

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Zürich.)

## Ein neuer Apparat für Blutkörperchenzählung.

Von

**W. Brünings.**

(Mit 3 Textfiguren und Tafel I.)

### Einleitung.

In den folgenden Zeilen mache ich auf einige, bisher übersehene Fehler des Thoma-Zeiss'schen Zählverfahrens aufmerksam und beschreibe ein neues Zählinstrument, welches von diesen Fehlern frei ist.

Der erste Theil der Arbeit, die Erörterung der Mängel des Thoma-Zeiss'schen Apparates, ist für den Leser wie für den Untersucher wenig interessant. Ich hielt indess die ausführliche Mittheilung für nöthig. Denn in den mangelhaften Eigenschaften des vielgebrauchten Zählapparates liegt meines Erachtens der Hauptgrund für die Meinungsverschiedenheiten in der zur Zeit so lebhaft discutirten Frage nach der Blutkörperchenvermehrung auf Bergen. Thatsächlich hat sich diese Frage innerhalb einer Gruppe von Untersuchern auf die Frage nach der Zuverlässigkeit des Beobachtungsmittels zugespitzt. Und hier prallen noch jetzt die Ansichten schroff auf einander, ohne dass wiederholte Prüfungen des Zählapparates eine Vermittlung herbeizuführen vermochten. Ich hoffe, durch eine eingehendere Untersuchung des Thoma-Zeiss'schen Zählverfahrens zu einer solchen beigetragen zu haben, indem ich einerseits ein unbegründetes Misstrauen gegen die Methode und andererseits das übertriebene Zutrauen zu ihrer Unfehlbarkeit richtigzustellen versuchte.

Das ist der Inhalt des ersten bzw. zweiten Abschnittes der Arbeit. Der dritte handelt über die Eigenschaften des neuen Zählapparates und seine Vortheile gegenüber dem Thoma-Zeiss'schen Instrumentarium.

Es ist mir ein Vergnügen, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Gaule meinen verbindlichsten Dank auszusprechen für die grosse Liberalität, mit der er mir die Mittel des Institutes zu Versuchsconstructionen zur Verfügung stellte.

## I. Die Unabhängigkeit der Zählergebnisse des Thoma-Zeiss-schen Apparates vom Luftdruck.

In der Controverse über die Blutzellenvermehrung auf Bergen nimmt eine Partei einen gänzlich negirenden Standpunkt ein: es soll nach ihr überhaupt keine Vermehrung im Gebirge vorkommen, sondern alle dahin gehenden Befunde durch einen variablen Fehler der Zählkammer vorgetäuscht werden. Der Fehler wird so formulirt: Die Thoma'sche Kammer verhält sich dem Luftdruck gegenüber wie ein Aneroidbarometer, — die Kammerhöhe wechselt mit ihm, es wechselt mit ihm das Zählergebniss. Diese Behauptung ist seit 1897 von Meissen<sup>1)</sup>, Gottstein<sup>2)</sup>, Schröder<sup>3)</sup> u. A. in zahlreichen Publicationen vorgetragen, und die Autoren haben sich — auch ohne einen zureichenden Grund für die merkwürdige Erscheinung zu finden — so sehr von ihrer Richtigkeit überzeugt, dass man nach den mit der Thoma'schen Kammer erhaltenen Zählergebnissen bei einem gesunden Menschen annähernd seine jeweilige Meereshöhe abschätzen könnte<sup>4)</sup>, und dass die Physiologen genöthigt sind, „alles das umzulernen, was wir bisher über die Physiologie des Blutes und der Athmung wissen“<sup>4)</sup>.

Wie schon erwähnt, nehmen die Autoren zur Erklärung ihrer Zählergebnisse, die sie auf Bergen und in pneumatischen Kammern

---

1) Meissen u. Schröder, Zur Frage der Blutveränderungen im Gebirge. Münch. med. Wochenschrift 1897 Nr. 23 u. 24. — Meissen u. Schröder, Eine vom Luftdruck unabhängige Zählkammer für Blutkörperchen. Münch. med. Wochenschrift 1898 Nr. 4. — Meissen, Die Abhängigkeit der Blutkörperchenzahl von der Meereshöhe. Therapeutische Monatshefte 1899 S. 523.

2) Gottstein, Ueber Blutkörperchenzählung und Luftdruck. Berliner klin. Wochenschrift 1898 Nr. 21. — Gottstein, Ueber die Ursache der Blutkörperchenvermehrung bei vermindertem Luftdruck. Allgem. med. Centralzeitung 1897 Nr. 74.

3) Gottstein u. Schröder, Ist die Blutkörperchenvermehrung im Gebirge eine scheinbare oder nicht? Berliner klin. Wochenschrift 1900 Nr. 27.

4) Meissen, Die Abhängigkeit der Blutkörperchenzahl von der Meereshöhe. Therapeut. Monatshefte S. 524 u. 530. 1900.

erhielten, und die in der That eine merkwürdige Abhängigkeit vom Luftdruck zeigen, einfach an, dass sich das Deckgläschen der Kammer „wie eine elastische Membran“ bei wechselndem Luftdruck durchbiegt und die Höhe der Kammer so ändert; dabei müsste natürlich die Zahl der Zellen auf der Flächeneinheit sich entsprechend ändern.

Diese Annahme ergab die Modification der Zeiss'schen Kammer: man verbindet den Kammerraum mit der äusseren Luft. Meissen hat dies in Form eines radiären Einschnittes in den Kammerrand gethan. Diese „Schlitzkammer“ ist nun von verschiedener Seite, wie es scheint, mit Sorgfalt geprüft und soll keine mit dem Luftdruck veränderlichen Werthe mehr geben. Von anderer Seite<sup>1)</sup> wurde noch eine geringe Differenz gefunden und dieselbe Kammer desshalb mehrfach geschlitzt, bis auch diese Differenz verschwand.

So die Vertreter der einen Partei. Auf der anderen Seite stehen ihnen Gegner gegenüber (Turban, Schaumann, Rosenquist u. A.), welche bei Prüfung der alten und neuen Kammer unter verschiedenem Luftdruck kein verschiedenes Verhalten der Zahlen constatiren, also bei der alten Kammer auch keine Abhängigkeit vom Luftdruck finden konnten.

Ich muss nun gestehen, dass ich mir wenig Hoffnung machte, die Behauptungen der Meissen'schen Partei bestätigen zu können. Eine nahliegende Ueberlegung führt ja schon zu einem principiellen Zweifel: Die Zeiss'sche Kammer und die Schlitzkammer sollen bei „normalem“ Luftdruck in einer bestimmten Blutprobe die gleichen Zahlenwerthe angeben. Wird der Druck „unternormal“, so gibt die alte Kammer zu hohe, wird er übernormal (Gottstein<sup>2)</sup>), zu niedrige Werthe an. Also eine Abhängigkeit vom Luftdruck, deren Curve, mit hohen Ordinaten beginnend, bis 760 mm Hg zur Abscisse absinkt, um dann negativ zu verlaufen. Wesshalb, fragt man sich, ist die Abhängigkeit gerade bei  $760 = 0$ ? Wesshalb fällt, wenn man den Luftdruck ausschaltet, nicht auch die Abhängigkeit weg, anstatt dass im Vacuum der Fehler extrem gross ist? Das ist doch ein sehr unwahrscheinliches Verhalten.

Von theoretischer Seite ist der Frage nicht leicht beizukommen, da einige Grössen schwer zu berechnen sind. Meissen<sup>3)</sup> ver-

1) Starke, Ueber Blutkörperchenzählung. Vorläufige Mittheilung. Münch. med. Wochenschrift 1889 Nr. 49.

2) a. a. O.

3) a. a. O.

sucht eine physikalische Erklärung und führt als exacte Begriffe in's Feld:

„Adhäsion zwischen Flüssigkeit und Glas, Capillarattraction, Oberflächenspannung an der Grenze von Luft und Flüssigkeit, Elasticität des Deckglases“. Das Vorhandensein und die Grösse dieser Kräfte wird nicht weiter discutirt; die Durchbiegung soll aber zu Stande kommen, und zwar:

1. „durch die vorgeschriebene Art der Auflegung des Deckglases (Newton'sche Farbenringe);
2. in dem bereits vom Erfinder des Zählapparates erwähnten Zuge der capillaren Flüssigkeitsschicht zwischen Deckglas und Zählnetz, dem ersteres nachgeben kann;
3. vielleicht in der Absorption von Sauerstoff der Kammerluft durch die Blutmischung“.

Demnach würde der Grad der Durchbiegung also bestimmt durch die genannten drei Momente und den äusseren Luftdruck einerseits und die Elasticität des Deckglases andererseits. Da der Luftdruck aber bei verschiedener Höhe wechselt, so wechselt mit ihm auch der Grad der Durchbiegung.

Ich muss sagen, dass mich diese „physikalische Erklärung“ nicht befriedigt, und ich will gleich einige Bedenken dagegen anführen, ehe ich zu Versuchen übergehe.

Zunächst zu Punkt 1: Meissen sagt<sup>1)</sup>: . . . „Das Deckglas soll nun auf den plan geschliffenen Rand der Zählkammer so aufgelegt werden, dass Newton'sche Farbenringe entstehen.“ „Dies beweist aber ganz sicher, dass das Deckglas mit einer gewissen Spannung aufliegt, und zwar so, dass es in der Mitte, wo es am nachgiebigsten ist, tiefer steht als am Rande. Es ist also nach aussen leicht concav.“

Es ist nun nicht ersichtlich, wesshalb das Aufdrücken des planen Deckglases auf den planen Rand der Zählkammer Farben-„Ringe“ erzeugen soll, wie sie Newton erhielt, wenn er eine Convexlinie auf eine plane Glasfläche legte. Vielmehr liegt der allgemeine Fall vor, dass durch Druck zwei plane Glasflächen einander genähert werden, so dass auffallende Lichtstrahlen, je nachdem sie an der oberen oder unteren Fläche reflectirt werden, einen Phasenunterschied erhalten, der zur Interferenz führt. Diese gibt sich bei

---

1) a. a. O. S. 531.

weissem Licht durch farbige Streifen von bestimmtem Durchmesser zu erkennen, nicht aber durch Ringe. Solche Streifen liefert auch die Zählkammer, die allerdings nicht immer geradlinig und parallel sind, weil die Flächen ja nicht absolut plan und der Druck kein gleichmässiger ist. Concentrische Ringe habe ich bis jetzt unter dem Deckglase nicht beobachtet und bin daher nicht berechtigt, auf eine Durchbiegung zu schliessen. Ausserdem müsste diese Durchbiegung bei der Schlitzkammer auch vorhanden sein.

Was den zweiten Punkt anlangt, so bleibt der „capillare Zug“ in der geschlossenen und der geschlitzten Kammer der gleiche, auch bei wechselndem Luftdruck. Er kann also kaum eine Differenz in der angenommenen Durchbiegung erzeugen.

