

Eine neue Form der Zählkammer.

Von

Prof. Dr. **K. Bürker,**

Assistent am physiologischen Institut zu Tübingen.

(Mit 3 Textfiguren.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ ist auf Grund einer eingehenden Prüfung der Thoma-Zeiss'schen Zählkammer auf eine Reihe von Mängeln hingewiesen worden, welche dem Apparate anhaften. Von diesen Mängeln sind insbesondere zu nennen:

1. die Schwierigkeit tadelloser Zusammensetzung der Kammer,
2. die leicht eintretende ungleichmässige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche,
3. die Abhängigkeit der Zählkammer vom Luftdruck, wenn dieser sich plötzlich verändert.

Mit erstgenannter Schwierigkeit hat wohl jeder Untersucher zu kämpfen gehabt, dem es auf exakte Zählungen ankam. Wie leicht dringt ein Luftbläschen mit der Blutmischung zwischen Zählfläche und Deckglas, wie oft will es nicht gelingen, das Deckglas so aufzulegen, dass einmal die Blutmischung sich nicht zwischen Deckglas und Kammerrand saugt, und dass ferner Newton'sche Streifen entstehen und bestehen bleiben. Muss man doch oft fünfmal und mehr die Kammer zusammensetzen, bis allen Anforderungen genügt ist. Dass solch lästige Störungen auch auf den Zählakt nicht ohne Einfluss sind, ist sicher.

Das zweite bedenkliche Moment, die leicht eintretende ungleichmässige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche, ist sicherlich vielfach nicht in Rechnung gezogen worden. Verstreicht zwischen dem Auftragen des Tröpfchens der Blutmischung auf die Zählfläche und dem Auflegen des Deckglases auch nur kurze Zeit, so

1) K. Bürker, Die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas. Pflüger's Arch. Bd. 105 S. 480. 1904.

haben sich unterdessen die Blutkörperchen in der meist spezifisch viel leichteren Mischflüssigkeit gesenkt; beim Auflegen des Deckglases wird dann eine fast körperchenfreie Flüssigkeit nach der Peripherie der Zählfläche gedrängt. Statt gleichmässig auf der ganzen Zählfläche verteilt zu sein, sind die Blutkörperchen in der Mitte der Fläche gerade dort, wo sich das Zählnetz befindet, angehäuft, nach der Peripherie zu aber viel dünner gesät. Das bedingt aber ungeheure Fehler im Zählresultate, wie folgende Tabelle nochmals darlegen soll.

Zählungen mit derselben Blutmischung auf der ganzen kreisförmigen Zählfläche.

(1 Blut : 200 Hayemlösung.)

	Nr. der Zählung	Mittelwert in $\frac{1}{4000}$ cmm	grösste Abweichung v. Mittelwert	Mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung $f = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$	Mittlerer Fehler des Mittelwertes $F = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$
Kammer sofort zusammen-gesetzt	1.	11	- 4, + 3	± 2	$\pm 0,5$
	2.	11	- 5, + 4	± 3	$\pm 0,8$
	3.	13	- 6, + 5	± 3	$\pm 0,7$
	4.	12	- 3, + 6	± 3	$\pm 0,8$
	5.	12	- 7, + 8	± 4	$\pm 0,9$
	6.	13	- 6, + 4	± 3	$\pm 0,8$
Kammer nach einer Minute zusammen-gesetzt	1.	15	-12, +11	± 7	$\pm 1,7$
	2.	17	-12, +11	± 9	$\pm 2,1$
	3.	17	-17, +19	± 11	$\pm 2,6$
	4.	18	-17, +14	± 10	$\pm 2,5$
	5.	17	-14, +10	± 9	$\pm 2,1$
	6.	18	-15, +18	± 10	$\pm 2,3$

Was den dritten Punkt, die Abhängigkeit der Zählkammer vom Luftdrucke, betrifft, so hatte sich mit Hilfe der optischen Methode (Beobachtung der Interferenzstreifen auf der Zählfläche) ergeben, dass eine Abhängigkeit nur für plötzliche und beträchtliche Luftdruckschwankungen besteht, insofern, als bei rasch eintretender Luftverdünnung die Kammerhöhe durch Ansaugen des Deckglases vorübergehend nicht unbedeutend verkleinert wird. Derartige Luftdruckschwankungen kommen für die gewöhnlichen Zählungen freilich nicht in Betracht, man hat aber sehr mit ihnen bei Versuchen im pneumatischen Kabinett zu rechnen.

Die Temperatur ist praktisch ohne Einfluss auf die Konstanten der Zählkammer; bei einer Erwärmung der Kammer von 24,8° C. auf 44,8° C. hatte sich die Kammerhöhe nur um die Hälfte

der Wellenlänge des Natriumlichtes, also um ca. 0,0003 mm, vergrößert, was aber praktisch gar nicht in Betracht kommt, da die Kammerhöhe nur bis auf 0,001 mm genau ist.

Die drei angedeuteten Mängel, von welchen die Schwierigkeit tadelloser Zusammensetzung der Zählkammer und die leicht eintretende ungleichmässige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche ganz besonders ins Gewicht fallen, liessen den Wunsch nach einer in dieser Richtung möglichst fehlerfreien Kammer entstehen. Für die Neukonstruktion kamen aber auch noch einige andere Erwägungen in Betracht. So grosse Vorteile auch das auf der Zählfläche eingegrabene Zählnetz bietet, seine Benutzung ist nicht frei von Bedenken; denn

1. beträgt der Quadratmillimeter Zählfläche nur einen kleinen Bruchteil — ca. $\frac{1}{50}$ — des gesamten Kammerbodens;

2. stellen die Striche, welche das Zählnetz ausmachen, auch wenn sie an sich sehr fein sind, für rote Blutkörperchen geradezu Gräben dar, welche nahezu so breit sind, als die Blutkörperchen breit sind; daher bleiben in ihnen die Blutkörperchen auch so leicht hängen, was aber zu einer Anhäufung derselben gerade im Zählnetz führen kann;

3. erscheint als prinzipieller Fehler die Anbringung des Zählnetzes gerade in dem geometrisch wie auch dementsprechend physikalisch so bevorzugten Punkte, wie es der Mittelpunkt einer Kreisfläche ist, über welcher sich eine kapillare Flüssigkeitsschicht befindet.

All diese Erwägungen führten zur Konstruktion einer neuen Kammer (Fig. 1), deren Anfertigung die Firma C. Zeiss in Jena übernommen hat.

Die Zählfläche dieser Kammer wird dargestellt durch die obere Fläche eines der Grundplatte aufsitzenden 25 mm langen und 5 mm breiten Glasstückes, welches an den Enden abgerundet und in der Mitte durch eine 1,5 mm breite, angeätzte Rinne in zwei Abteilungen geschieden ist. Zu beiden Seiten des so zwei getrennte Zählflächen darbietenden Glasstückes ist, gleichfalls durch eine 1,5 mm breite Rinne geschieden, je ein rechteckiges Glasstück von 21 mm Länge, 7,5 mm Breite und solcher Höhe aufgekittet, dass wenn ein Deckglas von 21×23 mm auf letztere Glasstücke aufgelegt wird und dabei die Zählflächen überbrückt werden, über den Zählflächen ein Raum von 0,100 mm Tiefe entsteht. Unter dem

Deckglase ragen beiderseits die abgerundeten Stücke der Zählfläche hervor.

