

Über weitere Verbesserungen der Methode zur Zählung roter Blutkörperchen nebst einigen Zählresultaten.

Von

Prof. Dr. **K. Bürker** in Tübingen.

(Mit 4 Textfiguren und Tafel XIV.)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
1. Einleitung	337
2. Die Verbesserungen	337
3. Art der Zählung	345
4. Zählresultate	351
5. Kritik der Zählmethode	358
6. Ergebnisse	370

1. Einleitung.

Während einer eingehenden Untersuchung über die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas auf das Blut¹⁾, bei welcher einen Monat lang täglich Zählungen der roten Blutkörperchen im Blute von vier Versuchspersonen vorgenommen wurden, hat Verfasser eine Reihe von Erfahrungen sammeln können, welche zu einer weiteren Verbesserung der Zählmethode²⁾ geführt haben.

2. Die Verbesserungen.

Die Verbesserungen bestehen darin, dass der bisher übliche Melangeur verworfen ist und getrennte Pipetten zur Abmessung der

1) K. Bürker, E. Jooss, E. Moll und E. Neumann, Die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas auf das Blut. Verhandl. des Deutschen Congr. f. innere Medizin, XXVIII. Kongress, S. 566. Wiesbaden 1911. — Kurze Mitteilung.

2) Über die frühere Methode siehe die Arbeiten: K. Bürker, Die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas. Dieses Archiv Bd. 105, S. 480. 1904. — Eine neue Form der Zählkammer. Ebenda Bd. 107, S. 426. 1905. — Erfahrungen mit der neuen Zählkammer nebst einer weiteren Verbesserung derselben. Ebenda Bd. 118, S. 460. 1907.

Verdünnungsflüssigkeit und des Blutes benutzt werden, dass ferner die Mischung des Blutes mit der Verdünnungsflüssigkeit in einem besonderen Glaskölbchen vorgenommen wird, aus welchem das verdünnte Blut mehrere Tage lang einwandfrei zur Zählung entnommen werden kann, dass weiterhin an der vom Verfasser angegebenen Zählkammer die zum Aufdrücken des Deckglases angebrachten Klammern besser als bisher befestigt werden können, und dass schliesslich die exakte Füllung der Kammer erleichtert ist.

Der bisher meist gebrauchte Melangeur wurde aus sechs Gründen verworfen:

1. Weil es viel leichter ist, die Abmessung des Blutes und der Verdünnungsflüssigkeit getrennt vorzunehmen, und weil nicht beide Handlungen wiederholt werden müssen, wenn die Verdünnung missglückt.

2. Weil die Abmessung des Blutes bis zur Marke 0,5, wie sie zu 200facher Verdünnung erforderlich ist, bei der Kürze des betreffenden Stückes der Messkapillare nur ungenau durchzuführen ist.

3. Weil nach Vornahme der Verdünnung sich die Grenze zwischen verdünntem Blut und reiner Verdünnungsflüssigkeit nicht immer, wie es sein soll, an der direkt unterhalb der Ampulle gelegenen obersten Marke 1 der Messkapillare befindet, sondern tiefer oder höher; tiefer dann, wenn es nicht gelungen ist, die Blutsäule bei der Verdünnung ganz in die Ampulle zu schaffen, während der Meniskus schon an der oberhalb der Ampulle angebrachten Marke angelangt ist¹⁾; höher dann, wenn die unterhalb der Ampulle angebrachte Marke 1 zu weit von der Ampulle entfernt ist, so dass das in der Ampulle enthaltene Glasstückchen ausserstande ist, auch die zwischen Marke und Ampulle befindliche Flüssigkeit gleichmässig zu mischen.

4. Weil das mit Hilfe des Melangeurs abgegrenzte Quantum der Blutmischung relativ klein und bei ungenügender Benetzung des zur Mischung dienenden Glasstückchens leicht mit nicht zu beseitigenden Luftblasen durchsetzt ist, welche einer gleichmässigen Verteilung der Blutkörperchen hinderlich sind.

5. Weil die im Melangeur befindliche Blutmischung sich schwer einwandfrei so aufheben lässt, dass auch noch an einem der nächsten Tage eine Kontrollzählung vorgenommen werden kann.

1) Das gilt ganz besonders bei nur zehnfacher Verdünnung des Blutes, wie sie zur Zählung weisser Blutkörperchen vorgenommen wird.

6. Weil es beim Durchtritt des verdünnten Blutes durch die enge Messkapillare hindurch zur Entmischung kommen kann, und weil zugleich die Übertragung des ausgeblasenen Tropfens in den Zählraum mit Schwierigkeiten verknüpft ist insofern, als die Grösse des Tropfens richtig bemessen und das gleichzeitige Eindringen von Luftbläschen verhindert werden muss.

An Stelle des Melangeurs ist daher eine besondere Pipette zur Abmessung des Blutes und eine besondere Pipette zur Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit getreten, welche C. Zeiss in Jena nach Angaben des Verfassers anfertigt.

Bei der Konstruktion der Pipetten waren Erwägungen massgebend, welche schon F. Miescher¹⁾ angestellt hat.

Die Spitze der Pipette zur Abmessung des Blutes (Fig. 1, S. 340, obere Pipette) ist nicht matt geschliffen, sondern poliert, um sicher entscheiden zu können, ob die eingesaugte Blutsäule auch genau bis zur Spitze reicht. Die Marke zur Abgrenzung der Blutsäule am anderen Ende ist ringförmig gestaltet, in die Ebene des Ringes wird der Meniskus der Blutsäule eingestellt und so falsche Abmessung durch parallaktische Verschiebung vermieden. Der abgegrenzte, 25 cmm entsprechende, Raum der Messkapillare soll etwa 80—90 mm lang sein. Etwas oberhalb der Ringmarke erweitert sich der Binnenraum der Pipette, was wegen der Reinigung notwendig ist.

Die Pipette zur Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit (Fig. 1, S. 340, mittlere Pipette) ist des grösseren Quantum dieser Flüssigkeit wegen mit einer Ampulle versehen, deren Wandstärke nicht erheblich kleiner als die der von der Ampulle entspringenden Kapillaren sein soll. Die Spitze der einen mit der Ampulle verbundenen Kapillare ist gleichfalls poliert, die andere, von der Ampulle entspringende, Kapillare trägt die Marke und erweitert sich erst etwas oberhalb der Marke. Wie bei der Blutpipette ist auch diese Marke eine Ringmarke. Die Pipette ist eine Auslaufpipette und liefert bei Zimmertemperatur 4975 cmm Verdünnungsflüssigkeit. Werden dazu 25 cmm Blut gefügt, dann ist dieses 200 fach verdünnt.

1) F. Miescher, Bemerkungen über eine verbesserte Form der Mischpipette und ihren Einfluss auf die Genauigkeit der Blutkörperzählung. Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte Jahrg. 23, S. 880. 1893.

Als Verdünnungsflüssigkeit hat sich am besten die Hayem'sche Lösung bewährt; sie konserviert die roten Blut-

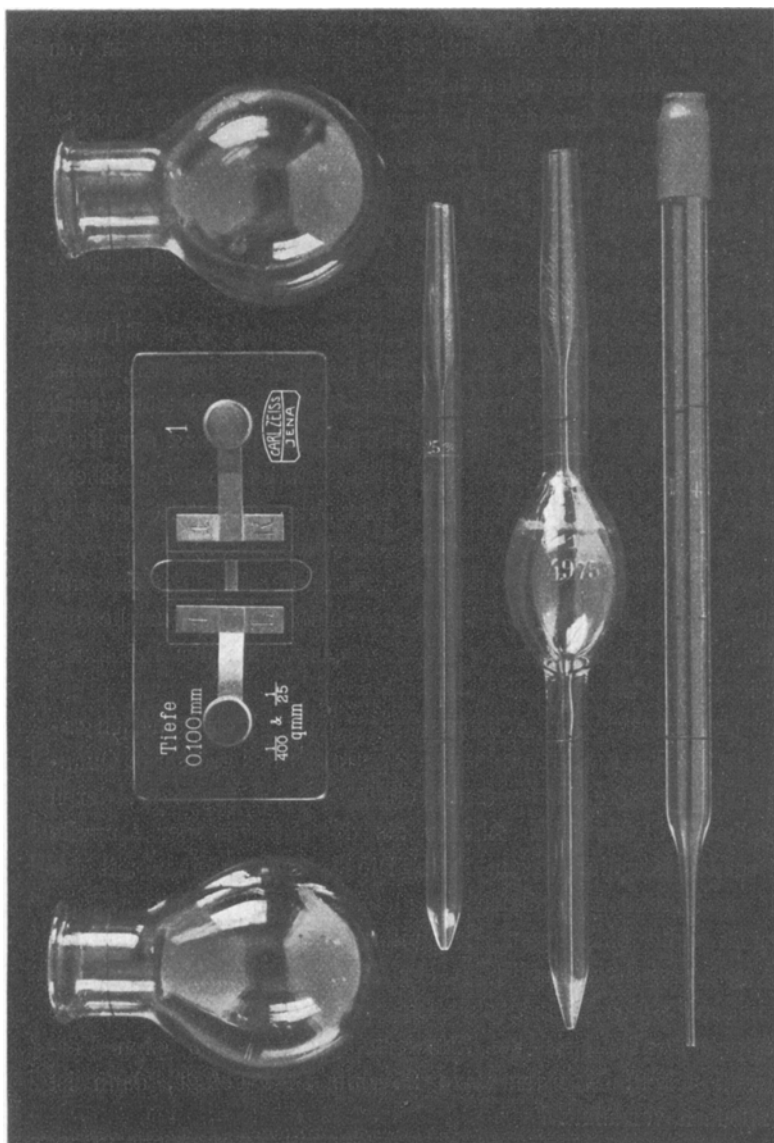


Fig. 1. Der Zählapparat. Oben in der Mitte die Zählkammer, rechts und links zwei Mischkölbchen, darunter die Pipette zur Abmessung von 25 cmm Blut, die Pipette zur Abmessung von 497½ cmm Verdünnungsflüssigkeit und die Pipette zur Übertragung des verdünnten Blutes in den Zählraum.

körperchen recht gut — wenn auch alle in Glockenform —, so dass sie einige Tage zur Zählung tauglich bleiben. Einer Entwicklung von Keimen, welche etwa in die Lösung gelangen, wird durch den

Sublimatgehalt vorgebeugt. Die Lösung ist freilich spezifisch viel leichter als die in ihr suspendierten roten Blutkörperchen (Dichte 1,015 gegen etwa 1,090), wodurch es leicht zur Entmischung kommt, aber die Differenz in den Dichten ist andererseits notwendig, damit sich die roten Blutkörperchen nach Füllung des Zählraumes rasch auf das Zählnetz senken und dort möglichst unbeweglich verharren.