Der dritte Punkt ist so hypothetischer Art, dass er sich meiner Beurtheilung entzieht. Er ist auch deshalb nicht heranzuziehen, weil die Zählungsdifferenzen auch bei todttem Zellmaterial (*Lycopodium*-Samen) die gleichen waren<sup>1)</sup>.

Meissen hat bei seinen Erwägungen vielleicht Folgendes im Auge gehabt: Wenn ich die Zeiss'sche Kammer bei atmosphärischem Druck in vorschriftsmässiger Weise beschickt habe, so wirken an dem nicht unterstützten Theile des Deckgläschens wesentlich folgende Kräfte: Von aussen der atmosphärische Druck, von innen der gleiche atmosphärische Druck der eingeschlossenen Luft, welcher sich durch die Flüssigkeit gleichmässig fortpflanzt. Das Deckgläschen wäre also äquilibrirt, wenn nicht innen noch die „Capillarattraction“ der Flüssigkeit hinzukäme. Beschieke ich die Kammer nun bei  $\frac{1}{2}$  Atmosphäre, so habe ich aussen ca. 380 mm Hg Druck, innen 380 mm Hg + der „Capillarattraction“. Der letzte Werth bleibt constant; es muss aber, wenn er eine Durchbiegung des Deckgläschens erzeugen kann, hierbei die eingeschlossene Kammerluft um einen der Durchbiegung proportionalen Betrag comprimirt werden. Dies aber kann bei der verdünnten Luft leichter geschehen als bei der atmosphärischen, also muss in diesem Falle das Deckglas stärker durchgebogen werden. Bei dieser Annahme wird natürlich noch die unwahrscheinliche Voraussetzung gemacht, dass die Capillarattraction erst einsetzt, wenn die Kammer ganz geschlossen ist.

Setze ich nun einmal Zahlen ein. Ich möge z. B. in einer bestimmten Blutmischung bei 760 mm Luftdruck 5,000,000, bei

---

1) Gottstein u. Schröder, Münch. med. Wochenschrift 1899 Nr. 40.

380 mm 7,000,000 Blutkörperchen gefunden haben, und der Ueberschuss von 2,000,000 möge ein Resultat der Deckglas-Durchbiegung sein. Dann müsste die Höhe der Kammer im zweiten Fall  $\frac{5}{7}$  der ursprünglichen, die Durchbiegung also ungefähr 0,029 mm betragen. Diese Durchbiegung soll eine Leistung der „Capillarattraction“ sein, da der Luftdruck in beiden Fällen im Innern und Aeussern der Kammer der gleiche ist. Sie erfordert einen Zug von mindestens 1000 g (s. später). Neben dieser Leistung hat aber die Capillarkraft noch eine zweite Arbeit zu leisten: die bei der Durchbiegung eintretende Compression der in der Kreisrinne der Zählkammer enthaltenen Luft. Diese 32,723 cbmm Luft von 380 mm Hg Spannung (durch Quecksilberwägung ermittelt) müssten bei 0,029 mm Durchbiegung auf etwa 31,273 cbmm comprimirt werden. Das erfordert aber ca. 13 g, wenn man den Zählkreis als Druckfläche nimmt. Nehmen wir nun einmal an, dass auch bei 760 mm Luftdruck das Deckgläschen um 0,029 mm durchgebogen würde, so müsste es hierbei 32,723 cbmm Luft von 760 mm Hg Spannung auf 31,273 cbmm zusammendrücken, wozu ca. 26 g erforderlich wären. Die Differenz der am Deckglas wirkenden Kräfte würden sich also bei 760 und 380 mm Luftdruck etwa wie 1026 zu 1013 verhalten. Und das kann keinen der Messung zugänglichen Unterschied in dem Grade der Durchbiegung ausmachen.

Ich glaube desshalb nicht, dass Meissen diese Verhältnisse im Auge gehabt hat, um so weniger, als das eventuelle Ergebniss den Beobachtungen Meissen's u. A. entgegengesetzt sein würde. Denn bei niederem Luftdruck würde die Capillarkraft das Deckgläschen nach den obigen Ausführungen stärker in die Kammer vorwölben können als bei hohem, d. h. wir müssten im ersten Fall kleinere Blutkörperchenzahlen erhalten als im zweiten.

Ich habe bisher die Frage unberührt gelassen, ob das Deckgläschen praktisch überhaupt durchbiegbar ist, ob es sich, wie z. B. Gottstein annimmt, den in Frage kommenden Kräften gegenüber wie eine „elastische Membran“ verhält. Die Frage darf nicht übergangen werden, weil Deckgläschen von sehr verschiedener Dicke, von mehreren mm bis zu 0,18 mm (Schröder), verwandt sind, und weil diese Verschiedenheit für die so wechselnden Zählergebnisse verantwortlich gemacht ist.

Meissen führt hier die schon oben genannten physikalischen Begriffe in's Feld: Adhäsion zwischen Flüssigkeit und Glas, Capillar-

attraction, Oberflächenspannung an der Grenze von Luft und Flüssigkeit, Elasticität des Deckglases. Meines Wissens concurriren nur drei Kräfte: Oberflächenspannung + Molekularattraction und elastischer Widerstand des Deckglases.

Die „Oberflächenspannung“ ist bekanntlich eine Function der Form bezw. des Krümmungsradius der Flüssigkeitsoberfläche. Dieser wird in der Hauptsache bestimmt durch die Engigkeit des Capillarraumes und das Verhältniss der Cohäsion der Flüssigkeit zu ihrer Adhäsion an die Capillarwand. Die freie Oberfläche des Blutropfens in der Zählkammer ist nun ringförmig und ihr Profil nach der Luft zu concav. Man kann die gespannte Oberfläche etwa vergleichen einer zwischen Zählfläche und Deckglas ausgespannten elastischen Membran, die nach dem Centrum des Tropfens zu durchgewölbt ist. Diese Membran sucht die Flüssigkeit nach allen Seiten radiär aus einander zu ziehen; es würde nun genügen, bei bekannter Ausdehnung der benetzten Fläche die Grösse des Zuges für einen Punkt zu berechnen. Diese Rechnung ist hier aber sehr unsicher, weil wir es nicht mit einer Lösung von bestimmter Capillaritätsconstante zu thun haben, sondern mit Blut, und weil die Form der Oberfläche noch durch die horizontale Lage der Zählkammer beeinflusst werden kann. Ich musste desshalb den Betrag, so gut es ging, empirisch ermitteln.

Hierzu kittete ich drei Coconfäden auf ein Deckgläschen gleich weit vom Mittelpunkt entfernt und vereinigte sie so, dass das Gläschen genau horizontal an ihnen hing. Dann wurden drei feine Splitter eines Deckgläschens von 0,106 mm Dicke auf eine plane Glasfläche so aufge kittet, dass das Deckgläschen an den Fäden auf die drei Splitter gelegt werden konnte. In den so entstehenden Spalt von 0,106 mm Höhe brachte ich Blutmischungstropfen und hob dann das Deckgläschen an den Fäden mittelst der Milligrammwage von der Unterlage ab. In mehreren Versuchsreihen musste ich nun bei einem Tropfen von dem Durchmesser des in der Zeiss'schen Kammer verwendeten im Mittel etwa 2,65 g auf die Wage legen, um das Deckgläschen abzuheben. Ich wiederholte diesen Versuch mit der Zählkammer und stellte dabei zugleich fest, wie gross die Adhäsion des trocken aufgelegten Deckgläschens an dem Kammerrand ist. Dieser Werth wurde dann von dem bei der mit Blut gefüllten Kammer gefundenen abgezogen, und man erhielt so als Werth für die „Oberflächenspannung + Molekularattraction“ ca. 2,6 g. Ich

sage: für Oberflächenspannung + Molekularattraction, denn die letztere wird bei dem Experiment gleichzeitig annähernd richtig mitgemessen. Ich habe den letzteren Betrag auch gesondert bestimmt, indem ich den Tropfen in der Zählkammer so gross wählte, dass er die Zählfläche etwas überragte und damit seine concave, attrahirende Oberfläche verlor. Das Deckglas ist in dem Fall viel leichter abzuheben, und es ergibt sich durch Subtraction für die Molekularattraction allein ein Werth von ca. 1 g. Der Werth von 2,6 g ist natürlich sehr abhängig von der Grösse des zur Zählung verwendeten Blutropfens und der capillaren Steighöhe der benutzten Verdünnungslösung. Er kann z. B. = 0 werden, wenn der Tropfen den Rand der Zählplatte etwas überragt.

Wird aber ein Deckgläschen durch 2,6 g Belastung merklich durchgebogen? Ich habe mich durch Rechnung und Versuche davon überzeugt, dass es nicht der Fall ist. Die Versuche wurden so ausgeführt, dass ich eine Meissen'sche Kammer mit Quecksilber füllte, so dass dieses nach Auflegen des Deckgläschens genau bis an das innere Ende des Schlitzes reichte. Dann wurde ein mit Gummihut versehener Glasstab auf die Mitte des Deckglases aufgesetzt und in die an seinem oberen Ende befestigte Schale Gewichte gelegt. Rückt nun das Quecksilber in dem Schlitz vor, so zeigt dies eine Durchbiegung des Deckgläschens an, und zwar ergibt sich aus möglichst genauer Messung, deren Einzelheiten ich dem Leser ersparen will, dass 1 mm Quecksilberfaden eine Durchbiegung bedeutet, die an der tiefsten Stelle 0,005 mm beträgt. 2—3—4 mm entsprechen Zahlen von 0,01, 0,015, 0,020 mm.

Ich will aus den erhaltenen Tabellen nur einige Worte anführen:

Das Deckglas von 0,56 mm Dicke wird aufgedrückt, bis dauernde Farbstreifen entstehen. Dann wird belastet, und es rückt das Quecksilber: bei 100 g um 0,1, bei 500 g um 0,8, bei 1000 g um 1,1 mm in dem Canal vor. Das heisst also: Durchbiegungen von 0,0005, 0,004, 0,0055. Die Depression des Quecksilbers in dem Schlitz kann bei diesen Belastungen fast vernachlässigt werden.

Man sieht, dass solchen Werthen gegenüber, auch wenn die Bestimmungen nicht mathematisch genau sind, Molekularkräfte von 2,6 g verschwinden, dass auch der Luftdruck, wie er auf der Erde wechselt, an der Constanz der Zeiss'schen Kammer wenig ändern kann.



Für ein ungewöhnlich dünnes Deckglas von 0,18 mm, wie es Schröder benutzte, ergab der obige Versuch folgendes Verhalten: Es bog sich bei 20 g Belastung um 0,0005 mm, bei 60 g um 0,005 mm und bei 120 g um 0,0104 mm durch. Durch Rechnung erhielt ich hier etwas höhere Werthe. Jedenfalls ist aber auch dies Deckglas noch brauchbar, und der Vorschlag, Gläser von mehreren Millimeter Dicke zu verwenden, erscheint überflüssig. Ich muss nach diesen Versuchen den Vergleich der Kammer mit dem Aneroid-Barometer für unzustreffend halten. Sonderbar ist, dass die Autoren, welche so fest von der Durchbiegung der Deckgläser überzeugt sind, nicht den einfachen Versuch machten, Deckgläser von verschiedener Dicke bei gleichem Luftdruck zu verwenden; zeigen hierbei die Zählergebnisse eine bestimmte Abhängigkeit von der Deckglasdicke, so ist eine Durchbiegung ja sehr wahrscheinlich. Ich habe bei derartigen Versuchen überhaupt keine Beeinflussung der Zählresultate gefunden.

