

## Kleine mikroskopische Hämatologie in Bildern • Teil 1

Aus persönlichen Gründen beschäftige ich mich seit über 10 Jahren als Laie mit der Hämatologie.

Schon Johann Wolfgang von Goethe sagte im Faust " Blut ist ein ganz besonderer Saft ".

Das Wissen über das lebenswichtige Blut ist nützlich und das leicht zugängliche Blut ist für den Mikroskopiker ein zeitvoller Untersuchungsgegenstand.

Die kleine mikroskopische Hämatologie in Bildern vermittelt einprägsam in 4 Teilen wichtige Informationen.

- Teil 1 :      Menschliches Blut, Blutbildung und 10 Mikrofotos der wichtigsten Blutzellen, Literaturhinweise
- Teil 2 :      Blutbestandteile, Blutbilder, Zähl-und Messmethoden für Blutbilder
- Teil 3 :      Blutentnahme, Herstellung von Blutaussstrichen, Blutaussstrich-Automat, Fixierung und Färbung von Blutaussstrichen
- Teil 4 :      Bedeutung der mikroskopischen Hämatologie, Mikrofotografie, umfangreicher Blutzellen-Atlas mit 15 Bildtafeln und 169 Mikrofotos

### Anmerkung

- Alle Mikrofotos wurden analog aufgenommen und durch Scannen mit einem einfachen Bürodrucker < Epson Stylus Office BX320FW mit einer Scan-Auflösung 1200 x 2400 dpi > digitalisiert.  
Die Fotos erhielten keinerlei Bildbearbeitung !
- Die handschriftlichen Folien stammen zum großen Teil aus einem Vortrag, den ich 2003 bei der Mikroskopischen Arbeitsgemeinschaft der NWV Hagen gehalten habe.

## **Blut**

**Blut ist die in den Blutgefäßen zirkulierende Körperflüssigkeit**

### **Aufgaben des Blutes**

- **Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen**
- **Abtransport von Kohlendioxid und Stoffwechselprodukten**
- **Wärmeregulation**
- **Verteilung von Enzymen, Hormonen u. a.**

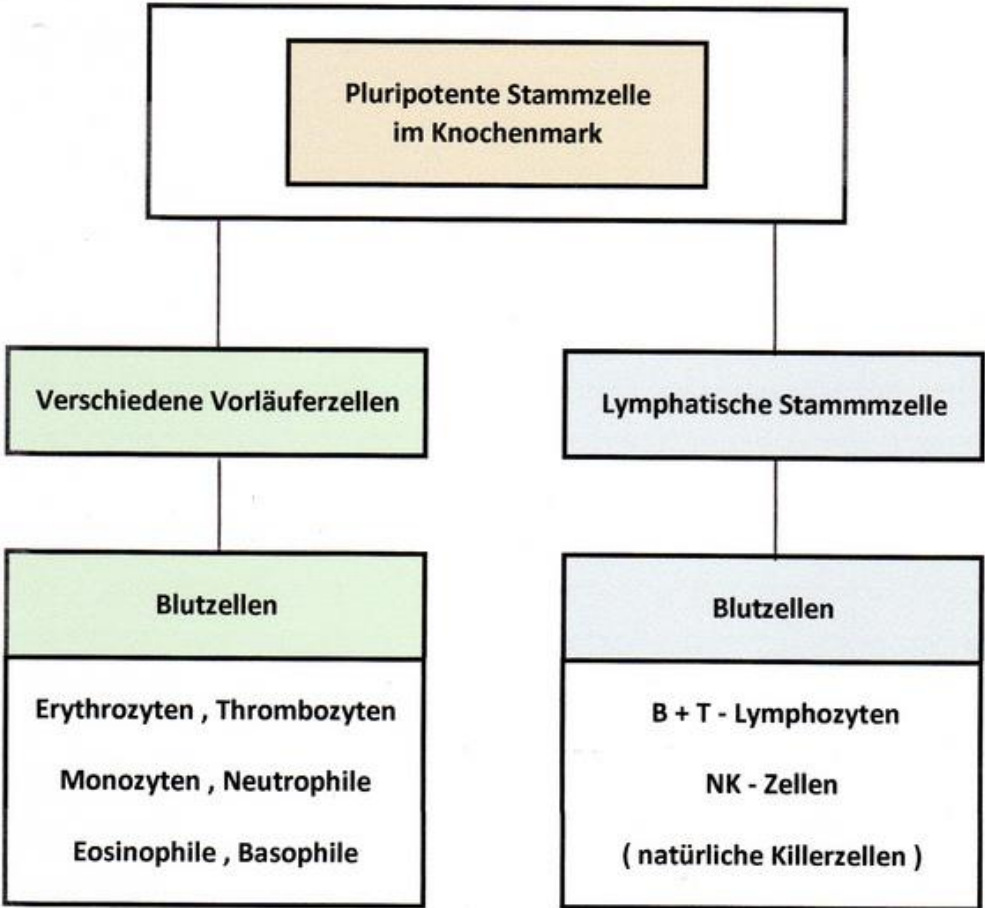
### **Mittlere Blutmenge des Menschen**

**ca. 8 % des Körpergewichtes**

**z.B. Körpergewicht 75 kg**

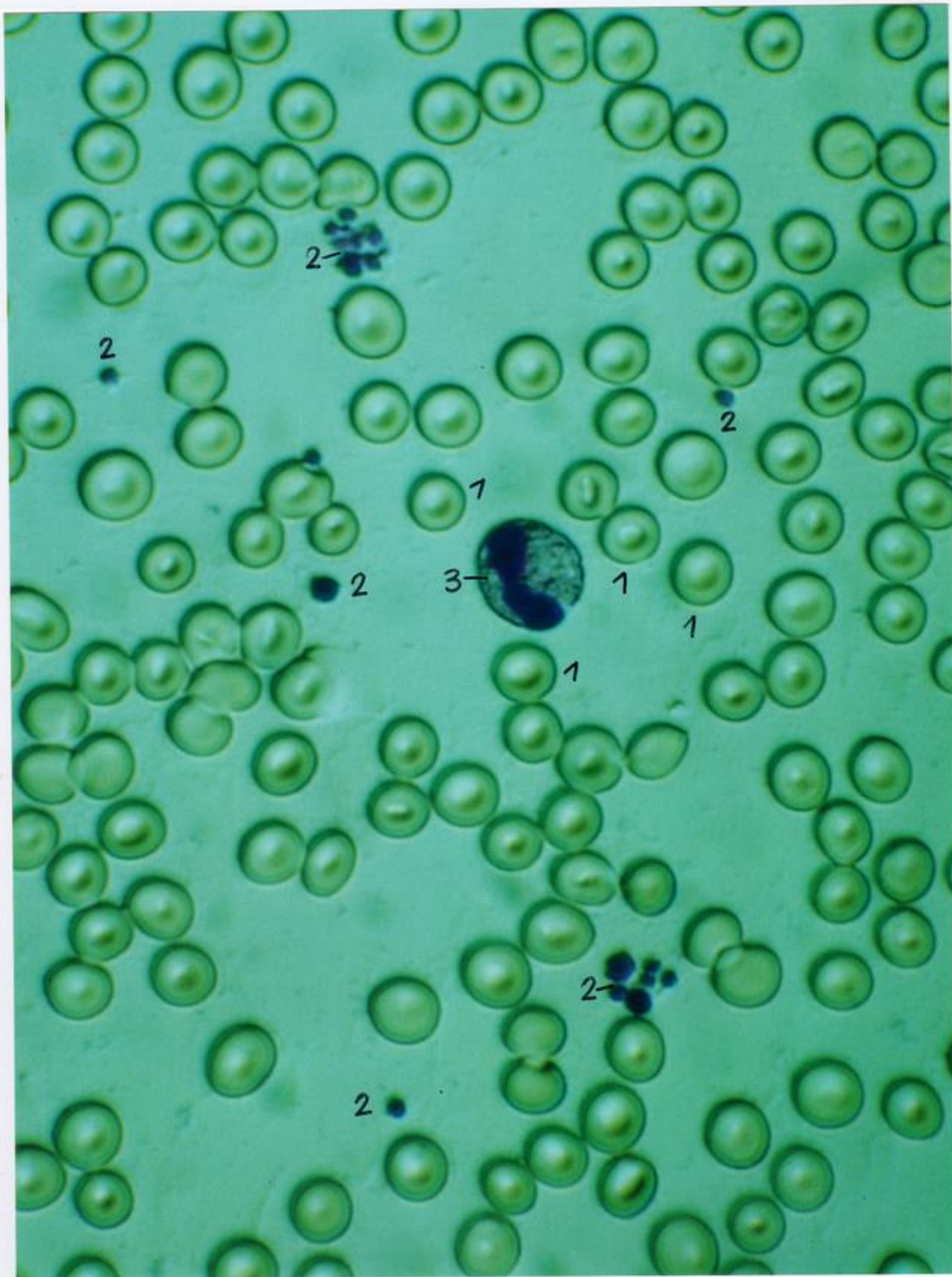
**Blutmenge ca. 6 Liter**

**Blutbildung ( vereinfachte Darstellung )**



Blutausstrich , DIC , Sangodiff - Färbung , 1350 x ,  $\text{---|---}$  10  $\mu\text{m}$