Von den Kölbchen, in welchen nach Einfüllung der Verdünnungsflüssigkeit und des Blutes die Mischung vorgenommen wird, sind zwei in Fig. 1, (S. 340), rechts und links von der Zählkammer, abgebildet. Ecken und Kanten sind möglichst vermieden. Die Blutkörperchen setzen sich nach einiger Zeit am Boden dort, wo er am tiefsten ist, ab und können durch passendes Schwenken des Kölbchens jederzeit leicht wieder in der Verdünnungsflüssigkeit verteilt werden. Ein Stopfen, der nicht benetzt wird — paraffinierter Korkstopfen oder sauberer Korkstopfen allein — verschliesst nach der Füllung das Kölbchen, welches auf ein mit passender Vertiefung versehenes Holzgestell aufrecht hingestellt wird. Man hält sich mehrere solcher Kölbchen vorrätig.

Die vom Verfasser angegebene Zählkammer ist in der neuesten Form in Fig. 1 (S. 340), oben abgebildet. Die Kammer ist mit einer optischen Interferenzmethode¹⁾, welche Änderungen der Kammerhöhe bis auf $\frac{1}{300\,000}$ mm genau zu messen gestattet, geprüft und einwandfrei befunden worden. Der bisher meist benutzten Thoma-Zeiss'schen Kammer dagegen haftet, wie zuerst W. Brünings²⁾, dann auch der Verfasser³⁾ nachgewiesen hat, eine ganze Reihe von Fehlern an, wodurch der Anlass zur Konstruktion der neuen Kammer gegeben war.

Bisher wurden die Klammern, welche bei der Kammer des Verfassers das Deckglas aufgedrückt halten, in Bohrungen des gläsernen Objektträgers eingefügt. Da es technisch schwierig ist, diese Bohrungen herzustellen und die Klammern einzupassen, da ferner das Glas am Rande der Bohrung bei unvorsichtiger Handhabung ausbrechen kann, hat Verfasser Lager aus Metall, in welchen die Klammern

1) Siehe K. Bürker, Die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas. Dieses Archiv Bd. 105, S. 493. 1904.

2) W. Brünings, Ein neuer Apparat für Blutkörperchenzählung. Dieses Archiv Bd. 93, S. 377. 1903.

3) K. Bürker, Die Thoma-Zeiss'sche Zählkammer. In der unter Anmerkung 1 genannten Arbeit S. 481.

Halt finden, in die Objektträger einkitten lassen. Diese Lager haben sich sehr bewährt.

An Stelle des Deckglases mit rechteckigem und matt gehaltenem Rande ist ein Deckglas getreten, das an den langen Seiten mit abgerundetem und poliertem Rande versehen ist, um das Eindringen des verdünnten Blutes in den Zählraum möglichst ungehemmt vor sich gehen zu lassen.

Von ganz besonderer Bedeutung ist, dass die Füllung der Zählkammer mit dem verdünnten Blute nach vorheriger gleichmässiger Verteilung der Blutkörperchen in der Verdünnungsflüssigkeit rasch vorgenommen werden kann, um der Entmischung infolge des grossen Senkungsbestrebens der roten Blutkörperchen in der spezifisch viel leichteren Verdünnungsflüssigkeit vorzubeugen. Diese rasche Füllung ist dadurch ermöglicht, dass das Deckglas schon vor dem Einbringen des verdünnten Blutes in aller Ruhe unter Erzeugung schönster Newton'scher Streifen, sogar 1. Ordnung¹⁾, aufgeschoben wird und durch die Klammern in dieser Lage erhalten bleibt, was wichtig ist, weil nur bei Erzeugung und Erhaltung Newton'scher Streifen die Kammerhöhe von 0,100 mm, wie sie sein soll, garantiert ist.

Die Übertragung des verdünnten Blutes aus dem Mischkölbchen in den Zählraum wird jetzt mit einer relativ weiten Pipette (Fig. 1, S. 340, unterste Pipette) vorgenommen. Die Pipette wird aus einem Glasrohr von etwa 5 mm lichtem Durchmesser und 0,5 mm Wandstärke dadurch hergestellt, dass das Glasrohr an dem einen Ende bis auf 1 mm lichten Durchmesser ausgezogen wird. Etwa 3 cm von der Stelle entfernt, wo die Verjüngung des Glasrohres beginnt, wird mit dem Glasmesser ein feiner Strich gezogen, abgebrochen und die Bruchfläche auf Schmirgelpapier glatt geschliffen. Die ganze Pipette soll etwa 15 cm lang sein. Auf das nicht verjüngte Ende der Pipette wird ein zylindrisches Gummikäppchen so aufgeschoben, dass der obere Rand des Käppchens von dem oberen Glasrand der Pipette etwa 3 mm entfernt ist. Zwei solcher Pipetten hält man sich vorrätig, die eine dient zur Füllung der einen, die andere zur Füllung der andern Abteilung der Zählkammer²⁾.

1) Siehe F. Kohlrausch, Leitfaden der praktischen Physik, 8. Aufl., S. 476. Verlag von B. G. Teubner, Leipzig 1896.

2) Der ganze Zählapparat kann von C. Zeiss, optische Werkstätte in Jena, bezogen werden.

Die Zählung der roten Blutkörperchen in der Kammer geschieht nach einer der Thoma'schen Regel analogen Regel; man rechnet also diejenigen Blutkörperchen einem Quadrate zu, welche frei in dem Quadrate gelegen sind, und welche ferner die obere und rechte Seite decken oder von innen und aussen berühren, lässt aber unberücksichtigt alle Blutkörperchen, welche die linke und untere Seite decken oder von innen und aussen berühren.

Der Zählbefund wird in gedruckte Schemata eingetragen, jedem Quadrat der Zählfläche von $\frac{1}{400}$ qmm entspricht

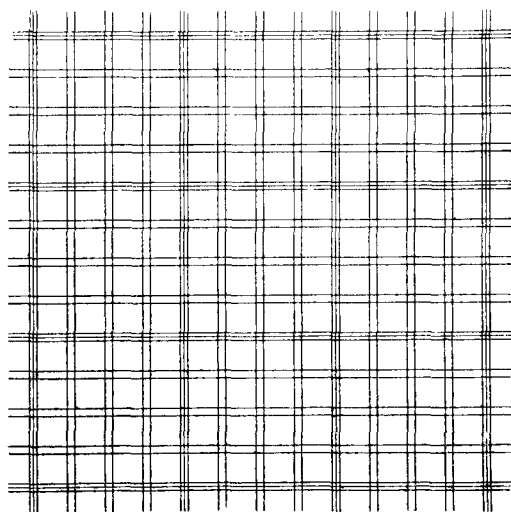


Fig. 2. Zählnetz auf der Zählfläche der Kammer. (20 mal vergr.)

ein Quadrat im Schema, in letzteren Quadraten wird die Zahl der in ersteren Quadraten gezählten roten Blutkörperchen notiert. Man führt so ein Protokoll über die Zählung, das man aufbewahren und zu eventuellen späteren Ermittlungen benutzen kann.

Diese Protokollierung hat sich als sehr nützlich erwiesen, weil dadurch die doppelte Zählung eines Quadrates ausgeschlossen ist, und man sich jederzeit leicht orientieren kann, in welchem Teile des Zählnetzes man sich gerade befindet. Man erhält ferner Aufschluss darüber, ob die Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche eine möglichst gleichmässige war oder nicht.

Da die Schemata gelegentlich missverstanden wurden, so sei kurz auf sie eingegangen. In Fig. 2 ist das Zählnetz, wie es auf

die Zählfläche eingeritzt ist, 20fach vergrössert abgebildet. Die roten Blutkörperchen werden in den kleinen Quadraten von objektiv $\frac{1}{20}$ mm Seite und $\frac{1}{400}$ qmm Fläche gezählt; in der Abbildung ist bei der 20fachen Vergrösserung die Seite gerade 1 mm, das Quadrat also 1 qmm gross. Nur diese Quadrate sind auf die Schemata übertragen, die dazwischen liegenden Rechtecke und Quadrate von 4 resp. 16 qmm sind weggelassen, da sie auch bei der Zählung der roten Blutkörperchen nicht berücksichtigt werden, wohl aber werden in

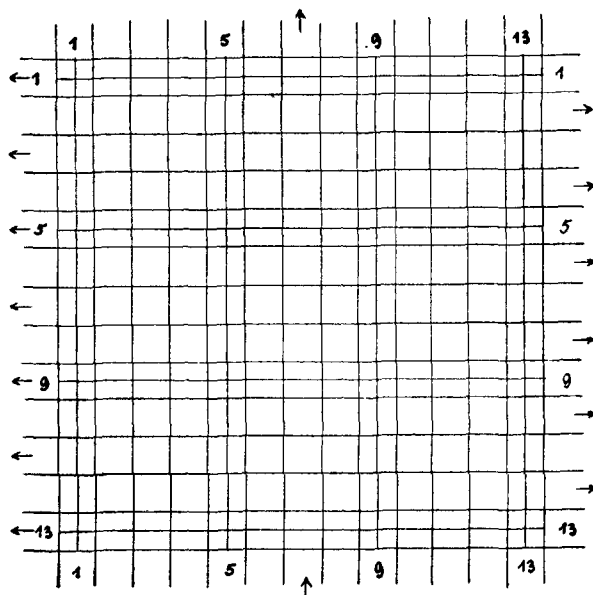


Fig. 3. Schema zum Eintragen des Zählresultates bei Zählung roter Blutkörperchen. ($\frac{1}{1,6}$ nat. Grösse.)

den grossen Quadraten die weissen Blutkörperchen gezählt. In den Schemata zur Zählung roter Blutkörperchen sind auch die Quadrate mit den Merkzeichen, welche sie teilweise auf der Zählfläche besitzen (Kreuz, horizontaler oder vertikaler Strich), versehen. Ein solches Schema ist in Fig. 3 in $\frac{1}{1,6}$ natürlicher Grösse abgebildet.

Die Horizontal- und Vertikalreihen der Quadrate sind mit Nummern versehen, jedes Quadrat ist durch Angabe der Nummer der betreffenden Horizontal- und Vertikalreihe eindeutig bestimmt. Die Pfeile geben die Richtung an, in welcher die Zählkammer objektiv verschoben werden muss, um die einzelnen Quadrate der

Reihe nach ins Gesichtsfeld des Mikroskopes zu bringen. Oberhalb und unterhalb der Schemata ist für Notizen und Berechnungen genügend Platz ¹⁾).