Wo liegt nun der Kammerfehler? Ich habe noch Folgendes versucht: Die Meissen'sche Kammer wird mit dem Deckglas 0,56 mm belegt und dieses mit 10 g belastet. Dabei ist die Kammer genau bis an das innere Ende des Schlitzes mit Quecksilber gefüllt. Die Gewichte werden allmählich vergrößert. Zwischen 200 und 300 g entstehen Farbstreifen von mittlerem Durchmesser. Das Quecksilber ist bis dahin um 2,2—2,5 mm vorgerückt, d. h. die Kammerhöhe hat um 0,01—0,012 mm abgenommen. Nehme ich nun das Gewicht fort, so verschwinden die Farben, und das Quecksilber kehrt annähernd in seine Anfangsstellung zurück. Drücke ich dann das Deckglas so stark an, dass die Farben bestehen bleiben, so stellt sich das Quecksilber beim Aufhören des Druckes wieder fast auf 2,5 ein. Thut man etwas Wasser auf den Zählkammerrand, so lassen sich erklärlicher Weise sehr viel leichter dauernde Farbstreifen erzeugen, und das Quecksilber steht auch dabei zwischen 2 und 3.

Es besagt dieser Versuch, dass die Höhe der Kammer eine Differenz von 0,01—0,015 mm aufweisen kann, je nachdem man das Deckglas „leicht“ oder bis zum Entstehen dauernder Farbstreifen andrückt. Ob dabei die Kammer mit  $H_2O$  oder Hg angefüllt ist, ändert an den Werthen nur sehr wenig, aber eine Höhendifferenz von 0,01—0,015 kann einen Zählfehler von 9—13 % zur Folge haben. Also ein beträchtlicher Fehler, wenn man die vom Erfinder geforderte Erzeugung Newton'scher Farben ausser Acht lässt. Innerhalb

der Farbstreifen ist, je nachdem dieselben schmal oder breit sind, die Differenz eine sehr geringe. Ebenso, ob man die Farben feucht oder trocken hervorruft.

Diese immerhin wichtige Fehlerquelle genügt aber auch nicht zur Erklärung der bestehenden Zähl Differenzen, denn sie finden sich gerade so bei Untersuchern, die nur mit Newton'schen Farbstreifen zählten.

In den vorstehenden Versuchen habe ich mich bemüht, festzustellen, dass die Kammerhöhe sich bei wechselndem Luftdruck nicht ändert, wobei ich nur die Durchbiegbarkeit des Deckgläschens als das möglicher Weise Veränderliche in's Auge fasste. In der That würde man ja mit anderen Annahmen, wie Temperatureinflüssen u. s. w., auf ganz hypothetisches Gebiet gerathen. Immerhin aber schien es wünschenswerth, noch die praktischen Zählversuche, auf die sich meine Vorgänger beschränkt haben, mit möglichster Sorgfalt nachzuprüfen. Vorher muss ich aber noch kurz das Ergebniss eines einfachen Versuches, den Gaule<sup>1)</sup> bereits mittheilte, anführen: Die Thoma-Zeiss'sche Kammer wurde mit einem Tropfen Nigrosinlösung beschickt und die Grösse dieses kreisförmigen, scharfrandigen Tropfens bei schwacher Vergrößerung mit dem Ocularmikrometer genau ausgemessen. Dann placirte ich das Mikroskop mit Kammer auf den Recipienten unter eine Glasglocke, deren oberer Tubus durch eine plan geschliffene Glasplatte luftdicht geschlossen war. Das Ocular berührte dabei diese Glasplatte, der Tropfen wurde nun nochmals ausgemessen und die Glasglocke auf 380 mm Hg evacuirt. Hierbei nochmalige Messung und eine letzte Ablesung, nachdem wieder normaler Druck eingetreten. Das Experiment wurde mehrfach wiederholt, ohne dass sich dabei die Grösse des Tropfens messbar veränderte. Eine Versuchsreihe mit Quecksilbertropfen ergab das gleiche negative Resultat.

In einer anderen Versuchsreihe wurde die Kammer mit Blutmischung beschickt und in der gleichen Weise bei einer und bei  $\frac{1}{2}$  Atmosphäre gezählt. Es ergaben sich keine die Fehlergrenzen überschreitenden Differenzen. Dieselben Resultate lieferte die Schlitzkammer unter den gleichen Versuchsbedingungen.

Nun ist ja bei diesen Experimenten die Kammer unter verschiedenem Druck gefüllt und gezählt. Um das zu vermeiden, ent-

---

1) J. Gaule, Die Blutbildung im Luftballon. Pflüger's Arch. Bd. 89 S. 119.

schloss ich mich noch zu der etwas mühsamen Arbeit, Zählungen in verschiedener Meereshöhe vorzunehmen. Zürich bietet dazu Gelegenheit. Der Uetliberg ist ca. 500 m höher als das physiologische Institut und sein Gipfel von diesem aus mit der Bahn in weniger als einer Stunde zu erreichen.

Bei den nachfolgenden Zählungen habe ich alle für das Thoma-Zeiss'sche Verfahren angegebenen Cautelen auf's Peinlichste eingehalten und bin in der Vorsicht so weit gegangen, dass ich nicht die Blutzellen im Mikroskop, sondern mikrophotographische Bilder derselben auszählte; denn der geübteste Zähler macht Zählfehler. Man zähle nur einmal 100 Quadrate zwei Mal durch. Ich verfuhr so, dass ich mit einem vertical stehenden mikrophotographischen Apparat je 100 Quadrate aufnahm. Die Bilder werden bei passender Blende, schwacher Unterbelichtung und Uranverstärkung äusserst scharf. Aber das Zählnetz ist bei den vortheilhaften kleinen Blenden nicht immer deutlich. Ich photographirte es deshalb gesondert in der leeren Kammer bei gleicher Vergrösserung und kratzte die Linien auf dem trocknen Negativ mit einer feinen Spitze nach. Dieses Negativ wurde jedes Mal über die Blutzellenbilder (auf Entwicklungspapier) copirt und gab ein haarscharfes Zählnetz. Das Auszählen geschah auf dem Positiv quadratweise; und jede gezählte Zelle wurde mit rother Tinte markirt. Ein Zählfehler ist so ausgeschlossen.

Ich habe mein Blut in Hayem'scher Lösung auf 1:200 verdünnt, möglichst rasch, ohne auf Genauigkeit Rücksicht zu nehmen. Denn die Zählungen wurden so angestellt, dass ich aus ein und derselben, in einem luftdichten Tubus verwahrten Blutmischung im physiologischen Institut die Zeiss'sche Kammer beschickte und photographirte. Dann in gleicher Weise die Schlitzkammer und nochmals die Zeiss-Kammer. Die letztere blieb in ihrer Lage auf dem Objecttisch eingeklemmt und wurde, nachdem ich mit Mikroskop und photographischen Apparat auf den Uetliberg gefahren war, nochmals aufgenommen. Dann folgte oben weiter die Schlitzkammer, die Zeiss-Kammer und nochmals die Schlitzkammer. Die letztere blieb wieder auf dem Objecttisch und wurde im Institut nochmals aufgenommen. Diese Serie von 8 Aufnahmen wiederholte ich so, dass ich immer abwechselnd im Institute oder auf dem Berge den Anfang machte. Zu jeder Serie wurde eine frische Blutmischung verwandt. Sie wurde mit der Pipette hergestellt und vor dem Gebrauch in dem

Tubus und dann noch ein Mal in dem Schüttelmischer energisch geschüttelt.

Folgende Tabellen enthalten die Zählresultate.

## I.

Nr. des Versuchs	Zeiss-Kammer unten	Zeiss-Kammer oben	Meissen-Kammer unten	Meissen-Kammer oben
1. {	6,176000	5,776000	5,280000	6,128000
	6,128000	5,880000	5,384000	5,816000
2. {	5,876000	5,920000	5,880000	6,232000
	5,752000	6,744000	6,584000	6,456000
3. {	6,584000	5,832000	6,024000	6,032000
	5,424000	5,616000	7,240000	5,472000
4. {	5,728000	5,768000	6,072000	5,584000
	6,072000	5,840000	5,840000	6,784000
5. {	6,768000	6,224000	5,712000	5,992000
	6,074000	5,976000	5,388000	6,028000

## II.

1.	6,152000	5,828000	5,332000	5,972000
2.	5,814000	6,332000	6,232000	6,344000
3.	6,004000	5,724000	6,632000	5,752000
4.	5,895000	5,804000	5,956000	6,184000
5.	6,421000	6,100000	5,550000	6,010000

## III.

$\frac{1 \text{ bis } 5}{5}$	6,057000	5,957000	5,940000	6,052000
------------------------------	----------	----------	----------	----------

Die Tabelle I gibt die Resultate der 10 Zählungen, die mit jeder der beiden Kammern je ein Mal im Institut und ein Mal auf dem Berge ausgeführt sind<sup>1)</sup>. Man sieht, dass aus diesen Einzelzahlen noch kein Schluss auf die fragliche Abhängigkeit der Kammern zu ziehen ist, weil dazu die Differenz von 2 Zählungen einer Versuchsreihe in der gleichen Kammer und bei gleichem Luftdruck viel zu gross ist. Sie beträgt maximal in der ersten Reihe: 5,2 %, in der zweiten 12,2 %, in der dritten 17,7 %, in der vierten 17,6 %, in der fünften 10,3 %. Der Fehler ist also zum Theil grösser als die eventuell zu findenden Zahlen. Ich komme darauf später zurück. Es lässt sich aber etwas Anderes aus der ersten Tabelle ersehen.

1) Auf die absoluten Werthe der Zahlen ist wegen Ungenauigkeit der sehr eiligen Mischung kein Werth zu legen. Es kommen bei der Untersuchung ja nur die relativen Zahlen in Betracht.

Wenn man nämlich die in den einzelnen Versuchsreihen erhaltenen Zahlen nach steigender Grösse in 4 Gruppen ordnet und bei jeder Zahl notirt, durch welche Kammer und bei welchem Druck sie erhalten wurde, so erhält man folgende Uebersicht:

## IV.

Grössen-Folge	I	II	III	IV
Zeiss-Kammer unten . . . .	2	2	1	5
Zeiss-Kammer oben . . . .	3	2	5	0
Meissen-Kammer unten . . .	4	3	0	3
Meissen-Kammer oben . . .	1	3	4	2

Wie man sieht, erhielt ich mit der Zeiss-Kammer unten gezählt: 2 Mal die niedrigste, 5 Mal die höchste Blutkörperchenzahl; wenn ich oben zählte: 3 Mal die niedrigste, 0 Mal die höchste Zahl; u. s. w., u. s. w. Man mag diese Zahlen behandeln, wie man will, es lässt sich niemals daraus entnehmen, dass die Thoma-Zeiss'sche Kammer oder ihre Modification von Meissen durch einen Höhenwechsel von ca. 500 m irgendwie beeinflusst wird.