Um die Kammer mit Blutmischung, welche mit der üblichen Mischpipette bereitet wird, zu beschicken, legt man zunächst das Deckglas so auf, dass auf beiden Unterlagen Newton'sche Streifen erscheinen, was leicht zu erreichen ist. Dann bringt man auf den unterhalb des Deckglases herausragenden abgerundeten Teil der Zählfläche ein Tröpfchen der Blutmischung so, dass es sich durch Kapillarität sofort in die eine Abteilung der Zählkammer einsaugen kann, wodurch eine sehr gleichmässige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche erreicht wird.

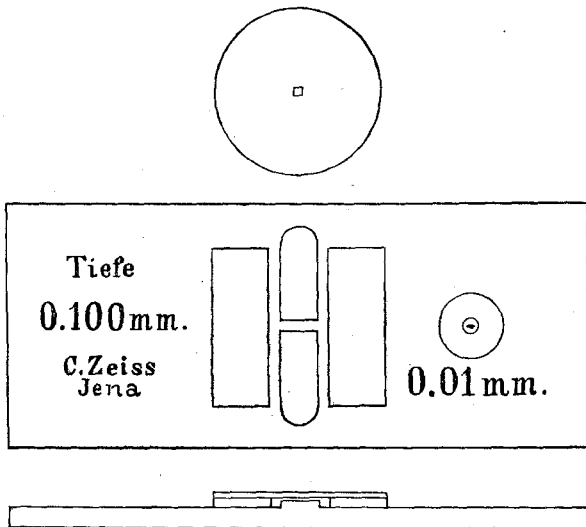


Fig. 1.

Gezählt wird auf folgende Weise: Ins Okular kommt eine Blende von ca. 1 qmm Öffnung (in Fig. 1 oben). Bei entsprechender Vergrößerung und passender Verschiebung des Okulars gegenüber dem Objektiv erreicht man es leicht, dass sechs Teilstriche des in 0,01 mm geteilten, auf die Grundplatte aufgekitteten Objektmikrometers (bei „0,01 mm“ in Fig. 1) gerade die Öffnung der Blende begrenzen, wodurch dann, da die Öffnung quadratisch ist, auf der Zählfläche bei Benutzung der Blende zum Zählen eine Fläche von $0,05^2 = \frac{1}{400}$ qmm abgegrenzt wird. Da die Höhe der Flüssigkeitsschicht über der Zählfläche $\frac{1}{10}$ mm beträgt, so zählt man also, wie in der alten Kammer, in einem Raume von $\frac{1}{4000}$ cbmm. Eine zweite Blende

gestattet Zählungen in einem Raume von $\frac{1}{1000}$ cbmm, eine dritte in einem Raume von $\frac{1}{250}$ cbmm vorzunehmen. Man zählt nun nach Beschickung mit Blutmischung die eine Abteilung der Kammer ganz durch, indem man die Grundplatte mit Hilfe eines drehbaren Objektisches oder auf quadriertem Papiere entsprechend verschiebt. Eine Kontrollzählung kann bei derselben Deckglasauflage vorgenommen werden, indem man die andere Abteilung der Zählkammer füllt.

Die Vorteile dieser neuen Kammer scheinen mir folgende zu sein:

1. Die Schwierigkeit der Zusammensetzung der Kammer besteht so gut wie nicht mehr. Statt sich nach dem Auftragen des Tröpfchens der Blutmischung und dem Auflegen des Deckglases mit der Erzeugung und Erhaltung Newton'scher Streifen abzuplagen, legt man bei unserer Art der Zusammensetzung das Deckglas schon vorher auf und kann dabei in aller Musse Newton'sche Streifen sogar 0. bis 1. Ordnung hervorrufen, wobei das Deckglas sehr fest haftet.

2. Die ungleichmässige Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche, bedingt durch ihr rasches Senkungsbestreben in den spezifisch viel leichteren Verdünnungsflüssigkeiten, wird vermieden, weil die Blutmischung sich momentan in den Zählraum einsaugt. Niemals kann man hierbei weder makroskopisch noch mikroskopisch eine so ungleichmässige Verteilung der Blutkörperchen konstatieren, wie sie in der alten Kammer so leicht zustande kommt.

3. Eine Abhängigkeit der Zählkammer vom Luftdruck selbst bei plötzlichen und intensiven Veränderungen desselben kann nicht mehr bestehen, da die Kammer völlig offen, also noch mehr Schlitzkammer ist als die Meissen'sche Kammer.

4. Statt nur über einem Flächenraume von 1 qmm zu zählen, kann bei unserer Kammer auf der ganzen Zählfläche von ca. 50 qmm gezählt werden.

5. Da ein Zählnetz nicht eingegraben ist, so ist ein Hängenbleiben von Blutkörperchen in den Gräben des Netzes und damit ungleichmässige Verteilung auch in dieser Beziehung ausgeschlossen.

6. Es wird nicht nur in der Mitte einer Kreisfläche gezählt, was die angedeuteten Bedenken hervorruft, sondern auf der Gesamtfläche eines Rechteckes.

Dazu kommen noch als weitere Vorteile

- 7., dass das übrige Gesichtsfeld abgeblendet ist und nur diejenige Fläche dem Auge erscheint, über welcher gezählt werden soll, und

8. dass bei ein und derselben Deckglasauflage zwei Zählungen in den beiden getrennten Abteilungen der Kammer vorgenommen werden können.

Wie jede Verbesserung Vorteile, so bringt sie meist auch einen oder einige Nachteile mit sich, es müssen die Vorteile nur die Nachteile bei weitem überwiegen. So bequem wie die Zählung auf dem Zählnetz ist sie mit Hilfe der Blende im Okular insofern nicht, als eben die Blendenöffnung einmal ausgewertet werden muss; das geschieht aber sehr leicht mit Hilfe des auf die Grundplatte aufgekitteten Objektmikrometers. Merkt man sich bei der Auswertung Okular, Objektiv und Tubusstellung, dann ist auch die Blendenöffnung für immer bestimmt, überdies stets leicht kontrollierbar.

Diesem kleinen Nachteile stehen aber die erwähnten, weit grösseren Vorteile gegenüber.

Die neue Zählkammer wurde nun einer experimentellen Prüfung unterworfen, welche sich auf Ermittlung der Durchbiegbarkeit des Deckglases im gegebenen Falle, auf den Einfluss der Temperatur und des Luftdruckes und auf direkte Zählungen konstanter Blutmischungen erstreckte.

Durchbiegbarkeit des Deckglases.

Zur Prüfung wurde der in der früheren Arbeit S. 498 beschriebene Hebel benutzt, auf welchen in einer Entfernung von 40 mm von der Achse Gewichte aufgelegt werden konnten; sie teilten ihren Druck vermittelst eines nach abwärts gerichteten Zapfens von 1 qmm Querschnitt dem auf die Zählkammer aufgelegten Deckglas mit. Die Entfernung des Zapfens von der Achse betrug 20 mm.

Versuch vom 7. Dezember 1904.

Nach dem Auflegen des 0,6–0,7 mm dicken Deckglases auf die Kammer erscheinen auf der Zählfläche bei Beleuchtung mit Natriumlicht schöne Interferenzstreifen. Der Druck des Hebels allein von 1,8 g bedingt keine Verschiebung der Streifen, ebenso der Druck von 3,8 und 5,8 g nicht. Bei einem Drucke von 11,8 g findet in der Mitte der Fläche eine Verschiebung um $\frac{1}{4}$ Streifenbreite, bei 21,8 g um $\frac{1}{2}$ Streifenbreite, bei 41,5 g um eine Streifenbreite statt; im letzteren Falle betrug also die Verkleinerung der Kammerhöhe nur $589 \cdot 10^{-6}$ mm rund 0,0003 mm.