1 Erythrozyten • 2 Thrombozyten • 3 Leukozyt ( stabkerniger neutrophiler Granulozyt )



Stabkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 x



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

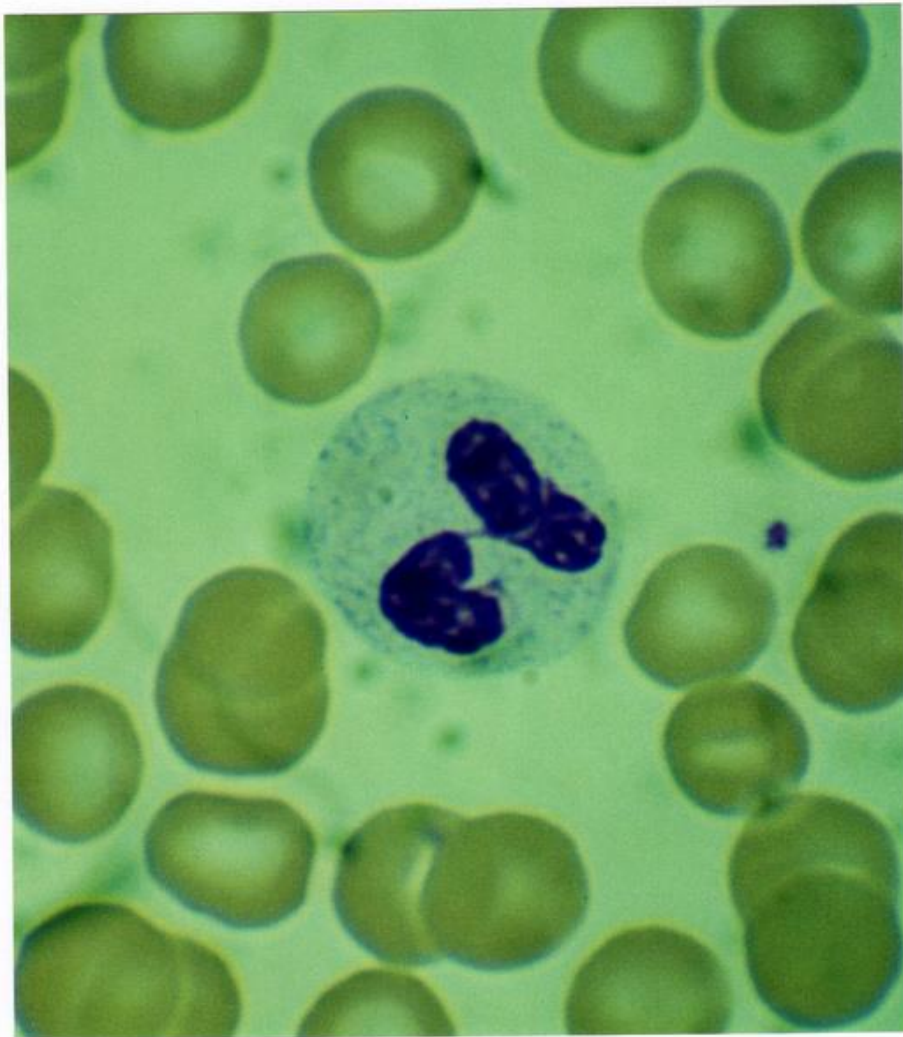


Segmentkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 X



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

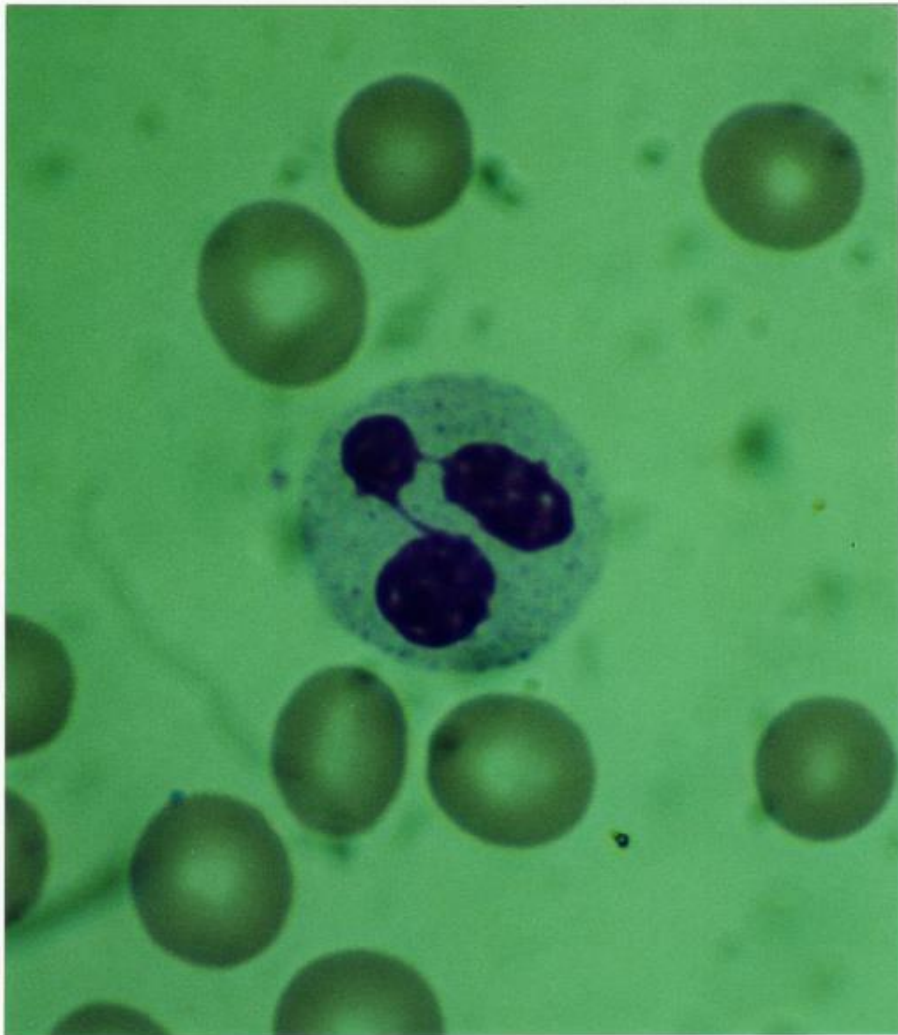


Segmentkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 x



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

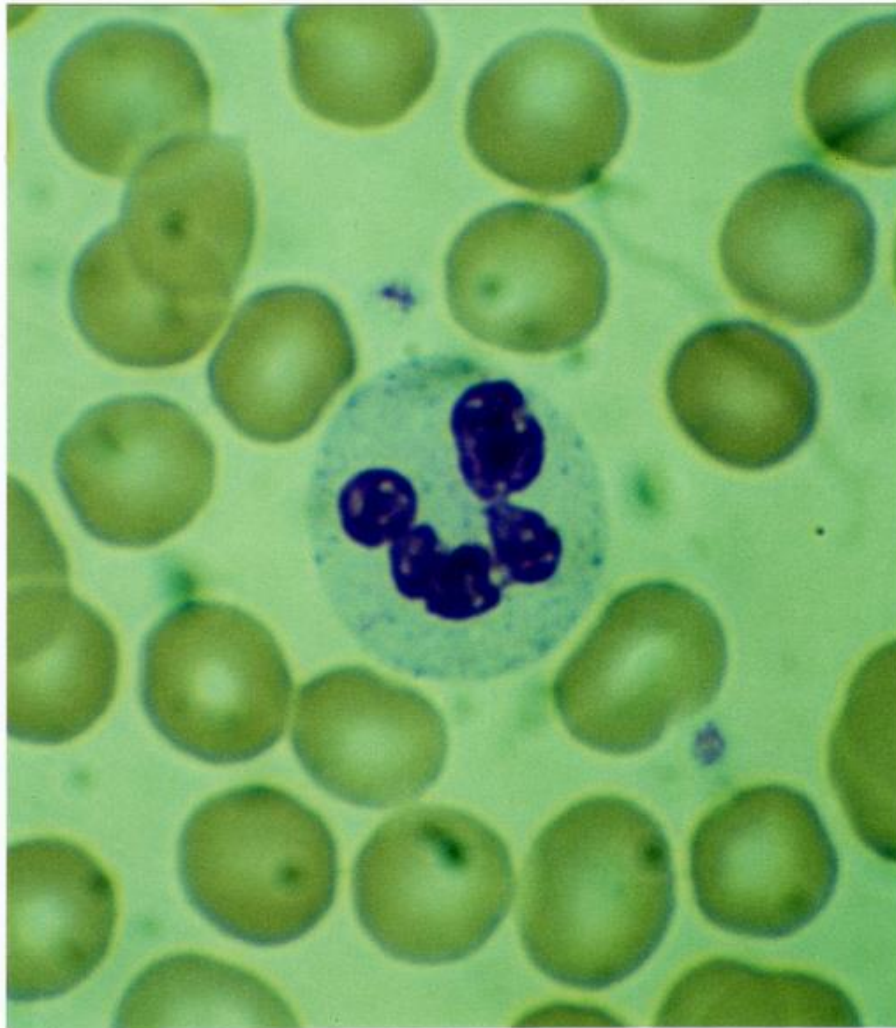


Segmentkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 x



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm



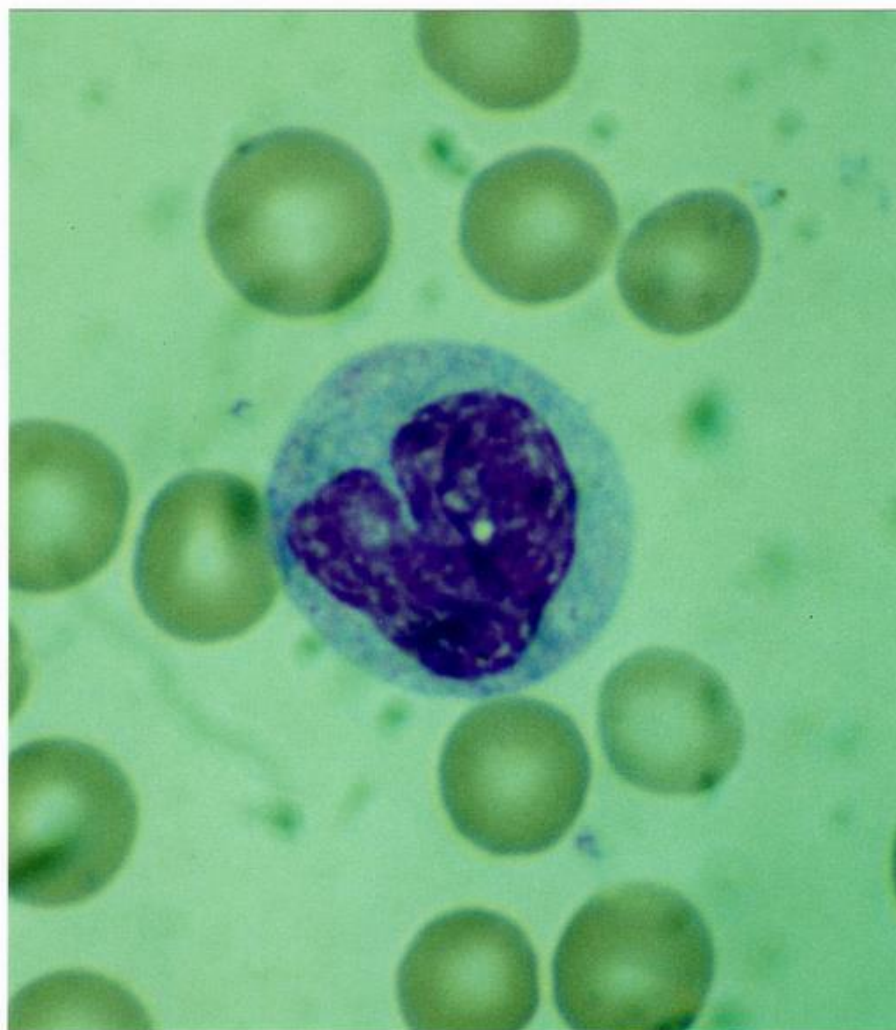


Monozyt

3500 X



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

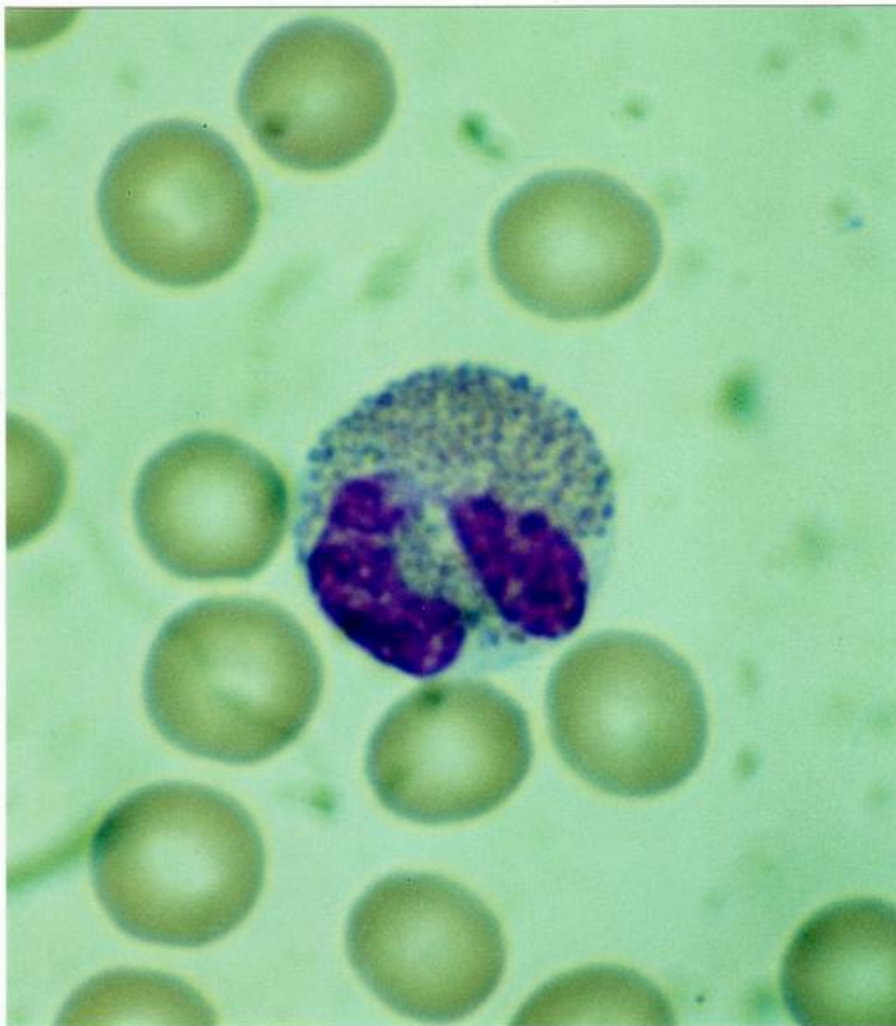


Eosinophiler Granulozyt

3500 x



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

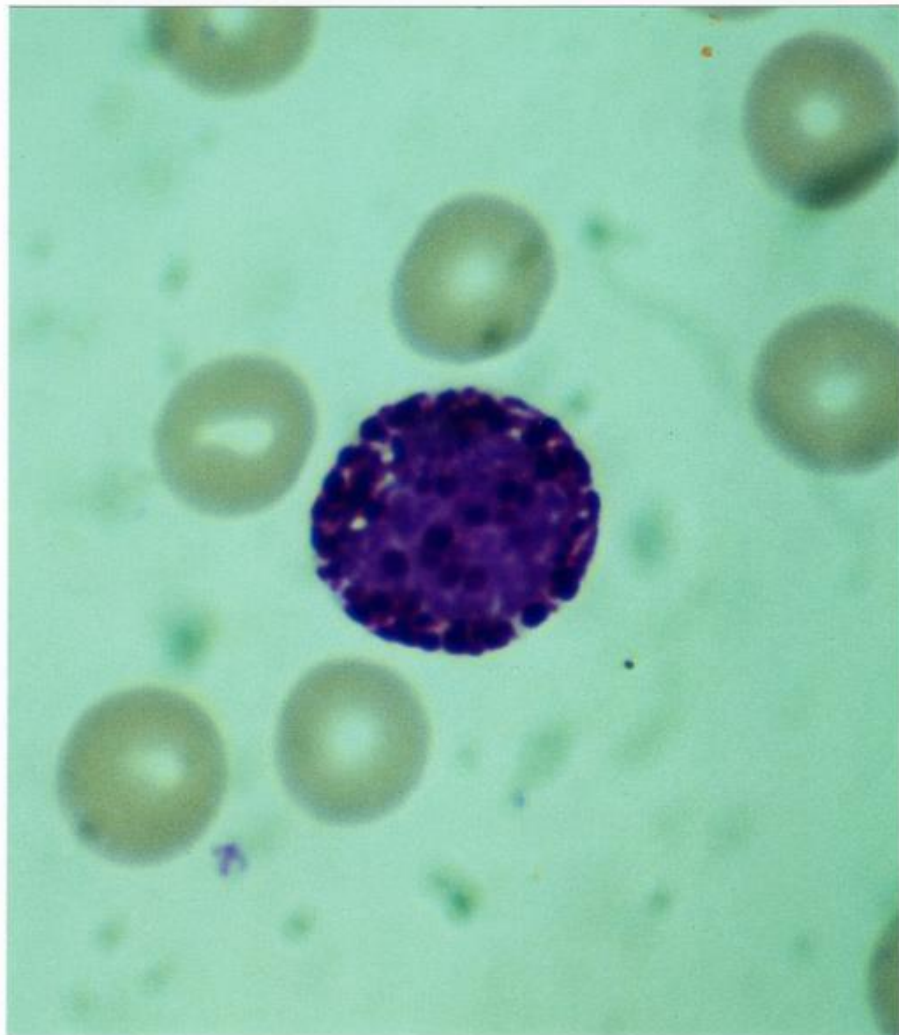


Basophiler Granulozyt

3500 x



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

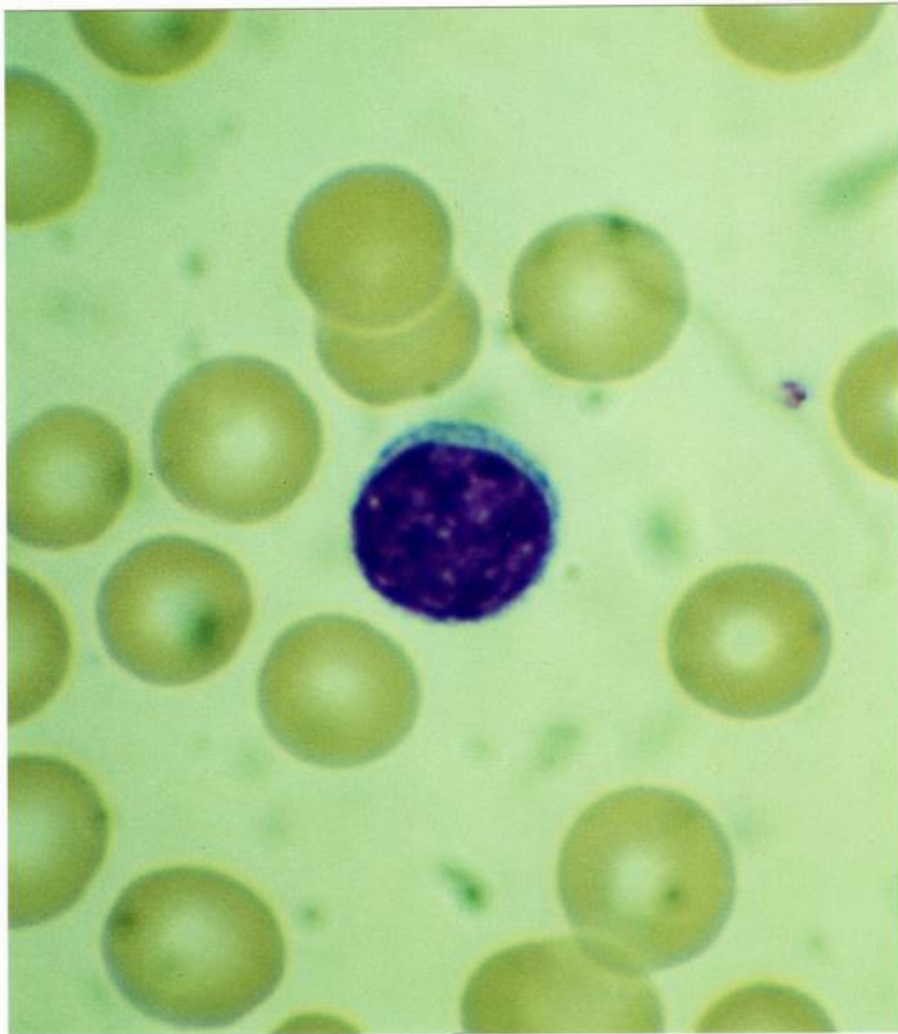


Kleiner granulaloser Lymphozyt

3500 x



10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm

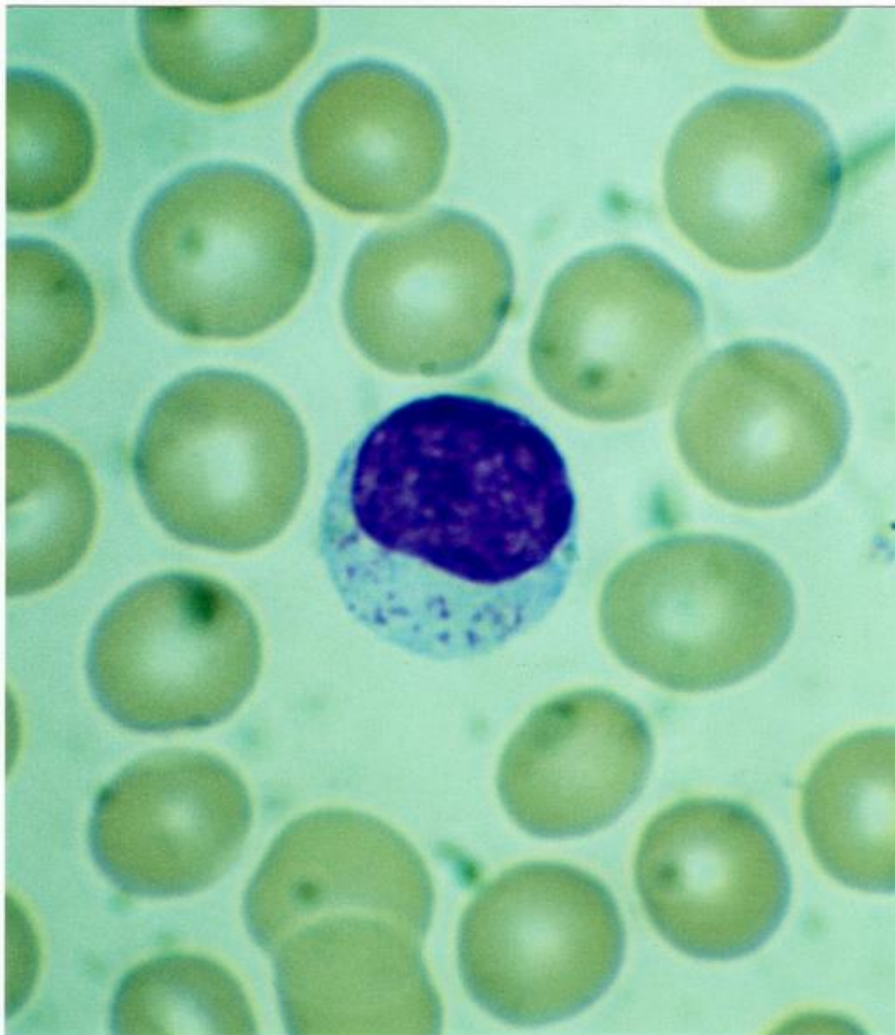


Großer Lymphozyt mit Azurgranula (NK-Zelle)

3500 X



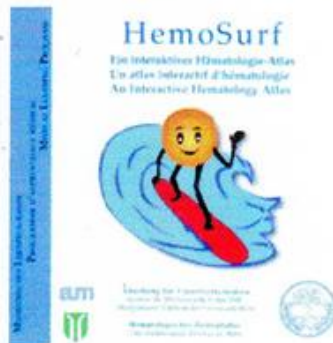
10  $\mu\text{m}$  = 0,01 mm



## Literaturhinweise

Aus der Vielzahl der Hämatologie-Veröffentlichungen kann ich für den an der mikroskopischen Hämatologie interessierten Mikroskopiker zum Start aus eigener Erfahrung zwei sehr gute Titel empfehlen.

- " HemoSurf " e-learning Uni Bern



### HemoSurf

- Ein interaktiver Hämatologie-Atlas
  - An Interactive Hematology Atlas
  - Un atlas interactif d'hématologie
- CD-ROM, 2002  
deutsch, français, english

CHF 68.--  
EUR 56.67

U. Woermann, M. Montandon, A. Tobler

Artikel-Nr.: HAE103

[Details in English](#)

[Details auf Deutsch](#)

[Détails en Français](#)

Zielpublikum: Medizinstudierende, Ärztinnen und Ärzte in Weiterbildung insbesondere in Innerer Medizin oder Hämatologie, praktizierende Ärztinnen und Ärzte Schülerinnen und Schüler medizinisch-technischer Laborschulen Praxisassistentinnen

HemoSurf ist ein interaktives Lernprogramm mit über 3000 Bildern von Blut- und Knochenmarkausstrichen. HemoSurf ist eine der reichhaltigsten Sammlungen von hämatologischen Bildern auf CD-ROM. Zudem darf die Bildqualität als überdurchschnittlich bezeichnet werden. Die Bilder sind auf zwei Arten zugänglich: einerseits eingebettet in ein didaktisches Lernkonzept, das den Benutzer schrittweise dazu befähigt, Blutbilder zu beurteilen; andererseits in einer Galerie, wo über 60 verschiedene Blutbilder, zum Teil mit Knochenmarkausstrichen, angeschaut werden können. Zudem können von allen Krankheitsbildern die Labordaten abgefragt werden. Weit über 100 Infos liefern zudem kontextabhängig theoretisches Wissen. Das Kapitel zur Labortechnologie enthält Videosequenzen zur Herstellung und Färbung von Blutastrichen sowie zur Durchführung der Senkungsreaktion.

- Urs Huber: Labormethoden in der Hämatologie, Verlag Hans Huber, Bern 1988

Das Buch ist leider zur Zeit vergriffen und nur noch antiquarisch zu bekommen.  
Es lohnt sich jedoch, danach zu suchen !

## Kleine mikroskopische Hämatologie in Bildern • Teil 2

Im Teil 2 werden die Blutbestandteile, die Zusammensetzung des Hämatokrits, die Zusammensetzung des Blutplasmas, die Blutbilder und ihre Bestimmungsverfahren behandelt.

Die Referenzwerte der hier dargestellten Blutbilder stammen vom "Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Fachbereich Labormedizin, Zweiginstitut Iserlohn".

Bei anderen Labors können die Referenzwerte etwas davon abweichen !

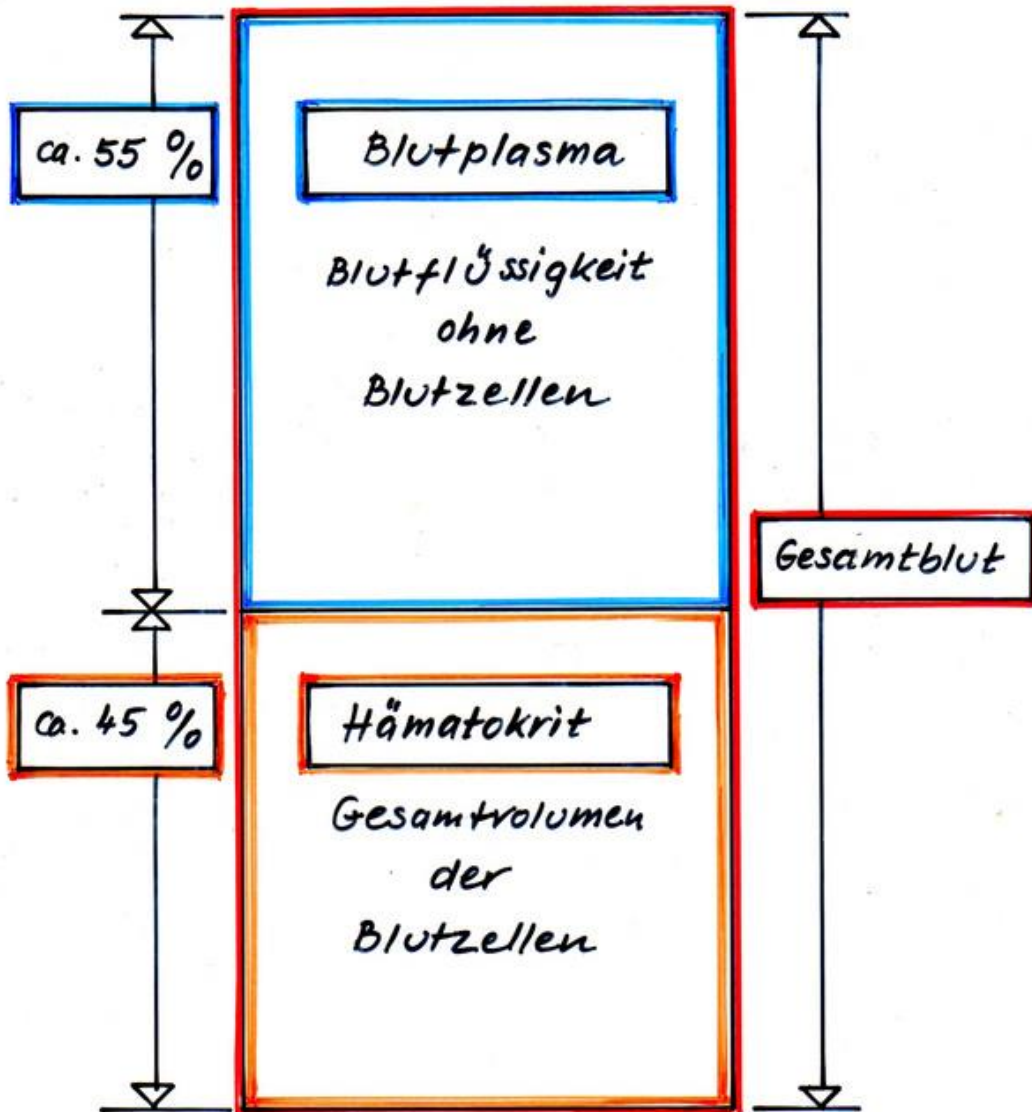
Die Bestimmung der Blutbildwerte erfolgt heute in vollautomatischen "Hämatologie-Straßen" nach dem Prinzip der Durchflusszytometrie, bei dem Zellen durch Bestrahlung mit Laserlicht und nachfolgender Detektion des Streu- und Fluoreszenzlichts quantifiziert und klassifiziert werden.

Durch diverse Kombinationen von Impedanz-, Konduktivitäts- und Streulichtmessungen, zytochemischer Anfärbbarkeit der Zellelemente und die Anwendung spezieller Lyseverfahren lassen sich die Blutzellen weiter differenzieren.

Detaillierte Aussagen über die Morphologie der Blutzellen können jedoch nur durch die Untersuchung eines Blutausstrichs erfolgen. Hierzu wird innerhalb der modernsten "Hämatologie-Straßen" mittels eines standardisierten Verfahrens selbsttätig ein Ausstrich auf einem Objektträger angefertigt. Die mikroskopische Beurteilung erfolgt, indem die Zellen des Ausstrichs von einer LCD-Kamera fotografiert und auf einem Bildschirm hoch aufgelöst dargestellt werden. Im Gegensatz zur klassischen Mikroskopie hat dieses Vorgehen den Vorteil der größtmöglichen Standardisierung und ermöglicht daher die höchste Präzision bei der Beurteilung auffälliger Blutzellen.

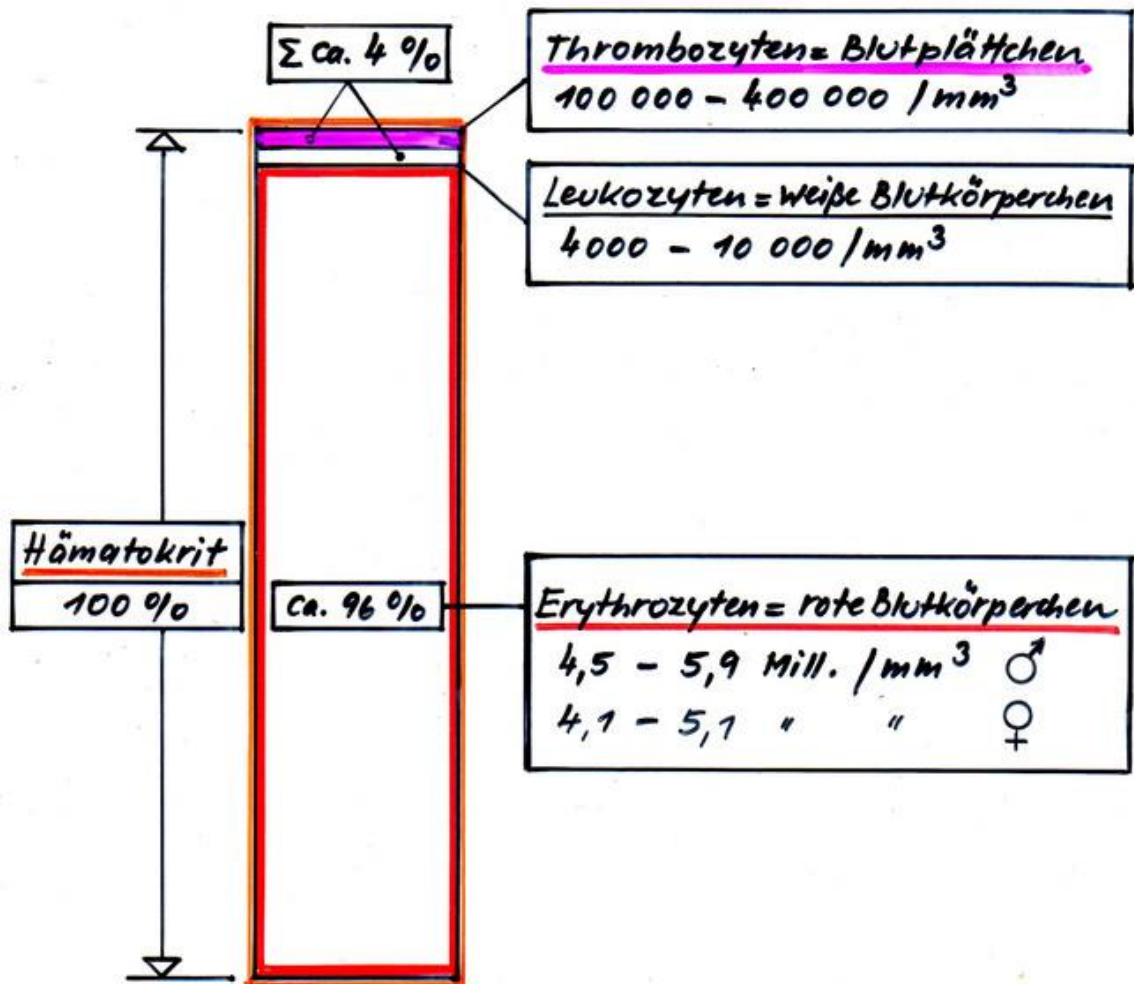
Die Untersuchung von peripherem Blut liefert als Basistest der täglichen Routine erste Informationen zur Erkrankung eines Patienten und kann wichtige Hinweise zur Diagnosestellung geben.

# Blutbestandteile





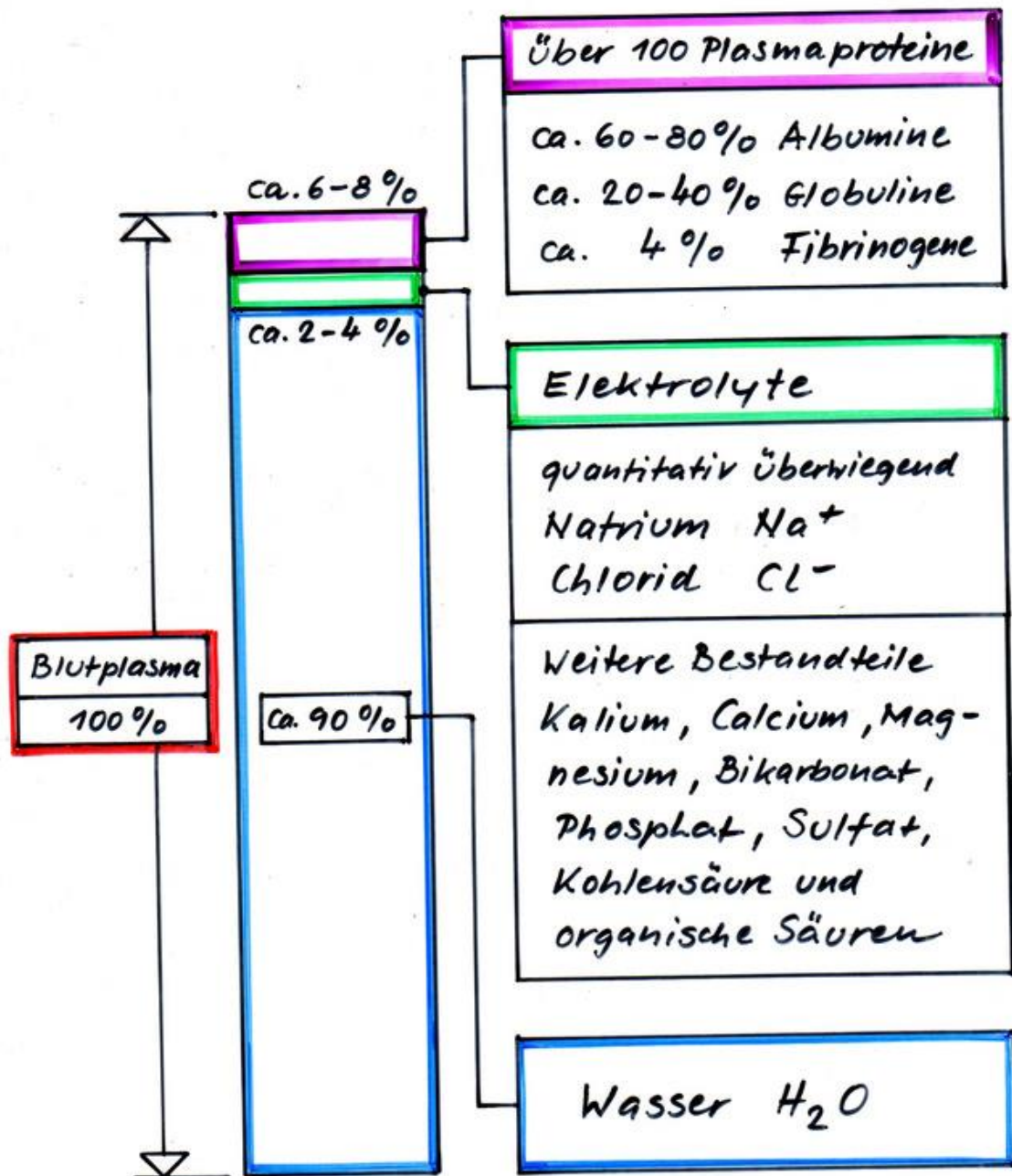
## Zusammensetzung des Hämatokrits



Hämatokritwert - Bestimmung für Blutbilder  
nur mit Erythrozytenanteil!