In Tabelle II sind die arithmetischen Mittel aus den in jeder Versuchsreihe erhaltenen Doppelzahlen gezogen. Wie zu erwarten, lassen ihre Differenzen einen Schluss noch nicht zu, doch ist ebenso wenig von einer gesetzmässigen Abhängigkeit zu bemerken. Tabelle III schliesst eine solche mit Sicherheit aus und zeigt, bis zu welchem Grade die aus grösseren Reihen gewonnenen Mittelwerthe übereinstimmen.

Ich kann nach den vorstehenden Untersuchungen also die von Meissen u. A. behauptete Abhängigkeit der Thoma-Zeiss'schen Zählkammer vom Luftdruck nicht bestätigen.

Es ist nicht angenehm, so Behauptung gegen Behauptung stellen zu müssen, in einer Sache, die so einfach erscheint wie das Abzählen von Blutzellen. Ich sehe auch bis jetzt keine Vermittlung zwischen meinen Ergebnissen und den Zahlen anderer Untersucher, die bei der geschlossenen Kammer eine gewisse umgekehrte Proportionalität mit dem Luftdruck zeigen. Man sucht schliesslich nach Irrthümern auf der Gegenpartei, und da scheint mir eins von Bedeutung zu sein: Man hat häufig aus wenigen Zählungen mit der Zeiss'schen Kammer

Schlüsse gezogen im Vertrauen auf die engen Fehlergrenzen, welche Abbe<sup>1)</sup> theoretisch für die Zählmethode ausgerechnet hat. Dieses Vertrauen ist aber unbegründet; ich versuche später zu zeigen, dass die Einzelzählung in der Zeiss'schen Kammer mit sehr grossen Fehlern behaftet ist, abgesehen davon, dass das Instrument vielleicht einen constanten Fehler besitzt. Dieses Bedenken schwächt z. B. auch die Beweiskraft eines Versuchs von Gottstein und Schröder ab, der im Uebrigen besonders eindeutig zu sein scheint. Die beiden Untersucher zählten in Berlin (50 m) und Schömberg im Schwarzwald (650 m) und sandten sich die gezählten Blutmischungen zu, um sie dann in beiden Kammern in der veränderten Meereshöhe nochmals zu zählen. So erhalten sie in der gleichen Blutprobe: in Berlin 4 590 000, in Schömberg 5 905 000 (geschlossene Kammer) und 4 805 000 (geschlitzte Kammer). Also für die geschlossene Kammer einen Fehler von 22,2 % bei einer Erhebung um 600 m. Die Berliner Zahl ist ein Mittelwerth von 18 Zählungen, die Schömberger Zahl für die Meissen'sche Kammer ein solcher von 3 Zählungen. Er hat nach meinen Erfahrungen nur geringe Beweiskraft, auch wenn die Einzelzählungen gut übereinstimmen. Kommen doch z. B. in der Berliner Zahlenreihe neben gut stimmenden Einzelzahlen wieder solche vor, die um fast 20 % differiren.

Immerhin kann auch so noch nicht der enorme (angenommene) Kammerfehler von 22,2 % bei einer Druckerniedrigung von nur ca. 53 mm Hg erklärt werden.

Die beiden Forscher erhielten übrigens in einem zweiten Versuch, der — in Schömberg beginnend — in ganz gleicher Weise ausgeführt wurde, eine Zahlendifferenz von nur 12 %. Deutet das nicht auf grosse Unsicherheit der Methode hin?

## II. Die unvermeidlichen Fehler des Thoma-Zeiss'schen Zählverfahrens.

Das verbreitete Zutrauen in die Verlässlichkeit des Thoma'schen Instrumentes stützt sich grossentheils auf die rechnerischen Angaben, welche Abbe<sup>2)</sup> bei seinem Erscheinen veröffentlicht hat.

1) Abbe, Sitzungsberichte der Gesellschaft für Medicin und Naturwissenschaften in Jena Bd. 29. 1878.

2) a. a. O.

Abbe stellte zunächst fest, dass sich bei geschickter Verwendung des Potain'schen Schüttelmischers die Verdünnung des Blutes mit 99 % Genauigkeit bewerkstelligen lässt. Da die Apparatconstanten der Pipette und der Kammer eine noch grössere Zuverlässigkeit besitzen, so bleibt als wesentliche Fehlerquelle der Zählmethode überhaupt nur die mathematisch unvermeidliche Variation beim Auszählen gleichmässig auf eine Fläche vertheilter Körper nach grösseren oder kleineren Abschnitten dieser Fläche, mit nachheriger entsprechender Multiplication. Nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung ergibt sich dabei, dass sich der „wahrscheinliche Fehler“ als Function der Anzahl der gezählten Blutzellen ausdrücken lässt, und zwar ist dieser Fehler  $= W \frac{0,674}{\sqrt{n}}$ , wobei  $n$  die gezählte Zellenmenge bedeutet.

Reinert<sup>1)</sup> beurtheilt den Werth seiner zahlreichen Zählungen nach dieser Formel; der „wahrscheinliche Fehler“ beträgt nach ihm:

Für 50 gezählte Körperchen $\pm$ 10 %			
„ 100	„	„	$\pm$ 6,7 %
„ 200	„	„	$\pm$ 4,8 %
„ 300	„	„	$\pm$ 3,8 %
„ 500	„	„	$\pm$ 3 %
„ 1000	„	„	$\pm$ 2,1 %
„ 2000	„	„	$\pm$ 1,5 %
„ 3000	„	„	$\pm$ 1,2 %
„ 5000	„	„	$\pm$ 0,95 %

In Hermann's Handbuch sind die Abbe'schen Fehler auf die Flächeneinheit des Zählnetzes bezogen. Der wahrscheinliche Fehler verkleinert sich in dem Maasse, wie die Quadrate der gezählten Flächeneinheiten wachsen. Es ergibt sich:

Für 4 gezählte Quadrate $\pm$ 10 % Fehler			
„ 16	„	„	$\pm$ 5 % „
„ 100	„	„	$\pm$ 2 % „
„ 400	„	„	$\pm$ 1 % „

Das stimmt annähernd mit der ersten Tabelle, wenn man normales Blut 100 Mal verdünnt, wobei durchschnittlich elf Blutzellen in ein Quadrat fallen.

1) Reinert, Die Zählung der Blutkörperchen und deren Bedeutung für Diagnose und Therapie. Leipzig 1891.

Man findet diese theoretisch abgeleiteten Fehler häufig als Maassstab für die Zuverlässigkeit einer Zählung mit dem Thoma-Zeiss'schen Apparat verwendet. Das ist schon desshalb ganz irrig, weil der „wahrscheinliche Fehler“ ja nur aussagt, dass unter mehreren Zählungen voraussichtlich der jedesmalige Fehler ebenso oft kleiner als grösser ist als der wahrscheinliche Fehler, weil desshalb eine Einzelzählung ebenso gut mit einem grösseren oder maximalen Fehler behaftet sein kann, über deren Wahrscheinlichkeit die Formel nichts aussagt. Maassgebend für den Werth eines Zählergebnisses ist desshalb nicht der wahrscheinliche Fehler, sondern die Häufigkeit und Grösse der Abweichungen von diesem.

Wichtiger ist nun die Frage, ob in der Thoma-Zeiss'schen Kammer die Zellen wirklich gleichmässig auf der Zählplatte vertheilt werden, und ob in mehreren Präparaten aus einer Blutmischung die Dichte der Körperchen die gleiche ist. Schon nach meinen Zählungen auf S. 388 musste ich diese Frage durchaus verneinend beantworten. Wendet man nämlich auf der Tabelle I die Rechnung mit Fehlerquadraten an, so ergibt sich aus den acht Zählungen des ersten Versuches, welche mit Rücksicht auf das Endresultat unter einander vergleichbar sind:

Mittlerer Fehler $\pm 5,5\%$ , wahrscheinlicher Fehler $\pm 3,9\%$ .							
Ein Fehler von mehr als	$\pm 5\%$	hatte die Wahrscheinlichkeit	$\frac{5}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 6\%$	„ „ „	$\frac{3}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 7\%$	„ „ „	$\frac{1}{4}$				
„ „ „ „ „	$\pm 8\%$	„ „ „	$\frac{1}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 9\%$	„ „ „	$\frac{1}{8}$				

In der zweiten Versuchsreihe betrug für die Einzelzählung:

Der mittlere Fehler $\pm 5,6\%$ , wahrscheinlicher Fehler $\pm 3,8\%$ .							
Ein Fehler von mehr als	$\pm 5\%$	hatte die Wahrscheinlichkeit	$\frac{5}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 6\%$	„ „ „	$\frac{3}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 7\%$	„ „ „	$\frac{1}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 8\%$	„ „ „	$\frac{0}{8}$				

In der dritten Versuchsreihe:

Mittlerer Fehler $\pm 10,3\%$ , wahrscheinlicher Fehler $\pm 7,0\%$ .							
Ein Fehler von mehr als	$\pm 5\%$	hatte die Wahrscheinlichkeit	$\frac{5}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 6\%$	„ „ „	$\frac{5}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 7\%$	„ „ „	$\frac{4}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 8\%$	„ „ „	$\frac{4}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 9\%$	„ „ „	$\frac{4}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 10\%$	„ „ „	$\frac{2}{8}$				
„ „ „ „ „	$\pm 20\%$	„ „ „	$\frac{1}{8}$				



## In der vierten Versuchsreihe:

Mittlerer Fehler  $\pm 6,1\%$ , wahrscheinlicher Fehler  $\pm 4,2\%$ .

Ein Fehler von mehr als $\pm 5\%$	hatte die Wahrscheinlichkeit $\frac{2}{8}$
" " " " " $\pm 6\%$	" " " " $\frac{2}{8}$
" " " " " $\pm 7\%$	" " " " $\frac{1}{8}$
" " " " " $\pm 8\%$	" " " " $\frac{1}{8}$
" " " " " $\pm 13\%$	" " " " $\frac{1}{8}$

## In der fünften Versuchsreihe:

Mittlerer Fehler  $\pm 6,6\%$ , wahrscheinlicher Fehler  $\pm 4,5\%$ .