Die Durchbiegbarkeit der aufgelegten dicken Deckgläser ist also auch bei der neuen Kammer nicht grösser als bei der alten.

Sehr leicht lässt sich auch bei der neuen Kammer untersuchen, ob etwa das Deckglas beim Einbringen der Blutmischung in den Kammerraum dem Kammerboden durch Kapillarattraktion genähert wird. Man braucht zu dem Zwecke die Blutmischung sich nur in die eine Abteilung der Kammer einsaugen zu lassen und in der anderen Abteilung die Interferenzstreifen während des Einsaugens zu beobachten: man wird dabei auch nicht eine Spur von Annäherung des Deckglases an den Kammerboden konstatieren können. Da die optische Methode ohne weiteres bis auf 0,00003 mm genau ist, so hätten sich auch geringe Änderungen der Beobachtung nicht entziehen können.

Es ist demnach für die neue Zählkammer ein Fehler, der auf Durchbiegbarkeit der Deckgläser zurückzuführen wäre, ausgeschlossen, wenn man nur die dicken Deckgläser benutzt.

Einfluss der Temperatur.

Schon die alte Zählkammer erwies sich, wenigstens in einem Temperaturintervalle von 20°, unabhängig von der Temperatur; für die neue war dasselbe zu erwarten.

Versuch vom 7. Dezember 1904.

Um die Kammer nicht zu beschädigen, wird nur in einem Temperaturintervalle von 10° untersucht. Von 3^h 50' bis 3^h 56' wird die Kammer von 17° C. bis auf 27° C. auf einem geheizten Objektische erwärmt. Eine Verschiebung der Interferenzstreifen findet dabei nicht statt.

Auch die neue Zählkammer ist demnach praktisch unabhängig von der Temperatur.

Einfluss des Luftdruckes.

Die alte Kammer zeigte eine beträchtliche Abhängigkeit vom Luftdrucke, solange sich dieser rasch und um grosse Werte änderte; bei plötzlicher Luftverdünnung wanderten so viele Streifen an der angebrachten Marke vorbei, dass ihre Zahl nicht mehr recht bestimmt werden konnte. Ganz anders verhält sich die neue Kammer.

Versuch vom 7. Dezember 1904.

Die Kammer wird, mit dem Deckglase bedeckt, unter den Rezipienten der Luftpumpe gebracht und durch diesen hindurch mit Natriumlicht beleuchtet. Die Interferenzstreifen erleiden, auch wenn sehr rasch und intensiv ausgepumpt wird, nicht die geringste Verschiebung.

Es ist also die neue Kammer im Gegensatz zur alten vollkommen unabhängig vom Luftdrucke, auch wenn dieser momentan um grosse Werte schwankt.

Zählungen.

Durch die Zählungen sollte einmal über die Brauchbarkeit der Zählkammer als solcher entschieden werden, dann aber auch untersucht werden, wie viele Quadrate ausgezählt werden müssen, um einen gut verwendbaren Mittelwert zu erhalten. Es sollte ferner noch geprüft werden, ob dieser Mittelwert sich etwa dadurch verbessern lässt, dass man Mischflüssigkeiten benutzt, welche in ihrem spezifischen Gewichte nicht so sehr von dem des Blutes und der roten Blutkörperchen abweichen, wie es bei den gebräuchlichen Mischflüssigkeiten der Fall ist.

Was zunächst die Brauchbarkeit der neuen Zählkammer betrifft, so hat sich diese in jeder Beziehung ergeben. Ist die Zählfläche und das Deckglas sorgfältig mit Äther-Alkohol $\bar{a}\bar{a}$ gereinigt und die Mischpipette an ihrem unteren Ende gut abgeschliffen, dann wird die Blutmischung ohne jede Störung in den Kammerraum gesaugt. Statt fünfmal und mehr die Kammer zu füllen, wie es bei der alten Form häufig genug vorkam, braucht man bei der neuen Form meist nur einmal zu füllen und kann dazu bei derselben Auflage des Deckglases noch eine Kontrollzählung in der anderen Abteilung der Kammer vornehmen. Die Reinigung ist bei der neuen Form leichter zu bewerkstelligen als bei der alten, weil die Rinnen gerade und nicht kreisförmig verlaufen.

Die Zählungen wurden zunächst mit einer Blutmischung vorgenommen, welche 0,05 ccm Rattenblut auf 10 ccm Hayem'sche Lösung enthielt; das Blut war also 200fach verdünnt. Gezählt wurde in 8 Längsreihen, in jeder Reihe 16 Quadrate, im ganzen also 128 Quadrate. Der Abstand der einzelnen Quadrate voneinander betrug 0,5 mm. Bruchteile von roten Blutkörperchen, welche am

Rande in den abgegrenzten Raum hereinragten, wurden als solche in Rechnung gezogen, die Zahl auf Ganze abgerundet.

Versuch vom 10. Dezember 1904.

Rattenblut 200 fach mit Hayem'scher Flüssigkeit verdünnt. Die einzelnen Zahlen geben die Anzahl der Blutkörperchen jeweils in einem Raume von $\frac{1}{4000}$ cbmm an. Gezählt wurden 128 Quadrate.

Längsreihe.							
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
8	9	8	9	6	11	12	6
10	7	8	12	10	9	12	10
14	15	9	10	10	11	10	6
11	10	11	11	7	9	12	12
11	13	9	14	9	5	9	7
9	12	8	10	9	6	10	10
9	9	9	10	12	15	4	8
8	12	11	14	8	13	8	12
14	7	13	13	8	14	7	11
11	7	10	7	15	10	10	8
7	7	11	13	7	14	7	4
16	9	16	10	10	13	14	12
6	11	13	8	13	15	7	15
12	7	9	8	10	10	12	9
10	15	11	12	8	8	11	7
9	8	12	8	10	12	8	8
165	158	168	169	152	175	153	145

Längsreihe	Summe	Mittelwert	Grösste Abweichung vom Mittelwert	Mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung	Mittlerer Fehler des Mittelwertes
1.	165	10	+ 6, — 4	± 3	± 0,7
2.	158	10	+ 5, — 3	± 3	± 0,7
3.	168	11	+ 5, — 3	± 2	± 0,6
4.	169	11	+ 3, — 4	± 2	± 0,6
5.	152	10	+ 5, — 4	± 2	± 0,6
6.	175	11	+ 4, — 6	± 3	± 0,8
7.	153	10	+ 4, — 6	± 3	± 0,7
8.	145	9	+ 6, — 5	± 3	± 0,7
1. 2.	323	10	+ 6, — 4	± 3	± 0,5
1. 2. 3.	491	10	+ 6, — 4	± 3	± 0,4
1. 2. 3. 4.	660	10	+ 6, — 4	± 2	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5.	812	10	+ 6, — 4	± 2	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5. 6.	987	10	+ 6, — 5	± 3	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.	1140	10	+ 6, — 6	± 3	± 0,2
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8.	1285	10	+ 6, — 6	± 3	± 0,2

Aus der Tabelle geht hervor, dass schon nach Durchzählung von 80 Quadraten der mittlere Fehler des

Mittelwertes sicher kleiner als 0,4 wird. Fünf Einheiten der ersten Dezimale stellen aber die Grenze dar, bis zu welcher sich die Zahl der Blutkörperchen in dem abgegrenzten Raume von $\frac{1}{4000}$ cbmm genau angeben lässt; was darüber hinausgeht, ist Illusion. Da bei der Berechnung auf 1 cbmm mit 800 000 multipliziert werden muss, so lassen sich vom Gesamtergebnisse höchstens drei Ziffern als ziemlich sicher angeben, die 4—5 Nullen, welche man oft dahinter geschrieben sieht, sind nicht nur unnötig, sondern falsch, denn angeschriebene Ziffern sollen ausdrücken, dass sie sowohl ihrem Nominal- wie Stellenwerte nach sicher sind, was aber hier in keiner Weise der Fall ist.