Referenzbereich: ♂ 36,0 - 48,2 %  
♀ 34,7 - 44,7 %

## Zusammensetzung des Blutplasmas



Blutserum = Blutplasma ohne Fibrinogene

# Blutbild

Hämogramm, Blutstatus

Zusammenstellung der durch Zählung ermittelten verschiedenen Blutzellenwerte

Gegenüberstellung von Ist- und Referenzwerten

Peripheres Blutbild aus Venenblut

Die Blutbildabweichungen von den Referenzwerten können Hinweise auf eine Vielzahl von Krankheiten geben

nach Umfang Unterscheidung in

Kleines Blutbild

Großes Blutbild

## Kleines Blutbild

1	<u>Rotes Blutbild</u>	IST-WERT (alle Einheiten)	Referenz- bereich
	<u>Hämoglobin</u> (Hb)	⊖ 13,0 g/dL ○	♂ 14,0 - 17,5 ♀ 12,3 - 15,3
	<u>Erythrozytenzahl</u>	⊖ 3,68 Mill./mm <sup>3</sup> ○	♂ 4,5 - 5,9 ♀ 4,1 - 5,1
	<u>Hämatokrit</u> (Hk)	○ 38,3 % ○	♂ 36,0 - 48,2 ♀ 34,7 - 44,7
Erythrozyten- indices	<u>MCH</u>	mittleres zelluläres Hämoglobin	⊕ 35,3 pg 27,0 - 34,0
	<u>MCV</u>	mittleres Zellvolumen	⊕ 104,0 fL 80,0 - 96,0
	<u>MCHC</u>	mittlere zelluläre Hb-konzentration	○ 33,9 g/dL 33,0 - 36,0
2	<u>Leukozytenzahl</u>	○ 4500/mm <sup>3</sup>	4000 - 10000
3	<u>Thrombozytenzahl</u>	○ 213 000/mm <sup>3</sup>	100 000 - 400 000

Ergebnis: Leichte (hyperchrome) makrozytäre Anämie!

d = dezi = 1/10 ; L = Liter ; g = Gramm

p = piko = 10<sup>12</sup> te Teil = 1 Billionstel

f = femto = 10<sup>15</sup> te Teil = 1 Billionstel

## Großes Blutbild

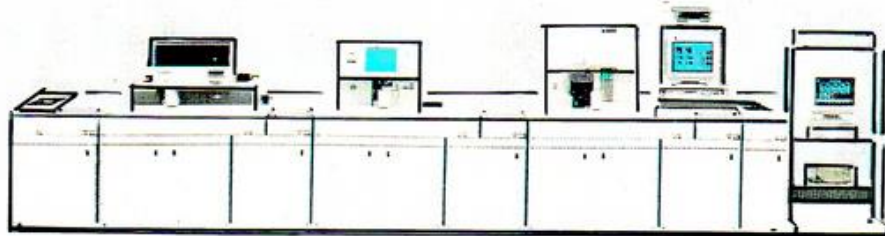
Kleines Blutbild + Differentialblutbild

Weißes Blutbild	IST-WERT (alle Einheiten)	Referenz- bereich
Leukozytenzahl	○ 4500/mm <sup>3</sup>	4000-10000
<u>Differentialblutbild</u> Aufteilung der Leukozyten prozentual in :		
<u>Granulozyten</u> (polymorphkernige Zellen)		
<u>Neutrophile</u>	○ 53 %	46 - 66
<u>Eosinophile</u>	○ 5 %	1 - 6
<u>Basophile</u>	○ 1 %	< 2
<u>Mononukleäre Zellen</u> (einkernige Zellen)		
<u>Lymphozyten</u>	○ 33 %	20 - 40
<u>Monozyten</u>	○ 8 %	2 - 12

## Zähl- und Meßmethoden für Blutbilder

### Heute

In großen hämatologischen Labors Voll-  
automatisierung mit Hämatologie-Strabe



SE-Hämatologie Strabe

### Früher

- Bestimmung von Hämoglobin und Hämatokrit mit Einzelgeräten
- Bestimmung der Anzahl der Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten mit Blutzählkammer und Auszählung mit Hilfe des Mikroskops
- Anwendung dieser Methoden heute nur noch bei zweifelhaften Ergebnissen zur Kontrolle der Automaten - Zähl und Meßmethoden

Hallo Mikrofrende, es folgt der 3. Teil der kleinen Hämatologie • Beste Grüße Jürgen aus Hemer

### **Kleine mikroskopische Hämatologie in Bildern • Teil 3**

Im Teil 3 werden die Blutabnahme, die Vitalblutpräparate für Dunkelfeld-untersuchung, die Herstellung von Blutaussstrichen, die Blutaussstrichautomaten, die Fixierung der Blutaussstriche, die Färbung der Blutaussstriche und die Blutaussstrich-Färbeautomaten behandelt.

Dem an der Hämatologie interessierten Mikroskopiker stehen Blutaussstrich-automaten und Blutaussstrich-Färbeautomaten in der Regel nicht zur Verfügung. Er stellt seine Blutaussstriche selbst her und färbt sie auch selbst.

Bei wenigen Blutaussstrichen ist die Verwendung der " Sangodiff-Färbefolien " oder die Schnellfärbung nach " Wright " zweckmäßig. Diese Färbungen führen durchaus zu brauchbaren Ergebnissen.

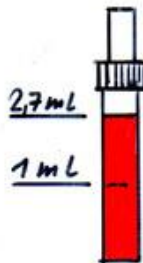
Wenn eine größere Zahl von Blutaussstrichen mit " optimaler Färbung " hergestellt werden soll, ist jedoch die Serienfärbung nach " Pappenheim " zweckmäßig.

Außer den für den Mikroskopiker interessanten drei Routinefärbungen gibt es für den Hämatologen für verschiedene Indikationen noch " Spezialfärbungen ".

Z.B. : Supravitalfärbung, Eisenfärbung ( Berliner-Blau-Reaktion ), Peroxidasefärbung ( POX ), Unspezifische Esterase-Färbung (  $\alpha$ -Naphtyl-Butyrat-Esterase ), Saure Phosphatase-Färbung, Periodic-Acid-Schiff ( PAS )-Färbung.

# Blutentnahme

## Venenblut



### Blutbildröhrchen

mit EDTA - antikoaguliertem Blut

(EDTA = ethylene-diamine-tetraacetic-acid = Ethylen diamintetraessigsäure)

### Mischen

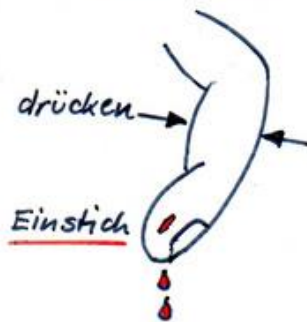
Vor jeder Probeentnahme durch  
30 x Kippen schonend mischen.



### Probeentnahme

Blut aus dem Blutbildröhrchen mit  
Pipette entnehmen.

## Fingerblut (Kapillarblut)



### Entnahmestelle:

Fingerbeere des 4. Fingers - seitlich!

Durchblutung verbessern: z.B. Erwärmen, Reiben

Desinfektion: mit Alkohol-Pads

Einstich: ~ 3,5 mm tief mit Einstichhilfe  
und steriler Einmal-Lanzette

Blutentnahme: Finger am Mittelglied  
oben und unten durch drücken kurz  
stauen, 1. Bluttröpfchen mit trockenem  
Tupfer wegwischen, 2. Bluttröpfchen  
mit Pipette entnehmen oder direkt auf  
den Objektträger geben. Einstichstelle  
mit trockenem Tupfer abwischen und  
mit Pflaster abdecken.

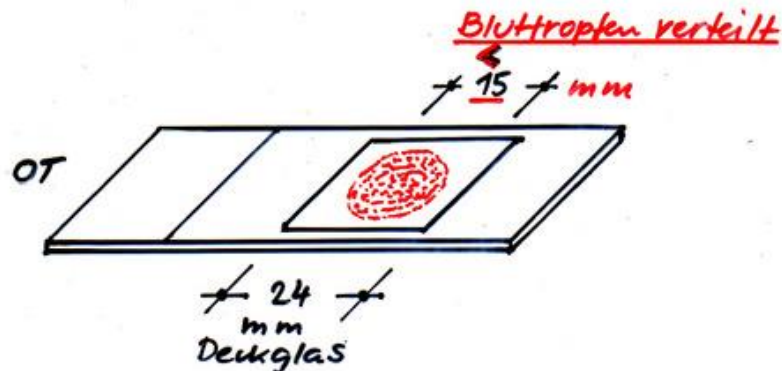
Das Blut muß ohne starkes Quetschen  
von selbst (spontan) fließen!



## Vitalblutpräparat für Dunkelfelduntersuchung

### Deckglas - Methode

2. Blutropfen aus der Fingerbeere mit einem Deckglas 24x24 mm aufnehmen und sofort auf einen Objektträger legen. Der Blutropfen soll klein sein und möglichst genau in Deckglasmitte liegen. Das Blut muß sich ohne Druck gleichmäßig verteilen und darf im Durchmesser nur etwa 15 mm haben. Das Deckglas darf die Fingerbeere nicht berühren und darf auch keinen Randschlupf haben.



### Objektträger - Methode

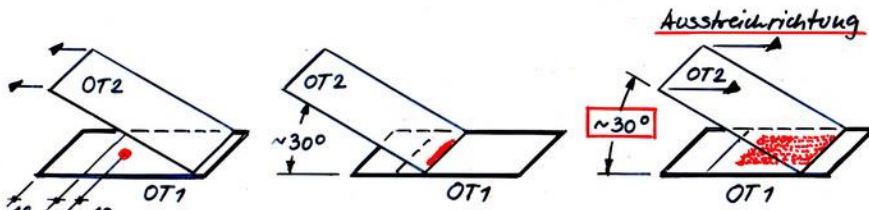
2. Blutropfen aus der Fingerbeere mit einem Objektträger aufnehmen oder mit Pipette abnehmen und auf Objektträger übertragen und sofort mit einem Deckglas 24x24mm eindecken. Weitere Randbedingungen wie bei Deckglas-Methode.

## Herstellung von Blutausstrichen mit der „Schub-Methode“

Objektträger OT2 vor Blut-  
tropfen unter Winkel von  
 $\sim 30^\circ$  aufsetzen u. langsam  
rückwärts an Blutropfen  
heranziehen

Objektträger OT2  
an Blutropfen  
unter Winkel von  
 $\sim 30^\circ$  „andocken“

Objektträger OT2 in Ausstreichrichtung  
ohne Druckausübung zügig unter Winkel  
von  $\sim 30^\circ$  über Objektträger OT1 schieben

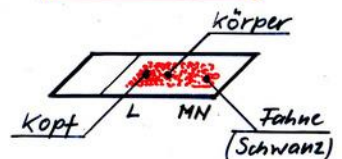


Blutropfen  
auf Objektträger  
OT1 bringen

Blutropfen im  
Winkel von OT1/OT2  
verlaufen lassen

im Winkel verlaufenen  
Blutropfen  
hinterherziehen

### fertiger Blutausstrich



off!

L = Anreicherung von Lymphozyten

MN = Anreicherung von Monozyten und Neutrophilen

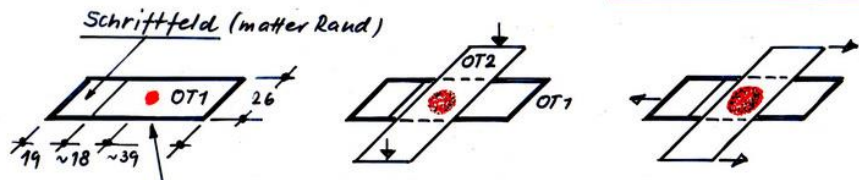
Achtung! Dickere Ausstriche entstehen bei großem Winkel ( $>45^\circ$ )  
zwischen OT1 und OT2 und schnellem Ausstreichen.  
Dünnere Ausstriche entstehen bei kleinem Winkel ( $<15^\circ$ )  
zwischen OT1 und OT2 und langsamem Ausstreichen.  
Ausstreichrichtung auch von rechts nach links üblich!

## Herstellung von Blutausstrichen mit der „Squash-Methode“

Blutropfen  
auf Objektträger  
(OT1 76x26mm) bringen

2. Objektträger (OT2)  
ohne Druck auf  
OT1 auflegen

vor vollständiger Aus-  
breitung des Blutropfens  
beide Objektträger  
schnell auseinanderziehen

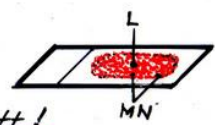


Blutropfen

Blutropfen  
breitet sich aus

Zugrichtungen

### fertiger Blutausstrich



off!

L = Anreicherung von Lymphozyten im Zentrum

MN = Anreicherung von Monozyten und Neutrophilen am Rand

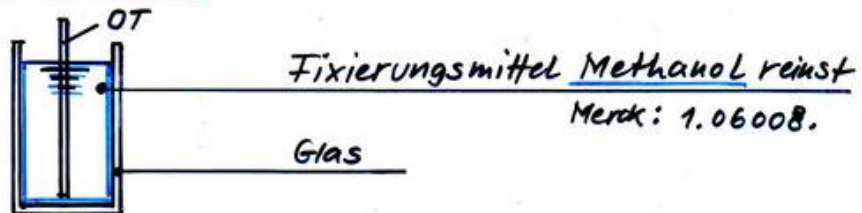
Variante: Objektträger längs überlappend!

Ziel des Ausstriches ist es, eine Probendicke von einer Zellschicht zu erreichen (Monolayer).

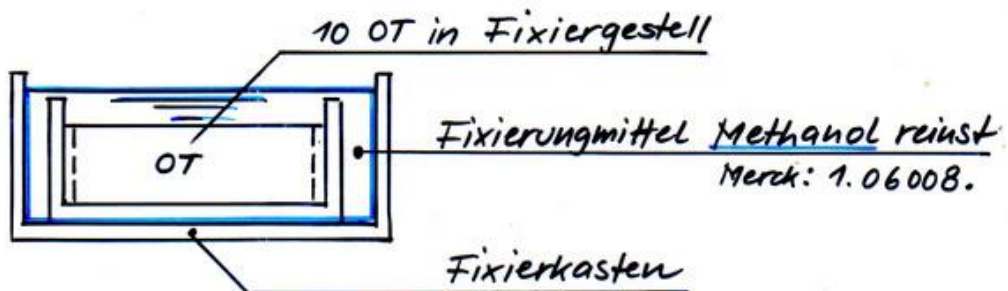
## Fixierung von Blutausstrichen

- Fixierung = Stabilisierung des Strukturgefüges der Blutzellen über lange Zeit in möglichst lebensähnlichem Zustand.
- Blutzellen werden mit Methanol fixiert d.h.
- chemisch durch irreversible Veränderungen der Eiweißstoffe (Wasserentzug u. Gelbildung) haltbar gemacht.
- Färbbarkeit der Blutzellen bleibt erhalten.
- Die Fixierung steigert die Haltbarkeit und Qualität der Präparate!

### Einzelfixierung



### Serienfixierung



- Fixierungszeitpunkt: nach 2 Stunden Lufttrocknung  
Fixierungsdauer : 5 - 10 Minuten  
Trocknung : an der Luft auf Trockenständer

# Färbung von Blutausstrichen

## Routine ansprüche

### Färbefolien

SANGODIFF

nach GIEMSA

Merck: 1.15332.

### Farblösungen

Gemische von sauren (Eosin) u. basischen (Methylenblau, Azur) Farbstoffen

1902

MAY-GRÜNWALD

Eosin-Methylenblau

Merck: 1.01424.

1904

GIEMSA

Azur-  
Eosin-Methylenblau

Merck: 1.09204.

1902

WRIGHT

Eosin - Methylenblau  
(Schnellfärbung)

Merck: 1.01383.

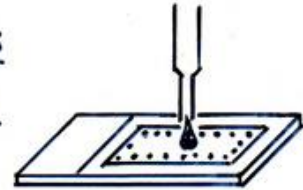
## Höchste Ansprüche

1912 Panoptische Färbung nach PAPPENHEIM  
Kombinierte MAY-GRÜNWALD/GIEMSA-Färbung

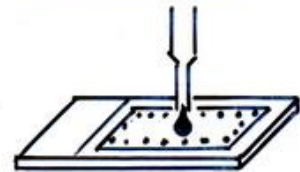
## Spezialfärbungen

## Blutausstrich - Schnellfärbung nach WRIGHT

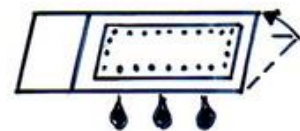
- ① Genau horizontal liegenden luftgetrockneten Blutausstrich mittels Pipette mit 1ml WRIGHTS-Lösung überschichten



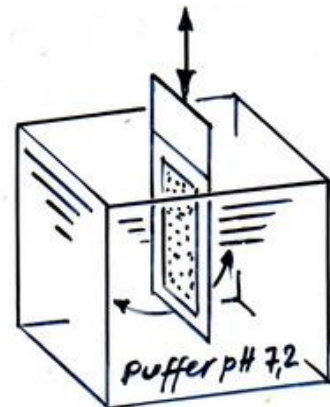
- ② Nach 1 min mittels Pipette mit 1 ml Pufferlösung pH 7,2 überschichten



- ③ Nach 2-4 min dekantieren



- ④ In Spülbox mit Pufferlösung pH 7,2 durch leichtes Schwenken spülen, bis der Ausstrich den richtigen Farbton hat



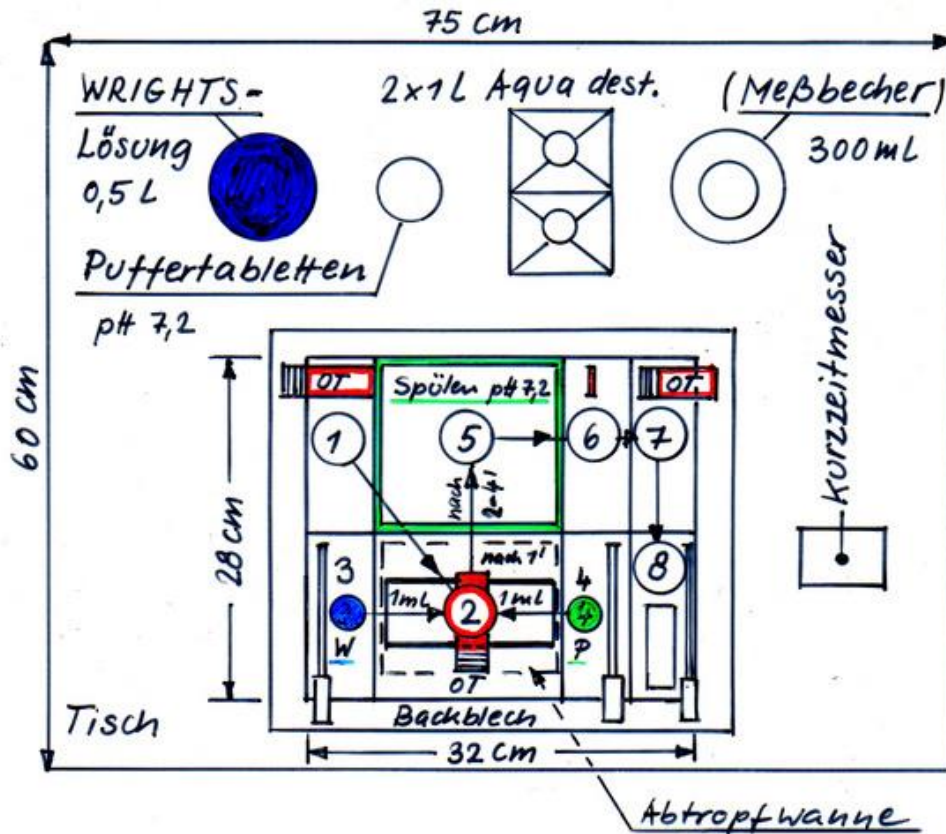
- ⑤ Dann senkrecht über OT-Schmalseite abtropfen lassen oder beidseitig auf Fließpapier drücken

- ⑥ Blutausstrich schrägstehend lufttrocknen

- ⑦ Nichtschichtseite (NS) mittels Pipette mit 1 Tropfen Methanol beschichten und mit Kimwipes reinigen