Ein Fehler von mehr als $\pm 5\%$	hatte die Wahrscheinlichkeit $\frac{3}{8}$
" " " " " $\pm 6\%$	" " " " $\frac{2}{8}$
" " " " " $\pm 7\%$	" " " " $\frac{2}{8}$
" " " " " $\pm 8\%$	" " " " $\frac{2}{8}$
" " " " " $\pm 9\%$	" " " " $\frac{2}{8}$
" " " " " $\pm 40\%$	" " " " $\frac{2}{8}$

Zieht man aus den fünf Versuchen das arithmetische Mittel, so zeigt dieses, dass eine Zählung von 100 Quadraten mit einem mittleren Fehler von  $\pm 6,8\%$  und einem „wahrscheinlichen Fehler“ von  $\pm 4,7\%$  behaftet ist. Dabei findet sich:

Unter 2,2 Zählungen wahrscheinlich 1 Mal ein Fehler von mehr als  $\pm 5\%$ 

" 2,7	" " 1	" " " " " " $\pm 6\%$
" 3,3	" " 1	" " " " " " $\pm 7\%$
" 5	" " 1	" " " " " " $\pm 8\%$
" 5,1	" " 1	" " " " " " $\pm 9\%$
" 8	" " 1	" " " " " " $\pm 10\%$

Die Zählungen, aus denen dieses Resultat abgeleitet ist, wurden unter den denkbar grössten Cautelen angestellt. Die Zähltröpfen hatten möglichst genau gleiche Grösse und wurden immer in die Mitte der Kammer gesetzt. Das Präparat musste frei von den so häufigen Luftblasen sein und das Deckglas bis zum Ende der Zählung mit Newton'schen Farben aufliegen. Vor Allem aber wurde jedes Mal die Kammer bis zum Rande durchgemustert und jedes Präparat von der Zählung ausgeschlossen, in dem irgendwo Ungleichmässigkeiten in der Zellenvertheilung zu erkennen waren. Die letztere Maassregel ist durchaus nothwendig, und man ist bei einiger Gewissenhaftigkeit genöthigt, wie auch Schröder und Gottstein<sup>1)</sup> be-

1) a. a. O.

tonen, meist acht bis zehn Präparate anzufertigen, bis man ein zur Zählung brauchbares erhält.

Wünscht man also mit dem Thoma-Zeiss'schen Apparat ein Resultat von nicht mehr als  $\pm 2\%$  mittlerem Fehler (wobei aber immer noch Abweichungen von  $10\%$  vorkommen können) zu erhalten, so ist man (nach der Formel für den mittleren Fehler des Resultates  $F = \pm \sqrt{\frac{\sum f^2}{n(n-1)}}$ ) genöthigt, 12 Mal 100 Quadrate durchzuzählen. Dazu sind aber bei Anwendung der obigen Cautelen ca. 30 Präparate anzufertigen und durchzumustern. Es ist schwer, ein sicheres Urtheil über die Fehlergrößen des Thoma-Zeiss'schen Apparates bei peinlichster Handhabung zu gewinnen, weil dazu grosse Zahlenreihen des gleichen Untersuchers und der gleichen Blutprobe vorliegen müssen. Ich finde eine solche aus 18 Einzelzählungen von je 200 Quadraten bestehende Zahlenreihe in der citirten Arbeit von Gottstein und Schröder. Es berechnet sich aus ihr der „wahrscheinliche Fehler“ auf  $\pm 4\%$ . Dabei kam:

unter 2,5 Fällen	1	Mal	ein	grösserer	Fehler	von	mehr	als	$\pm 6\%$
„ 3	1	„	„	„	„	„	„	„	$\pm 7\%$
„ 9	1	„	„	„	„	„	„	„	$\pm 9\%$
„ 18	1	„	„	„	„	„	„	„	$\pm 13\%$

Das wären also die unvermeidbaren Fehler beim Zählen von 200 Quadraten in 18 mit der strengsten Kritik ausgesuchten Präparaten.

Sicherlich ist man in der Zählpraxis durchaus nicht immer so penibel verfahren, namentlich in Bezug auf die Controle der gleichmässigen Zellenverteilung nicht nur über den getheilten Millimeter, sondern über die ganze Zählplatte. Nicht einmal die Newton'schen Farben, deren Vernachlässigung bis gegen  $13\%$  Fehler bedingen kann, wollen immer gelingen.

Schwer ist zu entscheiden, welchen Werth unter solchen Umständen eine auf einmalige Zählung von 100 Quadraten gestützte Behauptung hat. Auch die folgenden Versuche wollen darüber nichts Bestimmtes aussagen. Sie sollen nur ein Vergleichsmaterial zu den später mitzutheilenden Prüfungsergebnissen meines Apparates bilden.

Die 20 Zählungen sind unter den vorgenannten Cautelen angestellt. Nur ist diesmal keine Rücksicht auf die gleichmässige

Zellenvertheilung genommen, sondern unterschiedslos jedes Präparat gezählt, wenn es den übrigen Bedingungen genügte. Die Blutmischung ist mit dem Potain'schen Schüttelmischer hergestellt, und es wurde aus der gleichen Mischung fünf Mal die Kammer gefüllt und jedes Mal ganz durchgezählt. Beim Füllen der Kammer verfuhr ich so, dass nach heftigem Schütteln der Pipette die ersten zwei Tropfen verworfen und erst der dritte auf die Mitte der Zählplatte gesetzt wurde. In der Hälfte der Versuche ist indess, um Verdunstungen und dergleichen ganz auszuschliessen, die Blutmischung in einem besonderen Glastubus geschüttelt und aus ihm mit einem Glasstab zur Auszählung entnommen. Eine nachweisliche Differenz im Resultat hat sich bei beiden Methoden nicht ergeben.

Zum Zweck grösserer Controle ist das Zählen abwechselnd von mir und in dankenswerther Weise von Fräulein Dr. Fuchs ausgeführt.

Ich gebe in den folgenden Tabellen die Einzelresultate. Jedes der 16 Quadraten eines Versuches entspricht 25 Quadraten der Kammertheilung.

Serie I. Blutprobe: W. B. Verdünnung 1:200.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
158	165	133	179	187	205	200	194	183	189	198	188
163	141	151	153	180	207	206	149	196	212	202	188
159	138	147	150	167	218	202	180	166	191	221	229
155	157	149	152	215	179	210	193	218	224	210	201
635	601	680	634	749	809	818	716	763	816	831	806
Sa. $2550 \times 2000$ 5 100 000				Sa. $3092 \times 2000$ 6 184 000				Sa. $3216 \times 2000$ 6 432 000			

Zählung 4				Zählung 5			
219	215	246	231	159	166	152	184
249	224	207	251	164	142	133	150
215	224	213	246	160	158	151	152
235	228	223	223	156	139	148	153
918	891	889	951	639	605	684	639
Sa. $3649 \times 2000$ 7 298 000				Sa. $2567 \times 2000$ 5 134 000			

## Serie II. Blutprobe H. M. Verdünnung 1:200.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
120	152	149	147	163	177	161	157	169	158	171	155
123	141	151	150	174	164	170	163	165	174	145	155
161	181	152	165	155	176	174	156	155	168	148	170
156	159	165	155	197	159	177	175	170	161	166	154
560	633	617	617	689	676	682	651	659	661	630	634
Sa. $2427 \times 2000$ 4 854 000				Sa. $2698 \times 2000$ 5 396 000				Sa. $2584 \times 2000$ 5 168 000			

Zählung 4				Zählung 5			
187	168	165	166	165	161	172	154
151	159	166	156	179	174	145	156
172	152	172	164	156	179	149	183
177	176	198	153	170	158	175	154
687	655	701	639	670	672	641	647
Sa. $2682 \times 2000$ 5 364 000				Sa. $2630 \times 2000$ 5 260 000			

## Serie III. Blutprobe W. B. Verdünnung 1:250.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
133	164	152	175	136	133	139	142	169	180	170	205
134	136	162	159	161	144	176	150	171	174	178	199
147	150	166	167	141	144	172	161	157	154	182	197
167	155	155	152	161	153	149	182	180	184	192	178
581	605	635	653	599	574	636	635	677	692	722	799
Sa. $2474 \times 2500$ 6 185 000				Sa. $2444 \times 2500$ 6 110 000				Sa. $2870 \times 2500$ 7 175 000			

Zählung 4				Zählung 5			
106	138	132	145	79	71	102	134
132	148	162	173	71	123	110	114
139	145	159	140	90	102	117	127
157	170	157	178	65	99	131	132
534	601	610	636	305	395	460	507
Sa. $2381 \times 2500$ 5 952 500				Sa. $1667 \times 2500$ 4 167 500!			

## Serie IV. Blutprobe W. B. Verdünnung 1:250.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
173	176	171	184	170	167	149	184	181	168	148	171
179	180	165	177	161	169	196	185	172	187	147	164
167	170	171	185	188	180	194	180	156	164	159	148
167	164	161	174	159	155	182	166	143	173	147	170
686	690	668	720	678	671	721	715	657	692	601	653
Sa. $2764 \times 2500$ 6 910 000				Sa. $2785 \times 2500$ 6 962 500				Sa. $2603 \times 2500$ 5 507 500			

Zählung 4				Zählung 5			
161	152	181	159	154	176	136	205
146	146	139	150	158	149	168	152
157	148	125	134	155	175	160	145
149	153	138	143	205	175	180	171
613	599	583	586	672	675	644	673
Sa. $2381 \times 2500$ 5 952 000				Sa. $2664 \times 2500$ 6 660 000			

Ich wiederhole, dass bei diesen 20 Zählungen nur die Kritik der Präparate in Bezug auf ungleichmässige Vertheilung der Zellen an irgend einer Stelle der Zählplatte ausser Acht gelassen wurde. Und doch zeigt dabei schon ein Blick eine sehr ungünstige Beeinflussung der Zählergebnisse. Der Sachverhalt wird übersichtlicher, wenn ich die wahrscheinlichen Fehlergrössen aus den einzelnen Serien berechne. Dabei ergibt sich:

## Serie I.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 4,69\%$   
 " " " 400 " " "  $\pm 10\%$   
 Dabei ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 15\%$   
 " " " 5 " " " 1 " " "  $\pm 20\%$

## Serie II.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 1,3\%$   
 " " " 400 " " "  $\pm 2,7\%$   
 Dabei ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 4\%$   
 " " " 5 " " " 1 " " "  $\pm 6\%$

## Serie III.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 5,4\%$   
 " " " 400 " " "  $\pm 12\%$   
 Dabei ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 15\%$   
 " " " 5 " " " 1 " "  $\pm 20\%$

## Serie IV.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 1,9\%$   
 " " " 400 " " "  $\pm 4,2\%$   
 Dabei ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 6\%$   
 " " " 5 " " " 1 " "  $\pm 9\%$

## Im Mittel beträgt:

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten der wahrscheinliche Fehler  $\pm 3,33\%$   
 " " " 400 " " "  $\pm 7,2\%$   
 Dabei ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 10\%$   
 " " " 5 " " " 1 " "  $\pm 14\%$

Der „mittlere Fehler“ einer Zählung von 400 Quadraten beträgt demnach  $\pm 10,6\%$ ; man müsste also ca. 28 Mal 400 Quadraten auszählen, um ein mit nur  $\pm 2\%$  „mittlerem Fehler“ behaftetes Resultat zu erhalten. Danach lässt sich ungefähr die Zuverlässigkeit einer Zählung von nur 100 Quadraten ermes sen.