3. Art der Zählung.

Nach vielfältigen Erfahrungen hat sich folgende Art der Zählung als zweckmässig erwiesen.

Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit.

In die Pipette zur Abmessung von 4975 cmm Verdünnungsflüssigkeit wird Hayem'sche Lösung bis etwas über die Ringmarke langsam eingesaugt, der Schlauch der Pipette vorsichtig zugeklemmt und die Pipette dann horizontal gehalten. Darauf wird die Pipette um die Spitze herum mit einem feinen leinenen Läppchen trocken gewischt und nunmehr der Meniskus dadurch haarscharf auf die Ringmarke zurückgeführt, dass die Spitze der Pipette ein oder mehrere Male mit der gereinigten Kuppe des freien Zeigefingers leicht und kurz berührt wird. Dann geht man mit der Spitze der Pipette in das sorgfältig gereinigte, etwas schräg gestellte, Glaskölbchen bis nahe zum Boden ein und lässt die Verdünnungsflüssigkeit dadurch langsam ausfließen, dass man die Kuppe des freien Zeigefingers leicht auf das Mundstück der Pipette auflegt. Die Ausflusszeit soll etwa 40 Sekunden betragen. Zur vollständigen Entleerung der Pipette setzt man ihre Spitze etwas oberhalb des Flüssigkeitsniveaus auf die Innenwand des Glaskölbchens auf, bläst aus und tupft ab. Durch mehrmaliges Ausblasen und Abtupfen werden die letzten Reste von Flüssigkeit in das Glaskölbchen übertragen und durch passende Bewegung des Kölbchens mit der übrigen Flüssigkeit vereinigt, worauf der Stopfen aufgesetzt wird. Von nun an muss verhindert werden, dass von der abgemessenen Flüssigkeit etwas an den Hals des Kölbchens oder gar an den Stopfen gelangt.

Die Pipette wird darauf zweimal mit destilliertem Wasser ausgespült und mit der Spitze nach abwärts in ein Glas, dessen Boden mit Filtrierpapier bedeckt ist, aufrecht hingestellt.

Entziehung und Abmessung des Blutes.

Die Entziehung und Abmessung des Blutes wird bei gewöhnlicher Lebensweise am besten morgens vorgenommen, noch bevor die Ver-

1) Die Schemata können, in Heften zu 100 Stück zusammengefasst, von der Buchdruckerei H. Laupp in Tübingen bezogen werden.

suchsperson irgend etwas genossen hat; man ist dann sicher, dass sich ihr Blut in einem gewissen Gleichgewichtszustande befindet.

Die Entziehung des Blutes geschieht am besten aus der Fingerkuppe¹⁾. Man wählt, falls es sich nur um eine einmalige Bestimmung handelt, die Fingerkuppe des vierten Fingers der linken Hand, vorausgesetzt, dass nicht ein Ring den Finger zu sehr einschnürt. Bei mehrmaligen Bestimmungen wechselt man mit fünftem, viertem und drittem Finger der linken Hand ab.

Vor der eigentlichen Blutentziehung wird dafür gesorgt, dass die Zimmertemperatur etwa 17° C beträgt und nicht unter diesen Wert sinkt, um einer Kontraktion der Hautgefäße vorzubeugen. Darauf wird die Hand in lauwarmem Wasser mit Seife gereinigt, abgespült, abgetrocknet und alsdann die betreffende Fingerkuppe mit Ätheralkohol, den man in ein reines Tuch oder in reine Watte aufgenommen hat, desinfiziert. Mit Ätheralkohol desinfiziert man auch das Francke'sche Instrument zur Blutentziehung²⁾, dessen Schneide aber nicht spitz, lanzetteartig, sondern breit, meiselartig sein soll, um die Blutgefäße in möglichst grossem Umfange zu eröffnen, und dem Blute dadurch einen ungehemmten Abfluss zu verschaffen. Die Länge des in die Haut einschlagenden Teiles des Instruments wählt man so, dass das Blut sofort nach dem Schnitte in einem grossen Tropfen auf die Haut austritt, ohne dass man stärkeren Druck auf den Finger anwendet; sorgt man mit Hilfe eines kleinen Ölsteines dafür, dass die Schneide des Instrumentes stets scharf bleibt, so ist dies leicht durchzuführen. Übrigens schadet ein gelinder Druck nicht, sofern er nur auf die zweite Phalanx und nicht auf die Fingerkuppe selbst ausgeübt wird. Auch kann man durch Auseinanderziehen der Wundränder ein stärkeres Bluten veranlassen.

Während nun die Versuchsperson den Arm möglichst frei und etwas abduziert hält, um die Blutzirkulation ungehemmt vor sich gehen zu lassen, wird die Fingerkuppe in Herzhöhe gebracht, die Schneide des Francke'schen Instrumentes möglichst senkrecht zum Verlaufe der Blutgefäße aufgesetzt, der Schnitt erzeugt und der zunächst

1) Siehe darüber K. Bürker, Gewinnung, qualitative und quantitative Bestimmung des Hämoglobins. Tigerstedt's Handb. d. physiol. Methodik Bd. 2, Abt. 1, S. 75. Verlag S. Hirzel, Leipzig 1910.

2) Siehe den in Anm. 1 erwähnten Beitrag des Verfassers zum Tigerstedt'schen Handb. d. physiol. Methodik S. 77.

austretende Blutstropfen vollständig abgewischt. Mitten in den folgenden Tropfen wird die Spitze der möglichst wagerecht gehaltenen Blutpipette eingetaucht und so viel Blut angesaugt, dass der Meniskus in die Ebene der Ringmarke hineinfällt oder etwas über diese Ebene hinausragt. Dann wird die Spitze der Pipette abgewischt, ohne die Öffnung selbst zu berühren, und zugesehen, ob die Blutsäule in der Tat von der Spitze bis zur Ringmarke reicht. Ist der obere Meniskus etwas über die Ringmarke hinausgetreten, so wird er dadurch haarscharf auf die Marke zurückgeführt, dass die Spitze der Pipette mit der Kuppe des freien gereinigten Zeigefingers ein oder mehrere Male leicht und kurz berührt wird.

Mischung von Blut und Verdünnungsflüssigkeit.

Ist die Abmessung des Blutes richtig erfolgt und die Spitze der Pipette von aussen anhaftendem Blute vollständig befreit, so wird mit der Spitze in die in das Mischkölbchen abgemessene Verdünnungsflüssigkeit eingegangen und das Blut, das sich sofort auf den Boden senkt, langsam so ausgeblasen, dass keine störenden Luftblasen entstehen. Dann wird reine Verdünnungsflüssigkeit aus dem Kölbchen angesaugt, wieder ausgeblasen und Einsaugen und Ausblasen so lange fortgesetzt, bis die Pipette möglichst entleert ist.

Jetzt wird das Blut mit der Verdünnungsflüssigkeit gemischt, indem das Kölbchen 2 Minuten lang abwechselnd in gleichem und in entgegengesetztem Sinne der Bewegung des Uhrzeigers in einigen Spiraltouren mit immer kleinerem Radius geschwenkt wird, ohne aber das verdünnte Blut aus dem kugeligen Teile in den Hals oder gar an den Stopfen des Kölbchens gelangen zu lassen. Ist die Mischung erfolgt, dann wird die Blutpipette in das verdünnte Blut eingetaucht und noch mehrere Male mit ihm ausgespült, möglichst ohne Luftblasen zu erzeugen.

Die Reinigung der Blutpipette erfolgt in der Weise, dass sie zunächst mehrere Male mit destilliertem Wasser ausgespült wird, worauf man zusieht, ob innen in der Nähe der Ringmarke sich etwa Fibrin abgeschieden hat, was häufig der Fall ist. Man beseitigt dieses Fibrin sofort mit dem abgerundeten Ende eines nicht rostenden, weichen Drahtes (Nickeldraht), spült noch einige Male mit destilliertem Wasser aus und trocknet den Binnenraum der Pipette dadurch, dass man Ätheralkohol (dem Volumen nach zu gleichen Teilen) einsaugt, wieder ausfliessen lässt und mit Hilfe des Mundes,

des Mundstückes und Schlauches der Pipette Luft hindurchsaugt, aber nicht hindurchbläst, worauf die Pipette mit der Spitze nach abwärts in das Glas neben die Verdünnungspipette aufrecht hingestellt wird. Bei beiden Pipetten verhindern die aufgesteckten und umgebogenen Schläuche ein Eindringen von Staub in den Innenraum der Pipetten. Von Zeit zu Zeit werden beide Pipetten eingehender mit konzentrierter Schwefelsäure, in welcher man etwas Kaliumbichromat aufgelöst hat, gereinigt¹⁾.

Übertragung des verdünnten Blutes in die Zählkammer.

Die auseinandergenommene, mit destilliertem Wasser und Ätheralkohol gereinigte und mit einem möglichst fäserchenfreien Tuche getrocknete Zählkammer samt Deckglas wird auf schwarzer Unterlage mit einem feinen Haarpinsel von Stäubchen befreit. Dann wird das Deckglas, während die beiden Zeigefinger es gegen die Unterlage andrücken, mit den beiden Daumen aufgeschoben und durch die Klammern so aufgedrückt, dass über den Deckglasunterlagen überall Newton'sche Streifen, möglichst 1. Ordnung (schwarze und braune) zu sehen sind. Darauf wird die Kammer auf einem Justiertischchen oder noch besser auf dem Objektisch des Mikroskopes unter Kontrolle mit der Wasserwage horizontal gelagert und nunmehr zur Füllung geschritten.

Zu dem Zwecke wird das verdünnte Blut durch das beschriebene Hin- und Herschwenken des Kölbchens sorgfältig während 2 Minuten gemischt. Dann wird das Kölbchen, mit dem Halse dem Untersucher zugewendet, in nächster Nähe der Zählkammer auf eine schwarze Unterlage hingestellt und abgewartet, bis die wolkige Trübung einer gleichmässigen Platz gemacht hat. Darauf wird eine Übertragungspipette gefasst, mit der Spitze, während ein gelinder Druck auf das Gummikäppchen ausgeübt wird, in das verdünnte Blut eingegangen, mit dem Drucke langsam nachgelassen und dadurch bewirkt, dass etwas verdünntes Blut langsam in die Pipette einsteigt. Sofort wird die Pipette vorsichtig herausgezogen, die Spitze sogleich auf den vorragenden Teil der einen Abteilung der Zähl-

1) Siehe W. Ostwald und R. Luther, Hand- und Hilfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen, 2. Aufl., S. 135. Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1902

fläche aufgesetzt, ein leicht zunehmender Druck auf das Gummikäppchen ausgeübt, bis das verdünnte Blut gerade das Deckglas erreicht, worauf mit dem Druck nachgelassen wird. Die Füllung erfolgt dann momentan.