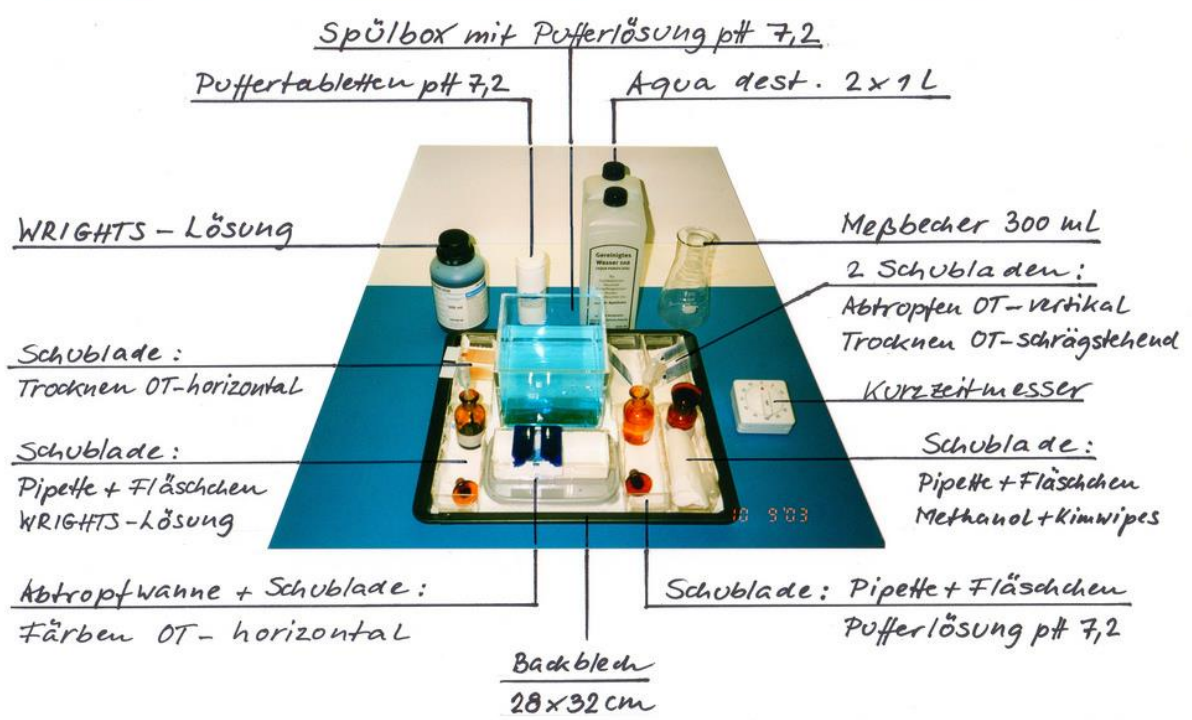


Arbeitsplatzplan  
Blutausstrich - Einzelfärbung  
nach WRIGHT

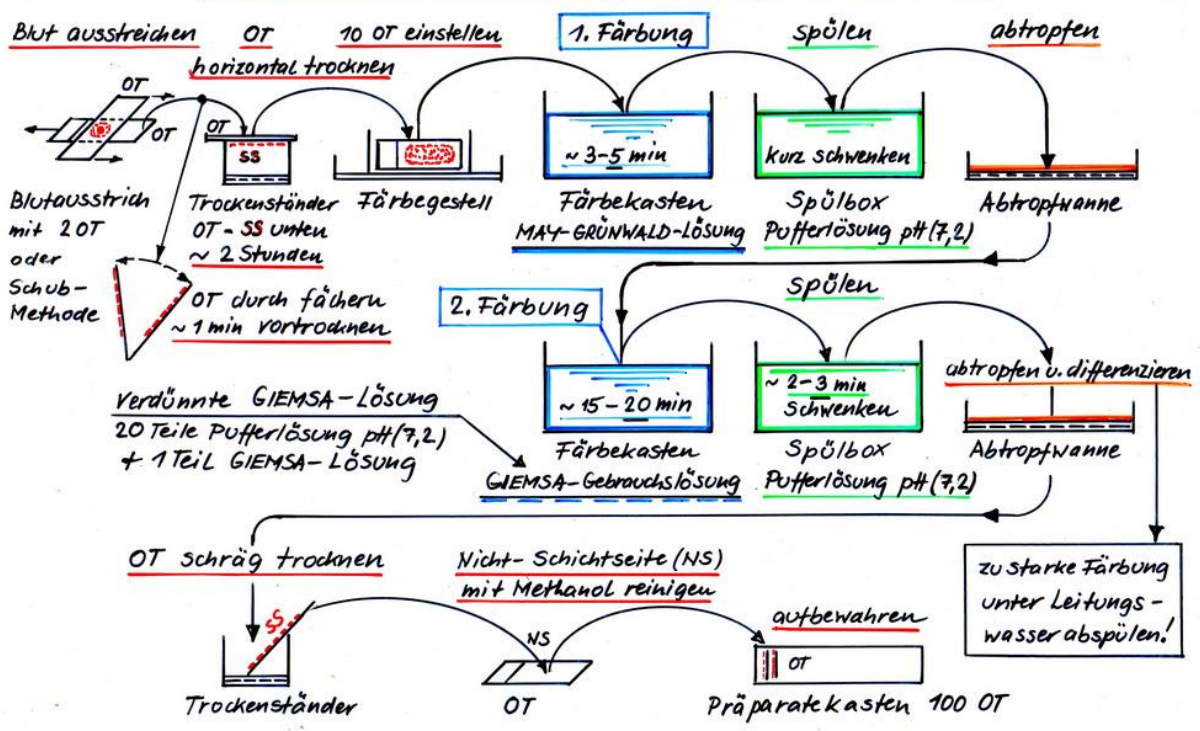


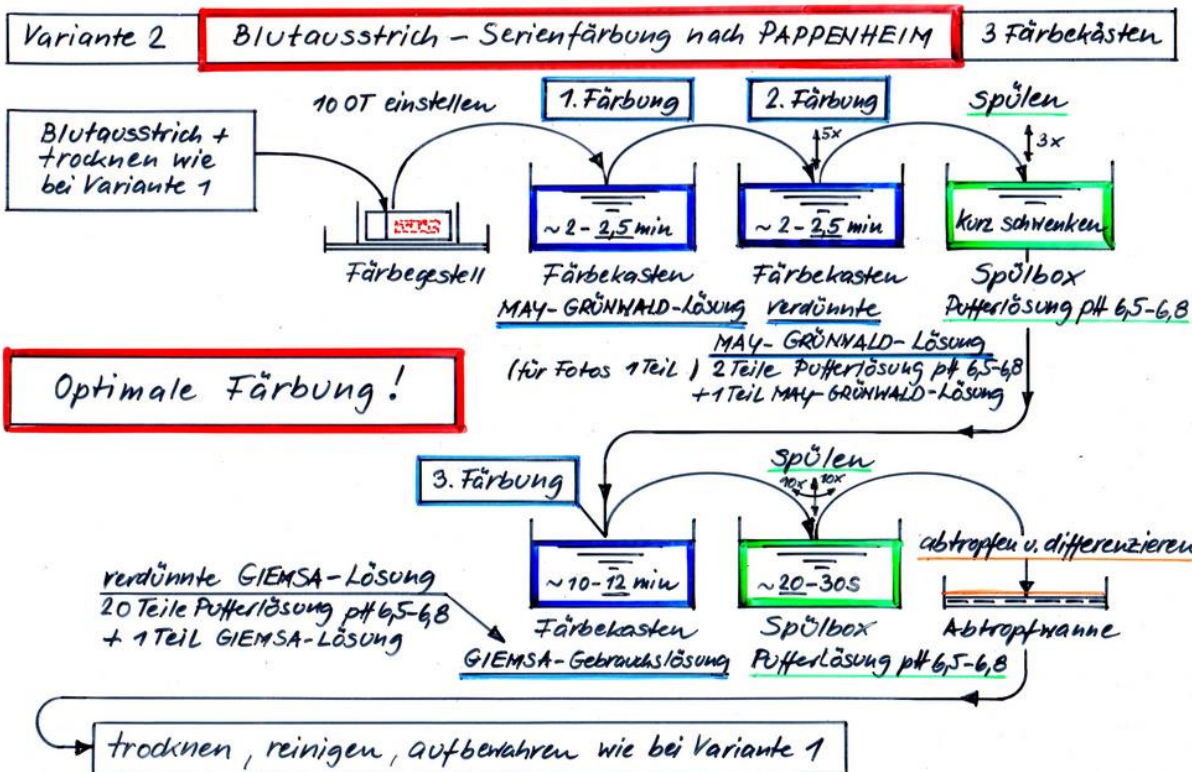
- |  |  |
|--|--|
| ① Schublade: Trocknen<br>OT - horizontal                     | ⑤ <u>Spülbox mit</u><br><u>Pufferlösung</u>                        |
| ② Schublade: Färben<br>OT - horizontal                       | ⑥ Schublade: Abtropfen<br>OT - vertikal                            |
| ③ Schublade: Pipette +<br><u>Fläschchen WRIGHT</u>           | ⑦ Schublade: Trocknen<br>OT - schrägstehend                        |
| ④ Schublade: Pipette +<br><u>Fläschchen Puffer</u><br>pH 7,2 | ⑧ Schublade: Kimwipes +<br><u>Fläschchen Methanol</u><br>+ Pipette |

Arbeitsplatz für Blutausstrich-Einzel-färbung nach WRIGHT



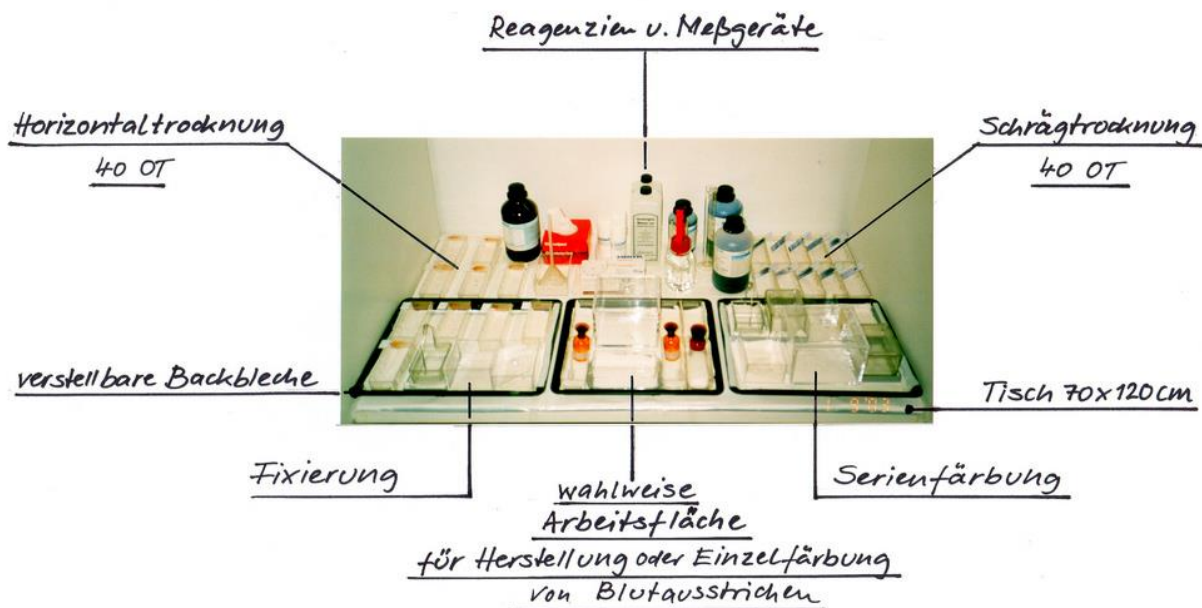
Variante 1      Blutausstrich - Serienfärbung nach PAPPENHEIM      2 Färbekästen





## Großer

Arbeitsplatz für Herstellung, Fixierung u. Färbung von Blutausstrichen





## Kleine mikroskopische Hämatologie in Bildern • Teil 4

**Die mikroskopische Untersuchung von Blut ist nach wie vor erforderlich !**

Die mikroskopische Untersuchung eines gefärbten Blutausstrichs ermöglicht einen Einblick in die Struktur der Blutzellen und die klinische Interpretation von Formvarianten.

Die sorgfältige mikroskopische Durchmusterung eines gefärbten Blutausstrichs gehört daher zu jeder Diagnosesicherung und Therapiebeurteilung von bösartigen Blutkrankheiten.

Für den Mikroskopiker sind in der Regel die unterschiedlichen normalen Blutzellen gesunder Menschen von Interesse. Die morphologischen Veränderungen bei Erkrankungen ( Anomalien ) sind jedoch für den Hämatologen von großer Bedeutung. Sie werden in dieser " Kleinen Hämatologie " nicht behandelt. Bei weitergehendem Interesse verweise ich auf die spezielle Fachliteratur.

Z.B. : Hoffbrand • Petit • Moss • Hoelzer : Grundkurs Hämatologie, Blackwell, Berlin 2003.

Haferland • Bacher • Diem • Diem : Taschenatlas Hämatologie, Thieme, Stuttgart 2012.

Die manchmal auch im peripheren Blut befindlichen Vorstufen der Erythrozyten, die " Retikulozyten ", oder eine Vorstufe der Lymphozyten, die " Plasmazellen ", werden hier auch nicht behandelt.

Die etwas häufigere Vorstufe der Neutrophilen, die " stabkernigen neutrophilen Granulozyten ", werden hier jedoch mit behandelt.

Die Entscheidung zwischen stabkernigen und segmentkernigen neutrophilen Granulozyten kann nach zwei Regeln erfolgen.

Die hier angewendete " Fadenregel " lautet:

Sobald der Kern an einer Stelle fadenförmig eingeschnürt ist, spricht man von segmentkernig, vorher von stabkernig.

Eine andere mögliche Definition ist die "Drittelsregel". Sie lautet:

Sobald der Kerndurchmesser an einer Stelle weniger als  $\frac{1}{3}$  der breitesten Stelle beträgt, spricht man von segmentkernig, vorher von stabkernig.

Die Blutzellen gleicher Zelllinien können sehr unterschiedliche Kernformen haben !

#### Der Teil 4 umfasst folgende Bereiche:

Fixierter Blutausschlag und gefärbter Blutausschlag, Untersuchung der gefärbten Blutausschläge, Erythrozyten und Thrombozyten ( 1850 x ), Gestalt - Größe und Aufgaben der Blutzellen.

Hämatologie - Atlas

Mikroskop - und Fotosystem, Pappenheim-Färbung ( Kurzfassung ), Farbverschiebung, wichtige Filmdaten Agfa Vista 100.

2 Bildtafeln : Stabkernige neutrophile Granulozyten

3 Bildtafeln : Segmentkernige neutrophile Granulozyten

2 Bildtafeln : Monozyten

2 Bildtafeln : Eosinophile Granulozyten

2 Bildtafeln : Basophile Granulozyten

3 Bildtafeln : Lymphozyten

Alle 14 Bildtafeln haben 12 Bilder mit einer Größe von 5,6 cm x 5,6 cm. (  $\Sigma$  168 B. )

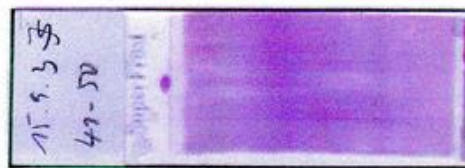
## Blutausstriche

### Fixierter Blutausstrich




Blutausstrich - Herstellung mit Schub-Methode  
Fixierung nach 4 Stunden Lufttrocknung  
Fixierung mit Methanol  
Fixierungsdauer 10 Minuten  
Trocknung an der Luft auf Trockenständer

### Gefärbter Blutausstrich



Pappenheim - Färbung  
mit 3 Färbetrögen und 2 Spülboxen  
entsprechend Beschreibung

## Untersuchung der gefärbten Blutausstriche

- Makroskopisch durch Augenschein
  - Verteilung der Zellen (Aggregate, Löcher?)
  - Färbung (Blaustich, usw?)
- Mikroskopisch
  - systematische Durchsicht mit Hilfe des Kreuztisches  mäandrierend
- bei schwacher Vergrößerung ( $\sim 100 - 400$  fach)
  - gute Stellen suchen, wo die Erythrozyten dicht nebeneinander liegen, ohne sich zu berühren
  - Verteilung der Erythrozyten (Aggregate, Geldrollen?)
  - grobe Abschätzung der Erythro- Leuko- und Thrombozytenzahlen
- bei stärkerer Vergrößerung ( $\sim 400 - 1000$  fach)
  - Konzentration auf gute Stellen
  - Vergleich mit den Charakteristiken normaler Zellen
  - Suche nach krankhaften morphologischen Veränderungen der Zellen
  - Differenzierung des Blutbildes hinsichtlich der prozentualen Häufigkeit der einzelnen Leukozytenarten durch Auszählung einer genügend großen Zahl von Zellen

## Erythrozyten und Thrombozyten

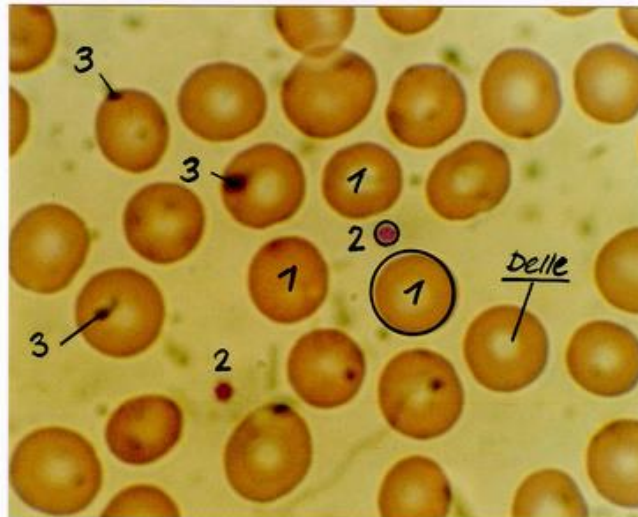
1850x



10 µm

Blutausstrich nach der Schubmethode mit  
PAPPENHEIM - Färbung.

Guter Ausstrich: Zellen berühren sich nicht  
und die Delle der Erythrozyten ist deutlich im  
Zentrum zu erkennen.











① Erythrozyten      ② Thrombozyten

3 Pseudoeinschlüsse (Artefakte):

Beim Trocknen der Ausstriche können kleine Verdichtungen entstehen, die wie Einschlüsse in den Erythrozyten aussehen. Sie sind am ehesten mit Pappenheimer-Körnchen zu verwechseln. Durch drehen an der Mikrometerschraube werden diese Pseudoeinschlüsse im Gegensatz zu echten Einschlüssen zu Aufhellungen.

Gestalt, Größe und Aufgaben der Blutzellen

Zellart	Gestalt Größe	Aufgaben
Erythrozyten	 ~ 7-8 µm	Sauerstofftransport
Stabkernige neutrophile Granulozyten	 ~ 14 µm	Phagozytose von Bakterien
Segmentkernige neutrophile Granulozyten	 ~ 14 µm	
Eosinophile Granulozyten	 ~ 16 µm	Parasitenabwehr Immunregulation
Basophile Granulozyten	 ~ 10-14 µm	Lokale Regulation akuter Entzündungsprozesse
Monozyten	 ~ 12-20 µm	<u>Großfresser</u> von Bakterien Pilzen, Fremdkörpern → in Gewebe (Makrophagen)
Lymphozyten NK-Zellen	 ~ 6-20 µm	Träger der zellulären Immunabwehr
Thrombozyten	 ~ 1-4 µm	Blutgerinnung

## Schrodt - Hämatologie - Atlas

### Mikroskop- und Fotosystem

Mikroskop	: Leitz - Orthoplan
Tubus	: Binokularer Fototubus FSA-GW
Objektivrevolver	: 5-fach mit Tubuslinse 1,25x
Vergrößerungswechsler	: Variotubus 1 bis 3,2x
Okulare	: GW 8x / 24 $\phi$ •
Objektiv	: Olympus Planapochromat NSC Plan Apo 100/1,40 Oil, 160, Iris n. A. 0,7 - 1,40, Deckglaskorrektur 0
Objekttisch	: Drehbarer - u. zentrierbarer Kreuztisch
Kondensator	: Durchlichtkondensator 402 a, k.-Kopf Arch. 0,90P
Lampenhaus	: 100 Z mit Halogenleuchte 12V 100W
Kamera	: Vollautomatische Mikroskopkamera Vario Orthomat 2, Fotookular 5x - 12,5x, Kamerafaktor 0,32x, Spotmessung
Filter	: UV-Sperrfilter 360/2

### Bild daten

Mikroskopie-Methode	: Hellfeld
Objektiv	: 100x
Vergrößerungswechsler	: 1,25x
Tubusfaktor	: 1,25x
Fotookular	: 8x
Kamerafaktor	: 0,32x
Bild-Übertragungsfaktor	: 4,15x effektiv

Glühlampenspannung:  $\approx 11,5\text{ V}$ , Farbtemperatur  $\approx 3300\text{ K}$

Beleuchtung: Köhlersche Beleuchtung,  
Leuchtfeldblende zentriert und  
auf Sehfeldgröße geöffnet,  
Aperturblende auf  $\sim 2/3$  geöffnet

Film: Tageslicht-Farbnegativfilm  
AGFA vista 100, ISO 100/27°,  $24 \times 36\text{ mm}$ ,  
Farbtemperatur  $\sim 5500\text{ Kelvin}$

Belichtungsmessung: Spotmessung

Schwarzschild-Effekt: nicht berücksichtigt!

Farbverschiebung: Farbverschiebung vorhanden, da  
zur Erzielung einer kurzen Belichtungszeit wegen der Vermeidung  
des Schwarzschild-Effektes kein  
Konversions- u. Farbkorrekturfilter  
verwendet wurde.

Vergrößerung auf Film:  $415\times$

Bildausschnitt:  $55 \times 85\ \mu\text{m}$

Ortsfrequenz:  $10,7\ \text{Lp/mm}$

Fotografische Schärfentiefe:  $0,26\ \mu\text{m}$

visuelle " " :  $0,60\ \mu\text{m}$

Linienauflösung:  $4200\ \text{Lp/mm}$

Punktauflösung:  $0,24\ \mu\text{m}$

Vergrößerung auf Farbbild  $10 \times 15\text{ cm}$ :  $1850\times$

Vergrößerung auf Ausschnitt  $5,7 \times 5,7\text{ cm}$ :  $1850\times$

Mikroskop-Vergrößerung:  $1250\times$



Färbung der Menschen-Blutausstriche  
nach PAPPENHEIM

3 Färbetöge

2 Spülboxen

May-Grünwald-Lösung  
konzentriert (2,5 min)

Färbegestell 5x heraus-  
heben u. wieder eintauchen

May-Grünwald-Lösung  
1:1 mit Pufferlösung  
pH 6,5 verdünnt (2,5 min)

Pufferlösung pH 6,5  
(Spülen ~ 5 s)

Giemsa-Lösung 1:20  
mit Pufferlösung pH 6,5  
verdünnt (12 min)

Pufferlösung pH 6,5  
(Spülen ~ 20 s)

Genauere Beschreibung der Färbung bei  
weitergehenden Informationen

Auswirkung der Färbung auf die Blutzellengröße  
Gefärbte Blutzellen sind wegen des Wasserentzugs  
rd. 10% kleiner als ungefärbte Blutzellen!

## Farbverschiebung

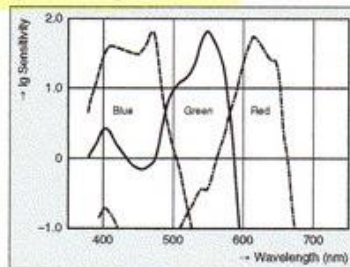
Der preisgünstige Agfa vista 100 Farbnegativ-Amateurfilm (Consumer Film, 3,50 € für 36 Bilder) ist für mittleres Tageslicht mit einer Farbtemperatur von 5500 Kelvin abgestimmt. Die Mikroskop-Halogen-Glühlampe 12 V 700 W hat bei 11,5 V ungefähr eine Farbtemperatur von 3300 Kelvin. Das Ausgleichen der Farbtemperaturdifferenz durch Konversionsfilter und des Farbstichs durch Korrekturfilter brachte bei Testaufnahmen keine wesentliche Verbesserung in Schärfe und Kontrast gegenüber Testaufnahmen ohne Filter. Die Blutzellen wurden daher für den Hämatologie-Atlas ohne Filter fotografiert. Die Auswirkungen der Farbverschiebung werden in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Struktur	visuelles Mikroskopbild	farbiges Papierbild
Zellkerne	rotviolett	dunkelrotviolett
Hämoglobin der Erythrozyten	blaßrot	blaßbraun
Zytoplasma der Granulozyten	rötlich	bräunlich
Zytoplasma der Lympo- u. Monozyten	grau blau	grau
Untergrund	grauweiß	gelbgrün

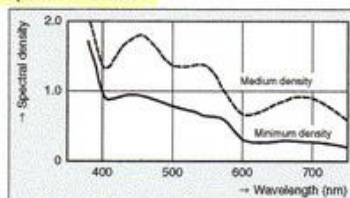
## Wichtige Filmdaten " Agfa Vista 100 "

### Agfa Vista 100

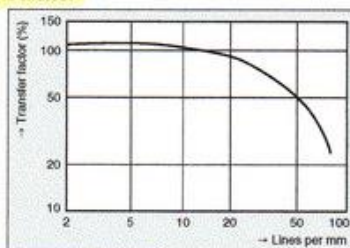
#### Spektrale Empfindlichkeit:



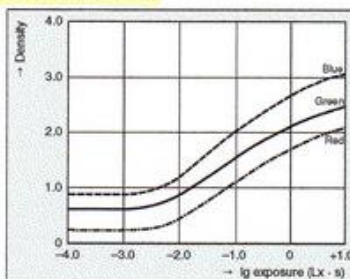
#### Spektrale Dichte:



#### Schärfe:



#### Farbdichtekurven:



Empfindlichkeit: ISO 100/21°

Körnigkeit (x 1000): RMS 4.0

#### Auflösungsvermögen:

Kontrast 1000 : 1 130 Linien/mm

Kontrast 1.6 : 1 60 Linien/mm

Belichtungsspielraum: -1½ bis +3½ Blenden

Schichtdicke: 17 µm

#### DX-Codierung:

Patronen-Code: 135-12 = 01819 1

135-27 = 01819 7

135-36 = 01819 4

Negativ-Code: 113 - 11

#### Weitere Kennzeichnungen:

Symbole: 3 rote Dreiecke

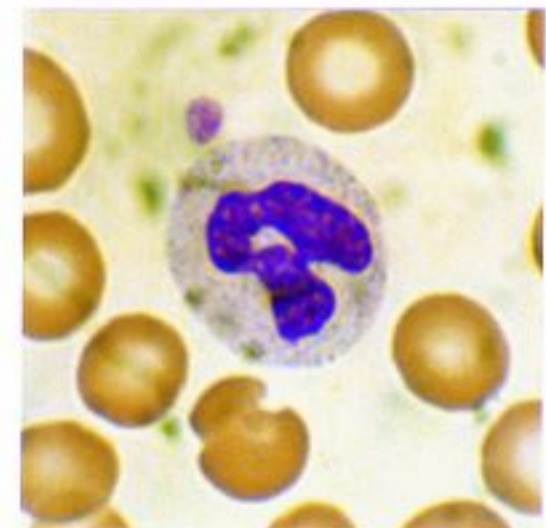
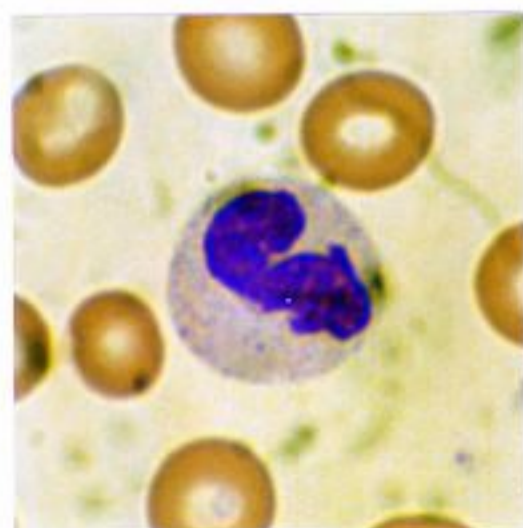
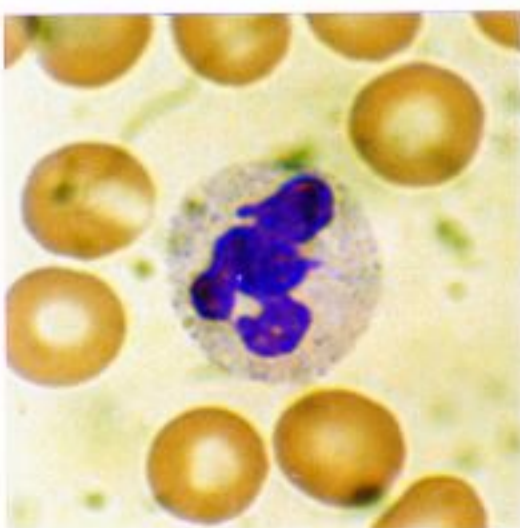
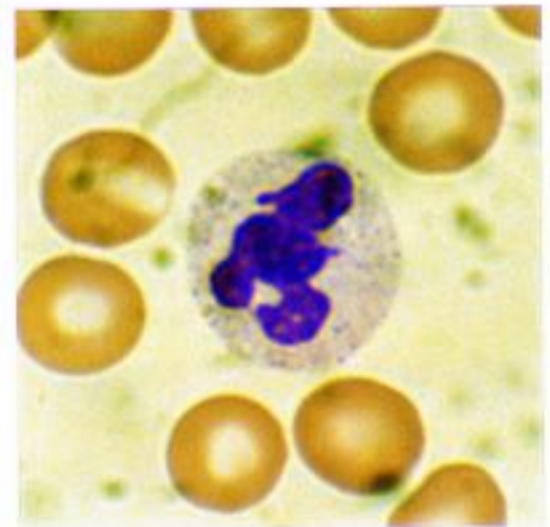
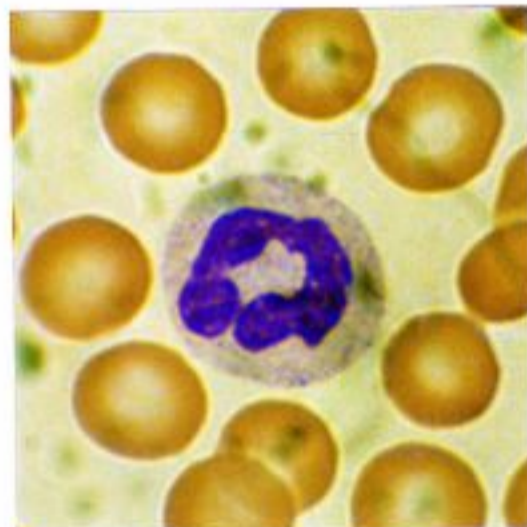
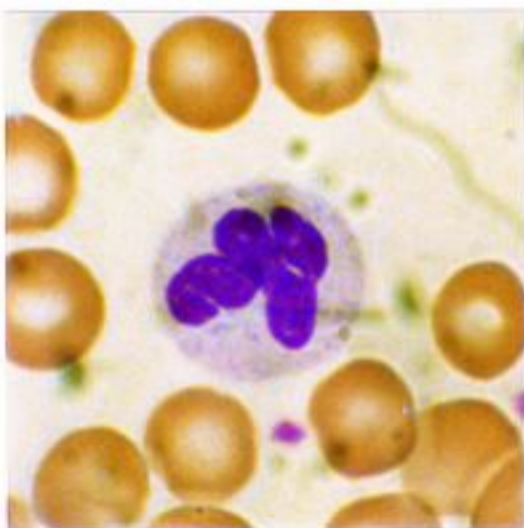
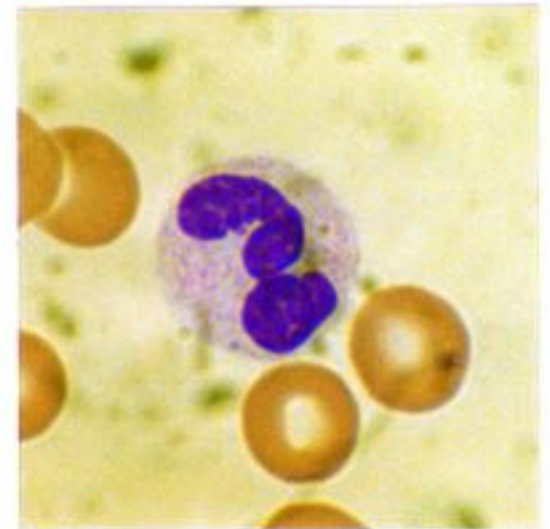
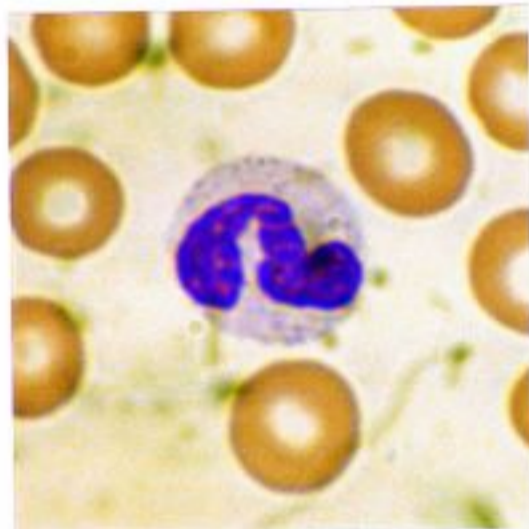
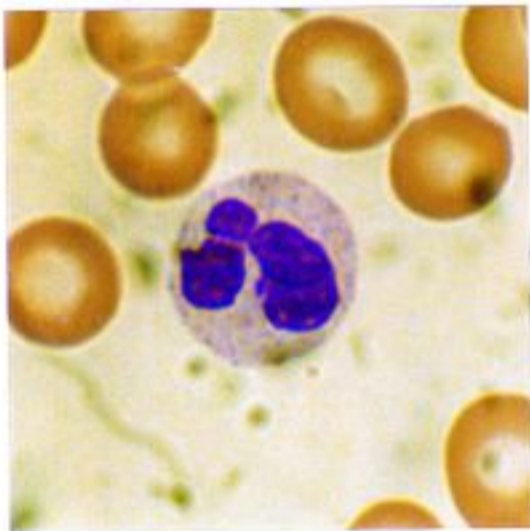
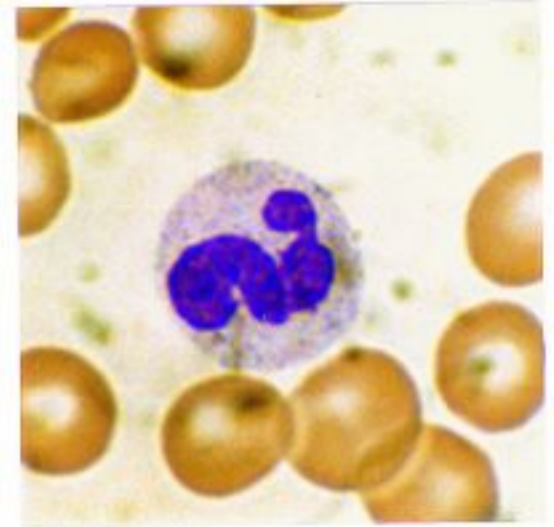
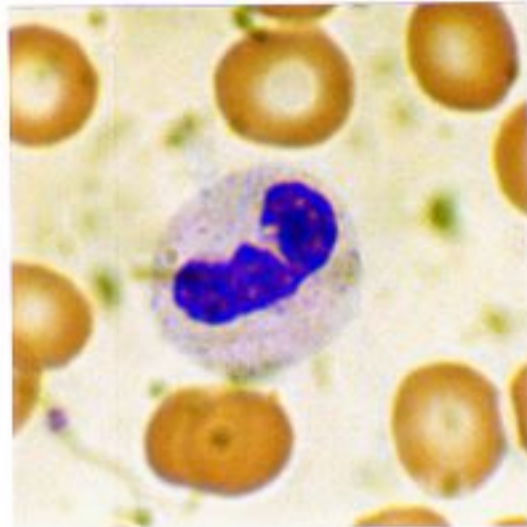
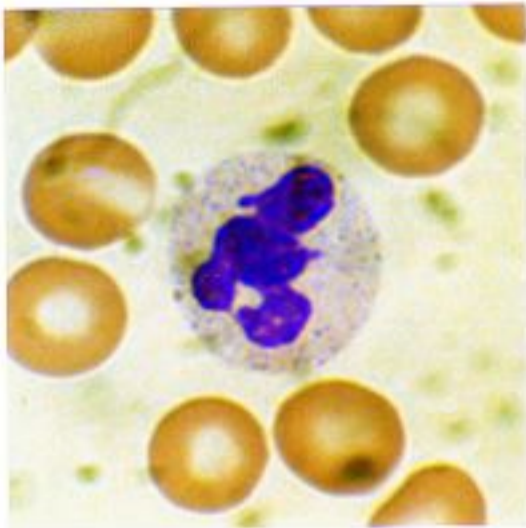
Signiertext: AGFA VISTA 100-C

Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

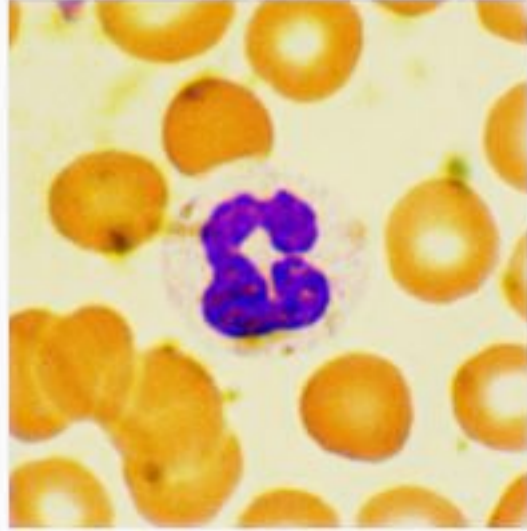
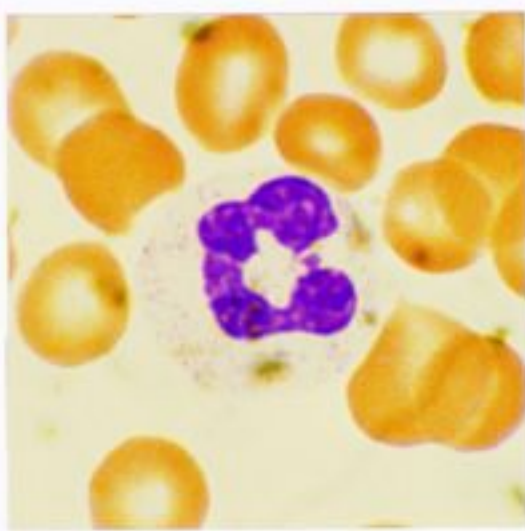
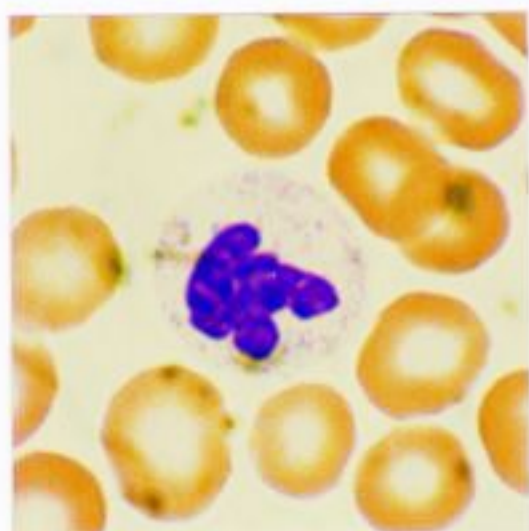
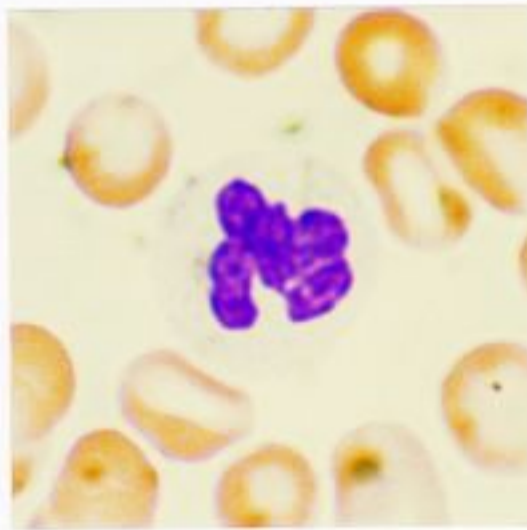
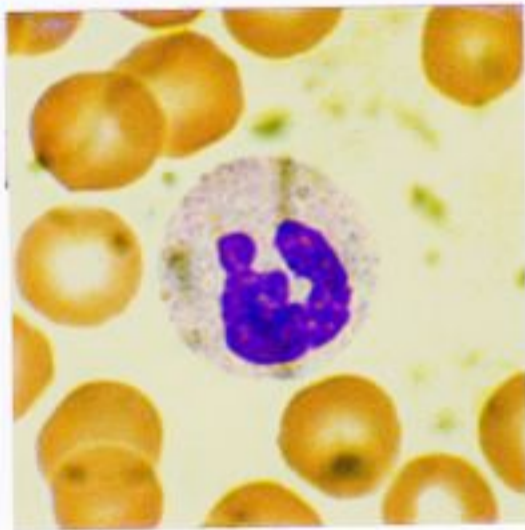
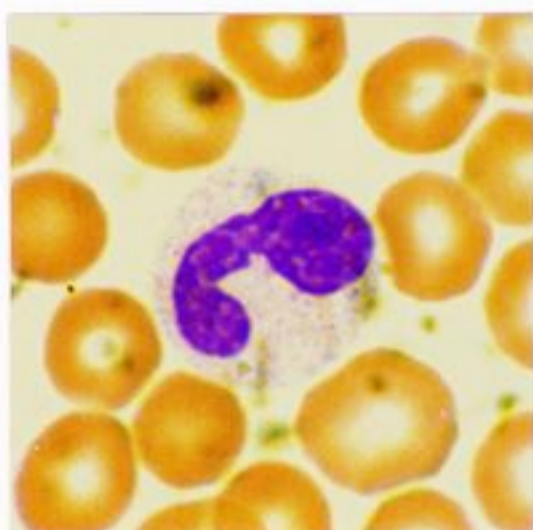
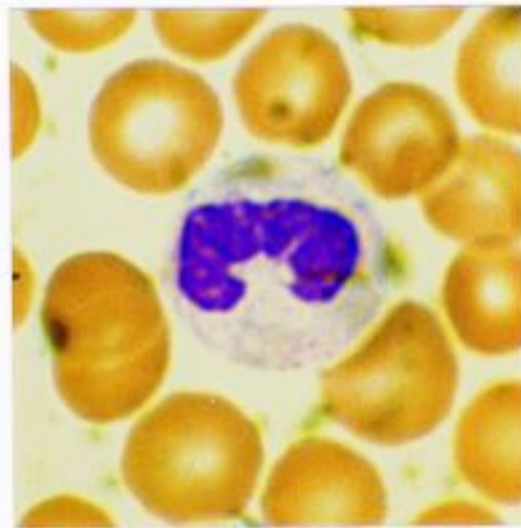
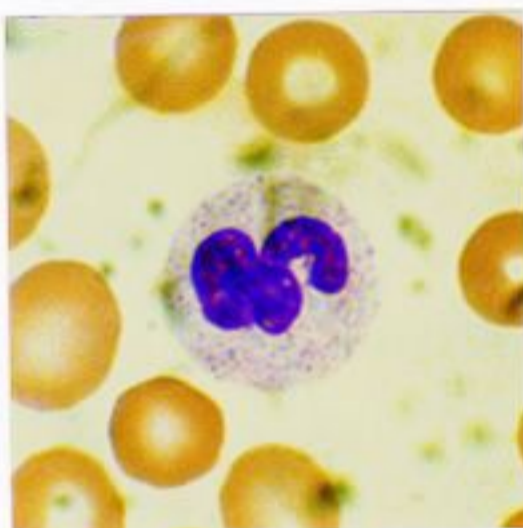
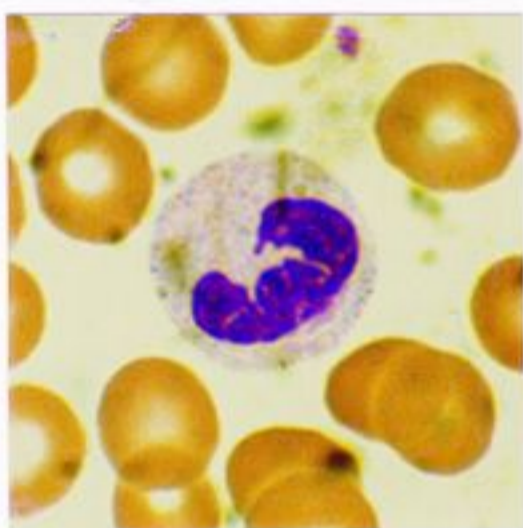
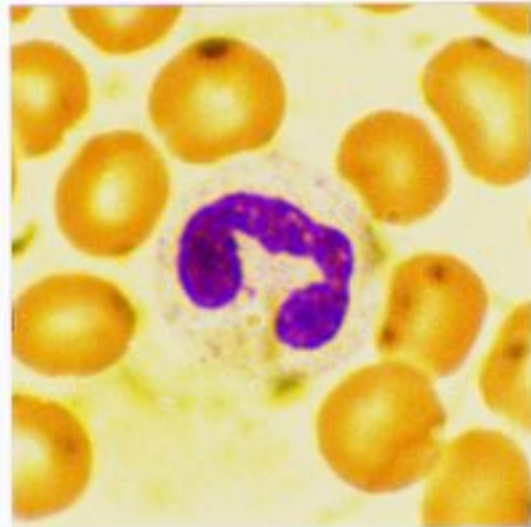
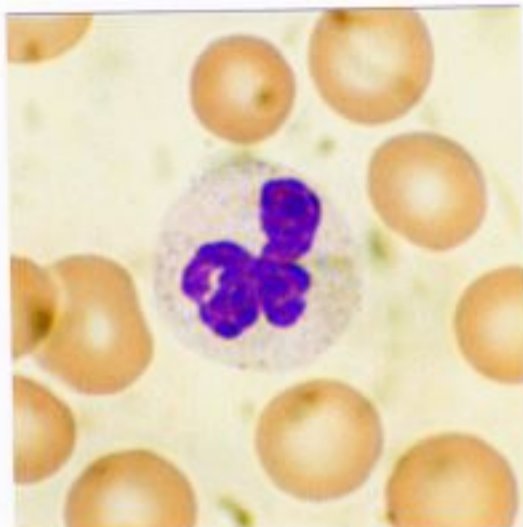
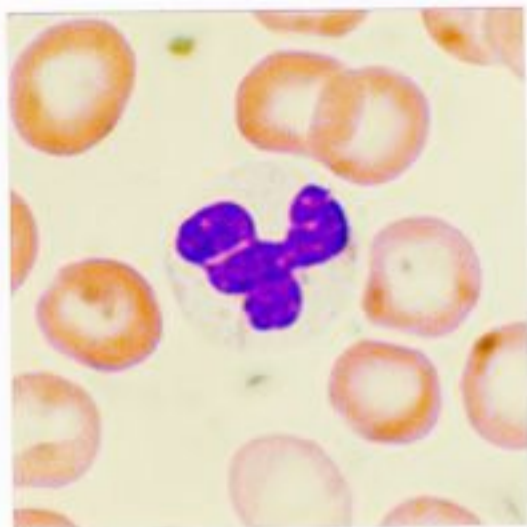


Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

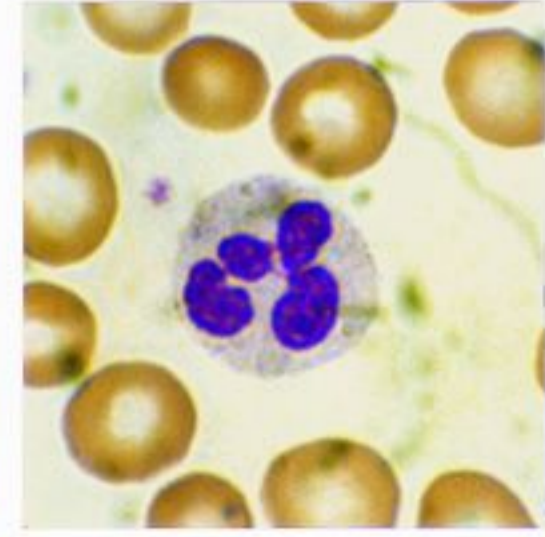
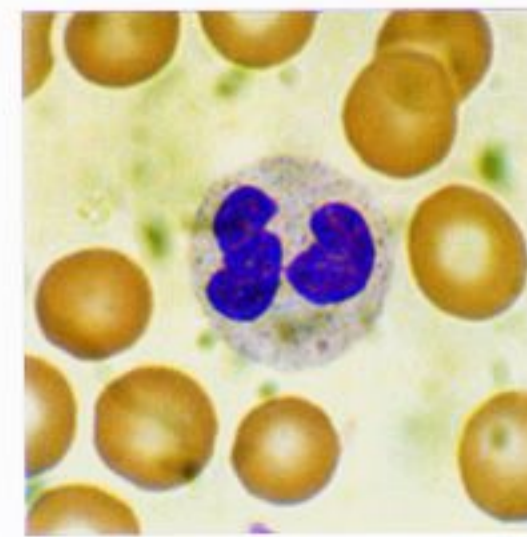
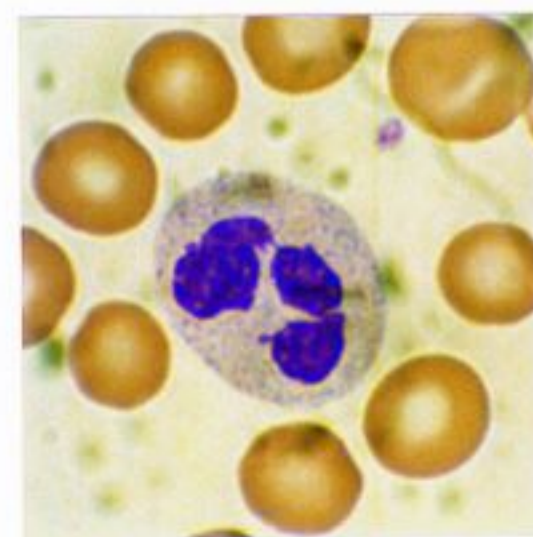
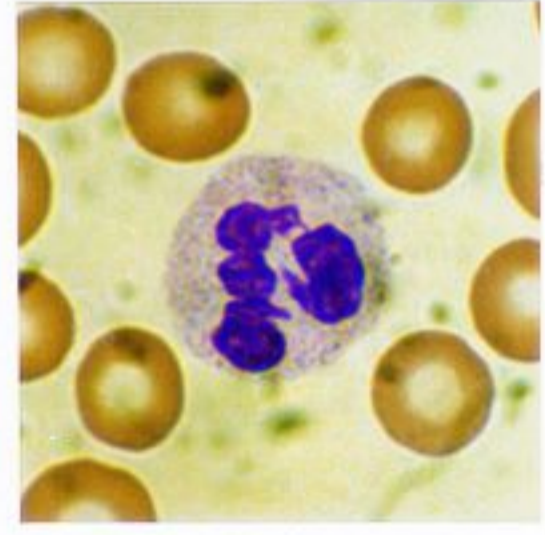
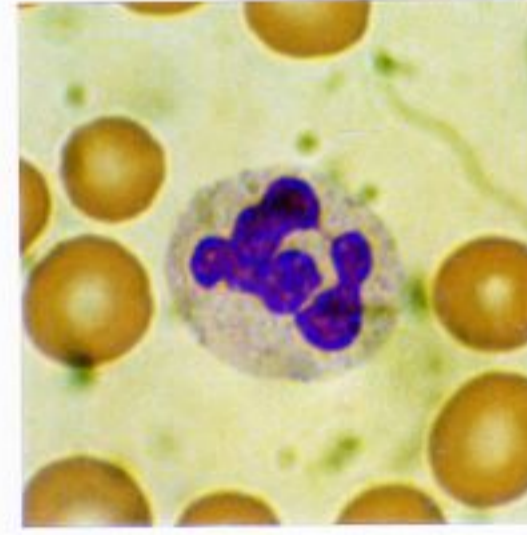
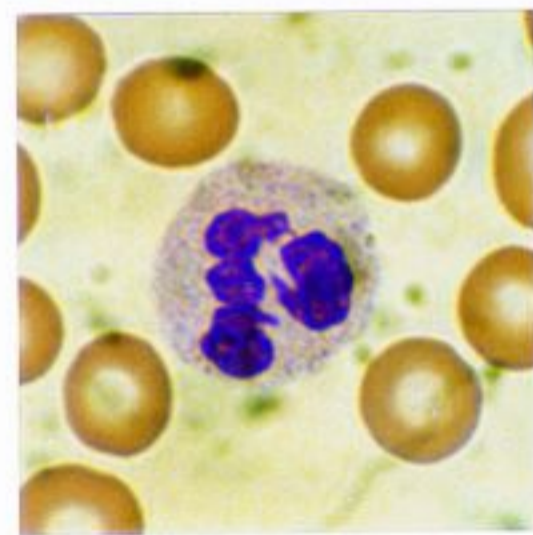
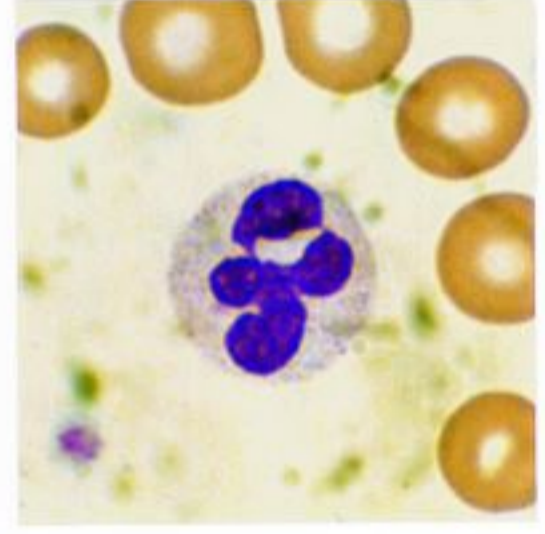
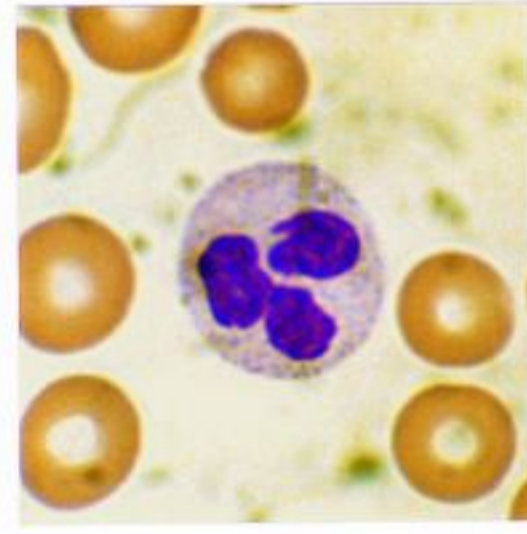
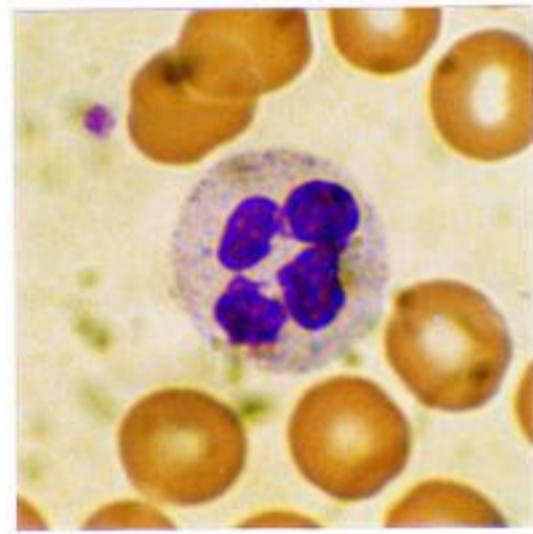
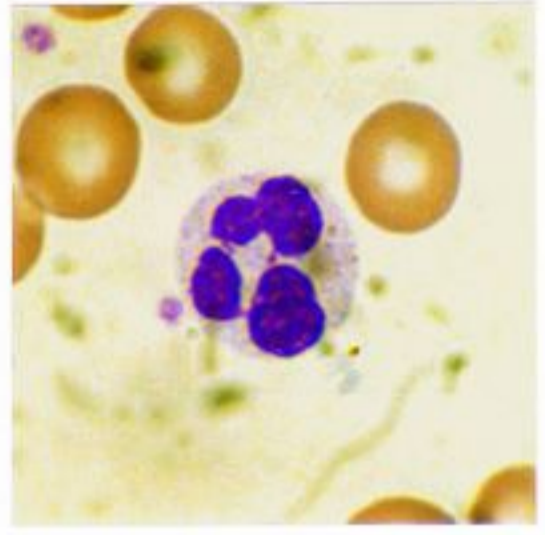
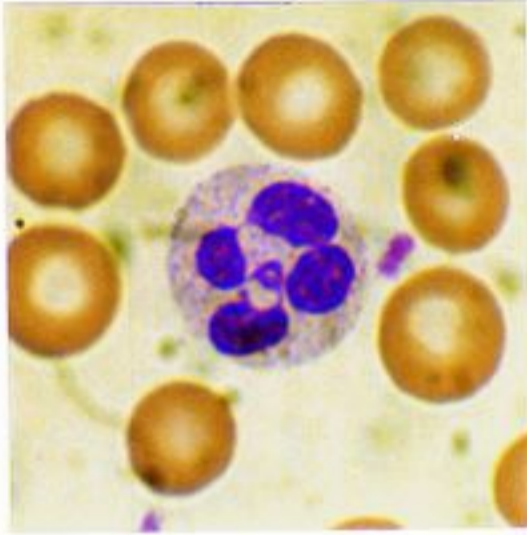
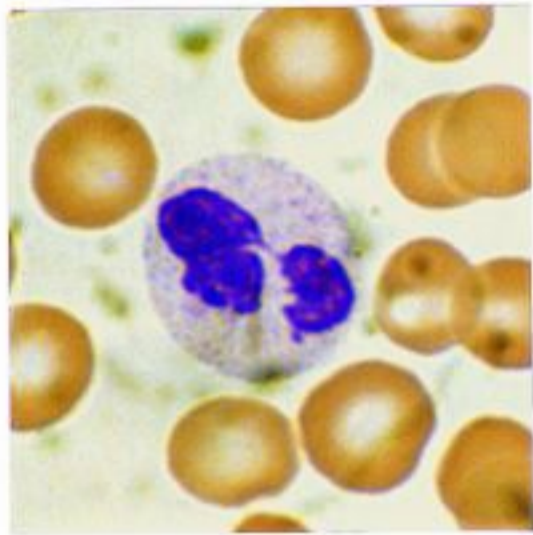