Die hier mitgetheilten Zahlen machen nicht den Anspruch, ein vollständiges Bild von den praktischen Fehlergrössen der Thoma-Zeiss'schen Methode zu geben. Dazu wären bei ihrer Unsicherheit sehr grosse Zählungsreihen erforderlich. Und auch die daraus abgeleiteten Mittelzahlen hätten für den Praktiker nur wenig Bedeutung. Denn er kann sich nur auf eine oder wenige Zählungen stützen und dabei ist nicht der „wahrscheinliche Fehler“, sondern die Möglichkeit und Häufigkeit extrem grosser Abweichungen maassgebend. Und gerade diesen ist man, wie die Versuche lehren, bei dem alten Zählapparat in hohem Grade ausgesetzt. Gern nimmt man bei 400 Quadraten einen regelmässigen Fehler von  $\pm 3\%$  in Kauf. Aber die Gefahr muss beseitigt werden, dass bei 400 Quadraten ein kleinerer mittlerer Fehler unter fünf Fällen 1 Mal den Betrag von  $\pm 15\%$  überschreitet.

## III. Der neue Zählapparat.

Beim Suchen nach der Ursache der ungleichmässigen Zellenvertheilung in der Zählkammer konnte ich zunächst nur ein Moment ausfindig machen, welches dahin zu wirken geeignet ist.

Wenn man nämlich einen Tropfen der Blutsuspension auf die Zählplatte setzt und das Deckgläschen auflegt, so drückt dieses den Tropfen in die Breite, derart, dass seine Grundfläche etwa vier Mal so gross wird. Dabei machen die ursprünglich in der Mitte des Tropfens gelegenen Blutzellen keine seitliche Bewegung, die ursprünglich am Rande gelegenen aber werden um den Betrag der Verbreiterung des Tropfens verschoben. Man sieht, dass so eine von der Mitte zum Rande abnehmende Dichte in der Vertheilung der Blutzellen resultiren muss. In Wirklichkeit mögen die Bewegungsvorgänge viel complicirtere sein, — dass sie eine von der Mitte zur Peripherie abnehmende Dichte der Mischung erzeugen, habe ich durch Vergleich von Mikrophotogrammen aus verschiedenen Regionen der Kammerfläche nachgewiesen.

In viel höherem Grade aber wirkt ein anderer Umstand in der gleichen Richtung. Wenn man nämlich mit Hayem'scher Lösung 1 : 200 gemischtes Blut in irgend ein Glasröhrchen füllt und dieses senkrecht aufstellt, so findet man nach Verlauf einer Stunde etwa die obersten 2 cm der Flüssigkeit klar, d. h. ein Blutkörperchen senkt sich in Hayem'scher Lösung um ca. 20 mm pro Stunde. Nun sei ein auf die Zählplatte gelegtes Bluttröpfchen schätzungsweise 0,5 mm hoch, und es mögen 10 Secunden verstreichen, bis es durch das Deckglas platt gedrückt wird. Dann besteht vor diesem Moment das Tröpfchen aus drei Schichten: alle Blutkörperchen, die ursprünglich nicht weiter als ca. 0,06 mm vom Boden entfernt waren, sind zu Boden gesunken; über ihnen steht eine Schicht normaler Mischung von ca. 0,38 mm Höhe, und dann folgen die obersten 0,06 mm ohne Blutkörperchen. Somit hat nach zehn Secunden die über dem Boden der Kammer stehende Flüssigkeit ca. 12 % ihrer Blutkörperchen verloren, und dieser Fehler addirt sich ganz zu dem durch die ungleiche Verschiebung erzeugten hinzu, falls die auf dem Boden liegenden Blutkörperchen an der späteren Bewegung nicht mehr theilnehmen. Und das scheint fast der Fall zu sein, was verständlich wird, wenn man bedenkt, dass bei der Bewegung der Flüssigkeiten über die benetzten Flächen die unterste benetzende Schicht sich nicht bewegt, die mittlere aber am stärksten. Die Blutkörperchen schliessen sich der Bewegung an, und wir erhalten so etwas, das dem Randstrom und Achsenstrom der Gefässe entspricht.

Ich hatte diese Fehlerquelle des Thoma-Zeiss'schen Verfahrens schon länger vermuthet, ohne mir ein Bild von ihrer Grösse zu

machen. Ueberrascht war ich, als ich ihr Vorhandensein schon bei der ersten in der Richtung angestellten Probe bestätigt fand. Der Versuch ist einfach: Man beschicke eine Zählkammer mit Blut 1 : 200 und warte bis zum Auflegen des Deckglases 30 Secunden. Dann betrachte man die Kammer in der Durchsicht, am besten gegen einen schwach beleuchteten Hintergrund: Es zeigt sich ein stark getrübtter Kreis, der ursprünglichen Basis des Tröpfchens entsprechend, und eine schwach getrübt periphere Zone an Stelle der späteren Ausbreitung der Flüssigkeit. Man wiederhole den Versuch mit einer Wartezeit von 10 Secunden (wie man sie bei der sorgfältigen Anfertigung von Zählpräparaten oft nöthig hat); auch jetzt noch wird man, und zwar makroskopisch, die stärker getrübt ursprünglich benetzte Fläche wahrnehmen.

Im Mikroskop fällt das Alles nicht auf, weil die Uebergänge in der verschieden dichten Vertheilung für das kleine mikroskopische Gesichtsfeld zu allmähliche sind. Man kann sich aber durch photographische Aufnahmen helfen. In Tafel I gebe ich sechs Photogramme eines in der gewöhnlichen Weise angefertigten Präparates wieder. Die Bilder reichen fortlaufend vom Rande bis etwa zur Mitte der Zählplatte. Die senkrechten Linien sind nachträglich im Abstände der Zählnetzstriche eingezeichnet, um eine Auszählung bis zum Rande des Präparates zu ermöglichen. Ausserdem ist bei jedem Bilde der erste mit einem Kreuz bezeichnete Streifen identisch mit dem letzten des vorhergehenden, zum Beweise für die fortlaufende Zusammengehörigkeit der Aufnahmen. Je fünf Streifen (mit Ausnahme der bekreuzten) sind ausgezählt, und die Summe der Blutzellen unter ihnen notirt. Die Zahlen illustriren zur Genüge das oben Gesagte.

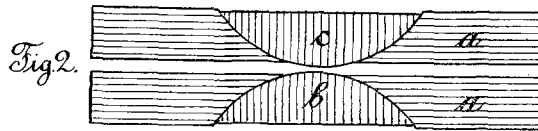
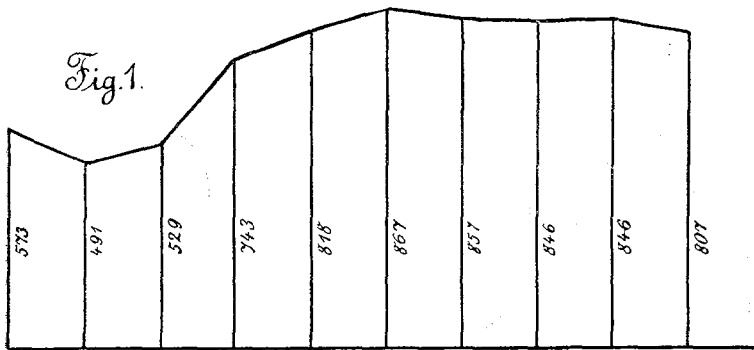
In der nebenstehenden Fig. 1 habe ich den angeschriebenen Blutkörperchenzahlen proportionale Ordinaten auf einer Abscisse aufgetragen. Die verbindende Curve gibt das typische Bild der Dichtenvertheilung in den gewöhnlichen Kammerpräparaten.

Ich muss noch erwähnen, dass ich auch Bilder erhalten habe, in denen die Dichtencurve horizontal und gerade verlief, neben solchen, wo sie einen extrem steilen Anstieg zeigte. Das ist ja natürlich, da die Tropfen, je nach der Art, in der man das Deckgläschen auflegt und nach dem Grade der Reinheit des Glases, eine einseitige oder complicirt strahlenförmige Ausbreitungsbewegung erfahren. Aber gerade diese Variationen scheinen die Hauptursache



für die Ungleichmässigkeit der Zählergebnisse zu bilden. Ganz falsch werden die Zählergebnisse natürlich, wenn der Tropfen beim Aufsetzen gar nicht über dem getheilten Millimeter lag. Ebenso ist die Wartezeit bis zum Auflegen des Deckglases für den Ausfall der Zählung von der grössten Bedeutung.

Die Richtung, in der sich Verbesserungsversuche des Thoma-Zeiss'schen Apparates zu bewegen haben, ist durch die beiden Punkte festgelegt. Zu vermeiden ist die tropfenweise Ueberführung des verdünnten Blutes in den Zählraum. Damit muss auch das

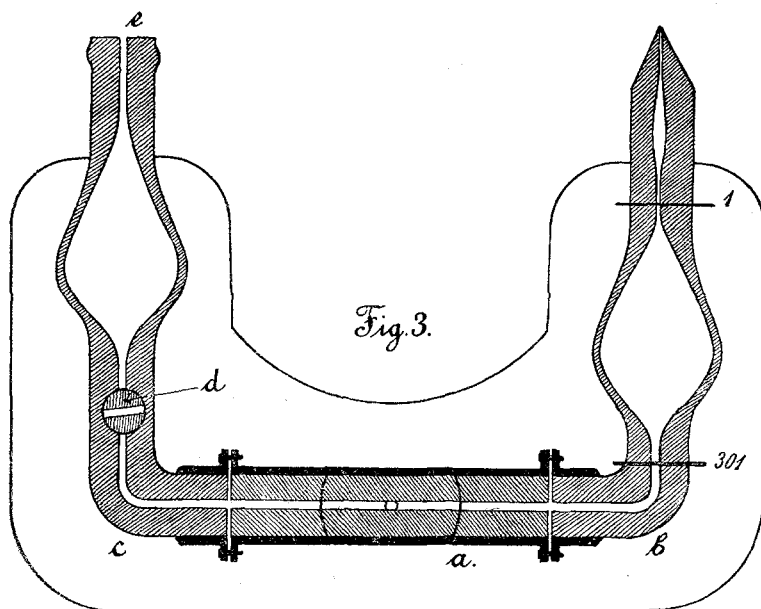


Plattdrücken des Tropfens und die bei dem Auflegen von Deckgläschen unvermeidliche Inconstanz der Zählraumtiefe wegfallen. Die Erfüllung dieser Bedingungen fordert eine Verbindung von Mischpipette und Zählraum. Es handelte sich also darum, das Zählstück dementsprechend zu construiren. In Rücksicht auf praktische Ausführbarkeit erwies sich nach einigen Vorversuchen folgende Construction am geeignetsten.

Das Zählstück (Fig. 2. Querschnitt) besteht aus einem etwa 4 cm langen Glasröhrchen (a) von ca. 8 mm Dicke und 1 mm Lumen. Aus der dicken Wand des Röhrchens wird ein linsenförmiges Stück (b) ausgeschliffen. In diesen Ausschliff wird eine genau passende Linie eingekittet, so, dass ihr Scheitel ein wenig in das Lumen der Röhre hineinragt. Auf diesen Scheitel ist eine der

unteren Linsenfläche parallele Facette von ca. 1,5 mm Radius angeschliffen. Der Facette ist ein in 400 Quadrate getheilter Quadratmillimeter eingeritzt.