Jetzt wird die Übertragungspipette völlig ausgeblasen, mit etwas Wasser gefüllt und mit der Spitze voran in ein Glas mit Wasser aufrecht hingestellt. Darauf wird das in dem Kölbchen befindliche verdünnte Blut wieder 2 Minuten lang gemischt und mit einer andern Pipette die Füllung der zweiten Abteilung der Zählkammer in der gleichen Weise vorgenommen, worauf man die Kammer ruhig stehen lässt, bis sich die Blutkörperchen auf die Zählfläche gesenkt haben, was nach 1 Minute geschehen ist.

Während des Senkens reinigt man die Übertragungspipetten an dem betreffenden Ende, indem man mehrere Male destilliertes Wasser mit Hilfe des Gummikäppchens einsaugt und ausbläst, die Wasserreste durch Ätheralkohol beseitigt und den Binnenraum mit Hilfe eines durchgesaugten Luftstromes trocknet. Von Zeit zu Zeit empfiehlt sich eine mechanische Reinigung mit einer Feder und eine chemische mit konzentrierter Schwefelsäure und etwas Kaliumbichromat ¹⁾.

Hat man die Zählkammer nicht auf dem Objektische des Mikroskopes selbst gefüllt, sondern auf einem Justiertischchen, so kann man sie bei möglichst horizontaler Haltung, ohne eine in Betracht kommende Verschiebung der Blutkörperchen nach der Senkung befürchten zu müssen, auf den Objektisch des Mikroskopes übertragen.

Prüfung auf gleichmässige Verteilung der Blutkörperchen.

Diese Prüfung wird so vorgenommen, dass man bei weitgeöffneter Blende die Zählfläche von unten her mit dem Spiegel des Mikroskopes beleuchtet. Bei seitlichem Blick auf die Zählfläche sieht man über ihr mit blossem Auge eine von den Blutkörperchen herrührende Trübung. Ungleichmässigkeiten in der Verteilung äussern sich sofort dadurch, dass diese Trübung keine regelmässige ist, in welchem Falle eine neue Füllung vorgenommen werden muss. Ist eine Abteilung gut gefüllt, die andere schlecht, so zählt man erstere durch, bevor man von neuem füllt.

1) Siehe S. 348, Anm. 1.

Zählung und Berechnung.

Zur Zählung, die man bei Zimmertemperatur vornimmt, ist ein in zwei zueinander senkrechten Richtungen verschiebbarer Objektisch unentbehrlich. Man beginnt mit der Zählung bei etwa 320 facher Vergrößerung in der linken oberen Ecke des Zählnetzes, zählt die roten Blutkörperchen in den kleinen Quadraten der Transversalreihen von $\frac{1}{400}$ qmm nach einer der Thoma'schen Regel analogen Regel (S. 343) nacheinander durch, wobei man zu beachten hat, dass die Lymphocyten etwa gleich gross wie die roten Blutkörperchen sind, und trägt die gefundenen Zahlen in die entsprechenden Quadrate der Schemata ein. Dabei muss man sich daran gewöhnen, innerhalb der Quadrate bestimmte Gruppenbilder von roten Blutkörperchen als Zahlenbilder aufzufassen und nicht jedes einzelne Blutkörperchen einer Gruppe zu zählen, man arbeitet so rascher und sicherer. Typisch ist z. B., dass ein Blutkörperchen von vier anderen umgeben ist, so dass sich beim Anblicke dieses Bildes sofort die Zahl 5 aufdrängt. Nach dem Eintragen des Zählresultates in das entsprechende Quadrat des Schemas überfliegt der Blick zur Kontrolle noch rasch einmal das Quadrat der Zählfläche, bevor ein neues zur Zählung eingestellt wird.

Man zählt bei der 200fachen Verdünnung immer 80 Quadrate oder ein Mehrfaches von 80 Quadraten durch, und zwar immer von der Gesamtzahl der Quadrate die eine Hälfte in der einen, die andere in der anderen Abteilung der Zählkammer. Für genauere Versuche zählt man zweimal 80 Quadrate in der einen und ebensoviel in der anderen Abteilung der Kammer. Indem man die in die Quadrate der Schemata eingetragenen Zählresultate reihenweise addiert, ergibt sich, ob die Blutkörperchen in den in Betracht kommenden Grenzen gleichmässig verteilt waren.

Die Berechnung ist sehr einfach. Hat man bei 200facher Verdünnung in 80 Quadraten 536 rote Blutkörperchen gezählt, so sind in 1 cmm Blut 5,36 Millionen enthalten. Mehr Dezimalstellen als zwei anzugeben, ist sinnlos.

Muss die Zählung unterbrochen werden oder dauert sie längere Zeit, so wird die Zählkammer mit der früher beschriebenen feuchten Kammer¹⁾ umgeben, um die bei der offenen Kammer bald ein-

1) K. Bürker, Erfahrungen mit der neuen Zählkammer nebst einer weiteren Verbesserung derselben. Dieses Archiv Bd. 118, S. 465. 1907.

tretende Verdunstung der Verdünnungsflüssigkeit zu verhindern. Unter gewöhnlichen Verhältnissen ist die feuchte Kammer entbehrlich.

Sofort nach der Zählung wird die Kammer sorgfältig gereinigt und so zusammengesetzt, dass jederzeit eine neue Zählung angeschlossen werden kann.

4. Zählresultate.

Um ein Urteil über die Genauigkeit der Zählung zu gewinnen, hat Verfasser unter möglichst konstanten Bedingungen an sieben aufeinanderfolgenden Tagen Zählungen der roten Blutkörperchen in seinem Blute nach der beschriebenen Methode vorgenommen. Zum Vergleich wurde eine gleichfalls aus dem Blute des Verfassers hergestellte konstante Blutmischung während derselben Zeit unter denselben Bedingungen untersucht. Die folgenden Tabellen enthalten die Resultate der Versuche (S. 352).

In der ersten Spalte der ersten Tabelle ist das Datum des Versuches angegeben, in der zweiten das Körpergewicht in Kleidern, aber mit entleerten Taschen, in der dritten bedeutet l_5 Blutentziehung an der Kuppe des linken fünften Fingers, l_4 am linken vierten Finger usw., in der vierten ist die Aussentemperatur, im Schatten des Instituts gemessen, enthalten, in der fünften der auf 0°C reduzierte Barometerstand, in der sechsten die mittlere, durch passende Heizung regulierte, Zimmertemperatur, in der siebenten die Zahlen der roten Blutkörperchen in je 80 Quadraten, viermal 80 Quadrate wurden gezählt, in der achten der berechnete Mittelwert in 1 mm Blut.

Unter der Annahme, dass die Zusammensetzung des Blutes während des siebentägigen Versuches keine wesentliche Änderung erfahren hat — zur Annahme einer Veränderung liegt wenigstens keine Veranlassung vor —, berechnet sich für diese Zeit ein Mittelwert von 5,25 Millionen roter Blutkörperchen in 1 mm Blut. Da die Summe der Fehlerquadrate (Σd^2) 515 beträgt, so ergibt sich bei sieben Zählungen (n) der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung (f_m) zu

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}} = \pm \sqrt{\frac{515}{6}} = \pm 9,3 \text{ Körperchen}$$

oder zu 1,8%, der mittlere Fehler des Mittelwertes (F_m) zu

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n(n-1)}} = \pm \sqrt{\frac{515}{7 \cdot 6}} = \pm 3,5 \text{ Körperchen}$$

oder zu 0,7%.

Zählung der roten Blutkörperchen im Blute des Verfassers.

Versuch vom 11. bis 17. Mai 1911.

Datum	Körper- gewicht kg	Ort der Blut- ent- ziehung	Aussen- tempera- tur ° C.	Luft- druck in mm Hg (red.)	Mittlere Zimmer- temp. ° C.	Zahl der Blutkörperchen	
						in vier- mal 80 Quadraten	in 1 cmm Blut in Millionen
11.	am 10. Mai 89,5	l_5	13,0	729,0	17	{ 530 538 512 519 }	5,25
12.	89,3	l_5	14,0	729,5	17	{ 537 543 556 510 }	5,37
13.	---	l_4	17,0	727,1	17	{ 509 536 554 530 }	5,32
14.	89,6	l_3	18,5	726,1	17	{ 517 501 587 527 }	5,33
15.	---	l_5	18,0	726,6	17	{ 539 518 485 536 }	5,20
16.	89,5	l_4	13,5	726,6	17	{ 551 482 521 513 }	5,17
17.	---	l_3	17,5	727,0	17	{ 506 549 496 498 }	5,12

Zählung der roten Blutkörperchen in einer konstanten Blutmischung.

Versuch vom 11. bis 17. Mai 1911.

Datum	Mittlere Zimmer- temperatur ° C.	Zahl der Blutkörperchen	
		in viermal 80 Quadraten	in 1 cmm Blut in Mill.
11.	17	{ 570 541 538 530 }	5,45
12.	17	{ 541 578 542 512 }	5,43
13.	17	{ 535 533 576 541 }	5,46
14.	17	{ 498 574 499 533 }	5,26
16.	17	{ 529 555 520 497 }	5,25
17. morgens	17	{ 519 536 537 555 }	5,37
17. mittags	17	{ 509 503 542 549 }	5,26

Die unter möglichst gleichen Bedingungen vorgenommenen Zählungen in der konstanten Blutmischung ergaben die in der vorhergehenden Tabelle zusammengestellten Resultate. Zu der

Tabelle, die der vorhergehenden analog ist, muss bemerkt werden, dass am 15. Mai die Übertragung des verdünnten Blutes in die Zählkammer mit paraffinierten Pipetten, statt mit nichtparaffinierten, geschah, weshalb dieser Versuch weggelassen wurde, dafür wurden aber am 17. Mai zwei Zählungen vorgenommen.

Der Mittelwert beträgt 5,35 Millionen roter Blutkörperchen in 1 cmm Blut, daher die Summe der Fehlerquadrate bei sieben Zählungen 551 und damit der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{551}{6}} = \pm 9,6 \text{ Körperchen}$$

oder 1,8 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{551}{7 \cdot 6}} = \pm 3,6 \text{ Körperchen}$$

oder 0,7 %.

