

~~1915.12~~
1915.12

Z-140680
Akce. z l. 2024 nr. 343



L. H.

568

C. 11.8.

Das Chromo-Cytometer.

Neues Instrument zur Bestimmung des Hämoglobin-
gehaltes des Blutes.

Von

G. Bizzozero, 

Professor an der Universität Turin ¹⁾.

[1880]

(Hiezu 1 Holzschnitt.)

Die grosse Wichtigkeit, welche man stets den rothen Blutkörperchen beigelegt hat, ist Ursache gewesen, dass man schon wiederholt nach Methoden zur quantitativen Bestimmung derselben gesucht hat.

Die Hauptbedingung für die praktische Verwendbarkeit einer solchen Methode, vom physiologischen wie vom klinischen Standpunkte, ist die, dass mit einer möglichst geringen Blutmenge eine relative Genauigkeit erreicht wird. Es versteht sich von selbst, dass bei Versuchen, sowohl beim Thiere wie beim Menschen, die Entziehung einer beträchtlichen Blutmenge nicht gleichgiltig ist, da dieselbe, abgesehen davon, dass sie die Gesundheit schädigt, auch die Resultate der Untersuchungen beeinträchtigen kann.

Von den in früherer Zeit vorgeschlagenen Methoden können von vorneherein ausgeschlossen werden diejenigen, welche auf der chemischen Analyse beruhen, da sie eine zu grosse Blutmenge beanspruchen, sowie diejenigen, denen eine Zählung der Blutkörperchen zu Grunde liegt, da sie, abgesehen von ihrer Umständlichkeit, wenig Genauigkeit bieten, indem ja nachgewiesen ist, dass die Menge der Blutkörperchen nicht immer in directer Beziehung zum Hämoglobingehalt des Blutes steht, auf welchen der Beobachter hauptsächlich sein Augenmerk zu richten hat.

¹⁾ Deutsch excerptirt von Stud. med. E. Bäumlcr.

QY B625c 1880/s

1427683040

Viel besser entsprechen den wissenschaftlichen Anforderungen einige in neuerer Zeit vorgeschlagene Methoden, denen die Abmessung der Farbenintensität theils des gelösten, theils des noch in den Blutkörperchen befindlichen Hämoglobins zu Grunde liegt.

Nach der Methode von Hoppe-Seyler wird das zu untersuchende Blut so lange mit Wasser verdünnt, bis es mit einer Hämoglobinlösung von bekannter Verdünnung in der Färbung genau übereinstimmt. Aus der Menge Wasser, welche man einer bestimmten Blutquantität zufügen musste, um dies zu erreichen, berechnet man den Hämoglobingehalt des Blutes.

Eine Modification dieser Methode ist die von Worm-Müller, welcher, anstatt eine gegebene Blutmenge mit einer unbestimmten Wassermenge zu verdünnen, eine bestimmte Quantität Wasser mit einer variablen Blutmenge färbt und den Hämoglobingehalt aus der Menge des dazu nöthigen Blutes berechnet.

Hayem hingegen vergleicht die Farbe einer bestimmten Lösung des zu prüfenden Blutes mit einer Reihe von Farbentafeln, denen er so gut als möglich die Blutfarbe gegeben hat. Die Prüfung geschieht hier bei auffallendem Licht, und nicht, wie bei den anderen Methoden, im durchfallenden.

Malassez vergleicht bei seinem Chromometer die Farbe einer bestimmten Blutlösung, die sich in einem Glastrog mit parallelen Wänden befindet (so dass die Schicht überall gleich dick ist), im durchfallenden Licht mit einem hohlen Glasprisma, das mit pikrokarminsaurem Ammoniak gefüllt ist, welch letzteres bekanntlich dem Blute in der Farbe ziemlich ähnlich ist. Die Dicke der Flüssigkeitsschicht im Prisma, daher auch die Farbenintensität, ist an jeder Stelle verschieden, und man bestimmt nun aus dem Punkte des Prismas, an welchem die Farbenintensität des pikrokarminsauren Ammoniaks mit der der Blutlösung genau übereinstimmt, den Hämoglobingehalt des letzteren.

Auf einem ähnlichen Princip beruht die Quincke'sche Methode. Sein Apparat besteht aus einer Anzahl Glasröhren von gleichem Durchmesser. Eine derselben dient zur Aufnahme des in passende Verdünnung gebrachten Blutes; in den übrigen, welche zugeschmolzen sind, befinden sich Lösungen von pikrokarminsaurem Ammoniak von verschiedener, aber bekannter Concentration. Man

sucht nun durch Vergleichen diejenige der letzteren, welche der bereiteten Blutlösung an Farbenintensität gleich (oder am nächsten) steht, und bestimmt so den Hämoglobingehalt der Blutlösung.

Gute Resultate haben auch die spectroscopischen Methoden geliefert. Die Idee dazu stammt von Preyer.