Gegenüber der unteren Linse *b* wird dem Röhrchen in einem zweiten Ausschliff die Linse *c* eingekittet. Ihre Facette enthält keine Theilung und ist der ihr parallelen unteren Facette auf 0,200 mm Abstand genähert. So entsteht zwischen beiden Facetten ein kreisförmiger Zählraum vom Durchmesser der Capillarröhre und 0,200 mm Tiefe.



Das ganze Zählstück ist nach Abschneiden der seitlich überragenden Linsentheile in ein metallenes Schutzrohr gefasst, dessen Enden zu einer Flansche bzw. einem Bajonnetverschluss ausgearbeitet sind. An diese Theile werden Mischpipette und Schlauchstück angepasst.

Fig. 3 gibt eine Querschnittsskizze des ganzen Apparates: *a* das Zählstück, *b* die Mischpipette, *c* das Schlauchstück mit der zweiten Mischkammer. Bei *d* ist ein Hahn eingefügt. Der ganze Apparat ist auf eine in der Figur angedeutete Metallplatte montirt. Zapfen und Klammern fixiren ihn in horizontaler Lage in den Ausfräisungen dieser Platte, jedoch so, dass er leicht mit einem Griff von ihr abzuheben ist.

Die Firma Carl Zeiss in Jena hat, nach Würdigung meiner Bedenken gegen ihren Thoma-Zeiss'schen Apparat, die Construction des Instrumentes mit dankenswerther Bereitwilligkeit und bekannter Sorgfalt übernommen. Das Zählstück lässt sich, entgegen meinen anfänglichen Befürchtungen, in den auf Linsenschliffe eingerichteten Werkstätten ohne besondere Schwierigkeit auf 0,001 mm genau herstellen. Schwierig ist es allerdings, genau die Höhe von 0,200 mm zu treffen. Indess haben etwaige geringe und genau bekannte Abweichungen von der Apparatconstante ja nur eine Aenderung des Multiplicationsfactors zur Folge.

Ein constructiver Nachtheil konnte bis jetzt nicht beseitigt werden. Es hat sich nämlich nach Durchprobiren zahlreicher Linsenkitte der Schellack als dem vorliegenden Zweck am besten entsprechend erwiesen. Nun verbietet aber die Löslichkeit des Schellacks in Alkohol die Trocknung des Apparates zwischen zwei Zählungen mittelst Durchleitung von Alkoholäther. Ich war desshalb bei dem von mir benutzten Exemplar darauf angewiesen, die anhängenden Wassertheilchen mittelst Durchsaugen von trockener Luft zu entfernen, was immerhin zehn Minuten in Anspruch nehmen kann. Wir hoffen indess, diese Unbequemlichkeit noch durch Auffindung einer geeigneten alkoholunlöslichen Kittsubstanz oder durch Einschaltung eines anderen Mediums zwischen Wasser und Aether beseitigen zu können.

Uebrigens ist von grösserer Wichtigkeit nur die Trocknung des zur Messung benutzten Pipettenstückes. Diese erfolgt beim Durchsaugen trockener Luft in etwa zwei Minuten. Hängen danach in den übrigen Apparattheilen noch Wasserspuren, so hat das einen Fehler von in maximo — 1 % zur Folge. — Ich mache aber absichtlich auf den Uebelstand aufmerksam, damit er nicht zu einer den Apparat gefährdenden Verwendung von Alkohol verleitet.

Bedenken hatte ich vor der Prüfung des Instrumentes über seine Reinhaltung. Dieselben sind jedoch nach wochenlangem Gebrauch gänzlich gehoben: es hat sich bis jetzt noch keine Blutzelle an den ja überall gut gerundeten Theilen festgesetzt. Natürlich muss man, wie bei dem Potain'schen Schüttelmischer, nach beendeter Zählung gut mit Wasser durchspülen. Sollte übrigens in dieser Hinsicht einmal ein Versehen vorkommen, so ist das für das Zählstück am wenigsten gefährlich: Es lässt sich nach Abschrauben der Ansatzstücke gut mit einer feinen Federfahne mechanisch reinigen.

Ein paar Worte seien noch über die Construction der Mess-

pipette gestattet. Ich habe sie dem Potain'schen Schüttelmischer gegenüber in einigen Punkten abgeändert.

Zunächst kam die Glaskugel der Mischampulle in Wegfall. Die Mischung geschieht in meinem Apparat nämlich nicht durch Schütteln, sondern durch Hin- und Hersaugen der Blutverdünnung aus einer Mischkammer in die andere. Denn aus zahlreichen vergleichenden Zählungen mit Schütteln (und Glaskugel) und ohne Schütteln ergab sich, dass die von mir gewählte Art des Mischens derjenigen durch Schütteln im Effect mindestens ebenbürtig ist. In der Anwendung aber ist das Schütteln (des ganzen Apparates) unbequem, es bildet sich Schaum, es werden viele Blutzellen zerschlagen, und es geht leicht etwas von der Blutmischung verloren.

Es ist ferner das Messstück der Pipette, wie in Fig. 3 (Seite 402) angedeutet, mit einer ampullenartigen Erweiterung versehen. Diese Einrichtung hat den Vortheil, dass das Blut mit einer kleineren (die Gerinnung befördernden) Glasfläche in Berührung kommt. Sie gestattet ferner, im Interesse der genaueren Messung, die Spitze und die Ablesungsstelle des Pipettenrohres sehr viel enger zu nehmen als bei dem Potain'schen Mischen. Trotzdem ist dabei, wegen der geringeren Rohrlänge, der Saugwiderstand, welcher bekanntlich das sehr wichtige schnelle und sichere Einstellen des Blutes sehr erschwert, bedeutend verringert.

Die von mir benutzte Pipette ist mit besonderer Genauigkeit für die Verdünnungsverhältnisse 1:200 und 1:300 geacht. Für normales menschliches Blut benutze ich ausschliesslich die letztere Verdünnung. Natürlich lassen sich auch anders getheilte Pipetten an das Zählstück ansetzen. Auch lässt sich die Messpipette direct mit dem Schlauch verbinden und so gesondert füllen, was manchem Untersucher vielleicht bequemer ist.

Erwähnen muss ich noch, dass der neue Apparat sich nicht zur Zählung von Bakterien oder sonstigen sehr kleinen Körpern verwenden lässt. Die grössere Kammertiefe und die Dicke der oberen Linse bedingt einen Objectabstand, welcher die Verwendung starker Systeme — etwa über 400fache Vergrösserung — ausschliesst.

Ueber den Gebrauch des Instrumentes kann ich mich kurz fassen. Man nimmt es von der Metallplatte und saugt bei geöffnetem Hahn Blut bis genau zur Marke an. Dabei ist darauf zu achten, dass das untere Pipettenende auch nach dem Abwischen der Spitze (nicht an einem aufsaugenden Körper, sondern etwa dem Hand-

rücken!) ganz mit Blut gefüllt bleibt. Die Füllung der Pipette geschehe sofort nach dem Austreten des Bluttröpfens, denn auch in ihm findet eine Senkung der Blutzellen statt.

Nachdem mit möglichst geringem Zeitverlust Verdünnungslösung nachgesogen ist, wird bei vertical gerichteten Pipettenstücken das verdünnte Blut 10–20 Mal aus einer Mischkammer in die andere getrieben. Dabei tritt starke Wirbelbildung und vollkommene Mischung ein. Während dieser Bewegung wird in einem Moment, wo beide Kammern etwa zur Hälfte gefüllt sind, der Hahn zugedreht und der Apparat sofort horizontal auf den Objecttisch gelegt. Die Blutzellen sedimentiren in wenigen Secunden, und die Zählung kann in der üblichen Weise ausgeführt werden.

Will man die gleiche Blutprobe mehrmals auszählen, so genügt es, nach Oeffnen des Hahnes, die Mischung wieder 10–20 Mal ganz aus einer Kammer in die andere zu treiben und weiter wie oben zu verfahren.

Die Reinigung des Apparates soll gleich nach beendigtem Gebrauch so geschehen, dass man nach Ausblasen der Blutmischung Wasser einsaugt, es einige Male aus einer Kammer in die andere treibt, und die Manipulation mit frischem Wasser einige Male wiederholt.

Zum Trocknen saugt man — womöglich heisse — Luft durch das Rohr, solange bis mindestens das Messstück der Pipette durchaus trocken ist.

Zur praktischen Prüfung des beschriebenen Apparates habe ich drei Serien von Zählungen ausgeführt. In jeder Serie ist von der gleichen Blutprobe fünf Mal die ganze Zählplatte durchgezählt, so dass sich aus dem Vergleich der Einzelergebnisse dieser fünf Zählungen ein Urtheil über die Zuverlässigkeit des Instrumentes ableiten lässt.

Es folgen hier die Tabellen.

## Serie I. Blutprobe C. F. Verdünnung 1:300.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
138	118	136	148	121	124	120	110	145	134	120	121
131	147	137	121	141	123	142	142	116	123	115	121
156	100	141	119	115	130	118	146	125	101	115	126
137	108	115	94	114	122	146	120	126	140	117	127
562	473	529	482	491	499	526	518	512	498	467	495
Sa. $2046 \times 1863$ 3 712 000				Sa. $2034 \times 1863$ 3 739 000				Sa. $1972 \times 1863$ 3 674 000			

Zählung 4				Zählung 5			
136	135	118	132	131	121	141	113
133	109	128	135	136	136	123	123
134	128	118	130	121	120	139	129
114	114	134	112	110	117	120	138
517	486	498	509	498	494	523	503
Sa. $2010 \times 1863$ 3 745 000				Sa. $2018 \times 1863$ 3 759 000			

## Serie II. Blutprobe E. M. Verdünnung 1:300.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
171	159	153	163	170	154	164	159	177	164	151	147
152	153	164	136	163	143	154	173	157	154	145	163
145	160	178	150	159	150	167	170	152	148	154	185
170	154	174	171	160	182	175	169	158	150	176	178
638	626	671	620	652	629	660	671	644	616	626	673
Sa. $2555 \times 1863$ 4 760 000				Sa. $2612 \times 1863$ 4 866 000				Sa. $2559 \times 1863$ 4 767 000			

Zählung 4				Zählung 5			
169	159	132	158	164	174	162	148
158	154	161	154	139	172	169	149
155	156	154	159	158	163	161	173
150	179	173	163	152	162	162	173
632	648	620	634	613	671	654	643
Sa. $2534 \times 1863$ 4 721 000				Sa. $2581 \times 1863$ 4 808 000			

## Serie III. Blutprobe W. B. Verdünnung 1:300.

Zählung 1				Zählung 2				Zählung 3			
170	175	153	185	156	175	167	171	203	171	158	160
171	174	169	164	162	168	159	158	185	170	149	154
175	162	169	159	173	160	167	161	192	175	141	164
169	165	157	169	161	156	158	193	196	159	168	183
685	676	648	677	652	659	651	683	776	675	616	661
Sa. $2686 \times 1863$ 5 004 000				Sa. $2645 \times 1863$ 4 928 000				Sa. $2728 \times 1863$ 5 082 000			