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

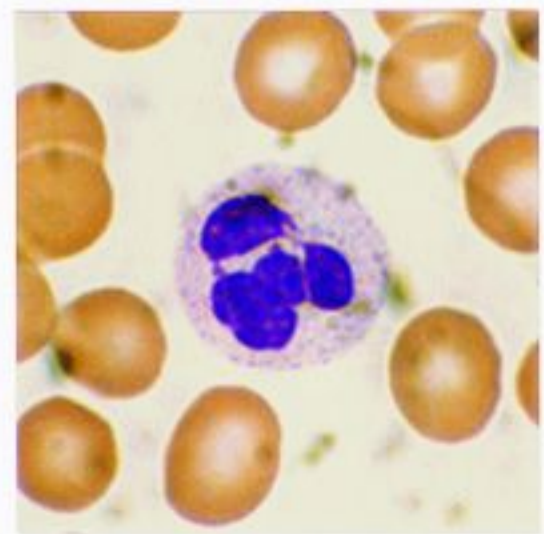
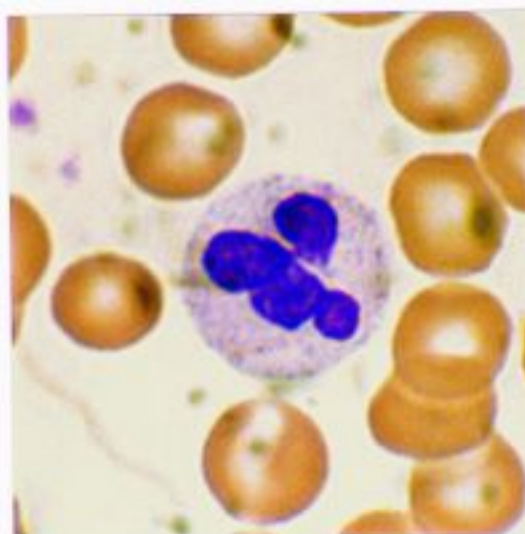
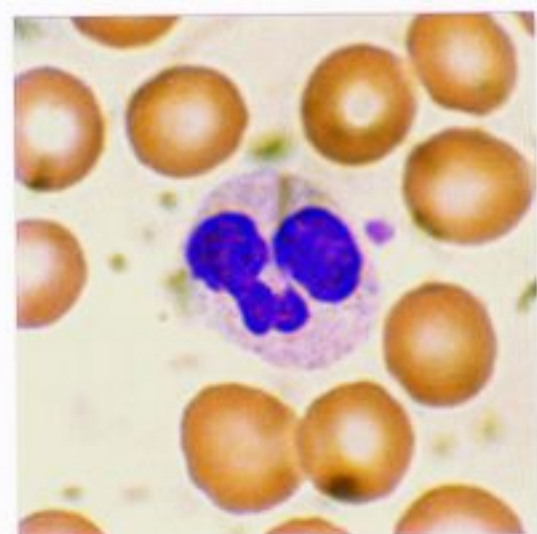
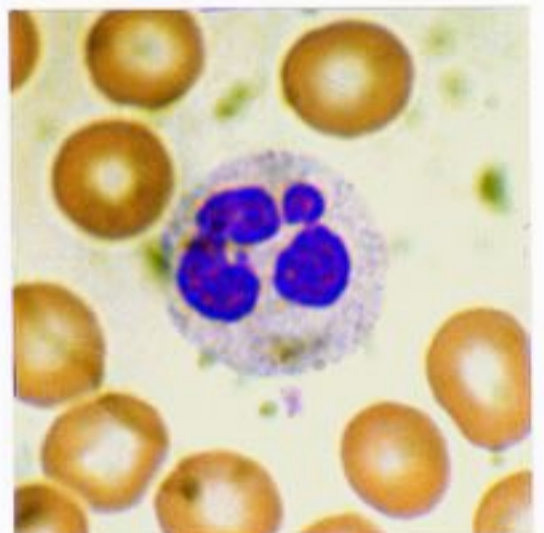
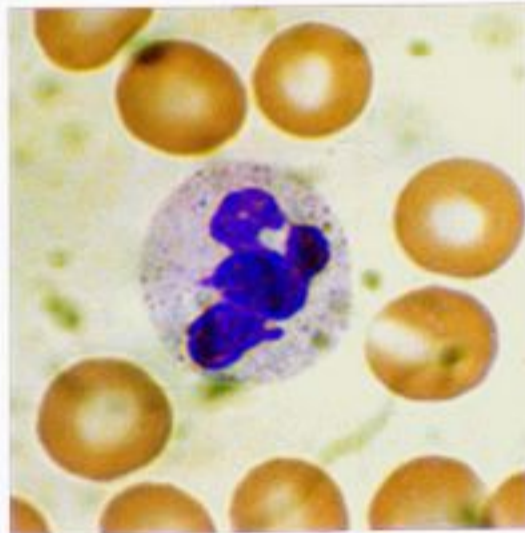
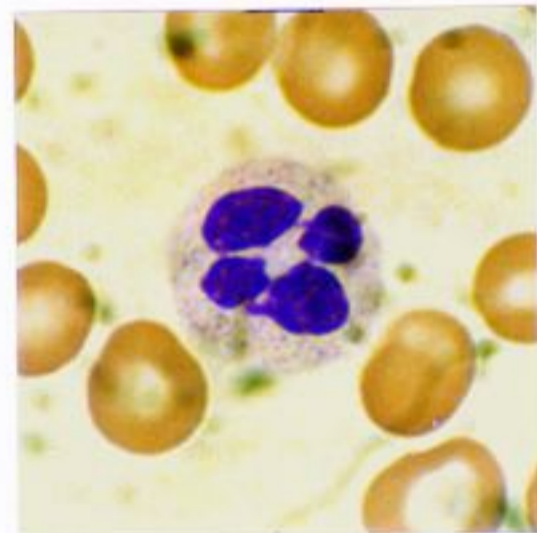
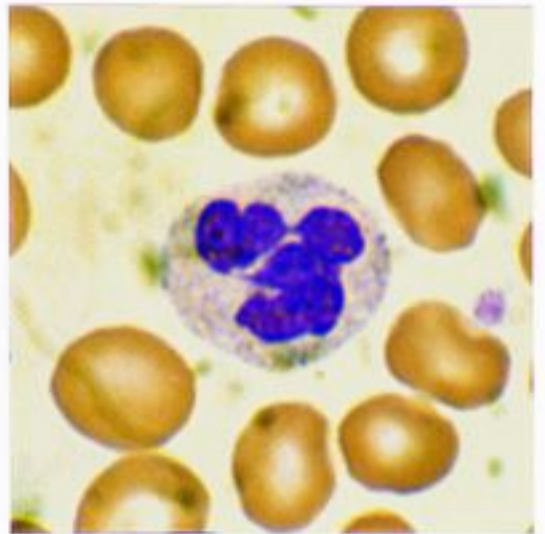
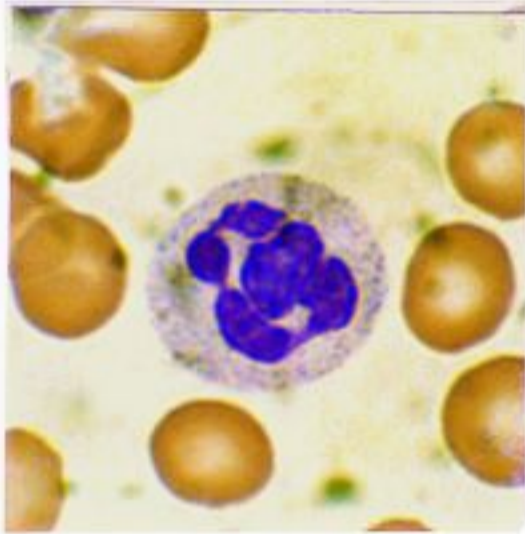
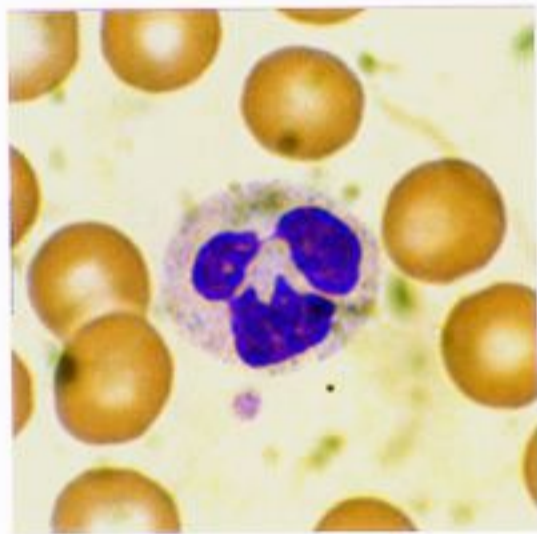
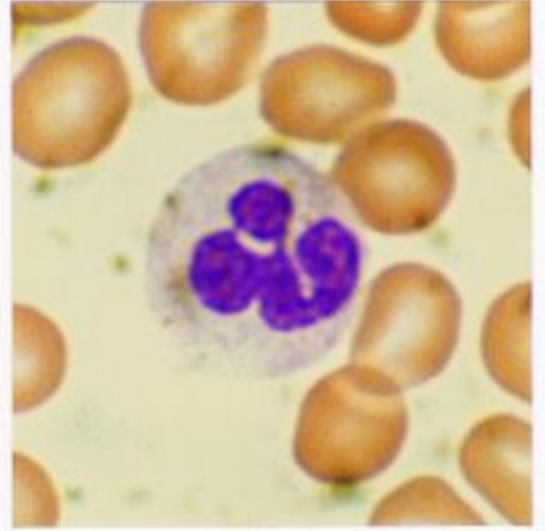
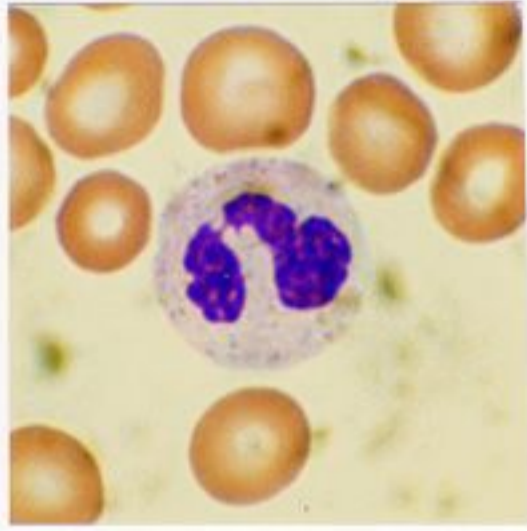
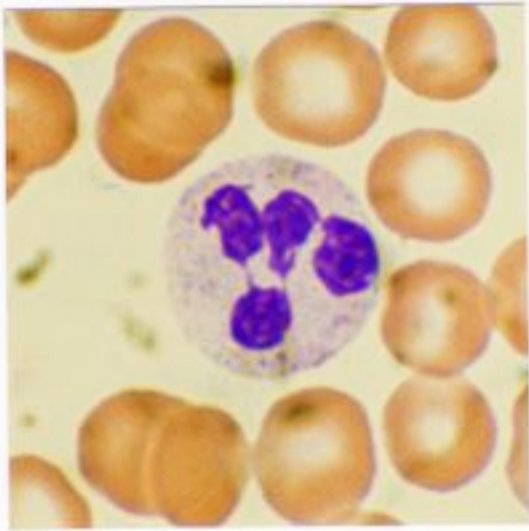


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

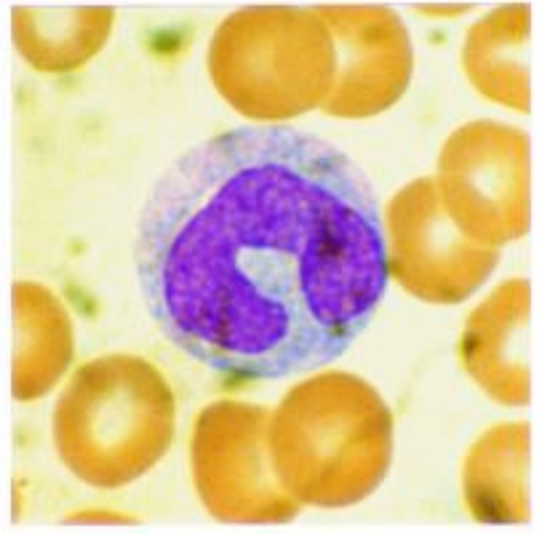
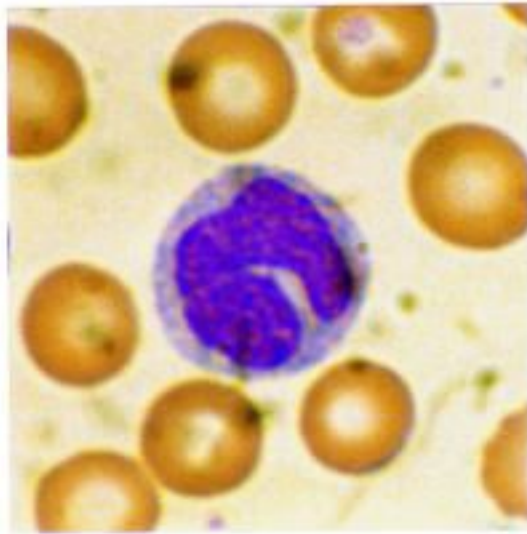
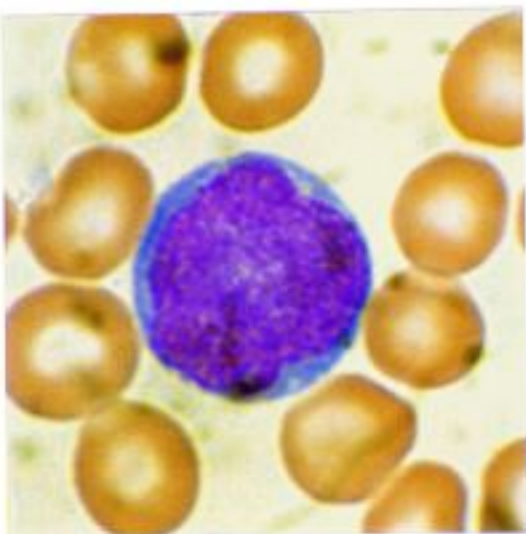
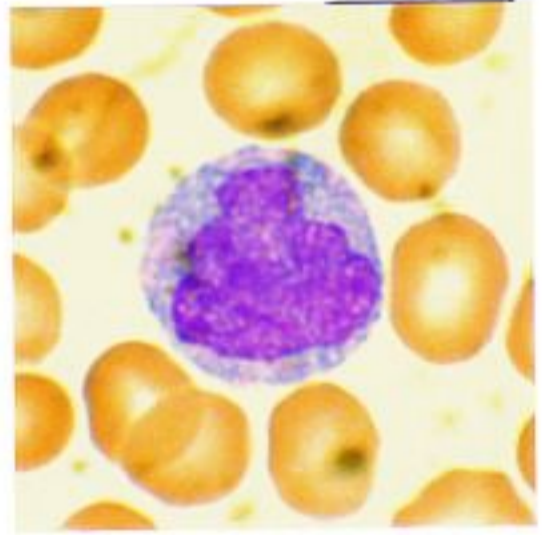
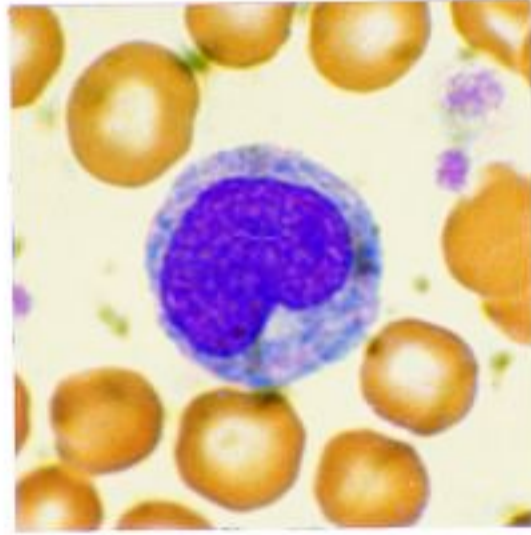
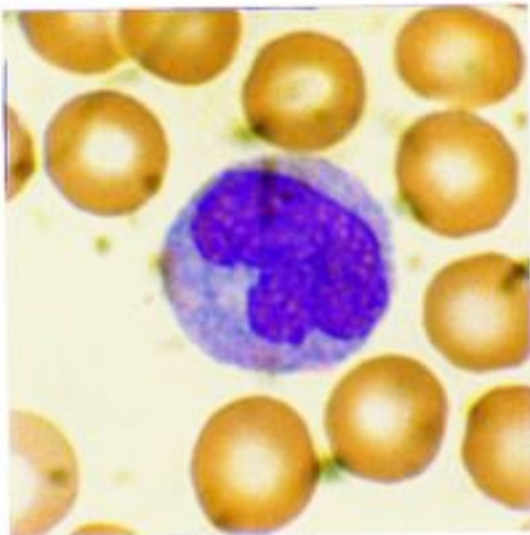
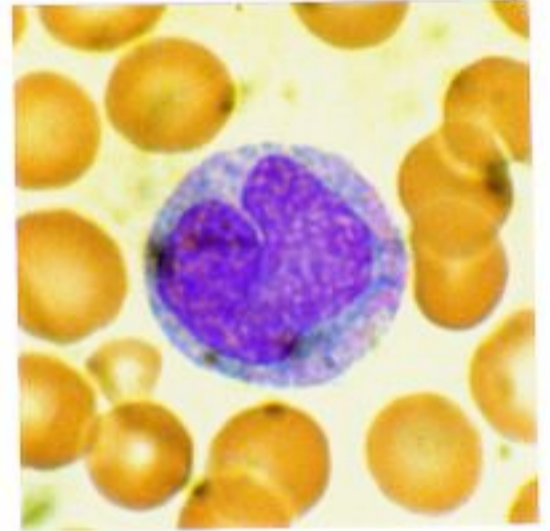
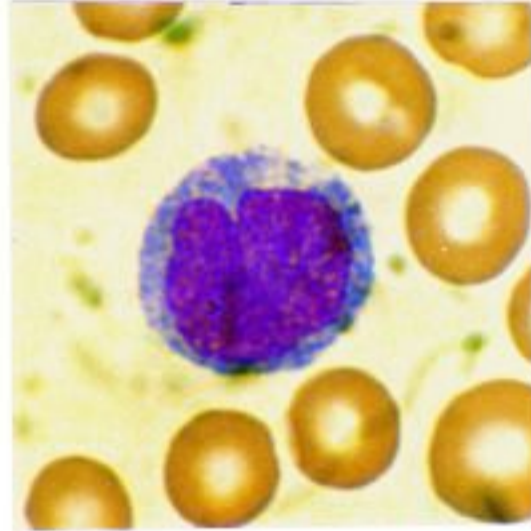
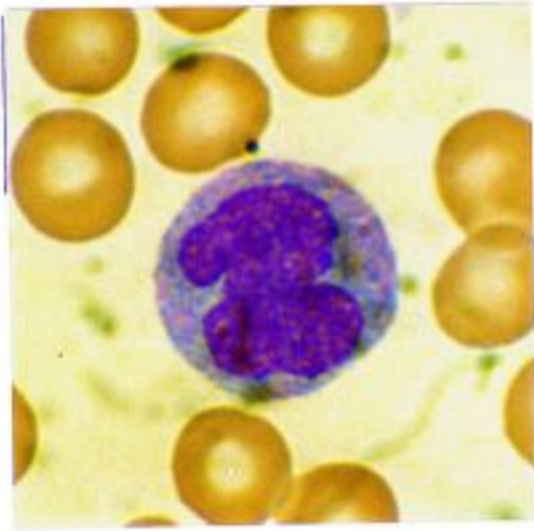
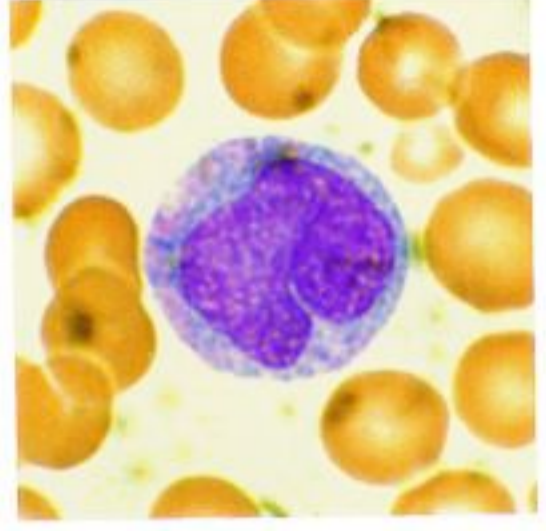
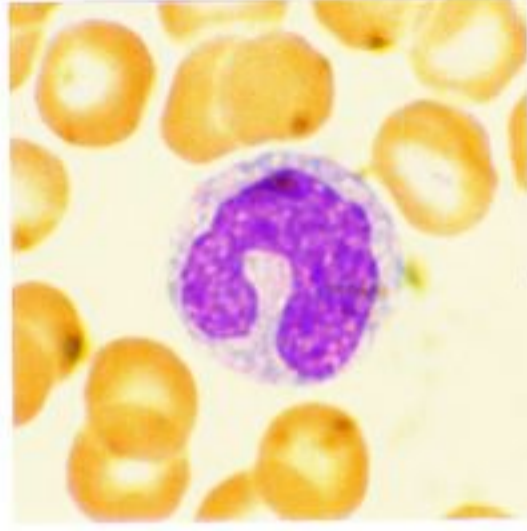
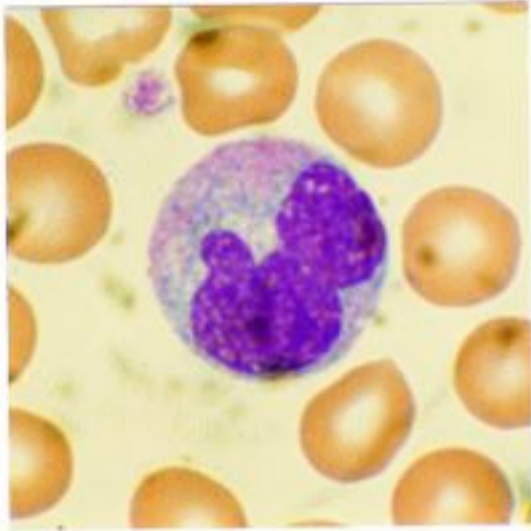