Als Resultat unserer Zählungen wäre daher im gegebenen Falle bei Berücksichtigung sämtlicher gezählten 128 Quadrate anzuschreiben $\frac{1285 \cdot 0,8}{128}$ Millionen = 8,00 Millionen.

Dass es in der Tat genügt, bei Benutzung unserer Kammer nur 80 Quadrate durchzuzählen, um einen brauchbaren Mittelwert zu erhalten, geht aus den folgenden vergleichenden Zählungen an ein und derselben Blutmischung hervor. Die Zählungen wurden unter möglichst gleichen Bedingungen hintereinander angestellt.

•Versuch vom 10. Dezember 1904.

Rattenblut 200 fach mit Hayem'scher Flüssigkeit verdünnt. Die einzelnen Zahlen geben die Anzahl der Blutkörperchen jeweils in einem Raume von $\frac{1}{4000}$ cbmm an. Gezählt wird in 80 Quadraten.

1. Zählung.

Längsreihe.				
1.	2.	3.	4.	5.
7	10	6	8	6
10	9	6	8	14
12	10	9	10	13
12	8	12	12	13
13	13	10	7	10
8	8	11	9	9
10	14	12	11	8
6	10	7	10	8
9	15	12	10	12
14	14	12	10	8
8	9	11	8	11
8	8	6	8	8
11	8	8	6	13
12	11	12	13	12
9	11	9	6	11
9	10	9	8	7
158	168	152	144	163

Summe: 785 in 80 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{785 \cdot 0,8}{80}$ Mill. = 7,85 Mill.

2. Zählung.

Längsreihe.				
1.	2.	3.	4.	5.
9	5	11	9	8
11	11	10	11	11
10	7	11	10	14
14	13	8	5	10
10	10	11	7	14
12	9	5	9	8
10	18	10	9	9
14	8	11	9	7
12	11	16	7	10
11	12	13	6	9
6	9	8	7	10
6	12	11	12	11
10	8	9	10	11
8	9	14	7	8
11	12	12	9	9
8	7	11	9	11
162	161	171	136	160

Summe: 790 in 80 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{790 \cdot 0,8}{80}$ Mill. = 7,90 Mill.

3. Zählung.

Längsreihe.				
1.	2.	3.	4.	5.
12	8	10	7	13
8	12	14	11	12
10	9	10	6	8
7	8	11	12	12
11	6	5	12	14
14	10	6	8	12
10	10	9	11	9
10	14	8	7	8
7	8	12	7	8
8	12	8	8	13
6	16	15	9	11
11	10	8	7	16
9	10	11	9	16
10	7	11	10	11
6	7	7	10	8
8	11	7	10	8
147	158	152	144	179

Summe: 780 in 80 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{780 \cdot 0,8}{80}$ Mill. = 7,80 Mill.

Resultat der drei Zählungen:

1.	7,85 Mill.
2.	7,90 „
3.	7,80 „
<hr/>	
Mittel	7,85 Mill.

Als Resultat der drei vergleichenden Zählungen ergeben sich demnach Werte, welche vom Mittel nur um 0 %, + 0,6 % und — 0,6 % abweichen bei einer Auszählung von nur 80 Quadraten. Dabei sei bemerkt, dass diese Zählungen die ersten Zählungen überhaupt darstellen, welche mit dem neuen Apparate, also ohne besondere Vertrautheit mit demselben, angestellt wurden.

Vergleicht man mit diesen Resultaten diejenigen, welche W. Brünings¹⁾ mit seinem Apparate erhalten hat, so ergibt sich folgendes: W. Brünings hat in drei Serien je fünf Zählungen in je 400 Quadraten vorgenommen. Berücksichtigt man die erste Serie, so wurden in fünf Zählungen hintereinander, wobei also jedesmal 400 Quadrate ausgezählt wurden, gefunden:

1. Serie	3,712 Mill.
2. „	3,789 „
3. „	3,674 „
4. „	3,745 „
5. „	3,759 „

Das Mittel aus fünf Zählungen betrug demnach 3,736 Mill., die grössten Abweichungen vom Mittel + 0,053 Mill., und — 0,062 Mill., also + 1,4 % resp. — 1,7 %. Zieht man nur die dem Mittelwert am nächsten liegenden Zahlen in Betracht, so ergeben sich Abweichungen vom Mittel um + 0,2 resp. — 0,6 %. Dabei sind aber jeweils 400 Quadrate ausgezählt, in unserem Falle jeweils nur 80 Quadrate.

Der Apparat gibt also nach alledem recht brauchbare Resultate.

Es wurde nun versucht, ob sich die Resultate noch mehr verbessern lassen, wenn eine spezifisch schwerere Mischflüssigkeit als Hayem'sche Flüssigkeit, welche bei

1) W. Brünings, Ein neuer Apparat für Blutkörperchenzählung. Pflüger's Archiv Bd. 93 S. 406. 1903.

15° ein spezifisches Gewicht von nur 1,015 hat, benutzt wird. Es ist ja insbesondere das rasche Senkungsbestreben der roten Blutkörperchen in den spezifisch viel leichteren Mischflüssigkeiten, welches in der alten Kammer zu der ungleichmässigen Verteilung der Blutkörperchen auf der Zählfläche führt. Bei unserer Kammer fällt das rasche Senkungsbestreben freilich nicht so sehr ins Gewicht, weil die Blutmischung sich nahezu momentan in den Zählraum saugt; immerhin war aber doch an die Möglichkeit einer Verbesserung zu denken.

Von den verschiedenen Versuchen, welche in dieser Richtung hin, freilich ohne besonderen Erfolg, angestellt wurden, sei einer erwähnt, weil dabei eine Mischflüssigkeit verwendet wurde, welche auch sonst vielfach benutzt worden ist, nämlich die Pacini'sche Flüssigkeit. Das spezifische Gewicht dieser, mit der Mohr'schen Wage gemessen, betrug bei 15° 1,038, das der Hayem'schen Flüssigkeit wurde, wie schon erwähnt, zu 1,015 unter denselben Bedingungen bestimmt.

Versuch vom 10. Dezember 1904.

Rattenblut 200 fach mit Pacini'scher Flüssigkeit verdünnt. Die einzelnen Zahlen geben die Anzahl der Blutkörperchen jeweils in einem Raume von $\frac{1}{4000}$ cbmm an. Gezählt wurden 128 Quadrate.

