind. Jeder, der sich mit dem Apparate ein wenig beschäftigt hat, weiss, wie schwierig es ist, ein Präparat zu erhalten, das diese Forderungen erfüllt. Hierzu kommt, dass zwei Zählungsapparate auch bei der genauesten Arbeit kaum vergleichbare Resultate leisten können, da es sich kaum denken lässt, dass die für die Blutmischung vorgesehene Vertiefung im Objectglase bei verschiedenen Apparaten gleich tief ist. Bei meinen Versuchen liegt der Mittelfehler, wie ich soeben dargethan habe, unter 1 Volumenprocent des Blutes. Damit man diesen Fehler mit dem der Zählungsmethode vergleichen kann, hat man indessen nachzusehen, wie gross der Fehler als Bruchtheil des Gesamtvolumens der Blutkörperchen sei. Da dieses ungefähr 50 Procent des Blutvolumens gewesen ist, wird der Fehler weniger als 2 Procent des Volumens der Blutkörperchen. Die Zahl der Blutkörperchen ist gewöhnlich 5,000,000 im Cubikmillimeter, 2 Procent hiervon macht 100,000; der Mittelfehler bei der volumetrischen Methode sollte also einer Fehlrechnung von weniger als 100,000 Blutkörperchen entsprechen. Der wahrscheinliche Fehler entspricht sonach einer Fehlrechnung von weniger als 67,000, und die Genauigkeit der Methode ist also ungefähr dieselbe als die der Zählungsmethode, wenn 400 Quadrate gerechnet werden und das Präparat übrigens gut ist.

Zum Vergleich habe ich in ein paar Fällen beide Methoden verwendet. Bei einer Person wurde das Volumenprocent der Blutkörperchen zu 51.4 bestimmt; ihre Zahl wurde bei Rechnung von 48 Quadraten 5,100,000 gefunden. Bei einer anderen war das Volumen 40 Procent und die Zahl — 192 Quadrate wurden gerechnet — 3,400,000. Eine Kranke hatte 20.8 Procent Blutkörperchen; ihre Zahl war einige Tage vorher von einer anderen Person zu 2,500,000 bestimmt worden.

Ausser den Versuchen rücksichtlich der Genauigkeit der Methode habe ich auch mehrere Untersuchungen an gesunden Menschen angestellt, um eine Ziffer bestimmen zu können, die das Volumen angiebt, das die Blutkörperchen beim Separiren gewöhnlich einnehmen. Ebenso habe ich Kranke untersucht; die Versuche beider Art sind aber noch nicht so zahlreich, dass man zuverlässige Angaben darauf gründen könnte. Vielleicht werde ich die Resultate dieser sowie fortgesetzter Untersuchungen an gesunden und kranken Menschen mitzutheilen die Gelegenheit finden.

Sowohl der Rotationsapparat als der Apparat zur Befestigung der Röhre sind von dem Mechaniker des hiesigen physiologischen Laboratoriums, Cand. philosophiae Hilding Sandström, gefertigt worden.