Monozyten

1850 x




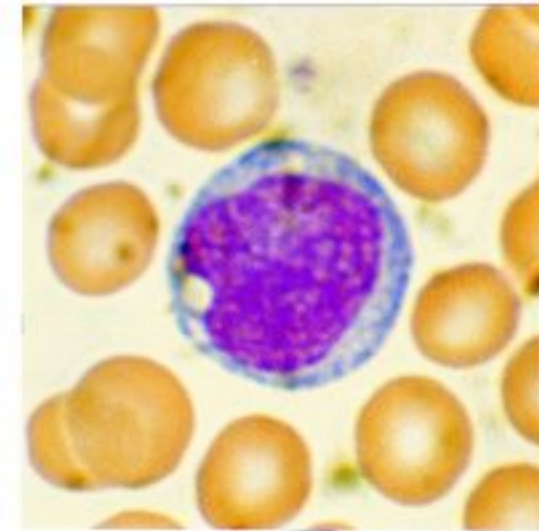
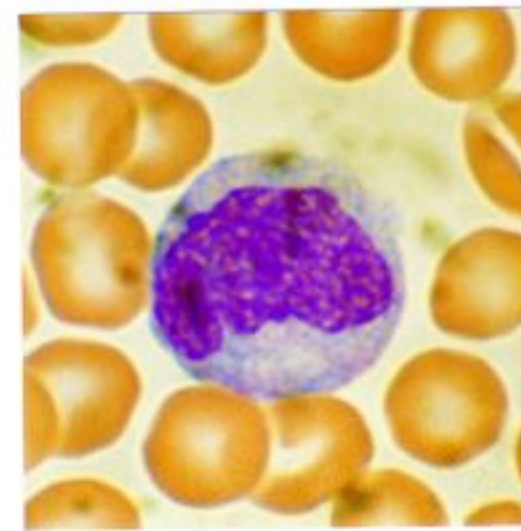
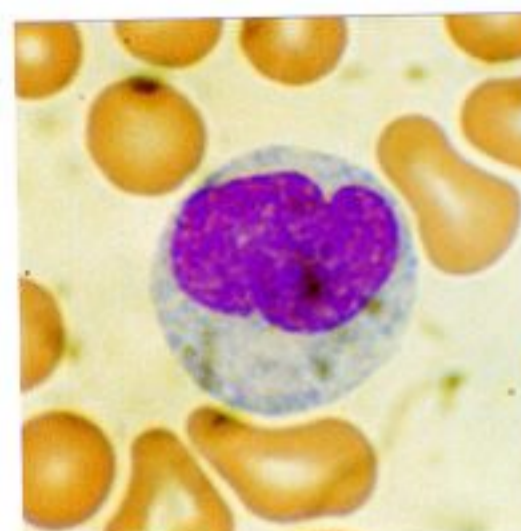
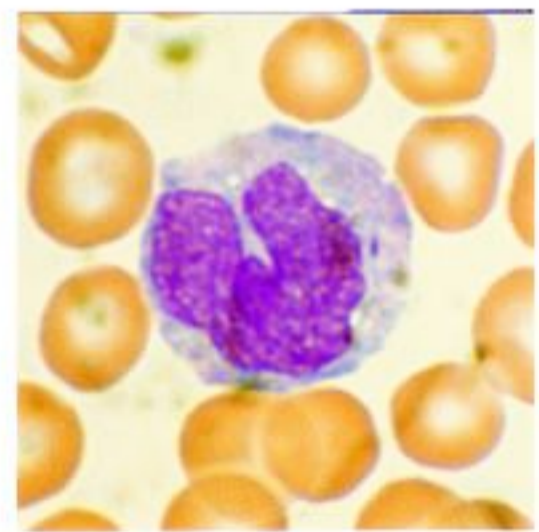
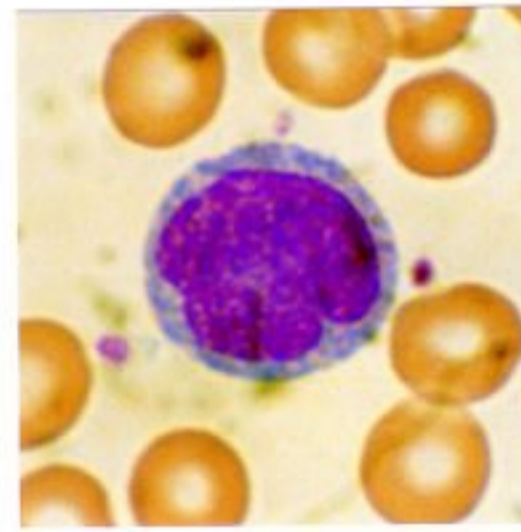
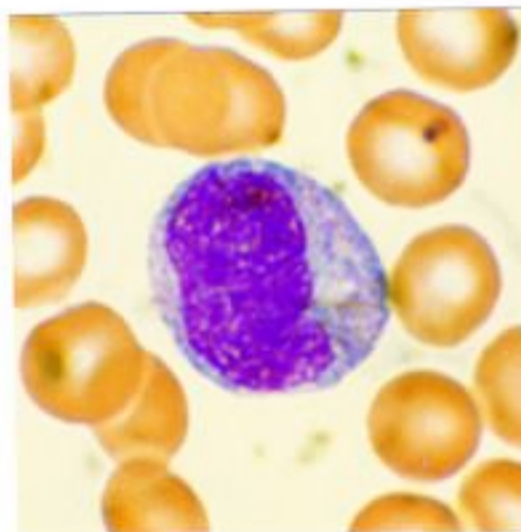
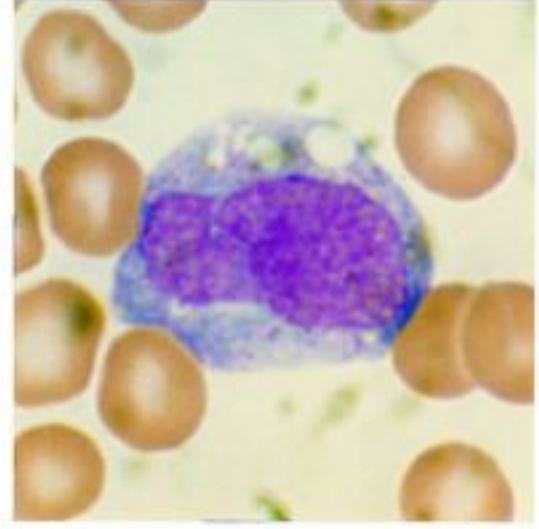
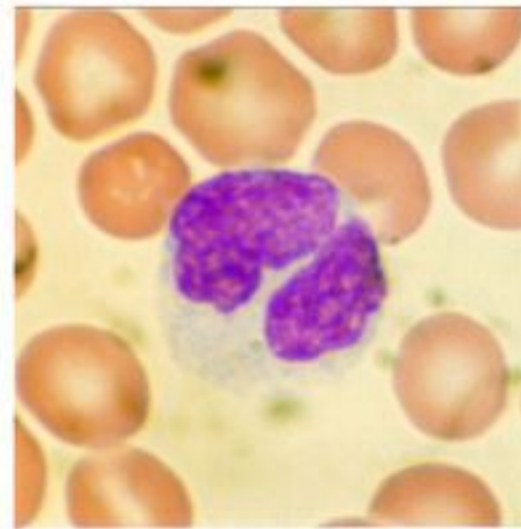
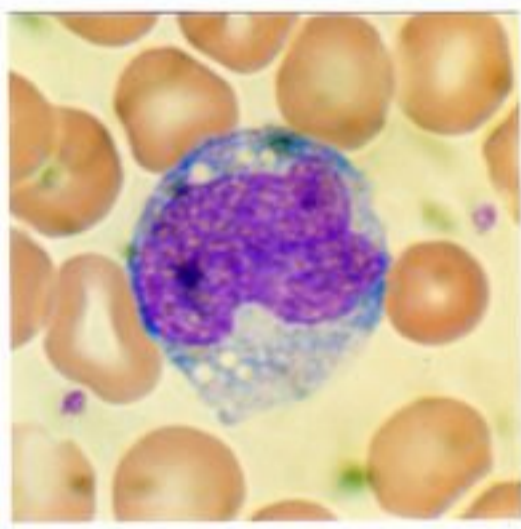
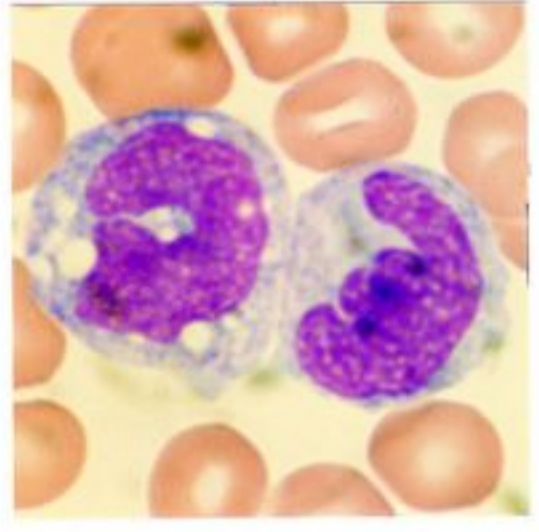
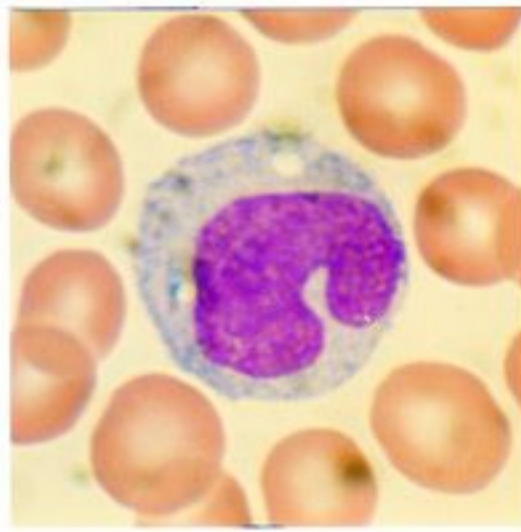
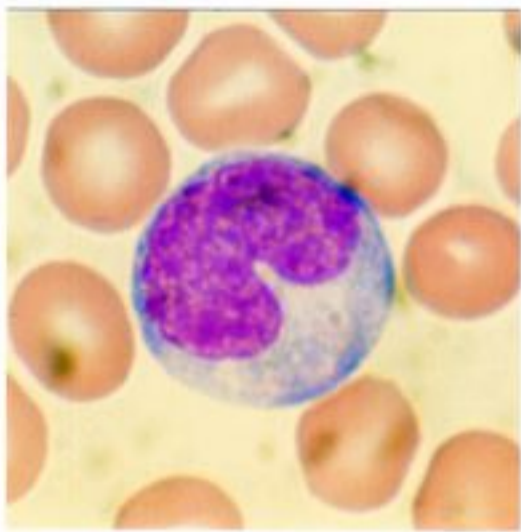
10  $\mu$ m





# Monozyten

Pappenheim-Färbung 1850x  10 μm

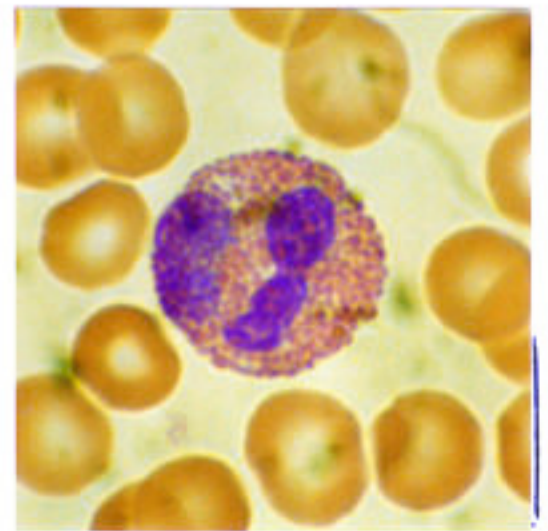
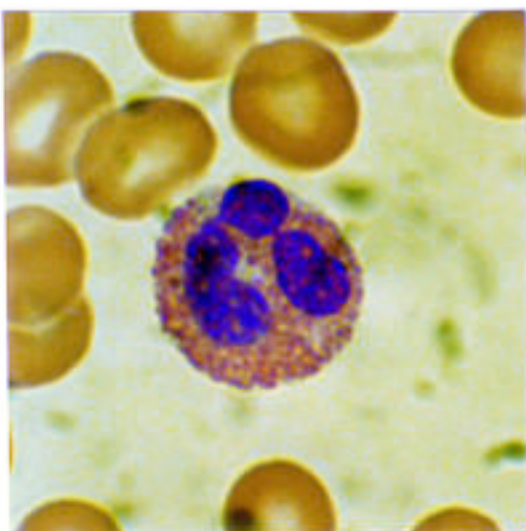
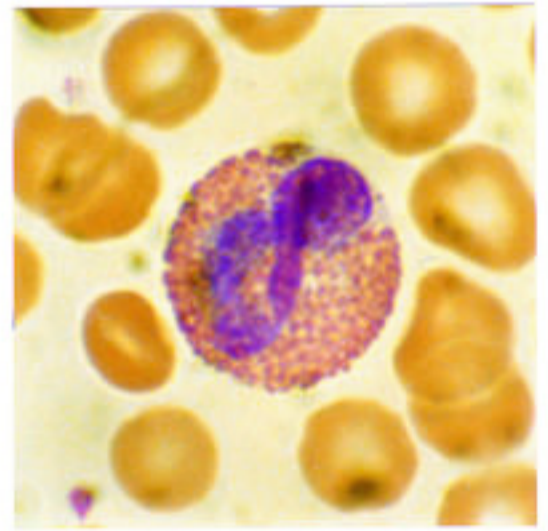
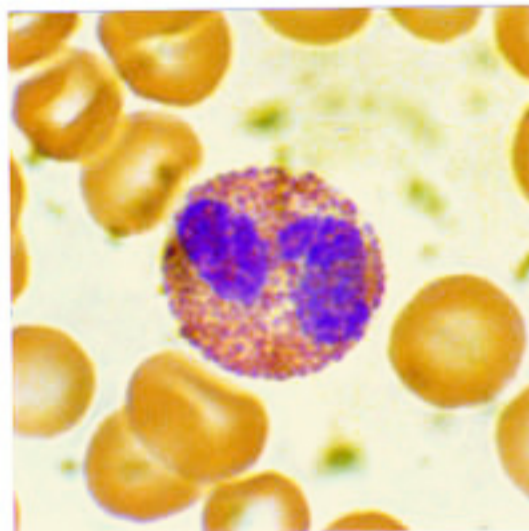
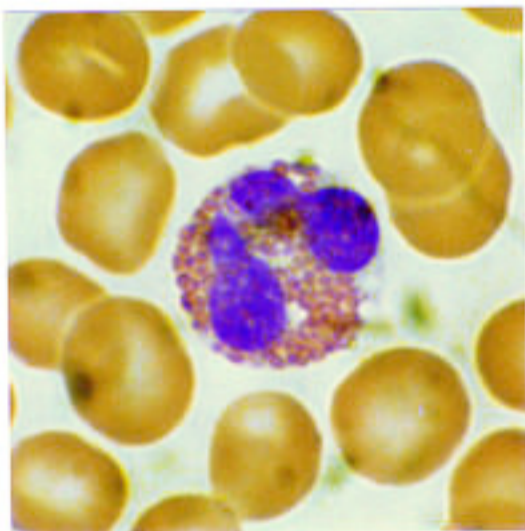
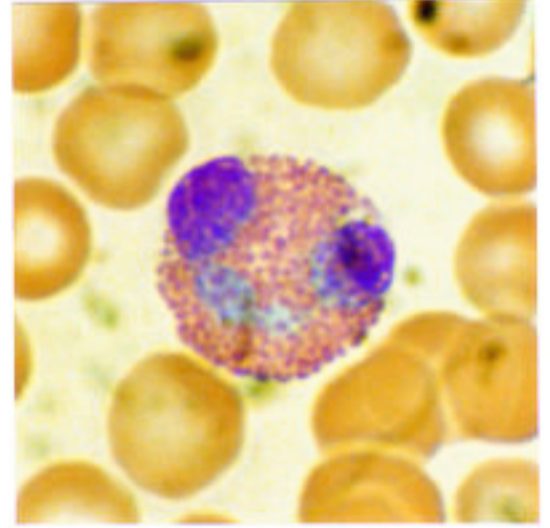
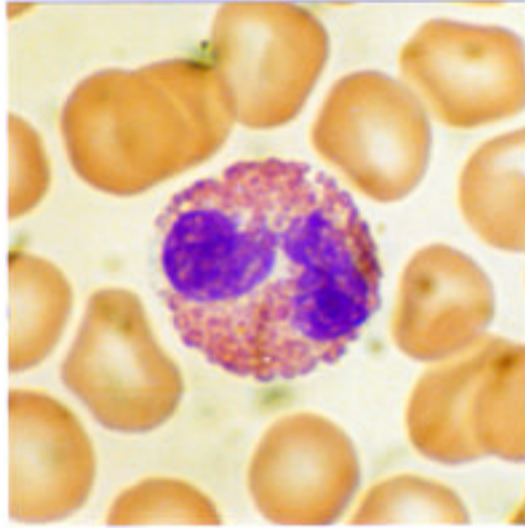
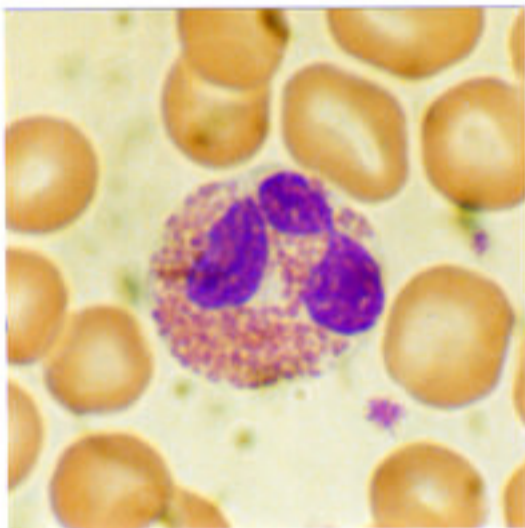
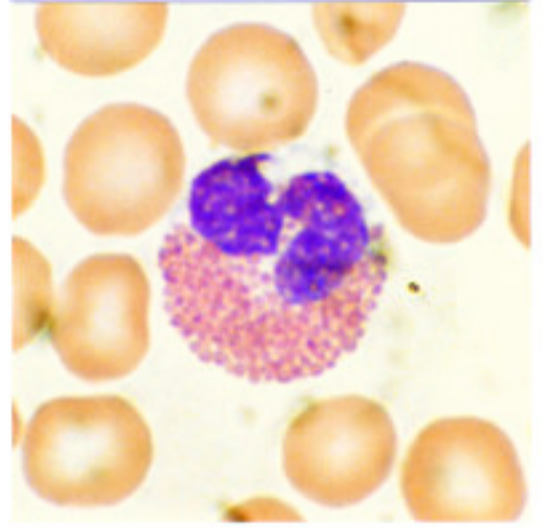
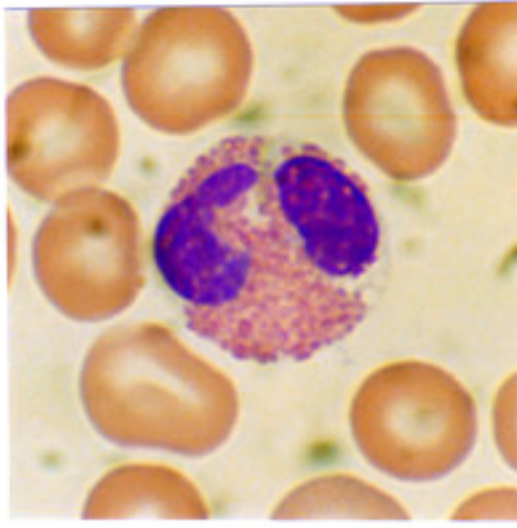
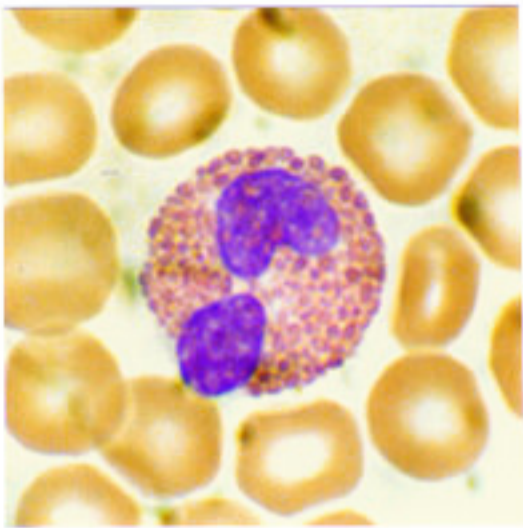