Längsreihe.							
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
11	9	13	14	11	5	7	13
10	7	6	10	13	13	13	7
9	10	7	10	12	18	10	8
7	12	6	4	9	5	7	6
14	4	7	9	12	9	10	10
12	8	11	10	12	12	12	9
8	8	6	9	11	10	13	10
14	9	9	8	8	6	12	11
11	13	12	12	13	16	11	7
10	10	11	10	8	8	8	11
12	6	5	8	7	13	8	13
12	12	14	7	8	15	12	7
11	13	11	17	11	10	9	9
9	8	5	10	13	12	9	13
8	12	12	9	12	10	8	15
8	7	8	8	11	7	14	9
166	148	143	155	171	169	163	158

Summe: 1273 in 128 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{1273 \cdot 0,8}{128}$ Mill. = 7,96 Mill.

Längsreihe	Summe	Mittelwert	Grösste Abweichung vom Mittelwert	Mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung	Mittlerer Fehler des Mittelwertes
1.	166	10	+ 4, - 3	± 2	± 0,5
2.	148	9	+ 4, - 5	± 3	± 0,7
3.	143	9	+ 5, - 4	± 3	± 0,8
4.	155	9	+ 8, - 5	± 3	± 0,8
5.	171	11	+ 2, - 4	± 2	± 0,5
6.	169	11	+ 7, - 6	± 4	± 1,0
7.	163	10	+ 4, - 3	± 2	± 0,6
8.	158	10	+ 5, - 4	± 3	± 0,7
1. 2.	314	10	+ 4, - 6	± 2	± 0,4
1. 2. 3.	457	10	+ 4, - 6	± 3	± 0,4
1. 2. 3. 4.	612	10	+ 7, - 6	± 3	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5.	783	10	+ 7, - 6	± 3	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5. 6.	952	10	+ 8, - 6	± 3	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.	1115	10	+ 8, - 6	± 3	± 0,3
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8.	1273	10	+ 8, - 6	± 3	± 0,2

Drei vergleichende Zählungen an ein und derselben mit Pacini'scher Flüssigkeit hergestellten Blutmischung ergaben folgendes:

Versuch vom 10. Dezember 1904.

Rattenblut 200 fach mit Pacini'scher Flüssigkeit verdünnt. Die einzelnen Zahlen geben die Anzahl der Blutkörperchen jeweils in einem Raume von $\frac{1}{4000}$ cbmm an. Gezählt wird in 80 Quadraten.

1. Zählung.

Längsreihe.				
1.	2.	3.	4.	5.
10	14	7	9	10
5	10	14	7	11
11	13	7	8	13
14	7	12	14	12
13	12	13	8	7
7	11	9	6	8
7	7	8	7	12
7	6	8	10	9
8	8	8	7	12
7	10	9	7	8
14	8	10	8	14
11	11	11	7	7
7	9	10	8	8
11	5	4	10	9
6	12	11	18	10
10	5	11	8	9
148	148	152	142	159

Summe: 749 in 80 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{749 \cdot 0,8}{80}$ Mill. = 7,49 Mill.

2. Zählung.

Längsreihe.				
1.	2.	3.	4.	5.
6	14	7	10	10
4	5	8	6	14
10	8	11	11	10
4	9	12	9	11
11	7	8	11	10
9	15	11	10	9
11	12	7	8	10
9	7	8	12	8
8	8	8	8	9
6	6	13	5	11
11	12	7	9	8
14	8	9	9	12
13	11	15	12	8
13	6	8	11	10
10	12	11	9	6
12	7	12	12	7
151	147	155	152	153

Summe: 758 in 80 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{758 \cdot 0,8}{80}$ Mill. = 7,58 Mill.

3. Zählung.

Längsreihe.				
1.	2.	3.	4.	5.
9	14	10	8	14
9	9	9	8	5
5	16	10	9	12
4	8	10	8	13
14	7	10	9	13
12	12	10	13	12
9	9	11	9	8
10	8	4	9	17
9	12	8	12	11
9	7	13	11	10
10	10	13	13	7
7	10	8	7	13
9	12	15	10	11
13	14	14	10	14
7	7	11	9	6
10	9	8	15	10
146	164	164	160	176

Summe: 810 in 80 Quadraten, demnach in 1 cbmm $\frac{810 \cdot 0,8}{80}$ Mill. = 8,10 Mill.

Resultat der drei Zählungen:

1.	7,49 Mill.
2.	7,58 „
3.	8,10 „
<hr/>	
Mittel	7,72 Mill.

Aus den Zählungen geht hervor, dass bei Verwendung von Pacini'scher Flüssigkeit als Mischflüssigkeit der mittlere Fehler des Mittelwertes nur wenig grösser ist als bei Verwendung von Hayem'scher Flüssigkeit. Dagegen stimmen vergleichende Zählungen bei Verwendung von Pacini'scher Flüssigkeit viel schlechter überein als bei Verwendung von Hayem'scher, denn sie zeigen Abweichungen vom Mittelwerte um 3 % bzw. 1,8 % bzw. 4,7 %.

Obwohl also das spezifische Gewicht der Pacini'schen Flüssigkeit grösser ist als dasjenige der Hayem'schen Flüssigkeit, ist die Pacini'sche Flüssigkeit dennoch als Mischflüssigkeit viel weniger geeignet. Das liegt wohl zum grössten Teile an dem zähflüssigen Glyzerin, welches der Pacini'schen Flüssigkeit beigemischt ist und die innere Reibung derselben vergrössern muss, wie auch aus folgendem Versuche hervorgeht.

Versuch vom 28. Dezember 1904.

Mit dem Ostwald'schen Röhrchen wird Hayem'sche und Pacini'sche Flüssigkeit auf relative innere Reibung, bezogen auf Wasser als Einheit, untersucht:

$$\varrho = \frac{s^3}{\sigma \tau},$$

wobei σ das spezifische Gewicht des Wassers, τ die Durchflusszeit desselben durch die Kapillare, mit einer Rennuhr bestimmt, bedeutet, s und t die entsprechenden Werte für die zu vergleichenden Flüssigkeiten.

Flüssigkeit	Temperatur ° C.	Spez. Gewicht	Durchflusszeit in Sekunden; je 3 Be- stimmungen	Innere Reibung ϱ
Wasser	15	0,999	30 30 30	1
Hayem'sche	15	1,015	31 31 31	1,05
Pacini'sche	15	1,038	37 37 37	1,28

Als Postulat bleibt demnach bestehen, eine Mischflüssigkeit von grösserem spezifischem Gewicht zu finden, ohne zugleich die innere Reibung wesentlich zu vergrössern.

So viel geht aber aus unseren Versuchen hervor, dass die Hayem'sche Flüssigkeit als Mischflüssigkeit schon recht geeignet ist, wie folgende Übersichtstabelle zeigt.

Misch- Flüssigkeit	Spez. Ge- wicht bei 15° C.	Relative innere Reibung bei 15° C. bezogen auf Wasser	Zählresultate bei Zählung von 80 Quadraten			
			Grösste Abwei- chungen vom Mittel- werte	Mittlerer Fehler jeder einzelnen Zählung	Mittlerer Fehler des Mittel- wertes	Abweichungen vom Mittel- werte bei ver- gleichenden Zählungen
Pacini'sche	1,038	1,28	+ 7, — 6	± 3	± 0,3	1. — 3,0 % 2. — 1,8 % 3. + 4,7 %
Hayem'sche	1,015	1,05	+ 6, — 4	± 2	± 0,3	1. 0,0 % 2. + 0,6 % 3. — 0,6 %

Demnach ist die Hayem'sche Flüssigkeit als Mischflüssigkeit der Pacini'schen unbedingt überlegen; ein weiterer Vorteil ist, dass sie auch die Blutkörperchen besser konserviert, und dass sie nicht schmiert. Hayem'sche Flüssigkeit soll daher für die späteren Versuche Verwendung finden.