Prüft man im Spectroscop eine concentrirte Lösung einer bestimmten Hämoglobinmenge, so gehen nur die rothen Strahlen durch. Setzt man allmähig Wasser zu, so wird man auf einen Punkt kommen, wo auch die grünen Strahlen sichtbar werden. In diesem Moment misst man die Menge des zugesetzten Wassers ab, und bestimmt darnach das Verhältniss der Lösung. Man hat so eine Hämoglobinlösung, die unter gegebenen Bedingungen für grüne Strahlen durchlässig ist.

Dazu bereitet man sich eine bestimmte Lösung des zu prüfenden Blutes, und verdünnt nach und nach so, bis sie ebenfalls für grüne Strahlen durchlässig ist. Beide Lösungen sind nun gleich concentrirt, und man bestimmt dann aus der Menge des der letzteren zugefügten Wassers ihren Gehalt an färbender Substanz.

Quincke hat dies Verfahren dahin modificirt, dass er das zu prüfende Blut in passender Verdünnung in ein Glasprisma giesst und dieses vor der Spalte des Spectroscopes so weit verschiebt, bis die grünen Strahlen beginnen sichtbar zu werden.

Beide Methoden haben den Nachtheil, dass man zur erstmaligen Bestimmung eine abgemessene Hämoglobinlösung haben muss. Bei der Vierordt'schen Methode ist dies nicht der Fall; auch ist die zur Prüfung erforderliche Blutmenge äusserst gering. Seine Methode ist bereits von verschiedenen Beobachtern verwendet worden; auf ihr beruht auch die Arbeit Leichtenstern's: „Untersuchungen über den Hämoglobulingehalt des Blutes in gesunden und kranken Zuständen,“ Leipzig, F. C. W. Vogel, 1878. Er geht aus von der verschiedenen Lichtabsorptionsfähigkeit des Hämoglobins je nach der Concentration der Lösung. Da ein genaueres Eingehen auf diese Methode zu viel Raum in Anspruch nehmen würde, verweisen wir auf die bereits citirte Arbeit und auf die Publicationen Vierordt's¹⁾.

¹⁾ Die Anwendung des Spectralapparates zur Messung und Vergleichung des farbigen Lichtes, Tübingen 1871, und: Die Anwendung

Die Methode von Mantegazza schliesslich beruht auf einem ganz anderen Princip als die vorher genannten, nämlich auf der Messung des Durchsichtigkeitsgrades einer Flüssigkeit, in welcher die Blutkörperchen suspendirt sind. Betrachtet man die Flamme einer Stearinkerze durch eine Schicht der Blutsuspension von bestimmter Dicke und schiebt nach und nach eine Reihe blauer Glasscheiben zwischen Kerze und Blutsuspension, so wird endlich ein Moment kommen, wo die Kerzenflamme nicht mehr sichtbar ist. Es ist klar, dass, je durchsichtiger das Blut ist, um so mehr Glasscheiben eingeschoben werden müssen, bis die Flamme verschwindet. Aus der Zahl der eingeschobenen Glasscheiben lässt sich also ein Schluss auf die Durchsichtigkeit der Lösung und demgemäss auf den Gehalt an färbender Substanz machen.

Durch eine Reihe von Versuchen über die qualitativen Veränderungen des Blutes sah sich der Verfasser veranlasst, ein Verfahren zu suchen, mittelst dessen sich mit Genauigkeit und relativer Schnelligkeit der Hämoglobinreichthum des Blutes bestimmen liesse. Er verglich daher zunächst verschiedene der vorher beschriebenen Instrumente.

Bei Gelegenheit von Versuchen Prof. Mantegazza's, welchen Verfasser beiwohnte, überzeugte sich der letztere von der grossen Genauigkeit, die mit dem Mantegazza'schen Verfahren erreicht werden kann, und schien es ihm gerathen, an dem Instrumente einige Verbesserungen und Veränderungen vorzunehmen.

Gegen das Globulimeter von Mantegazza sind verschiedene Einwände geltend gemacht worden. Zunächst gegen das Princip desselben. Einige Autoren behaupten nämlich: Die Lichtstrahlen, welche in die Blutschicht gelangen, werden von den rothen Blutkörperchen zum Theil absorbirt, zum Theil reflectirt. Da nun diese aus einem Stroma bestehen, in welchem die färbende Substanz, das Hämoglobin, eingelagert ist, so würde eine grössere oder geringere Reflexion des Lichtes ebensosehr von einer Veränderung des Hämoglobins, wie von einer Veränderung des Stromas abhängen können; es würden also die vom Instrumente gelieferten Resultate nicht ausschliesslich einer Veränderung des Hämoglobins zuzu-

des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren, Tübingen 1873.

schreiben sein und könnten daher auch nicht zu einer Bestimmung desselben verwendet werden.