Das Resultat dieser Versuche ist im Vergleich mit dem des vorhergehenden sehr beachtenswert, insofern als die Fehler in beiden Fällen genau gleich gross sind. Ob man also einer Versuchsperson jeden Tag Blut frisch entzieht und die roten Blutkörperchen darin zählt oder unter möglichst gleichen Bedingungen die Zahl in einer konstanten Blutmischung bestimmt, die Fehler der Zählmethode sind die gleichen. Daraus darf man aber weiterhin folgern, dass die Zahl der Blutkörperchen im Blute unter normalen Verhältnissen eine recht konstante ist, und dass die bei unserer Art der Blutentziehung, Blutabmessung und Blutverdünnung gemachten Fehler gar nicht in Betracht kommen gegenüber dem bedenklichsten aller bei Zählung roter Blutkörperchen sich geltend machenden Fehler, nämlich der nie völligen Gleichmässigkeit der Verteilung dieser winzigen, dazu spezifisch schwereren, Gebilde in der spezifisch leichteren Verdünnungsflüssigkeit.

Die obigen Berechnungen gründen sich auf eine Auszählung von $4 \cdot 80 = 320$ Quadraten, wobei je $2 \cdot 80 = 160$ Quadrate auf jede Abteilung der Zählkammer kommen; es fragt sich noch, wie gross ist die Genauigkeit, wenn die Zählung sich auf weniger Quadrate erstreckt?

Werden nur je 80 Quadrate in jeder Abteilung ausgezählt, und zwar so, dass in der einen Abteilung 80 nach aussen gelegene Quadrate des Zählnetzes, in der andern Abteilung 80 nach innen gelegene Quadrate berücksichtigt werden, so ergeben sich für die konstante Blutmischung nach den in die Schemata eingetragenen Zahlen folgende Resultate.

Zählung der roten Blutkörperchen in der konstanten Blutmischung unter Berücksichtigung von 160 Quadraten.

Versuch vom 11. bis 17. Mai 1911.

Datum	Zahl der Blutkörperchen	
	in zweimal 80 Quadraten	in 1 cmm Blut in Millionen
11. Mai	570 und 541	5,56
12. "	541 " 578	5,60
13. "	535 " 533	5,34
14. "	498 " 574	5,36
16. "	529 " 555	5,42
17. "	519 " 536	5,28
17. "	509 " 503	5,06

Daraus berechnet sich als Mittelwert 5,37 Millionen gegenüber 5,35 bei Auszählung von 320 Quadraten. Da die Summe der Fehlerquadrate 1967 beträgt, so ergibt sich der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{1967}{6}} = \pm 18,1 \text{ Körperchen}$$

oder 3,4 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{1967}{7 \cdot 6}} = \pm 6,8 \text{ Körperchen}$$

oder 1,3 %.

Bei Berücksichtigung von nur 80 Quadraten, wobei 40 nach aussen gelegene Quadrate des Zählnetzes in der einen Abteilung, 40 nach innen gelegene in der andern Abteilung gezählt werden, kommt man zu folgendem Ergebnis.

Zählung der roten Blutkörperchen in der konstanten Blutmischung unter Berücksichtigung von 80 Quadraten.

Versuch vom 11. bis 17. Mai 1911.

Datum	Zahl der Blutkörperchen	
	in zweimal 40 Quadraten	in 1 cmm Blut in Millionen
11. Mai	289 + 253 = 542	5,42
12. "	262 + 297 = 559	5,59
13. "	268 + 264 = 532	5,32
14. "	220 + 292 = 512	5,12
16. "	258 + 281 = 539	5,39
17. "	255 + 273 = 528	5,28
17. "	234 + 249 = 483	4,83

Durch die letzte, etwas aus der Reihe fallende, Zahl wird der Mittelwert auf 5,28 Millionen herabgedrückt, ohne diese würde er 5,35 wie nach Auszählung von 320 Quadraten betragen. Bei einer Fehlerquadratsumme von 3575 ergibt sich der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung zu

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{3575}{6}} = \pm 24,4 \text{ Körperchen}$$

oder 4,6 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{3575}{7 \cdot 6}} = \pm 9,2 \text{ Körperchen}$$

oder 1,7 %, dazu kommt in beiden Fällen die konstante Abweichung vom Mittelwerte von 1,3 %, so dass sich die Zahlen auf 5,9 % und 3,0 % erhöhen.

In der folgenden Tabelle ist zusammengestellt, welche Fehler man mit Rücksicht auf die Anzahl der gezählten Quadrate bei unserer Art der Zählung zu erwarten hat.

Anzahl der gezählten Quadrate	Mittlerer Fehler		Grösste Abweichungen d. einzelnen Zählungen vom Mittelwerte bei 7 Zählungen
	je der einzelnen Zählung	des Mittelwertes bei 7 Zählungen	
80	5,9 %	3,0 %	+ 4,5 — 9,8 %
160	3,4 %	1,3 %	+ 4,7 — 5,4 %
320	1,8 %	0,7 %	+ 2,1 — 1,9 %

Zwei weitere Versuchsreihen waren schon vom 1. bis 7. April 1911 in fast derselben Weise durchgeführt worden, nur dass statt der beschriebenen einfachen Übertragungspipetten innen mit festem Paraffin überzogene Pipetten zur Füllung der Zählkammer benutzt wurden. Der Paraffinüberzug sollte einer Benetzung und damit Entmischung durch Adhäsion der Blutkörperchen am Glase vorbeugen. Auch die Resultate dieser Versuchsreihen, bei welchen das jeden Tag frisch entzogene Blut in bezug auf den Blutkörperchengehalt mit einer konstanten Blutmischung verglichen wurde, seien in den Tabellen auf S. 356 und 357 mitgeteilt.

In der ersten Versuchsreihe, die sich auf das jeden Tag frisch entzogene Blut bezieht, beträgt der Mittelwert 5,29

Zählung der roten Blutkörperchen im Blute des Verfassers.

Versuch vom 1. bis 7. April 1911.

Datum April	Körper- gewicht kg	Ort der Blut- ent- ziehung	Aussen- tempera- tur ° C. 1)	Luft- druck in mm Hg (red.)	Mittlere Zimmer- temp. ° C.	Zahl der Blutkörperchen	
						in vier- mal 80 Quadrater	in 1 cmm Blut in Millionen
1.	88,4	l_5	+ 5,3	732,5	17 {	522 582 533 531	} 5,42
2.	—	l_4	+ 4,2	730,7	17 {	523 549 533 522	} 5,32
3.	88,3	l_3	+ 8,0	724,9	17 {	504 522 521 512	} 5,15
4.	—	l_5	— 2,6	728,7	17 {	506 514 549 576	} 5,36
5.	88,1	l_4	— 4,4	725,6	17 {	520 528 533 508	} 5,22
6.	—	l_3	— 3,3	727,7	17 {	607 507 536 512	} 5,41
7.	87,5	l_5	— 4,2	731,8	17 {	524 541 585 521	} 5,43

Millionen. Bei einer Fehlerquadratsumme von 700 berechnet sich daher der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{700}{6}} = \pm 10,8 \text{ Körperchen}$$

oder 2,0 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{700}{7 \cdot 6}} = \pm 4,1 \text{ Körperchen}$$

oder 0,8 %.

Die Zählung in der konstanten Blutmischung (S. 357) ergab 5,18 Millionen als Mittelwert und als Summe der Fehlerquadrate 384, woraus sich als mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{384}{6}} = \pm 8,0 \text{ Körperchen}$$

oder 1,5 %, als mittlerer Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{384}{7 \cdot 6}} = \pm 3,0 \text{ Körperchen}$$

oder 0,6 % ableitet.

1) Im benachbarten physikalischen Institut etwa 1 Stunde vor Beginn der Versuche gemessen.

Zählung der roten Blutkörperchen in einer konstanten Blutmischung.

Versuch vom 1. bis 7. April 1911.

Datum April	Mittlere Zimmer- temperatur ° C.	Zahl der Blutkörperchen	
		in viermal 80 Quadraten	in 1 cmm Blut in Mill.
1.	17	473 520 523 527	5,11
2.	17	459 494 498 573	5,06
3.	17	537 529 513 489	5,17
4.	17	523 503 545 497	5,17
5.	17	509 543 532 518	5,26
6.	17	534 486 536 538	5,23
7.	17	507 483 562 559	5,28

So völlig gleich gross wie bei den vorher (S. 352 und 353) mitgeteilten Parallelzählungen von Blut und konstanter Blutmischung sind die Fehler bei diesen beiden Versuchsreihen nicht. Die etwas grösseren Fehler bei der Zählung des Blutes können dadurch bedingt sein, dass die Aussentemperatur plötzlich für einige Tage unter den Gefrierpunkt sank; auch dass paraffinierte Übertragungspipetten benutzt wurden, kann von Einfluss sein¹⁾. Immerhin ist die Übereinstimmung unter diesen Umständen eine ganz befriedigende, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

	Blut	Konstante Blut- mischung
Mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung in Prozenten	1,8 und 2,0	1,8 und 1,5
Mittlerer Fehler des Mittelwertes in Pro- zenten	0,7 „ 0,8	0,7 „ 0,6

Auf Tafel XIV sind die bei den vier Versuchsreihen gewonnenen Resultate graphisch verzeichnet, die gestrichelte Linie gibt immer

1) Über vergleichende Zählungen unter Benutzung paraffinierter und nicht-paraffinierter Übertragungspipetten siehe S. 364.

den Mittelwert an. Ein Blick auf die Kurven lehrt, dass die Fehler etwa gleich gross sind, ob nun das Blut jeden Tag von neuem entzogen, abgemessen, verdünnt und gezählt wird oder ob die Zahl in der konstanten Blutmischung ermittelt wird. Die weitere Folgerung daraus ist schon früher (S. 353) gezogen worden.

Jedenfalls kann man mit dem Resultate, dass eine Zählung roter Blutkörperchen bei 200facher Verdünnung des Blutes und bei Berücksichtigung von 320 Quadraten, eingerechnet alle Fehler, welche von der Blutentziehung bis zur Zählung, diese eingeschlossen, gemacht werden, mit einem mittleren Fehler von nur 2% behaftet ist, recht zufrieden sein.

Es wird nunmehr zu prüfen sein, wo etwa weitere Bemühungen zur Verbesserung der Zählmethode einzusetzen haben.

5. Kritik der Zählmethode.

Im folgenden sollen die einzelnen Phasen der Zählung in der Reihenfolge, in welcher sie sich abspielen (siehe S. 345), einer kritischen Betrachtung unterworfen werden.