Ergebnisse.

Die neue Zählkammer lässt sich viel leichter zusammensetzen als die alte Thoma-Zeiss'sche, weil das Deckglas schon vor dem Einbringen der Blutmischung aufgelegt wird und die Blutmischung sich durch Kapillarität in den Zählraum saugt.

Die Blutkörperchen sind daher so gleichmässig auf der Zählfläche verteilt, dass es genügt, 80 Quadrate statt 200 wie bei der alten Kammer, durchzuzählen, um einen gut verwendbaren Mittelwert zu erhalten.

Als Mischflüssigkeit empfiehlt sich unbedingt Hayem'sche, nicht Pacini'sche Flüssigkeit.

Die neue Kammer ist praktisch unabhängig von der Temperatur und vollkommen unabhängig vom Luftdruck, auch wenn dieser sich momentan um grosse Werte ändert.

Vergleichende Zählungen, welche an derselben Blutmischung vorgenommen wurden, zeigten bei Verwendung von Hayem'scher Flüssigkeit als Mischflüssigkeit nur Abweichungen voneinander um 0,0 bis $\pm 0,6\%$.

Die Firma C. Zeiss in Jena liefert die neue Kammer mit dem nötigen Zubehör, einer Mischpipette für rote, einer Mischpipette für weisse Blutkörperchen, zwei dicken Deckgläsern und einer kleinen, mittleren und grossen Blende.

Nachtrag.

Für den Praktiker ist die Auswertung der Blenden im Okular ein etwas umständliches Verfahren; zudem ist der Fehler, welcher durch das Zählnetz eingeführt wird, wohl der kleinste von den besprochenen. Aus diesem Grunde wird die oben beschriebene Zählkammer auch mit Objektnetzmikrometern von der Form, wie sie die Fig. 2 darstellt, versehen, wodurch die Blenden entbehrlich werden.

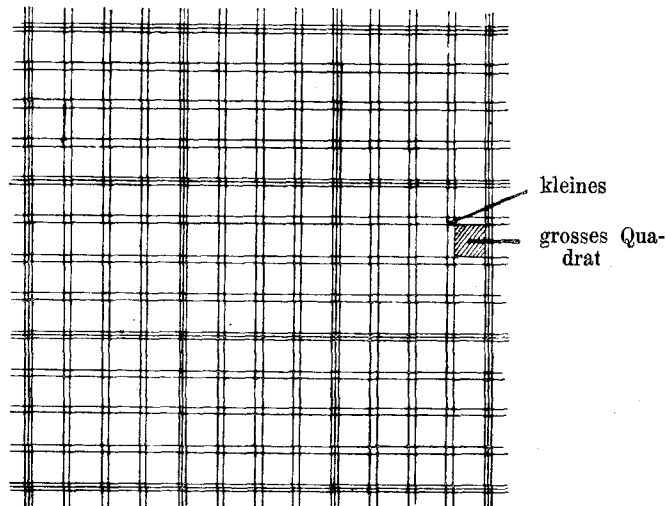


Fig. 2. Zählnetz, 20 fach vergrössert.

Die roten Blutkörperchen werden in den Räumen über den kleinen Quadraten von $\frac{1}{4000}$ cbmm, die weissen Blutkörperchen in den Räumen über den grossen Quadraten von $\frac{16}{4000} = \frac{1}{250}$ cbmm gezählt.

Gebrauchsanweisung für den Blutkörperzählapparat mit Blenden im Okular¹⁾.

Prinzip des Apparates.

In einen Raum, dessen Grundfläche ca. 50 qmm und dessen Höhe genau 0,100 mm beträgt, lässt man Blutmischung durch Kapillarität eindringen. Mit Hilfe von Blenden im Okular des Mikroskops wird von dem Gesamtraume ein genau bestimmter Teilraum abgegrenzt und in ihm die Zählung vorgenommen.

Apparat.

1. Die Zählkammer. Auf eine Grundplatte aus Glas sind zwei rechteckige Glasstücke aufgeklebt, welche die Zählfläche, durch zwei Rinnen von den Glasstücken getrennt, zwischen sich fassen. Die Zählfläche selbst ist durch eine Querrinne in zwei Abteilungen geschieden. Wird auf die Glasstücke ein Deckglas fest aufgelegt, so überbrückt dieses die Zählfläche und grenzt über ihr einen Raum von genau 0,100 mm Höhe ab. Auf die Grundplatte ist ferner ein Objektmikrometer, 1 mm in 100 Teile geteilt, aufgeklebt.

2. Je eine Mischpipette für rote und weisse Blutkörperchen.

3. Drei Blenden für das Okular, eine mit kleiner, eine mit mittlerer und eine mit grosser quadratischer Öffnung. Beträgt die Öffnung der kleinen Blende 1, so beträgt die der mittleren 4 und die der grossen 16.

Auswertung der Blenden.

Bei Verwendung Zeiss'scher Mikroskope grenzt die kleine Blende, wenn Objektiv D und Okular 3 benutzt wird, bei Tubusstellung 160 mm einen Raum von $\frac{1}{4000}$ cmm ab, die mittlere Blende einen solchen von $\frac{1}{1000}$ cmm, die grosse Blende einen solchen von $\frac{1}{250}$ cmm.

Steht kein Zeiss'sches Mikroskop zur Verfügung, so kann man es leicht durch passende Wahl eines Objektivs und Okulars und passende Einstellung des Objektivs gegen das Okular dahin bringen,

1) K. Bürker, Die Thoma-Zeiss'sche Zählkammer. Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 105 S. 481. 1904. — Derselbe: Eine neue Form der Zählkammer. Ebendasselbst Bd. 107 S. 426. 1905.

dass die Blendenöffnung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen jeweils für die kleine Blende 5, für die mittlere 10 und für die grosse 20 kleinste Teile des Objektmikrometers breit ist, so dass also die Räume auch hier wieder $\frac{1}{4000}$ mm, $\frac{1}{1000}$ mm und $\frac{1}{250}$ mm betragen.

Zählung der roten Blutkörperchen.

Ins Okular des Mikroskops kommt die Blende mit kleiner Öffnung. Man überzeugt sich, indem man auf das Objektmikrometer einstellt, dass die Blendenöffnung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen je 5 Mikrometerteile = 0,05 mm weit ist. Der abgegrenzte Raum beträgt dann $\frac{1}{4000}$ mm.

Nach sorgfältiger Reinigung der Zählkammer schiebt man das Deckglas so auf, dass auf beiden Unterlagen Newton'sche Streifen, unter diesen womöglich braune, entstehen und bestehen bleiben.