Diesen Einwand sucht nun Verfasser zu entkräften; er hält die Prämissen, auf welchen der Einwand ruht, für falsch. Die Blutkörperchen reflectiren das Licht hauptsächlich wegen des in ihnen enthaltenen Hämoglobins. Ihr Stroma ist so transparent, dass dasselbe, wenn sich das Hämoglobin (wie bei Wasser- oder Chloroformbehandlung) in der umgebenden Flüssigkeit löst, sich dem Anblick vollständig entzieht, so dass man früher annahm, es habe sich ebenfalls gelöst; das Blut wird also durchsichtig. Es ist durchaus nicht nachgewiesen, dass dies nicht auch für pathologische Zustände gelte. Es hängt demnach die Undurchsichtigkeit der Blutschicht nicht von der Anwesenheit des Stromas ab, sondern davon, dass in ihm das Hämoglobin enthalten ist.

Ebenso sei auch der gegen das Donné'sche Lactoscop erhobene Einwand hier hinfällig: dass nämlich bei gleicher Menge, hier des Hämoglobins, dort des Fettes, die Reflexion abhängig sei von dem Durchmesser der in der Flüssigkeit suspendirten Kügelchen resp. Körperchen. Denn in der Regel haben die Blutkörperchen ungefähr denselben Durchmesser, und selbst in Fällen von Mikrocytämie ist die Zahl der kleineren Blutkörperchen eine relativ geringe.

Dagegen verdienen einige andere, dem Instrumente vorgewarfene Mängel Beachtung, und der Autor hat bei der Umarbeitung des Mantegazza'schen Globulimeter in sein Cytometer dieselben wesentlich berücksichtigt.

Zunächst ist die Graduierung des Instrumentes von Mantegazza, bestehend aus einer Anzahl von Glasscheiben, eine mangelhafte und willkürliche, insoferne, als es undurchführbar ist, überall Glasscheiben von derselben Stärke und Farbenintensität zu erhalten; bei einem und demselben Beobachter müssen schon die Beobachtungsergebnisse ziemlich grobe Fehler aufweisen; ganz unmöglich aber wäre es, die Resultate verschiedener Beobachter mit einander zu vergleichen. Zur Vermeidung dieser Ungenauigkeiten hat sich der Verfasser an das Princip des Donné'schen Lactoscopes gehalten, und er misst den Durchsichtigkeitsgrad der Blutschicht durch Variation ihrer Dicke. Dadurch ist eine allgemein und über-

all anwendbare Graduierung geschaffen, ohne dass ein Originalinstrument zum Vergleich nöthig wäre.

Ferner benöthigt Mantegazza zu seinem Instrument eine zu grosse Blutmenge: 1 CCm. Diesem Mangel hat Bizzozzero durch eine Verkleinerung aller Proportionen des Instrumentes abgeholfen, so dass für sein Instrument 10 CMm. vollkommen ausreichend sind.

Schliesslich enthält das Globulimeter eine Quelle von Irrthümern darin, dass in der Blutsuspension farblose Elemente (weisse Blutkörperchen, in seltenen Fällen Fettkügelchen) enthalten sind, welche, unabhängig vom Hämoglobin, die Blutschicht undurchsichtiger machen. Um diesem Uebelstande aus dem Wege gehen zu können, hat der Verfasser sein Instrument so eingerichtet, dass man in ihm sowohl Blutlösungen, wie Suspensionen der Messung unterziehen kann, man kann es als Chromometer und als Cytometer verwenden, daher ihm auch sein Erfinder den Doppelnamen „Chromocytometer“ verliehen hat.

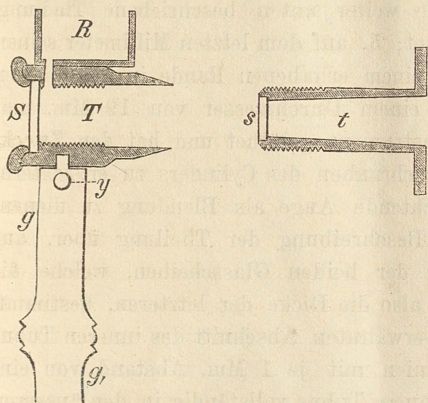
Das Chromocytometer wirkt so, dass man aus der Dicke (Säulenhöhe), welche man einem verdünnten Blute geben muss, um einen bestimmten optischen Effect zu erzielen, den Hämoglobingehalt der zu prüfenden Flüssigkeit bestimmt.