Zählung 4				Zählung 5			
167	164	163	181	200	136	156	156
169	152	158	162	166	161	188	171
183	189	179	171	175	184	167	173
177	174	172	166	173	179	172	200
696	679	672	680	714	660	683	700
Sa. $2727 \times 1863$ 5 080 000				Sa. $2757 \times 1863$ 5 136 000			

Bei Berechnung der wahrscheinlichen Fehlergrößen aus diesen drei Tabellen ergibt sich:

## Serie I.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 0,33\%$

"	"	"	400	"	"	"	$\pm 0,8\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 1,6\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 3,2\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 4,4\%$

Bei Zählung von 400 Quadraten ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich

1 Mal grösser als . . . . .							$\pm 1\%$
"	"	"	400	"	"	"	$\pm 1,5\%$
"	"	"	400	"	"	"	$\pm 2\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 2\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 3\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 4\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 4\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 5\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 6\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 10\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 6\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 8\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 10\%$

## Serie II.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 0,33\%$ 

"	"	"	400	"	"	"	$\pm 0,75\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 2,9\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 2,1\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 3,4\%$

Bei Zählung von 400 Quadraten ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahr-

scheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 1\%$ 

"	"	"	400	"	"	"	5	"	$\pm 1,5\%$
"	"	"	200	"	"	"	2,5	"	$\pm 4\%$
"	"	"	200	"	"	"	10	"	$\pm 6\%$
"	"	"	100	"	"	"	3,5	"	$\pm 4\%$
"	"	"	100	"	"	"	0	"	$\pm 5\%$
"	"	"	50	"	"	"	3,9	"	$\pm 5\%$
"	"	"	50	"	"	"	4,4	"	$\pm 7\%$
"	"	"	50	"	"	"	20	"	$\pm 9\%$
"	"	"	50	"	"	"	0	"	$\pm 11\%$

## Serie III.

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 0,48\%$ 

"	"	"	400	"	"	"	$\pm 1,1\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 2,3\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 5\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 4,2\%$

Bei Zählung von 400 Quadraten ist unter 5 Fällen der Fehler wahr-

scheinlich 1 Mal grösser als  $\pm 2\%$ 

"	"	"	400	"	"	"	0	"	$\pm 3\%$
"	"	"	200	"	"	"	5	"	$\pm 4\%$
"	"	"	200	"	"	"	10	"	$\pm 6\%$
"	"	"	200	"	"	"	0	"	$\pm 8\%$
"	"	"	100	"	"	"	5	"	$\pm 7\%$
"	"	"	100	"	"	"	6,6	"	$\pm 9\%$
"	"	"	100	"	"	"	20	"	$\pm 11\%$
"	"	"	50	"	"	"	3	"	$\pm 6\%$
"	"	"	50	"	"	"	7	"	$\pm 8\%$
"	"	"	50	"	"	"	13	"	$\pm 10\%$
"	"	"	50	"	"	"	40	"	$\pm 14\%$

Die arithmetischen Mittel aus den drei Serien sind:

Bei Zählung von  $5 \times 400$  Quadraten: wahrscheinlicher Fehler  $\pm 0,38\%$ 

"	"	"	400	"	"	"	$\pm 0,88\%$
"	"	"	200	"	"	"	$\pm 2,27\%$
"	"	"	100	"	"	"	$\pm 3,4\%$
"	"	"	50	"	"	"	$\pm 4,0\%$



Ich widerstehe der Versuchung, aus den Zahlen dieser drei Serien schon eine endgültige Fehlercharakteristik des Apparates zu construiren. Nur das ist mit Sicherheit gezeigt, dass die neue Construction die bedenklichen Stellen des Thoma-Zeiss'schen Verfahrens getroffen hat, und ein Apparat vorliegt, dessen Zählfehler nur wenig über die mathematisch bedingten „Fehler“ der Zählmethode überhaupt hinausgehen.

Am auffallendsten tritt die Ueberlegenheit über den älteren Apparat in den grossen Zahlen hervor, welche ich hier noch einmal zum Vergleich hersetze. (Die eingeklammerten Zahlen sind die entsprechenden Mittel aus den Versuchen mit dem Thoma-Zeiss'schen Apparat.)

Bei Zählung von $5 \times 400$ Quadraten: wahrscheinlicher Fehler $\pm 0,88\%$									
( $\pm 3,33\%$ )									
„	„	„	400	„	„	„	„	„	„
$\pm 0,88\%$									
( $\pm 7,2\%$ )									
Dabei ist unter 2,5 Fällen der Fehler wahrscheinlich 1 Mal grösser als $\pm 1,2\%$									
( $\pm 10\%$ ! )									
„	„	„	5	„	„	„	„	1	„
$\pm 2\%$									
( $\pm 14\%$ ! )									
„	„	„	0	„	„	„	„	1	„
$\pm 3\%$									
( $\pm 20\%$ ! )									

Je kleiner die zur Bildung eines Resultates gezählte Flächeneinheit wird, desto kleiner wird natürlich auch die Differenz der Fehler des alten und neuen Apparates. Denn die Constructionsänderung konnte ja nicht die unvermeidlichen Unregelmässigkeiten der Zellenvertheilung in kleineren Bereichen des Zählnetzes verbessern. Nur die grossen Abweichungen der Gesamtzellenzahl über dem Zählnetz in mehreren Versuchen mit der Thoma'schen Kammer konnte beseitigt werden.

Deshalb kommen auch die Vorzüge des neuen Apparates in um so höherem Maasse zur Geltung, je grösser die ausgezählten Flächen sind. Für viele Zwecke kann man wohl mit der Zuverlässigkeit einer Zählung von 200 Quadraten recht zufrieden sein, mit einem wahrscheinlichen Fehler von  $\pm 2,27\%$  und mit der Aussicht, unter zwei bis drei Fällen ein Mal um mehr als  $\pm 4\%$ , unter fünf Fällen ein Mal um mehr als  $\pm 5\%$  und erst unter zehn Fällen ein Mal um mehr als  $\pm 6\%$  von dem richtigen Werthe abzuweichen.

Für den Gebrauch des Thoma-Zeiss'schen Apparates sind mit der Zeit eine Unmenge von technischen Vorschriften angegeben. Kaum ein Untersucher hat längere Zeit mit ihm gearbeitet, ohne da etwas Neues zu erfinden, und viele von ihnen berücksichtigen die abweichenden Angaben des Collegen nur deshalb nicht, weil er nicht die allein richtige Technik befolgt hat. In der That kann ja auch, wie sich gezeigt hat, ein Theil der variablen Fehler der Thoma'schen Methode durch verschiedene Handhabung beeinflusst werden. Eine solche Abhängigkeit ist für jeden Apparat bedenklich, und ich schätze es als besonderen Vortheil des hier beschriebenen Instrumentes, dass seine Angaben von der individuellen Technik und Geschicklichkeit unabhängig sind.

Blutkörperchenzählen ist keine interessante Arbeit. Ich glaube, dass Jeder, der beim Gebrauch des Thoma-Zeiss'schen Apparates über der mühseligen Erzeugung dauernder Farbenringe, dem Frei-sein von Luftblasen, der gleichmässigen Vertheilung u. s. w. Zeit und Lust verloren hat, die gleichmässig guten Präparate, wie sie mein Apparat ohne Mühe liefert, als angenehme Erleichterung empfinden wird.

### Nachtrag.

Nach beendeter Correctur bin ich mit einer Arbeit von E. Abderhalden<sup>1)</sup> bekannt geworden, welche mich zu einigen nachträglichen Bemerkungen nöthigt.

Die in genannter Arbeit enthaltenen Zahlenangaben zeichnen sich mehrfach durch Reichthum an Decimalstellen aus. Der Gipfel an Exactheit wird bei den Blutkörperchenzählungen erreicht. Abderhalden zählt bei einer vergleichweisen Prüfung der Thoma-Zeiss'schen Kammer und ihrer Modification durch Meissen von der gleichen Blutmischung aus einem Schüttelmischer in jeder der beiden Kammern ein Präparat und zwar je  $1\frac{1}{2}$  oder vielleicht 2 Mal 400 Quadrate. 27 Resultate solcher Doppelzählungen sind in der Dissertation angeführt. Abderhalden ist in der Lage, aus diesen Vergleichszählungen die Unabhängigkeit der Thoma-Zeiss'schen Kammer vom Luftdruck mit erstaunlicher Sicherheit nachzuweisen. Die Resultate weichen nämlich in den 27 Fällen im Mittel um

---

1) E. Abderhalden, Ueber den Einfluss des Höhenklimas auf die Zusammensetzung des Blutes. Dissertation. Basel 1902.

0,15 %! von einander ab. Am meisten Bewunderung verdienen die ersten 12 in Basel ausgeführten Zählungen. Namentlich wenn man eine sehr stark aus der Rolle fallende Zahl übergeht. Es ergibt sich dann aus den 11 übrigen Doppelresultaten ein mittlerer Fehler von nicht ganz 0,05 %.

Der unvermeidliche „wahrscheinliche Fehler“ der Thoma-Zeiss'schen Methode beträgt nach Abbe bekanntlich  $\pm 1\%$  für 400 Quadrate. Der „mittlere Fehler“ einer Zählung berechnet sich danach auf 1,48 %. Nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung müsste Abderhalden also fast 100 Mal 400 Quadrate gezählt haben, um den Fehler von 1,48 auf 0,15 % einzuschränken.

Abderhalden schreibt über die mitgetheilten Zahlen: „Die folgende Zusammenstellung enthält einige Resultate aus dem sehr umfangreichen Zahlenmateriale.“ Ich sehe nach all' meinen Erfahrungen über Blutkörperchenzählen keine andere Möglichkeit, als dass sie die günstigsten Ergebnisse aus einem äusserst grossen Zahlenmaterial enthält.

Es finden sich übrigens in der Literatur mehrfach Zahlenangaben, aus denen sich eine grössere Zuverlässigkeit des alten Zählapparates berechnen lässt als aus meinen Resultaten „ausgewählter“ Präparate. Ich will gern zugeben, dass sich bei noch geschickterer Auslese die Genauigkeit etwas steigern lässt. Aber gerade in der Nothwendigkeit dieser individuellen Auswahl der Präparate liegt ein wichtiger Fehler der Methode. Und wie weit im günstigsten Falle das Urtheil über die „gleichmässige Vertheilung“ reicht, das lehrt ja am einfachsten der schon mitgetheilte Versuch: Man warte bis zum Auflegen des Deckglases 10—20 Secunden — makroskopisch zeigt sich dann ein getrübttes Centrum und eine klare Aussenzone; mikroskopisch ist noch nichts von ungleichmässiger Zellvertheilung zu entdecken.

Wer hierdurch noch nicht von den Illusionen über Zählgenauigkeit befreit ist, muss sich die Mühe nehmen, eigene Vergleichszählungen anzustellen.