Das Blut wird am besten der sorgfältig mit Äther-Alkohol $\bar{a}\bar{a}$ gereinigten Fingerkuppe mit Hilfe des Francke'schen Instrumentes zur Blutentziehung, dessen Schneide besser breit als spitz ist, entnommen. Der Blutstropfen muss ohne weiteres oder auf leichten Druck hin austreten. Sofort saugt man aus diesem Blutstropfen Blut bis zur Marke 0,5 der Mischpipette für rote Blutkörperchen, wischt von der Spitze der Pipette das überflüssige Blut ab und taucht sie alsdann in Hayem'sche Lösung, bestehend aus

Natriumsulfat	5,0 g,
Kochsalz	1,0 g,
Sublimat	0,5 g,
Wasser	200,0 g,

wobei man zugleich beim Eintauchen zu saugen anfangen und damit fortfahren muss, bis der Meniskus die Marke 101 erreicht hat. Ist der Meniskus über die Marke 101 gestiegen, so korrigiert man dies durch leichtes Andrücken von Fliesspapier gegen die Spitze der Pipette. Durch Schütteln mischt man Blut und Hayem'sche Lösung sorgfältig durcheinander.

Die ersten Tropfen der Blutmischung werden verworfen. Alsdann bringt man ein kleines Tröpfchen derselben auf den unter dem Deckglas hervortretenden halbkreisförmigen Teil der Zählfläche; sowie das Tröpfchen mit dem Deckglas in Berührung kommt, wird die Blutmischung sofort durch Kapillarität in die eine Abteilung der Zählkammer gesaugt. Um eine Kontrollzählung vornehmen zu

können, füllt man in derselben Weise die andere Abteilung der Zählkammer.

Zur Zählung legt man die Zählkammer auf einen verschiebbaren Objektisch oder, wenn ein solcher nicht zur Verfügung steht, auf Papier, das in Quadratmillimeter geteilt ist und das man auf dem Objektisch befestigt hat. Entsprechend der Durchbohrung im Objektisch muss auch das Papier durchlocht sein. Man zählt nun die ganze Abteilung der Kammer in fünf Längsreihen, die einen Abstand von ca. 0,5 mm von einander haben sollen, durch, in jeder Längsreihe je 16 Quadrate, und zwar wiederum in einem Abstände von 0,5 mm von einander, im ganzen also 80 Quadrate. Ragen Bruchstücke von Blutkörperchen in den abgegrenzten Zählraum hinein, so werden diese als solche in Rechnung gezogen, die Zahl der Blutkörperchen in dem abgegrenzten Raume aber auf Ganze abgerundet.

Zur Berechnung der durchschnittlichen Zahl von roten Blutkörperchen in $\frac{1}{4000}$ cmm dividiert man die Gesamtsumme in 80 Quadraten durch die Anzahl der gezählten Quadrate, also durch 80. Um auf 1 cmm umzurechnen, hat man die durchschnittliche Zahl mit 4000 und, der 200fachen Verdünnung wegen, noch mit 200, also insgesamt mit 800 000 zu multiplizieren. Im gegebenen Falle lässt sich die Rechnung sehr einfach, nämlich nur durch Verschiebung des Kommas ausführen.

Betrug die Gesamtsumme der in 80 Quadraten gezählten roten Blutkörperchen 485, so kommen auf 1 cmm

$$\frac{485 \cdot 0,8}{80} = 485 \cdot 0,01 = 4,85 \text{ Millionen.}$$

Man braucht also nur die Gesamtsumme der in 80 Quadraten gezählten roten Blutkörperchen mit 0,01 zu multiplizieren, um die Zahl der in 1 cmm Blut vorhandenen roten Blutkörperchen, in Millionen ausgedrückt, zu erhalten.

Zählung der weissen Blutkörperchen.

Ins Okular des Mikroskops kommt die Blende mit grösster Öffnung. Man überzeugt sich, indem man auf das Objektmikrometer einstellt, dass die Blendenöffnung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen 20 Mikrometerteile = 0,20 mm weit ist, der abgegrenzte Raum beträgt dann $\frac{1}{250}$ cmm.

Das weitere Verfahren ist im allgemeinen genau dasselbe wie bei der Zählung roter Blutkörperchen, nur dass man in die Misch-

pipette für weisse Blutkörperchen das Blut bis zur Marke 1 saugt und als Verdünnungsflüssigkeit bis zur Marke 11 0,3 % Lösung von Eisessig in Wasser benutzt. Man zählt in 8 Längsreihen, in 5 von diesen je 16, in 3 von diesen nur je 15 Quadrate, insgesamt also 125 Quadrate.

Zur Berechnung der durchschnittlichen Zahl von weissen Blutkörperchen in $\frac{1}{250}$ cmm dividiert man die Gesamtsumme durch die Anzahl der gezählten Quadrate, also durch 125. Um auf 1 cmm umzurechnen, hat man die durchschnittliche Zahl mit 250 und der zehnfachen Verdünnung wegen noch mit 10, also insgesamt mit 2500 zu multiplizieren.

Auch hier gestaltet sich die Berechnung im gegebenen Falle sehr einfach.

Betrug die Gesamtsumme der in 125 Quadraten gezählten weissen Blutkörperchen 596, so kommen auf 1 cmm

$$\frac{596 \cdot 2,50}{125} = 596 \cdot 0,02 = 11,92 \text{ Tausend.}$$

Man braucht also nur die Gesamtzahl der in 125 Quadraten gezählten weissen Blutkörperchen mit 0,02 zu multiplizieren, um die Zahl der in 1 cmm Blut vorhandenen weissen Blutkörperchen, in Tausenden ausgedrückt, zu erhalten.

Ist die Zahl der weissen Blutkörperchen sehr gross, so kommt ins Okular die Blende mit mittlerer Öffnung. Man überzeugt sich, indem man auf das Objektmikrometer einstellt, dass die Blendenöffnung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen je 10 Mikrometer Teile = 0,10 mm weit ist, der abgegrenzte Raum beträgt dann $\frac{1}{1000}$ cmm.

Das Verfahren ist sonst genau dasselbe wie im vorhergehenden Falle. Man zählt in 7 Längsreihen, in 2 von diesen je 15, in 5 von diesen je 14 Quadrate, insgesamt also 100 Quadrate.

Zur Berechnung der durchschnittlichen Zahl von weissen Blutkörperchen in $\frac{1}{1000}$ cmm dividiert man die Gesamtsumme durch die Anzahl der gezählten Quadrate, also durch 100. Um auf 1 cmm umzurechnen, hat man die durchschnittliche Zahl mit 1000 und der zehnfachen Verdünnung wegen noch mit 10, also insgesamt mit 10 000, zu multiplizieren.

In praxi wird die Berechnung sehr vereinfacht, man braucht nur das Komma zu verschieben.

Betrag die Gesamtsumme der in 100 Quadraten gezählten weissen Blutkörperchen 1252, so kommen auf 1 cmm

$$1252 \cdot 0,1 = 125,2 \text{ Tausend.}$$

Man braucht also nur die Gesamtzahl der in 100 Quadraten gezählten weissen Blutkörperchen mit 0,1 zu multiplizieren, um die Zahl der in 1 cmm Blut vorhandenen weissen Blutkörperchen, in Tausenden ausgedrückt, zu erhalten.

Gebrauchsanweisung für den Blutkörperzählapparat mit Objekt- netzmikrometern¹⁾.

Prinzip des Apparates.

In einen Raum, dessen Grundfläche ca. 50 qmm und dessen Höhe genau 0,100 mm beträgt, lässt man Blutmischung durch Kapillarität eindringen. Mit Hilfe eines Objektnetzmikrometers wird von dem Gesamtraume ein genau bestimmter Teilraum abgegrenzt und in ihm die Zählung vorgenommen.