Wenn das Instrument als Cytometer verwendet wird, so mischt man Blut mit der 50fachen Menge einer $\frac{3}{4}$ %igen Kochsalzlösung, welche die Blutkörperchen nicht verändert; dieselben behalten vielmehr darin ihre Farbe und bleiben in der Flüssigkeit suspendirt. Der Hämoglobinreichtum des Blutes wird aus der Dicke abgeleitet, welche man der Schicht geben muss, um die Flamme einer Kerze, die sich in einer Dunkelkammer befindet, auf $1\frac{1}{2}$ Meter Entfernung gerade deutlich sehen zu können; man kann ferner gleichsam aus der Bestimmung des Farbstoffes auf die Menge der rothen Blutkörperchen schliessen (wobei allerdings vorausgesetzt wird, dass der Hämoglobingehalt je eines Blutkörperchens eine annähernd constante Grösse sei. Anmerk. d. Ueb.)

Wird das Instrument dagegen als Chromometer benutzt, so mischt man das zu untersuchende Blut mit einer bestimmten Menge Wasser, welches den Blutfarbstoff auflöst, so dass die Flüssigkeit, obwohl sie ihre Farbe beibehält, durchsichtig wird. Hier wird der Hämoglobingehalt berechnet aus der Dicke, die man der Blut-

schicht geben muss, damit ihre Farbenintensität genau derjenigen eines gefärbten Probeglasses, welches zum Instrument gehört, gleich sei.

Den Hauptbestandtheil des Instrumentes bilden zwei Röhren, deren eine (*t*) in die andere (*T*) hineinpasst. Die äussere Röhre (*T*)



ist mittelst Schraube auf dem Handgriff des Instrumentes (*gg*) befestigt. Beide Tuben werden an dem gleichnamigen Ende durch eine Glasscheibe (*S, s*) geschlossen, während ihr anderes Ende offen ist.

Die innere Röhre kann auf eine bestimmte Strecke frei in die äussere eingeführt werden; die letzte Strecke, von ungefähr 6 Millim. Länge, wird dieselbe mittelst einer Schraube, deren männlichen Theil sie selbst trägt, deren Mutter auf der inneren Fläche des äusseren Tubus eingeschnitten ist, hineingeschraubt. Wenn der eine Cylinder vollständig in den anderen eingeschraubt ist, so berühren sich die beiden Glasscheiben.

Oben auf dem äusseren Cylinder ist ein 13 Mm. langer Recipient (*R*) angelöthet, welcher etwas mehr als ein halbes Gramm Flüssigkeit fasst. Dieser Recipient hat unten ein Loch, welches einer Bohrung in der Wand des äusseren Tubus entspricht. In Folge dessen steht derselbe mit dem Raume in Verbindung, welcher durch Auseinanderschrauben der beiden Röhren, resp. der beiden Glasplatten entsteht.

Der innere Tubus besitzt eine Gesamtlänge von 21·5 Mm. Am vorderen, durch die Glasscheibe verschlossenen Ende, beträgt seine innere Weite 5 Mm.; nach hinten zu wird er allmähig weiter und erreicht am hinteren Ende 7 Mm. Die Aussenansicht des inneren Tubus bietet von vorne nach hinten folgende Einzelheiten: 1. auf eine Strecke von 1·5 Mm. ist er glatt und beträgt sein Durchmesser 7·5 Mm.; 2. auf die folgenden 5·5 Mm. trägt er die Windungen der schon erwähnten Schraube, deren jede einzelne genau

ein halbes Millimeter breit ist; hier hat der Tubus einen Durchmesser von 8 Mm.; 3. wiederum auf 1·5 Mm. ist der Cylinder glatt, und es wächst hier sein Durchmesser um ein halbes Millimeter an; 4. auf eine Strecke von weiteren 12 Mm. besitzt der Cylinder 8·5 Mm. Durchmesser und zeigt eine glatte Oberfläche; auf diesem Abschnitt ist die weiter unten beschriebene Theilung des Instrumentes angezeichnet; 5. auf dem letzten Millimeter seiner Länge ist der Tubus von einem erhabenen Rande in Form einer durchlöcherten Scheibe mit einem Durchmesser von 19 Mm. umfasst. Dieser ist an das Instrument gelöthet und hat den Zweck, einerseits das Ein- und Ausschrauben des Cylinders zu erleichtern, andererseits für das beobachtende Auge als Blendung zu dienen.

Wir gehen jetzt zur Beschreibung der Theilung über, aus welcher man die Entfernung der beiden Glasscheiben, welche die Blutschicht begrenzen, daher also die Dicke der letzteren, bestimmt.

Auf dem schon früher erwähnten Abschnitt des inneren Tubus sind sieben parallele Kreislinien mit je 1 Mm. Abstand von einander eingravirt. Wenn der innere Tubus vollständig in den äusseren eingeschraubt ist, so dass die beiden Glasscheiben sich berühren, fällt der hintere Rand des äusseren Tubus genau mit der ersten dieser Kreislinien zusammen. Schrauben wir jetzt den Cylinder um 2 Schraubengänge heraus, so werden wir ihn, da jede Windung 0·5 Mm. breit ist, um 1·0 Mm. herausgeschraubt haben und der hintere Rand des äusseren Cylinders wird nun der zweiten Kreislinie entsprechen; haben wir um 4 Windungen gedreht, so wird der Cylinder 2 Mm. herausgeschraubt sein, und der Rand des äusseren Cylinders fällt mit der dritten Linie zusammen, und so fort.