Was zunächst die Wahl der Verdünnungsflüssigkeit betrifft, so soll diese die Blutkörperchen gut konservieren und leicht flüssig sein, sie soll keine zu geringe Dichte und keinen zu grossen Brechungsexponenten haben, leicht und vollständig aus der Pipette und dem Zählraum zu entfernen und dabei unverändert haltbar sein.

Die Blutkörperchen müssen gut konserviert sein, weil sie sich dann leichter und längere Zeit zählen lassen. Die Verdünnungsflüssigkeit darf nicht zähflüssig sein, weil sonst die Mischung erschwert ist und der Zählraum sich zu langsam füllt. Die Dichte der Verdünnungsflüssigkeit darf nicht zu gering sein, weil sich sonst die relativ schweren roten Blutkörperchen zu rasch senken, wodurch Entmischung droht; die Dichte darf andererseits auch nicht zu gross sein, weil sonst die Blutkörperchen auf dem Zählnetz nicht unbeweglich verharren und weil sie ferner im Mischkölbchen leichter an dem nur vorübergehend benetzten Teil der inneren Wand hängen bleiben und eintrocknen. Der Brechungsexponent der Flüssigkeit darf nicht zu gross sein, weil sonst das Zählnetz auf dem Boden des Zählraumes nur schwer zu sehen ist. Die Flüssigkeit darf ferner nicht

schmieren, weil sich sonst die Pipette und der Zählraum schwer reinigen lassen.

Aus all diesen Gründen verbietet sich insbesondere der Zusatz von Glycerin zur Verdünnungsflüssigkeit, wie sich auch noch später (S. 361) ergeben wird.

Es ist nicht ganz leicht, eine Flüssigkeit zu finden, welche allen den genannten Anforderungen genügt, am ehesten ist dies noch bei der Hayem'schen Lösung der Fall. Diese Lösung konserviert die roten Blutkörperchen ausgezeichnet, alle aber in Glockenform, und ermöglicht ferner auch unschwer die Unterscheidung von roten und weissen Blutkörperchen; man braucht nur den Tubus hoch einzustellen und erkennt dann leicht an dem hellen Glanze den Leukocyt. Nur die kleinen Lymphocyten können gelegentlich Zweifel erwecken. Werden die Blutkörperchen etwa eine Woche lang in der Hayem'schen Lösung untersucht, so zeigt sich gegen Ende der Woche eine Neigung zu Niederschlägen und Agglutination.

Die Leichtflüssigkeit der Lösung ergibt sich aus der Bestimmung der inneren Reibung¹⁾, welche, auf Wasser als Einheit bezogen, bei einer Dichte von 1,015 und bei 15° C. nur 1,05 beträgt. Der Brechungsexponent wurde mit dem Abbe'schen Refraktometer für Natriumlicht zu 1,335 ermittelt, unterscheidet sich also von dem des Wassers, 1,333, nur sehr wenig. Die vollständige Entfernung der Lösung aus Pipette und Zählraum bietet keine Schwierigkeit. Die Lösung ist haltbar genug, ein feiner Bodensatz, der nach einiger Zeit entsteht, stört nicht, da die Lösung nicht durchgeschüttelt zu werden braucht.

Bezüglich der Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit hat sich gezeigt, dass sie sich sehr genau durchführen lässt, wie folgende Versuche beweisen.

Versuch vom 23. Juni 1911.

Die Pipette zur Abmessung von 4,975 ccm Verdünnungsflüssigkeit wird in der beschriebenen Weise zunächst mit destilliertem Wasser, statt mit Hayem'scher Lösung, gefüllt und in ein sorgfältig gereinigtes Mischkölbchen mit einer Ausflusszeit von etwa 40 Sekunden entleert. Bestimmung des Gewichtes des Mischkölbchens vor und nach der Füllung. Fünf derartige Bestimmungen wurden hintereinander bei einer mittleren Zimmertemperatur von 17,7° C. vorgenommen.

1) K. B ü r k e r, Eine neue Form der Zählkammer. Dieses Archiv Bd. 107, S. 442. 1905.

Bei der 1. Bestimmung wurden entleert	4,978 g
" " 2. " " "	4,976 g
" " 3. " " "	4,978 g
" " 4. " " "	4,979 g
" " 5. " " "	4,975 g
Mittel	4,977 g

Die grössten Abweichungen vom Mittelwerte 4,977 betragen nur $\pm 0,002$ oder $0,04\%$.

Versuch vom 27. Juni 1911.

Es wird genau so verfahren wie beim vorhergehenden Versuche, nur dass die Pipette mit Hayem'scher Lösung gefüllt und diese in das Mischkölbchen entleert wird. Zimmertemperatur $16,9^{\circ}\text{C}$.

Bei der 1. Bestimmung wurden entleert	5,055 g
" " 2. " " "	5,056 g
" " 3. " " "	5,056 g
" " 4. " " "	5,055 g
" " 5. " " "	5,056 g
Mittel	5,056 g

Die grösste Abweichung vom Mittelwerte 5,056 beträgt nur $-0,001$ oder $0,02\%$.

Nach W. Ostwald und R. Luther¹⁾ lassen sich Volumenbestimmungen mit Pipetten für 2 ccm Inhalt mit einer Genauigkeit von $0,05\%$ vornehmen, ein Wert, welcher von derselben Grössenordnung wie unser Wert ist.

Aus den Versuchen geht hervor, dass die Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit mit einem etwa 100mal kleineren Fehler behaftet ist als das Zählresultat selbst.

Die Entziehung des Blutes aus der Fingerkuppe muss sich auch genügend genau vornehmen lassen, sonst dürften die Parallelzählungen in dem jedesmal frisch entzogenen Blute und in der konstanten Blutmischung nicht mit demselben Fehler behaftet sein. Man könnte aber immerhin einwenden, die Entziehung lässt sich wohl genügend gleichmässig vornehmen, ob aber der ermittelte Wert die Blutkörperchenzahl im Kapillarblute richtig angibt, ob nicht Verdünnung durch Gewebslymphe eine Rolle spielt, ist eine andere Frage, die zusammen mit der weiteren Frage, wie

1) W. Ostwald und R. Luther, Hand- und Hilfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen, 2. Aufl., S. 132. Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1902.

verhält sich die Zahl der Blutkörperchen in den verschiedenen Gefässprovinzen ein und desselben Individuums, in einer späteren Arbeit behandelt werden soll.

Die Abmessung des Blutes mit der Blutpipette ist mit keinem grösseren Fehler als 0,3 % behaftet. Bei einer Länge der Blutsäule von 83,0 mm und bei der Möglichkeit, den Meniskus mit einem Fehler von höchstens 0,2 mm an der Ringmarke einzustellen, berechnet sich der obige Fehler.

Die Mischung von Blut und Verdünnungsflüssigkeit derart, dass es zu einer gleichmässigen Verteilung der Blutkörperchen kommt, und die Übertragung des verdünnten und gemischten Blutes in den Zählraum unter Vermeidung von Entmischung ist die bedenklichste Handlung bei jeder Blutkörperchenzählung. Da gerade diese Handlung bei dem bisher benutzten Melangeur sehr schwer und nur für kurze Zeit durchzuführen ist, wurden getrennte Pipetten und ein besonderes Mischkölbchen benutzt.

Bei der Mischung von Blut und Verdünnungsflüssigkeit in diesem Kölbchen ist notwendig, dass das Schwenken abwechselnd in entgegengesetzten Richtungen erfolgt. Man tut gut daran, sich über die Art der Mischung dadurch zu orientieren, dass man leichte Pflanzensamen (Levkoie) oder andere korpuskuläre Elemente von der Form der roten Blutkörperchen in einer geeigneten Flüssigkeit suspendiert und in einem Rundkolben in der angegebenen Weise schwenkt.

Es ist zu erwarten, dass eine Entmischung weniger droht, wenn die Verdünnungsflüssigkeit eine grössere Dichte hat. Verfasser hat von diesem Standpunkte aus früher schon untersucht¹⁾, ob die schwerere Pacini'sche Lösung (Dichte 1,038) sich besser eignet als die Hayem'sche (Dichte 1,015), das Resultat war aber nicht sehr befriedigend. Doch standen damals nicht soviel Erfahrungen über Blutkörperchenzählung zu Gebote als jetzt, es wurde daher neuerdings eine Versuchsreihe mit Hayem'scher Lösung durchgeführt, die aber durch Zusatz von Glycerin auf die Dichte des Blutes (1,060) gebracht worden war und folgende Zusammensetzung hatte:

1) K. Bürker, Eine neue Form der Zählkammer. Dieses Archiv Bd. 107, S. 437. 1905.

Wasser	40 ccm
Glycerin	10 „
Natriumsulfat	1,25 g
Kochsalz	0,25 „
Sublimat	0,13 „

In dieser Lösung senken sich die roten Blutkörperchen in $1\frac{3}{4}$ Minuten auf die Zählfläche, in der reinen Hayem'schen Lösung schon in 1 Minute.

Zu 4,975 ccm der obigen Lösung wurden im Mischkölbchen 0,025 ccm Blut des Verfassers zugefügt und dieses Blut 7 Tage lang so gezählt, dass auf jeden Tag eine Zählung fiel. Die Resultate dieser Zählung konnten dann mit den bisher durchgeführten sehr zahlreichen Zählungen, bei welchen reine Hayem'sche Lösung benutzt wurde, verglichen werden.

Die folgende Tabelle enthält die Resultate.

Zählung der roten Blutkörperchen in einer konstanten Blutmischung von grösserer Dichte.

Versuch vom 28. Juni bis 4. Juli 1911.

Datum	Mittlere Zimmer- temperatur ° C.	Zahl der Blutkörperchen			
		in viermal 80 Quadraten		in 1 cmm Blut in Mill.	
28. Juni	18	{	564 548	}	5,47
			553 524		
29. „	18	{	496 515	}	5,27
			555 543		
30. „	20	{	488 531	}	5,28
			520 573		
1. Juli	18	{	534 514	}	5,37
			545 553		
2. „	18	{	565 520	}	5,43
			582 504		
3. „	18	{	520 577	}	5,40
			581 481		
4. „	17	{	503 556	}	5,25
			515 524		

Bei einem Mittelwerte von 5,35 Millionen beträgt die Summe der Fehlerquadrate 450, und daher der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung bei den sieben Zählungen

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{450}{6}} \approx \pm 8,7 \text{ Körperchen}$$

oder 1,6 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{450}{7 \cdot 6}} \approx \pm 3,3 \text{ Körperchen}$$

oder 0,6 %.