Apparat.

1. Die Zählkammer. Auf eine Grundplatte aus Glas sind zwei rechteckige Glasstücke aufgeklittet, welche die Zählfläche, durch zwei Rinnen von den Glasstücken getrennt, zwischen sich fassen. Die Zählfläche selbst ist durch eine Querrinne in zwei Abteilungen geschieden. Wird auf die Glasstücke ein Deckglas fest aufgelegt, so überbrückt dieses die Zählfläche und grenzt über ihr einen Raum von genau 0,100 mm Höhe ab. Auf jeder Abteilung der Zählfläche ist ein Objektnetzmikrometer für Zählung roter und weisser Blutkörperchen, 4 qmm entsprechend geteilt, eingeritzt. (Siehe die Figur.)

2. Je eine Mischpipette für rote und weisse Blutkörperchen.

¹⁾ K. Bürker, Die Thoma-Zeiss'sche Zählkammer. Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 105 S. 481. 1904. — Derselbe, Eine neue Form der Zählkammer. Ebendasselbst Bd. 107 S. 426. 1905.

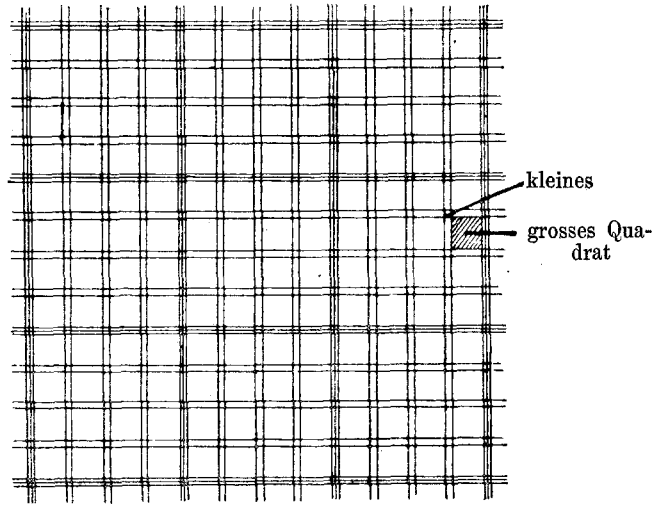


Fig. 3. Zählnetz, 20 fach vergrößert.

Zählung der roten Blutkörperchen.

Nach sorgfältiger Reinigung der Zählkammer schiebt man das Deckglas so auf, dass auf beiden Unterlagen Newton'sche Streifen, unter diesen womöglich braune, entstehen und bestehen bleiben. Das Blut wird am besten der sorgfältig mit Ätheralkohol $\bar{a}\bar{a}$ gereinigten Fingerkuppe mit Hilfe des Francke'schen Instrumentes zur Blutentziehung, dessen Schneide besser breit als spitz ist, entnommen. Der Blutstropfen muss ohne weiteres oder auf leichten Druck hin austreten. Sofort saugt man aus diesem Blutstropfen Blut bis zur Marke 0,5 der Mischpipette für rote Blutkörperchen, wischt von der Spitze der Pipette das überflüssige Blut ab und taucht sie alsdann in Hayem'sche Lösung, bestehend aus

Natriumsulfat	5,0 g,
Kochsalz	1,0 g,
Sublimat	0,5 g,
Wasser	200,0 g,

wobei man zugleich beim Eintauchen zu saugen anfangen und damit fortfahren muss, bis der Meniskus die Marke 101 erreicht hat. Ist der Meniskus über die Marke 101 getreten, so korrigiert man dies durch leichtes Andrücken von Fliesspapier gegen die Spitze der Pipette. Durch Schütteln mischt man Blut und Hayem'sche Lösung sorgfältig durcheinander.

Die ersten Tropfen der Blutmischung werden verworfen. Als dann bringt man ein kleines Tröpfchen derselben auf den unter dem Deckglas hervorragenden halbkreisförmigen Teil der Zählfläche für rote Blutkörperchen; sowie das Tröpfchen mit dem Deckglas in Berührung kommt, wird die Blutmischung sofort durch Kapillarität in die eine Abteilung der Zählkammer gesaugt.

Um eine Kontrollzählung vornehmen zu können, füllt man auch die andere Abteilung der Kammer.

Von den Quadraten des Zählnetzes werden nur die kleinen (siehe Figur) berücksichtigt, man zählt 80 kleine Quadrate durch.

Ragen Bruchstücke von roten Blutkörperchen in den abgegrenzten Zählraum hinein, so werden diese als solche in Rechnung gezogen, die Zahl der Blutkörperchen in dem abgegrenzten Raume aber auf Ganze abgerundet.

Zur Berechnung der durchschnittlichen Zahl der roten Blutkörperchen in $\frac{1}{4000}$ cmm dividiert man die Gesamtsumme in 80 Quadraten durch die Anzahl der gezählten Quadrate, also durch 80. Um auf 1 cmm umzurechnen, hat man die durchschnittliche Zahl mit 4000 und der 200fachen Verdünnung wegen noch mit 200, also insgesamt mit 800 000, zu multiplizieren. Im gegebenen Falle lässt sich die Rechnung sehr einfach, nämlich nur durch Verschiebung des Kommas, ausführen.

Betrug die Gesamtsumme der in 80 Quadraten gezählten roten Blutkörperchen 485, so kommen auf 1 cmm

$$\frac{485 \cdot 0,8}{80} = 485 \cdot 0,01 = 4,85 \text{ Millionen.}$$

Man braucht also nur die Gesamtsumme der in 80 Quadraten gezählten roten Blutkörperchen mit 0,01 zu multiplizieren, um die Zahl der in 1 cmm Blut vorhandenen roten Blutkörperchen, in Millionen ausgedrückt, zu erhalten.

Zählung der weissen Blutkörperchen.

Das Verfahren ist im allgemeinen genau dasselbe wie bei der Zählung roter Blutkörperchen, nur dass man in die Mischpipette für weisse Blutkörperchen das Blut bis zur Marke 1 saugt und als Verdünnungsflüssigkeit bis zur Marke 11 0,3 % Lösung von Eisessig in Wasser benutzt.

Die Blutmischung lässt man durch Kapillarität in die eine Abteilung der Zählkammer sich einsaugen. Um eine Kontrollzählung vornehmen zu können, füllt man auch die andere Abteilung der Kammer. Über einem grossen Quadrat liegt hier ein Raum von $\frac{16}{4000} = \frac{1}{250}$ cmm, und 144 solcher Quadrate sind eingeritzt. Man zählt davon 100 Quadrate durch und hat dann in einem Raume von $\frac{1}{2,5}$ cmm gezählt. Um auf 1 cmm umzurechnen, hat man die Gesamtzahl mit 2,5 und der zehnfachen Verdünnung wegen noch mit 10, also insgesamt mit 25, zu multiplizieren.

Betrug die Gesamtsumme der in 100 grossen Quadraten gezählten weissen Blutkörperchen 476, so kommen auf 1 cmm

$$476 \cdot 0,025 = 11,90 \text{ Tausend.}$$

Man braucht also nur die Gesamtzahl der in 100 grossen Quadraten gezählten weissen Blutkörperchen mit 0,025 zu multiplizieren, um die Zahl der in 1 cmm Blut vorhandenen weissen Blutkörperchen, in Tausenden ausgedrückt, zu erhalten.