Mit anderen Worten: Aus der Zahl der Linien, welche über den hinteren Rand des äusseren Tubus hervorstehen, leitet man ab, wie weit der innere Cylinder herausgezogen ist, oder wie weit die beiden Glasplatten von einander entfernt sind, oder schliesslich, welche Dicke die zwischen ihnen eingeschlossene Blutschicht hat.

Um Bruchtheile eines Millimeters abmessen zu können, ist der frei herausstehende Theil des inneren Cylinders durch gleichweit von einander entfernte Theilstriche, parallel zur Axe des Cylinders, in 25 Theile getheilt. Daraus ergibt sich leicht, dass, wenn eine ganze Drehung des Cylinders um seine Axe 0·5 Mm. entspricht, jeder Theilstrich $0\frac{5}{25} = \frac{1}{50}$ Mm. darstellt. Zur Erleichterung der

Rechnungen ist es vorzuziehen, auf Hundertstel eines Millimeters umzurechnen; dann entspricht jeder Grad der Scala 0.02 Mm.

Das Ablesen der Bruchtheile wird dadurch erleichtert, dass jeder fünfte Theilstrich mit einer Ziffer versehen ist. Bei geschlossenem Instrument fällt die Null der Scala mit einer an dem äusseren Tubus eingravirten Linie zusammen. Es wird also nach jeder ganzen Drehung des inneren Tubus, d. i. nach jeder Variation der Dicke der Blutschicht um 0.5 Mm., die Null wieder auf die Linie des äusseren Cylinders fallen; während andererseits bei nur theilweisen Umdrehungen dieser letzteren Linie, je nach Umständen, der eine oder andere Theilstrich der Scala entsprechen wird.

Will man das Instrument als Chromometer benutzen, so muss man ihm eine gefärbte Prüfglasplatte begeben. Dieselbe hat einen Durchmesser von 5 Mm. und sitzt im Centrum einer messingenen Scheibe, welche an dem äusseren Tubus (*T*) bei (*y*) derart befestigt ist, dass das Auge bald durch die Blutsäule, bald durch die gefärbte Scheibe blicken kann.

Für einen der Hauptvorteile des Apparates hält der Verfasser den Fortschritt, den er durch die Färbung der genannten Glasplatte errungen hat.

Es ist bekannt, wie schwierig die Herstellung von Glasscheiben ist, welche dieselbe Farbenqualität und -Intensität besitzen, wie eine gegebene Blutlösung. In Folge dieser Schwierigkeiten ist in neuen Methoden, z. B. in jenen von Rajewski, Malassez, Quincke und Groweers versucht worden, durch Anwendung von Lösungen des pikrokarminsauren Ammoniaks zum Ziele zu kommen. Aber diese haben zwei Fehler: zunächst treffen sie nur selten genau den richtigen Ton des Blutfarbstoffes (davon hat sich Verf. überzeugt bei der Prüfung eines Malassez'schen und zweier Quincke'schen Instrumente); ferner haben sie den Nachtheil, im Laufe der Zeit zu verblassen.

Der Verfasser machte es sich daher zur Aufgabe, seine Gläser mit dem Oxyhämoglobin selbst zu färben, ohne sich durch die Schwierigkeiten, die sich bisher der Bewahrung des Oxyhämoglobins vor Zersetzung entgegenstellten, entmuthigen zu lassen. Nach einigen Versuchen fand er, dass es am zweckmässigsten ist, das Oxyhämoglobin getrocknet, bei niedriger Temperatur, in Gelatine, und zum Schutz gegen Feuchtigkeit und andere atmosphärische Einflüsse in

Damarlack unter einem Deckgläschen eingeschlossen aufzubewahren, wie es bei den gewöhnlichen mikroskopischen Präparaten geschieht.