Bei den beiden früher (S. 352 und 353) mitgeteilten Versuchsreihen, bei welchen reine Hayem'sche Lösung zur Verdünnung des Blutes diente, wurde der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung zu 1,8 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes zu 0,7 % ermittelt, diesen Werten stehen bei Benutzung einer durch Glycerin schwerer gemachten Verdünnungsflüssigkeit die Werte 1,6 % und 0,6 %, gegenüber. Eine wesentliche Verbesserung ist also nicht erreicht worden, wozu noch kommt, dass die mit Glycerin versetzte Hayem'sche Lösung die roten Blutkörperchen bei weitem nicht so gut konserviert und die Unterscheidung von weissen nicht so leicht ermöglicht als die reine Lösung, dass die innere Reibung und der Brechungsexponent grösser ist, der letztere 1,359 gegen 1,335 der reinen Lösung, wodurch der Zählraum sich langsamer füllt und das Zählnetz weniger gut sichtbar ist. Auch sind Kammer und Pipetten, des Glycerins wegen, schwerer zu reinigen, weshalb vorerst kein Grund vorliegt, von der bewährten Hayem'schen Lösung abzugehen.

Immerhin bleibt der Wunsch bestehen, eine vielleicht doch noch geeignetere Verdünnungsflüssigkeit als die Hayem'sche Lösung zu finden.

Die Zählkammer selbst hat sich in jeder Beziehung sehr gut bewährt.

Die Übertragung des verdünnten und gemischten Blutes in den Zählraum wird mit den beschriebenen Glaspipetten (S. 342) von relativ weitem Lumen vorgenommen. Es war zu prüfen, ob nicht diese Übertragungspipetten innen mit einem Überzug von festem Paraffin zu versehen seien, um einer Benetzung und damit Adhäsion der Blutkörperchen, verbunden mit Entmischung, vorzubeugen; bei der relativ grossen Oberfläche, welche das kleine Quantum des in die Pipette eingesaugten verdünnten Blutes dem Glase darbietet, war immerhin eine solche Entmischung in Betracht zu ziehen. Zur Entscheidung wurden Parallelzählungen in demselben verdünnten Blute unter Benutzung paraffinierter und nichtparaffinierter Pipetten vorgenommen.

Vergleichende Zählungen der roten Blutkörperchen in einer konstanten Blutmischung unter Benutzung paraffinierter und nichtparaffinierter Übertragungspipetten.

Versuch vom 17. bis 22. Mai 1911.

Datum Mai	Mittlere Zimmer- temperatur ° C.	Zahl der Blutkörperchen	
		in viermal 80 Quadraten	in 1 cmm Blut in Mill.

Übertragung mit paraffinierten Pipetten.

18.	18	{	510 506 515 517	}	5,12
20.	17	{	524 544 555 505	}	5,32
22.	12	{	498 514 512 540	}	5,16
22.	16	{	551 543 523 533	}	5,33
22.	17,5	{	537 527 545 569	}	5,45

Übertragung mit nichtparaffinierten Pipetten.

18.	18	{	477 540 587 499	}	5,26
19.	16	{	541 529 510 514	}	5,24
22.	15	{	532 508 525 547	}	5,28
22.	16	{	535 570 542 504	}	5,38
22.	17?	{	477 532 526 569	}	5,26

Aus den in der obigen Tabelle mitgeteilten Resultaten ergibt sich bei Benutzung paraffinierter Pipetten ein Mittelwert von 5,29 Millionen, und bei einer Fehlerquadratsumme von 804 ein mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung von

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{804}{4}} = \pm 14,2 \text{ Körperchen}$$

oder 2,7%, ein mittlerer Fehler des Mittelwertes von

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{804}{5 \cdot 4}} = \pm 6,3 \text{ Körperchen}$$

oder 1,2%.

Bei Benutzung von nichtparaffinierten Pipetten betrug der Mittelwert 5,28 Millionen, die Summe der Fehlerquadrate dagegen nur 124, und daher der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung

$$f_m = \pm \sqrt{\frac{124}{4}} = \pm 5,6 \text{ Körperchen}$$

oder 1,1%, der mittlere Fehler des Mittelwertes

$$F_m = \pm \sqrt{\frac{124}{5 \cdot 4}} = \pm 2,5 \text{ Körperchen}$$

oder 0,3%, also ein auffallend gutes Resultat bei Benutzung von nichtparaffinierten Pipetten. Wenn man auch auf Grund der in dieser Arbeit schon früher mitgeteilten und mit nichtparaffinierten Pipetten gewonnenen Resultate erwarten darf, dass das Zählresultat nicht immer so gut ausfallen wird wie im letzten Falle, so wird man doch die nichtparaffinierten Pipetten vorziehen müssen, denn das Paraffinieren stellt, ohne wesentliche Vorteile zu bringen, eine Komplikation dar.

Für eine möglichst fehlerfreie Auffüllung des Zählraumes kann es auch nicht gleichgültig sein, wie der Rand des Deckglases über dem vorspringenden Teile der Zählfläche dort, wo eingefüllt wird, beschaffen ist. Bisher war der Rand rechteckig und matt gehalten, es war nicht unmöglich, dass dadurch gelegentlich Luftblasen in den Zählraum hinein mitgerissen wurden. Um über den Einfluss der Beschaffenheit des Deckglasrandes Erfahrungen zu sammeln, wurden vergleichende Füllungen unter Benutzung eines Deckglases der bisherigen Art, eines zweiten mit rechteckigem aber poliertem Rand und eines dritten mit abgerundetem und poliertem Rand vorgenommen, wobei zur Füllung aber immer dieselbe Pipette verwendet wurde. Unter Benutzung eines jeden Deckglases wurden je fünf Doppelfüllungen durchgeführt, im ganzen also 30 Füllungen, ohne dass ein einziges Mal eine Luftblase mitgerissen worden wäre. Es machte den Eindruck, als ob die Füllung und gleichmässige Verteilung der Blutkörperchen unter Verwendung des Deckglases mit abgerundetem poliertem Rande am besten gelänge, weshalb dieses in Zukunft benutzt werden soll.

Man könnte, um die Auffüllung des Zählraumes mit dem verdünnten Blute zu erleichtern, noch daran denken, den Verdünnungsapparat mit der Zählkammer zu vereinigen, wie dies W. Brünings¹⁾

1) W. Brünings, Ein neuer Apparat für Blutkörperchenzählung. Dieses Archiv Bd. 93, S. 401 und 409. 1903.

aus guten Gründen getan hat, der mit seinem Apparat sehr viel bessere Resultate erzielt hat als mit der Thoma-Zeiss'schen Kammer. Abgesehen davon, dass diese Vereinigung aber offenbar mit so grossen Fabrikationsschwierigkeiten verknüpft ist, dass sie sich im grossen nicht durchführen lässt, würde sie keine besseren Resultate herbeiführen als die, welche mit der Kammer des Verfassers erzielt wurden. Nach Brünings beträgt bei seinem Apparate der wahrscheinliche Fehler bei einer Zählung von 200 Quadraten 2,27 %, also abgekürzt wie bisher 2,3 %, demnach der mittlere Fehler $\frac{2,3}{0,67} = 3,4$ %. Dieser Fehler ist gleich gross wie der, welcher mit der Zählkammer des Verfassers bei Auszählung von nur 160 Quadraten gefunden wurde (S. 355).

Bemerkenswert ist, dass nach Auffüllung des Zählraumes die roten Blutkörperchen, sobald sie sich auf die Zählfläche gesenkt haben, dort recht fest haften, so dass eine Übertragung der Zählkammer, falls die Füllung nicht auf dem Mikroskop geschieht, vorgenommen werden darf, ohne eine in Betracht kommende Verschiebung der Blutkörperchen befürchten zu müssen. Hierbei macht sich die geringe Dichte der Hayem'schen Lösung vorteilhaft geltend.

Die beschriebene Prüfung auf gleichmässige Verteilung der Blutkörperchen (S. 349) kann nur eine vorläufige sein, das letzte Wort sprechen die in die Schemata eingetragenen Zahlen. Sind kleine Luftbläschen mit in den Zählraum gerissen worden, so braucht deshalb die Zählung nicht immer aufgegeben zu werden, da die Verteilung der Blutkörperchen doch eine gleichmässige sein kann; immerhin sollten sich aber die Luftbläschen nicht auf dem Zählnetz selbst befinden, sondern ausserhalb desselben.

Was die Wahl der Vergrösserung bei der Zählung mit Hilfe des Mikroskopes betrifft, so soll die Vergrösserung so stark sein, dass man bei Beleuchtung mit dem Planspiegel¹⁾ die Teilstriche des Zählnetzes, als aus drei parallel verlaufenden Linien bestehend, sieht, was jedenfalls bei 320facher Vergrösserung, wie sie Verfasser benutzt, der Fall ist. In Figur 4 (S. 367) ist ein solches Quadrat doppelt so gross als im Bilde wiedergegeben, um die Details besser zur Anschauung zu bringen.

1) Der Planspiegel eignet sich besser als der Konkavspiegel. Es empfiehlt sich auch nicht, einen Kondensor zu benutzen.

Die zwei feineren begrenzenden Linien entsprechen den Rändern der eingeritzten Rinne, die mittlere dickere Linie dem Boden der Rinne, an diese mittlere Linie hält man sich. Um nicht zu nahe mit dem Objektiv auf das Deckglas aufrücken zu müssen, wählt man ein mittelstark vergrößerndes Objektiv und ein stark vergrößerndes Okular. Ist die Vergrößerung 320fach, so lassen sich auch die Lymphocyten von den Erythrocyten unterscheiden. Zur Beleuchtung benutzt man zweckmässig künstliches Licht, weil dieses sich viel leichter gleichmässig herstellen lässt; doch darf dieses Licht die

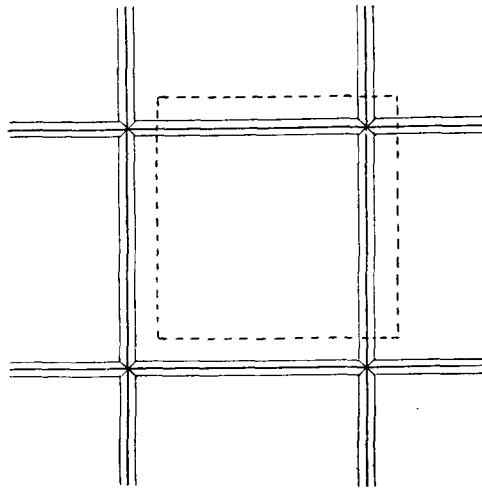


Fig. 4. Quadrat des Zählnetzes von objektiv $\frac{1}{400}$ qmm, 640 fach vergrößert. Das gestrichelte Quadrat ist zugesetzt.