Eine ausführlichere Beschreibung des Verfahrens, wie wir sie hier angeben, wird Jeden in den Stand setzen, gefärbte Gläser, von derselben Farbenintensität wie die des Verfassers, sich anzufertigen. Man lässt von gewöhnlichem, aber fehlerfreien Fenster-glas Scheibchen von einem Centimeter Durchmesser schneiden. Dann bereitet man folgende Lösung: Man löst 0.4 CCm. Kaninchenblut in 4 CCm. Wasser, welches man durch eine Spur Ammoniak alkalisch gemacht hat; darin lässt man ein ganz kleines Stückchen Soda auflösen, um das Oxyhämoglobin besser zu erhalten. Andererseits bereitet man auf dem Wasserbade eine dünne Lösung von Pariser Gelatine. Wenn diese flüssig ist, lässt man sie zu einer mässigen Wärme abkühlen, misst mit einer schwach erwärmten Pipette 2 CCm. davon ab und bringt sie zu der bereiteten Blutlösung. Da verhältnissmässig wenig Gelatine vorhanden ist, so bleibt die erhaltene Mischung noch flüssig; von dieser saugt man 20 Cmm. in ein warmes Pippettchen, bläst sie auf eines der vorbereiteten und sauber geputzten Glasscheibchen, und breitet sie aus. In wenigen Minuten erstarrt die Gelatinelösung, und nach wenigen Stunden, nachdem alles Wasser verdunstet ist, bleibt eine genügend gleichmässige Schicht gefärbter, trockener Gelatine zurück. Darauf gibt man einen Tropfen Damarlack und bedeckt das Ganze mit einem mikroskopischen Deckgläschen. Wenn nach einigen Tagen der Lack getrocknet ist, ist das gefärbte Glas für das Chromometer brauchbar.

Prüft man die Schicht im Spectroscop, so lange die Gelatine noch feucht ist, so erscheinen die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins schärfer als später, wenn sie trocken ist. Nach dieser einfachen Umwandlung scheint das Oxyhämoglobin sich unverändert und unzersetzt zu erhalten. Wenigstens konnte Verf. sich nicht davon überzeugen, dass in Präparaten, welche er $5\frac{1}{2}$ Monate lang aufgehoben hatte, eine Veränderung des spectroscopischen Bildes eingetreten sei.

Es ist freilich damit nicht ausgeschlossen, dass nicht nach längerer Zeit irgend welche Veränderung vor sich gehe, obwohl für den Augenblick kein Grund vorhanden ist, dies anzunehmen.

Wir geben nun im Auszuge die Gebrauchsweise des Instrumentes.

Um das cytometrische Verfahren anzuwenden, bereitet man sich eine Mischung von einem halben Gramm $\frac{3}{4}\%$ iger Kochsalzlösung und 10 Cmm. Blutes. Dieses letztere wird in eine graduirte Pipette aus einem frischen Blutstropfen, der durch Herstellung einer kleinen Stichwunde am Finger oder an der Hand gewonnen wird, aufgesaugt, in die Kochsalzlösung ausgeblasen und durch Umrühren mit einem Glasstäbchen genau mit derselben gemischt.

Die Mischung giesst man in den Recipienten des Instrumentes, während die beiden Glasscheiben einander berühren. Dann schraubt man den inneren Tubus so weit heraus, dass eine mehrere Millimeter dicke Schicht der Blutmischung in den zwischen den beiden Glasscheiben entstehenden Raum eingesaugt wird. Man richtet nun das Instrument auf die in einer Dunkelkammer aufgestellte Kerze, und zwar in einer Entfernung von $1\frac{1}{2}$ Meter. Darauf schraubt man den inneren Cylinder so weit ein, bis die Kerze durch die Blutschicht deutlich sichtbar wird; nun schraubt man so lange hin und her, bis nur die oberen drei Viertel der Kerzenflamme ¹⁾ scharf contourirt erscheinen, doch so, dass die Contouren bei der geringsten entsprechenden Drehung der Schraube wieder undeutlich werden. Die Flamme erscheint in diesem Moment nicht leuchtend, sondern wie verschleiert, und mit einem röthlichen Farbenton. Diesen Moment hat Verfasser deswegen als Ausgangspunkt gewählt, weil nach seinen Erfahrungen das Treffen desselben am wenigsten der Willkür des Beobachtenden unterliegt, daher auch die Beobachtungsfehler möglichst reducirt werden.

Ist man auf diesem Punkte angelangt, so liest man die Dicke der Blutschicht an der Theilung ab und berechnet nach dem weiter unten angegebenen Verfahren die ihr entsprechende Hämoglobinnmenge.

¹⁾ Hierbei ist Folgendes zu beachten: Da der Docht der Kerze nicht ganz gerade steht, sondern immer etwas gekrümmt ist, so bildet die Flamme keinen vollständigen Kegel, sondern ist etwas abgeplattet. Der Verfasser hat nun gefunden, dass es am zweckmässigsten ist, immer die Flamme so zu stellen, dass man bei der Beobachtung ihre grösste Breite sieht.

Bei der Anwendung der chromometrischen Methode kommt die bereits beschriebene Prüfglasscheibe zur Verwendung. Man bereitet sich mit möglichster Sorgfalt eine Blutlösung (10 CMm. Blut auf 0·5 CCM. Wasser), bringt diese in den Recipienten und stellt sich, wie im anderen Falle, eine mehrere Millimeter dicke Schicht der Lösung her. Darauf hält man das Instrument, an welchem die Prüfglasscheibe seitlich angesteckt ist, und nachdem durch ein geschwärztes Papier alles Nebenlicht abgeblendet ist, gegen eine helle Fläche, z. B. gegen den Himmel. Dann dreht man die Schraube so lange, bis die Blutschicht im Instrument genau dieselbe Farbenintensität hat, wie die Prüfscheibe, und liest ab.

Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes aus der abgelesenen Dicke der Blutschicht wird ebenfalls gleich besprochen werden.

In manchen Fällen von starker Anämie kann man mit einer 6 Mm. dicken Schicht der verdünnten Blutlösung — eine grössere Dicke lässt das Instrument nicht zu — nicht die Farbenintensität der Prüfglasscheibe erreichen. In diesem Falle wendet man eine concentrirtere Blutlösung an (z. B. 20 CMm. Blut auf 0·5 CCM. Wasser) und berücksichtigt dies entsprechend bei der Ausrechnung des Hämoglobingehaltes.

Wir gehen nun zur Berechnung des Hämoglobingehaltes mit Hilfe des Cytometers über.

Die Berechnung basirt auf dem Grundsatz: Je dicker die Blutschicht ist, durch welche man die Kerzenflamme noch eben deutlich sieht, desto geringer ist ihr Hämoglobingehalt und umgekehrt.

Die Hauptsache ist nun, denjenigen cytometrischen Grad zu bestimmen, welcher dem Mittelwerthe des normalen Blutes entspricht.

Dazu wäre es natürlich das Richtigste, durch die quantitative Analyse einen Mittelwerth für den Hämoglobingehalt des normalen Blutes zu bestimmen, den diesem entsprechenden cytometrischen Grad festzustellen, und diesen als Grundlage für jede weitere Rechnung zu benutzen.

Mit Rücksicht aber auf die grossen Schwierigkeiten, welche einer quantitativen Bestimmung des Hämoglobins entgegentreten, und auf den Umstand, dass die Menge dieser Substanz auch in physiologischen Zuständen variabel ist, hat sich der Verfasser da-

Dieses Verhältniss wird erhalten, wenn man ein beliebiges Blut sowohl auf dem Cytometer als auch auf dem Chromometer prüft.

Es ergebe sich z. B. für das Blut auf dem Cytometer der Grad 110, und auf dem Chromometer der Grad 140; da wir nun wissen, dass der Grad 110 des Cytometers einer Hämoglobinmenge = 100 entspricht, so leiten wir daraus ab, dass auch der chromometrische Grad 140 der Hämoglobinmenge 100 entspricht. Gestützt auf diese Daten, können wir zwei Gleichungen (analog I und II) aufstellen, aus denen sich für jeden chromometrischen Grad der Hämoglobingehalt und umgekehrt berechnen lässt.

In dem hierauf folgenden Abschnitt bespricht der Verfasser die Fehler, sowohl die, welche sämmtlichen Methoden eigen sind, wie diejenigen, welche speciell seiner Methode anhängen, welche aber wir hier nicht ausführlicher wiedergeben. Wir beschränken uns darauf, aus der Reihe der Versuche, welche Verf. in dieser Hinsicht angestellt hat, einen mitzuthellen, der für die Beurtheilung des Werthes des Instrumentes besonders interessant sein dürfte.

Für gewöhnlich ist im Blute die Zahl der weissen Blutkörperchen im Verhältniss zu den rothen eine so geringe, dass sie bei den bisher angewandten photometrischen Bestimmungen nicht in Betracht kommt. In Fällen von hochgradiger Leukämie und Leukocytose kann sie dagegen so beträchtlich werden, dass sie, wie bereits Leichtenstern gezeigt hat, die photometrischen Resultate merklich beeinflusst.

Dies gilt natürlich ebenfalls für das Cytometer, da auch hier das Licht nicht nur von den rothen, sondern auch von den weissen Blutkörperchen aufgehalten wird; es zeigt also in solchen Fällen das Instrument eine grössere Anzahl rother Blutkörperchen an, als wirklich da sind.

Davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man, wie es der Verfasser gethan hat, mit der Kochsalzlösung ausser der gewöhnlichen Menge Blut noch eine gleiche Menge Eiter mischt.

Er nahm zu diesem Zwecke defibrinirtes Kaninchenblut und Eiter aus einem Abscess der Mamma.

Die erhaltenen cytometrischen Grade waren:

für das defibrinirte Blut allein	142°
für den Eiter allein	358°
für Eiter und Blut zu gleichen Theilen	100°

Aus dem Experimente geht hervor, dass die Hinzufügung des Eiters den cytometrischen Grad von 142 auf 100 steigen liess, es erschien also das Blut reicher an rothen Blutkörperchen.

Um zu bestimmen, auf welchen Grad von Leukämie er das Blut gebracht hätte, nahm er unter dem Mikroskope zwei Zählungen vor, und fand das Verhältniss der weissen zu den rothen Blutkörperchen bei der einen Zählung wie 1 : 6·73, bei der anderen wie 1 : 6·09, was also schon einer ziemlich hochgradigen Leukämie entspricht.

Dieser Versuch diente ihm auch dazu, die Genauigkeit der mit dem Cytometer erhaltenen Resultate zu bestimmen. Angenommen, ein Blut von 142 Cytometergraden enthalte 5,000.000 rothe Blutkörperchen, so entspricht ein Eiter von 358 Cytometergraden nach Gleichung (I) einem Blut, welches 1,984.000 Blutkörperchen enthält. Fügt man, wie es bei dem Experimente geschah, diese Zahl den 5 Millionen Blutkörperchen zu, so entspricht die Mischung einem Blut mit 6,984.000 Blutkörperchen. Diese müssten nach Gleichung (II) auf dem Cytometer den Grad 102 geben. Nun gibt aber nach dem Experiment die Eiter-Blutmischung 100; es ist also ein Fehler allerdings von nur 2% vorhanden.

Einen ähnlichen Einfluss wie die weissen Blutkörperchen üben die Fetttröpfchen, die in den seltenen Fällen von Lipämie im Serum suspendirt sind. Dies prüfte Verfasser experimentell durch Mischung von Blut und Milch; während ein defibrinirtes Lammblut 155 im Mittel ergab, so gab, wenn in einem Gramm Kochsalzlösung ausser den 20 Cmm. Blut ebensoviel gute Milch enthalten war, die Mischung auf dem Cytometer den Grad 139.

Jedoch werden, wie bereits bemerkt, die Irrthümer, welche bei dem Cytometer durch Leukämie und Lipämie veranlasst werden, erst durch den Vergleich mit den vom Chromometer gelieferten Resultaten bemerkbar.

In den Fällen, wo weisse Blutkörperchen oder Fetttröpfchen sehr wenig im Blute enthalten sind, werden Lösungen des Blutes in Wasser für den Chromometer durchsichtig sein, und geben Resultate, die denen des Cytometers entsprechen.

Bei Leukämie und Lipämie dagegen werden die Lösungen trüb durch die Leukocyten und Fetttröpfchen, da diese sich nicht

lösen, sondern in Suspension bleiben; und es erscheint das Blut im Chromometer ärmer an Hämoglobin als im Cytometer. Fügt man der Lösung etwas KOH zu, so verschwindet die Trübung, wenn sie von Leukocyten herrührt, da sich diese dann lösen; stammt sie dagegen von Lipämie, so bleibt sie.

Der Zusatz von KOH macht also eine Unterscheidung von Lipämie und Leukämie möglich. Ueberdies wird dadurch das chromometrische Resultat genauer, da die Lösung, so lange sie trüb ist, reicher an Hämoglobin erscheint, als sie es wirklich ist; sie gibt daher einen zu hohen chromometrischen Werth. Diese Ungenauigkeit ist auch von Leichtenstern bei der spectroscopischen Untersuchung bemerkt und von ihm in gleicher Weise durch Zusatz von KOH behoben worden.

Es ist klar, dass, je grösser die Zahl der Leucocyten und Fetttröpfchen ist, um so grösser die Differenz zwischen den cytometrischen und chromometrischen Resultaten sein wird; aus der Grösse dieser Differenz lässt sich der Grad der Veränderung des Blutes erschliessen.

Wir können also ohne Anwendung des Mikroskopes, durch Vergleich der cytometrischen und chromometrischen Resultate erfahren, ob Leukämie oder Lipämie vorhanden ist; durch KOH-Zusatz entscheiden, ob es sich um die eine oder die andere handelt und bis zu einem gewissen Punkte sogar ihren Grad bestimmen.

Versuche, welche der Verfasser zur Prüfung der Genauigkeit seines Verfahrens nach allen möglichen Richtungen unternommen hat, haben ihn zu der Ueberzeugung gebracht, dass seine cytometrische Methode, mit Ausnahme der spectroscopischen Methode Vierordt's alle anderen an Genauigkeit übertrifft; seine chromometrische Methode, welche in dieser Hinsicht dasselbe leistet, wie die Malassez'sche, vor dieser aber den Vortheil hat, dass zum Vergleich der Farbe das Oxyhämoglobin selbst verwendet wird, steht an Genauigkeit hinter der cytometrischen zurück. Daher schlägt er das chromometrische Verfahren auch nur vor, um etwa vorhandene Leukämie und Lipämie constatiren und unterscheiden zu können.

Wie bereits erwähnt, ist allein die Vierordt'sche Methode im Stande, ebenso genaue Resultate zu liefern, wie die seinige. Da jedoch zur Anwendung derselben ein Spectroscop mit einigen speciellen Modificationen und Uebung im Gebrauch desselben nöthig ist, so dürfte das Chromo-Cytometer des Verfassers eher geeignet sein, in der ärztlichen Praxis eine ausgedehntere Verwendung zu finden.