Kammer nicht zu sehr erwärmen, sonst verdunstet die Verdünnungsflüssigkeit zu rasch.

Bei der Auszählung eines Quadrates analog [der Thoma'schen Regel (S. 343)] zählt man in einem gedachten Quadrate (in Figur 4 gestrichelt angegeben), welches um die Breite $\frac{1}{4}$ eines roten Blutkörperchens nach oben und rechts von dem wirklichen Quadrate verschoben ist. Oft ist es nicht ganz leicht zu entscheiden, ob eine Berührung der mittleren Linie stattfindet oder nicht; es hat sich als zweckmässig erwiesen, eine Berührung nur anzunehmen, wenn die Linie an der betreffenden Stelle durch das Blutkörperchen deutlich eingebuchtet erscheint.

Noch ist eines Umstandes zu gedenken, welcher die Zahl der roten Blutkörperchen bei der gewöhnlichen Art der Zählung kleiner

ausfallen lässt als sie wirklich ist. Immer haften nämlich rote Blutkörperchen an der Unterseite des Deckglases, die dem Zählenden entgehen, wenn er den Tubus nur auf die Zählfläche und nicht auch höher einstellt. In einem speziellen Falle fand Verfasser, dass in den Räumen über 320 kleinen Quadraten acht Blutkörperchen an der Unterseite des Deckglases hafteten. Da in 320 Quadraten im Mittel etwa 2100 rote Blutkörperchen zu liegen pflegten, so entgingen etwa 0,4% dem Zählenden. Auf diesen Umstand ist, wenn es sich um genaue absolute Zahlen handelt, Rücksicht zu nehmen.

Als ausserordentlich nützlich haben sich die Schemata zum Eintragen des Zählresultates erwiesen, sowohl in bezug auf die Zählung selbst, als auch in bezug auf die Bewertung der Zählung.

Was schliesslich noch das Zählresultat betrifft, so ist zur Erlangung eines guten Resultates von grosser Bedeutung, dass jede Abteilung der Zählkammer bei unveränderter Lage des Deckglases für sich gefüllt wird, und dass in beiden Abteilungen auf einer neunmal grösseren Fläche als in der Thoma-Zeiss'schen Kammer gezählt werden kann. Man richtet es immer so ein, dass die eine Hälfte der zu zählenden Quadrate in der einen, die andere Hälfte in der anderen Abteilung gezählt wird. Zweckmässig wird man bei Auszählung von je 80 oder 40 Quadraten in der einen Abteilung die nach der Einfüllungsstelle hin gelegenen Quadrate auszählen, in der andern Abteilung die von ihr weggelegenen Quadrate. Kommen unter diesen Umständen in einer Abteilung auch einmal grössere Abweichungen vor, so werden sie meist in der anderen Abteilung korrigiert, so dass der Mittelwert immer recht brauchbar ist.

Bezüglich des Einflusses der Temperatur und des Luftdruckes auf das Zählresultat ergeben sich folgende Erwägungen.

Dass die Zählkammer selbst praktisch unabhängig von der Temperatur ist, hat eine frühere Untersuchung derselben in dieser Richtung mit Hilfe der auf Seite 5 erwähnten optischen Interferenzmethode ergeben¹⁾. Eine Erwärmung der Kammer um 20° C. würde den Wert der Kammerhöhe erst in der fünften Dezimale beeinflussen, dabei ist aber die Kammerhöhe nur auf eine Einheit in der dritten Dezimale genau.

1) K. Bürker, Die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas. Dieses Archiv Bd. 105, S. 495. 1904.

Da die Hayem'sche Lösung zu fast 97 % aus Wasser besteht, und das Blut mit ihr 200fach verdünnt wird, so kann sich das Volumen des verdünnten Blutes unter dem Einflusse der Temperatur nicht viel anders als Wasser verhalten. Angenommen, es werde nun das im Mischkölbchen befindliche Blut bei 15, 0 und 30° C. gezählt, dann würde das Volumen eines Grammes bei einer Temperaturänderung von 15 auf 0° um 0,07 % abnehmen und bei einer Temperaturänderung von 15 auf 30° um 0,3 % zunehmen, also um so geringe Werte, dass eine in Betracht kommende Änderung der Blutkörperchenzahl in der Volumeneinheit nicht zu befürchten wäre. Man wird ausserdem nur sehr selten in die Lage kommen, bei so extremen Zimmertemperaturen zu zählen.

Die Luftdruckschwankungen, wie sie an ein und demselben Orte vorkommen, können eine Wirkung auf die Zählung nicht haben, zumal die Zählkammer des Verfassers, auch unter ganz extremen Versuchsbedingungen, völlig unabhängig vom Luftdruck ist, während dies bei der Thoma-Zeiss'schen Kammer nicht ganz der Fall ist¹⁾, wie gleichfalls mit Hilfe der optischen Interferenzmethode nachgewiesen wurde. Der Luftdruck kann bei einer Zählung roter Blutkörperchen nur insofern in Betracht kommen, als der Gehalt des Blutes an roten Blutkörperchen abhängig ist von diesem, freilich nicht in dem hohen Maasse, wie bisher behauptet wurde, das hat sich bei der im Eingange dieser Arbeit (S. 337) erwähnten Untersuchung des Verfassers und seiner Mitarbeiter über die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas auf das Blut ergeben.

Dass die Kammer des Verfassers der Thoma-Zeiss'schen Kammer bei solchen Versuchen in grösseren Höhen überlegen ist, geht auch aus einer vergleichenden Prüfung hervor, welche A. v. Korányi²⁾ vorgenommen hat. Aus Schweineblut und Hayem'scher Lösung wurde eine haltbare Blutmischung hergestellt und ihre Blutkörperchenzahl in Budapest, in Tátrafüred (1020 m) und im schlesischen Haus (1600 m) mit der Thoma-Zeiss'schen Kammer und mit der Kammer des Verfassers bestimmt. Da eine

1) K. Bürker, Die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas. Dieses Archiv Bd. 105, S. 497. 1904.

2) A. v. Korányi, Physikalisch-chemische Methoden und Gesichtspunkte in ihrer Anwendung auf die pathologische Physiologie des Kreislaufs. Physiologische Chemie und Medizin. Ein Handbuch Bd. 2, S. 67. Verlag von G. Thieme, Leipzig 1908.

konstante Blutmischung vorlag, hätten beide Kammern oben und unten gleiche Werte geben müssen, die Thoma-Zeiss'sche Kammer aber ergab oben höhere Werte, die Kammer des Verfassers die gleichen Werte. Es kann also mit der Thoma-Zeiss'schen Kammer eine Polycythämie vorgetäuscht werden, wo gar keine besteht. Wenn auch nicht leicht einzusehen ist, wodurch dieser Fehler bedingt ist, so muss vorerst doch mit ihm gerechnet werden.

Ruft man sich zum Schlusse dieser kritischen Betrachtungen noch einmal das wesentliche Resultat ins Gedächtnis zurück, nämlich, dass die Fehler, welche bei der Entziehung, Abmessung und Verdünnung des Blutes gemacht werden, gegenüber dem Fehler, welcher durch die nie ganz gleichmässige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche bedingt ist, nur wenig in Betracht kommen, so ergibt sich daraus, wo weitere Bemühungen zur Verbesserung der Zählmethode einzusetzen haben.

6. Ergebnisse.

Die Methode zur Zählung roter Blutkörperchen konnte durch Benutzung getrennter Pipetten zur Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit und des Blutes anstelle der bisher üblichen Mischpipette verbessert werden. Die Mischung von Blut und Verdünnungsflüssigkeit geschieht einwandfrei in besonderen Glaskölbchen, in welchen das verdünnte Blut tagelang zur Zählung geeignet bleibt. Die Übertragung des verdünnten Blutes in die Zählkammer wird mit relativ weiten Glaspipetten vorgenommen, welche mit Gummikäppchen versehen sind. Es ist nicht erforderlich, die Pipetten, um etwa Benetzung und damit Adhäsion der roten Blutkörperchen zu vermeiden, innen mit Paraffin zu überziehen. Dass an der Zählkammer die Klammern zum Andrücken des Deckglases nicht mehr in die Bohrlöcher der Glasplatte selbst, sondern in eingekittete Metallager eingefügt werden, hat sich bewährt. Der Rand des Deckglases soll dort, wo das verdünnte Blut durch Kapillarität in den Zählraum eindringt, abgerundet und poliert sein.

Die Anforderungen, welche an die Verdünnungsflüssigkeit gestellt werden müssen, nämlich, dass sie die roten Blutkörperchen gut konserviert und nicht zu viskös ist, dass sie keine zu geringe Dichte und keinen zu grossen Brechungsexponenten hat und dass sie endlich leicht aus dem Zählraum und den Pipetten wieder entfernt werden kann und dabei haltbar ist, werden von der Hayem'schen Lösung

ziemlich gut erfüllt. Der Zusatz von Glycerin zur Verdünnungsflüssigkeit ist zu vermeiden.

Die Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit in das Mischkölbchen lässt sich sehr genau, bis auf 0,02 % und noch genauer, vornehmen. Die Abmessung des Blutes ist mit einem maximalen Fehler von 0,3 % behaftet.

In einer konstanten Blutmischung wurde bei sieben Zählungen in je 80 Quadraten, 200fache Verdünnung des Blutes vorausgesetzt, der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung zu 5,9 % gefunden, die maximalen Fehler zu + 4,5 und — 9,8 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes zu 3,0 %. Bei Auszählung von je 160 Quadraten betrug der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung 3,4 %, die maximalen Fehler + 4,7 und — 5,4 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes 1,3 %. Wurde in 320 Quadraten gezählt, so ergab sich der mittlere Fehler jeder einzelnen Zählung zu 1,8 %, die maximalen Fehler zu + 2,1 und — 1,9 %, der mittlere Fehler des Mittelwertes zu 0,7 %. Durch Adhäsion der Blutkörperchen an der Unterseite des Deckglases entgehen dem Zählenden, falls das Mikroskop nur auf die Zählfläche eingestellt wird, etwa 0,4 % Blutkörperchen.

Die Fehler, welche bei der Entziehung, Abmessung und Verdünnung des Blutes gemacht werden, kommen gegenüber dem bedenklichsten Fehler bei der Zählung roter Blutkörperchen, nämlich der stets etwas ungleichmässigen Verteilung derselben auf der Zählfläche, wenig in Betracht.

Weitere Bemühungen zur Verbesserung der Zählmethode werden daher auf eine noch gleichmässigere Verteilung der Blutkörperchen gerichtet sein müssen.