Eosinophile Granulozyten


1850 x

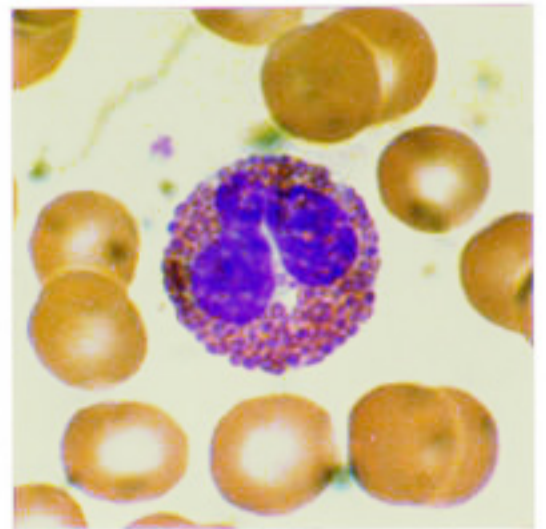
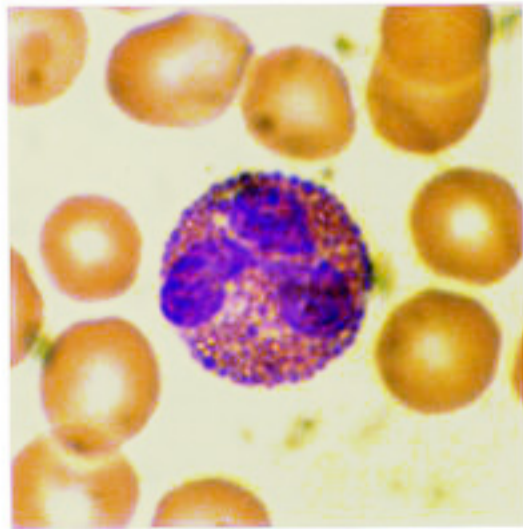
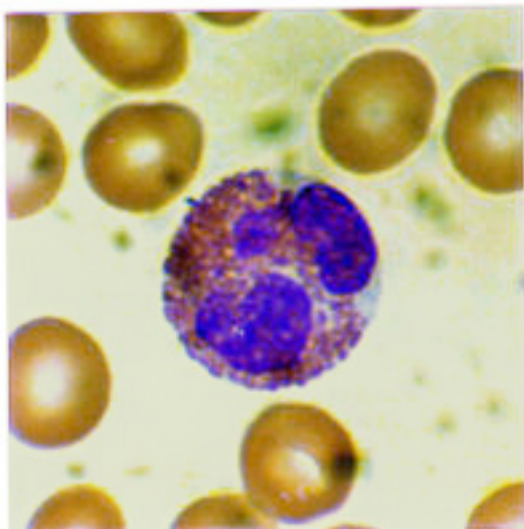
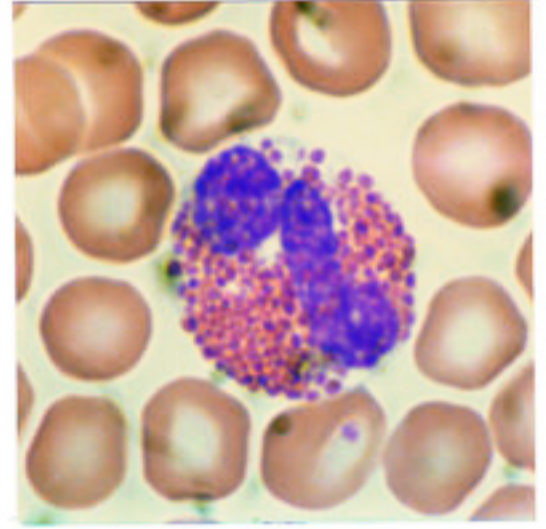
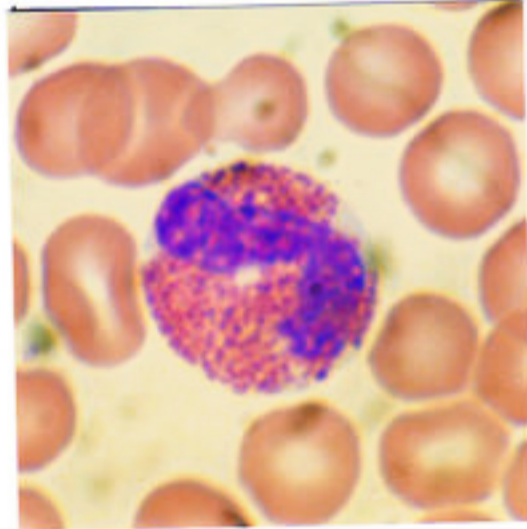
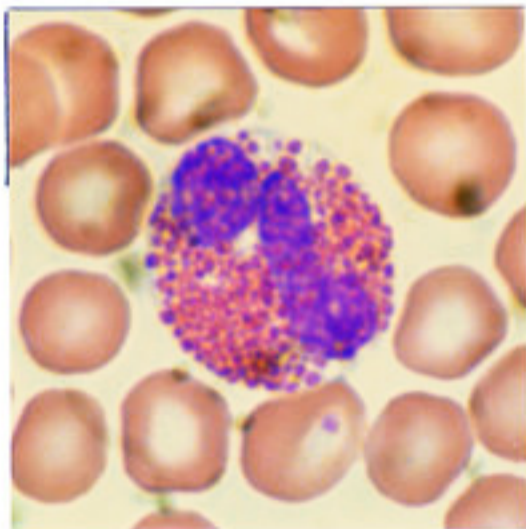
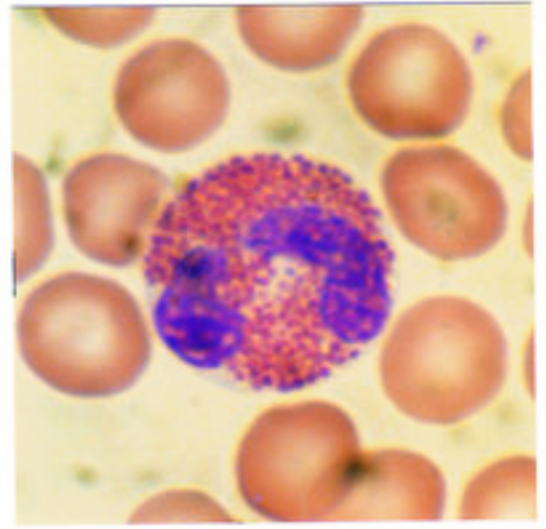
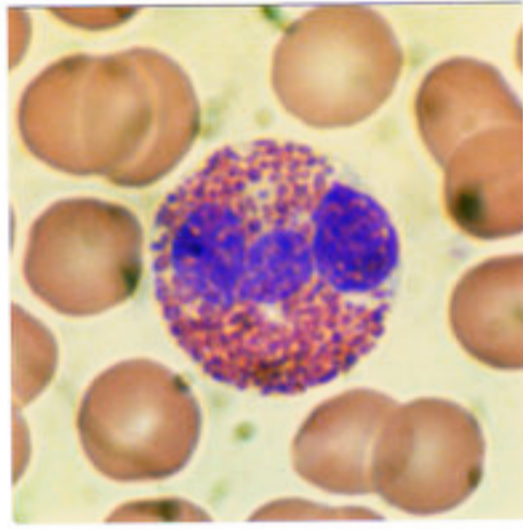
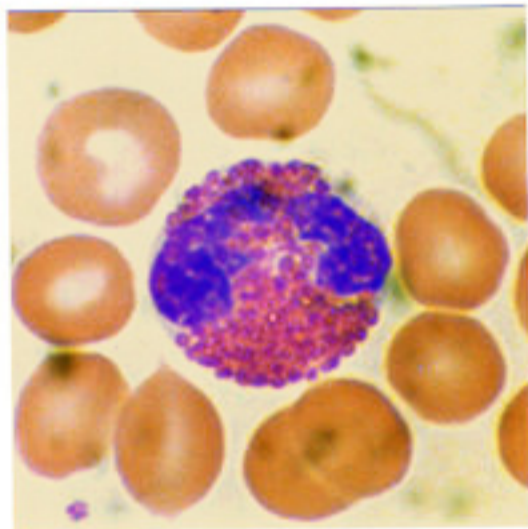
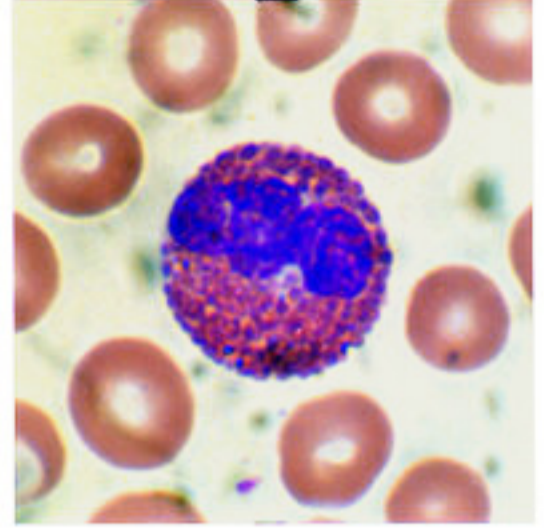
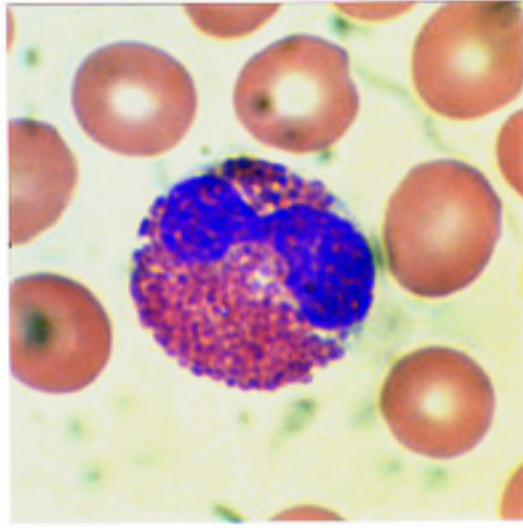
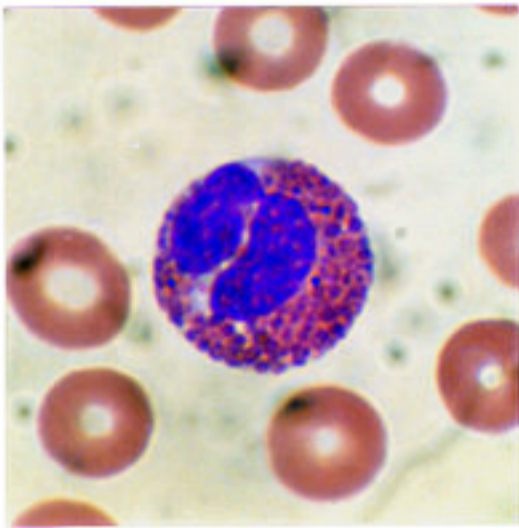


10  $\mu$ m



Eosinophile Granulozyten

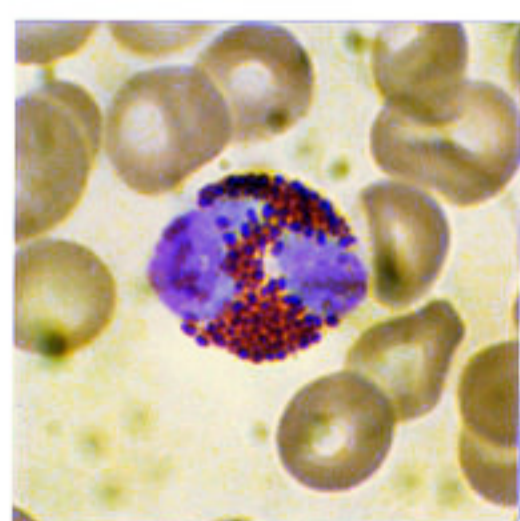
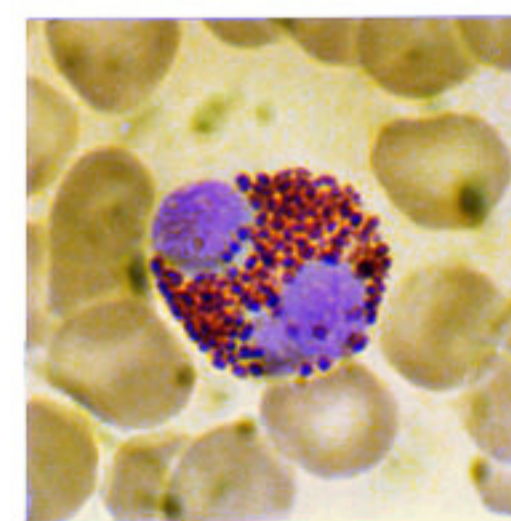
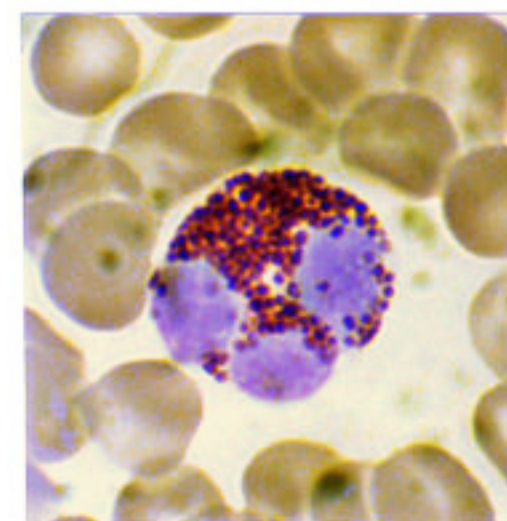
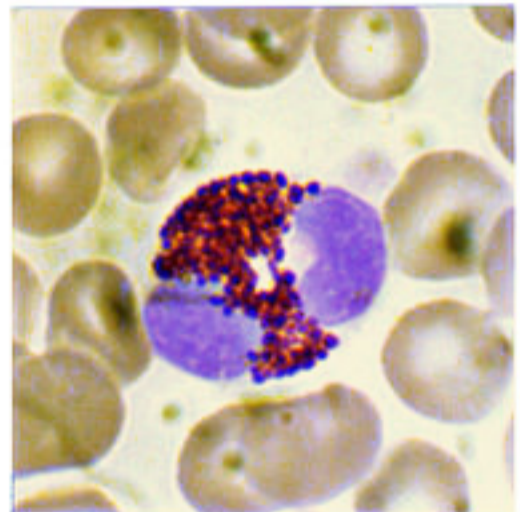
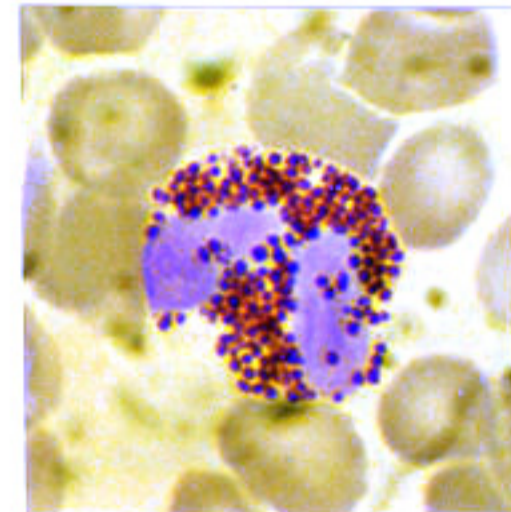
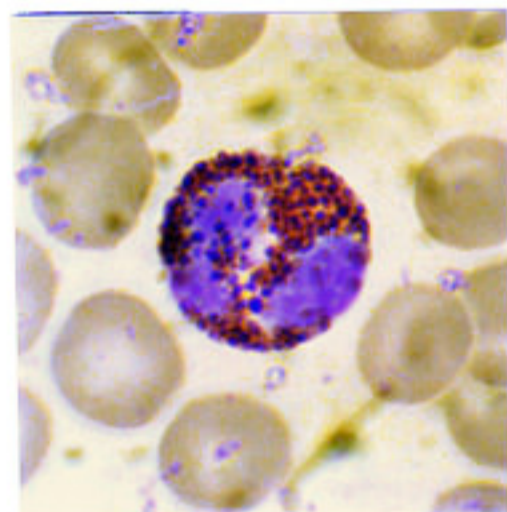
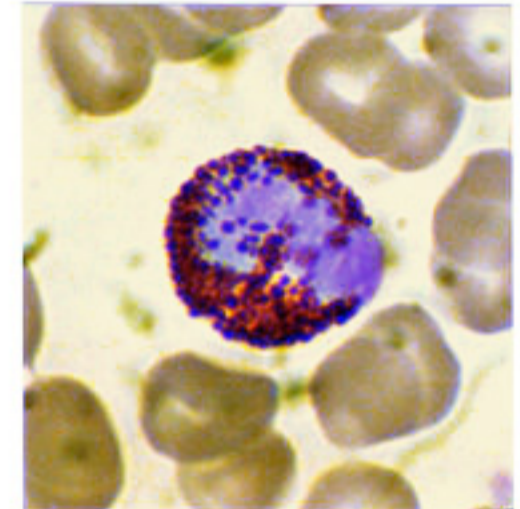
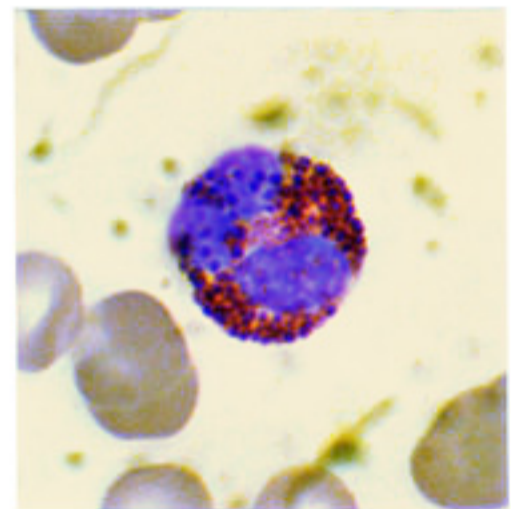
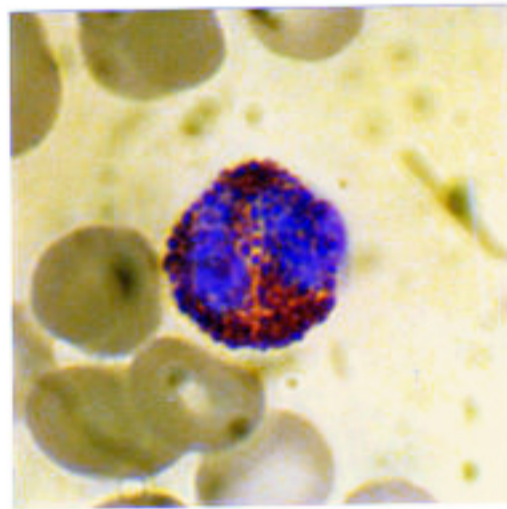
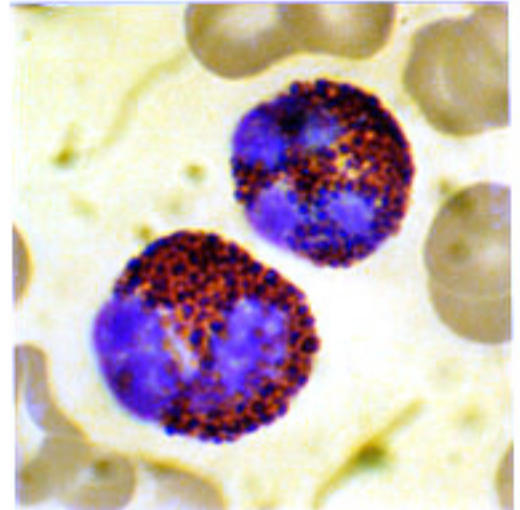
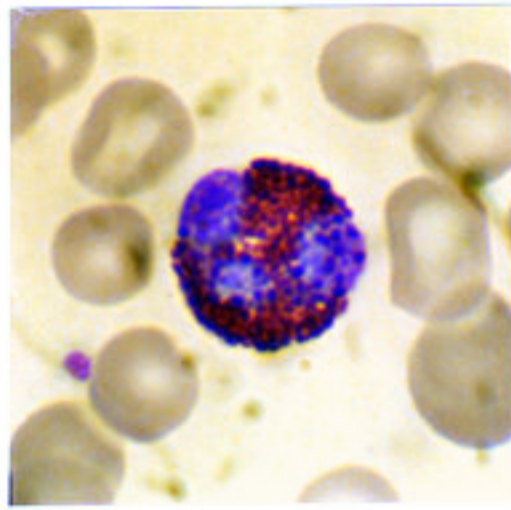
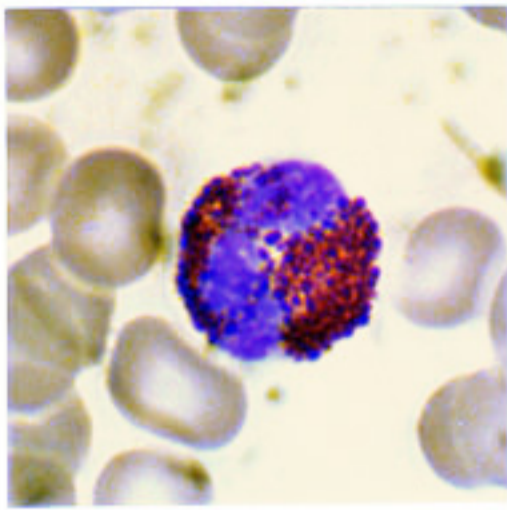
Pappenheim - Färbung 1850x  10 µm



Schrodt

# Basophile Granulozyten

Pappenheim - Färbung 1850x  $\longleftrightarrow$  10  $\mu$ m



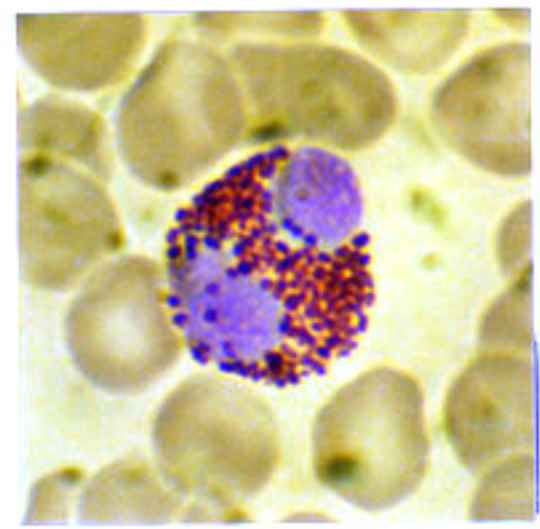
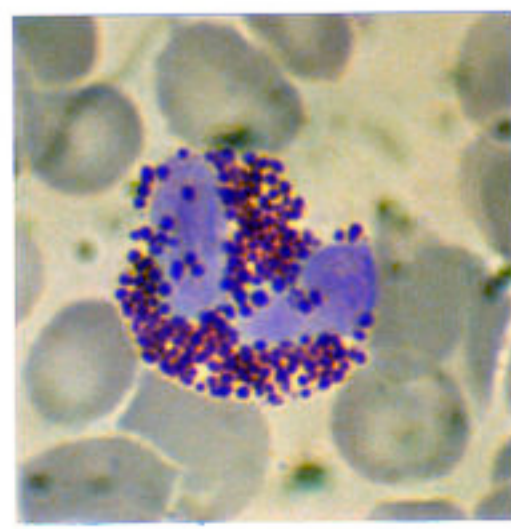
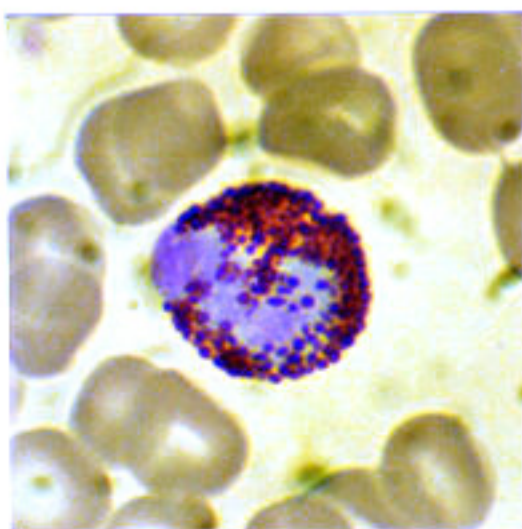
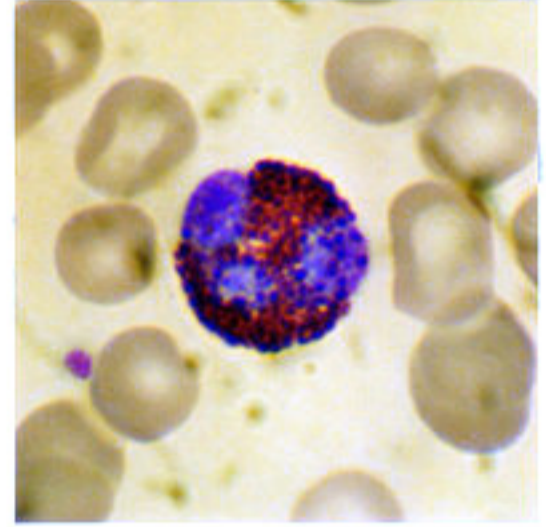
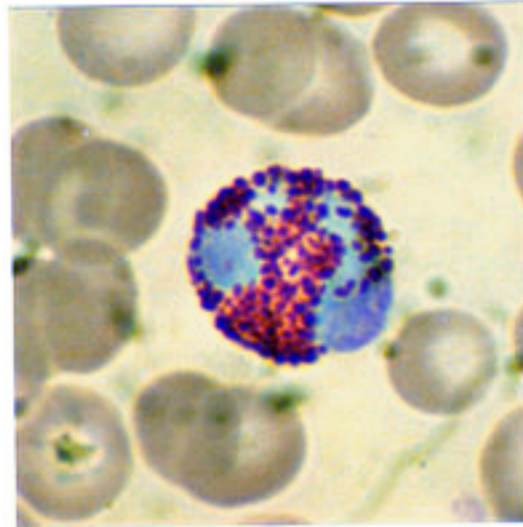
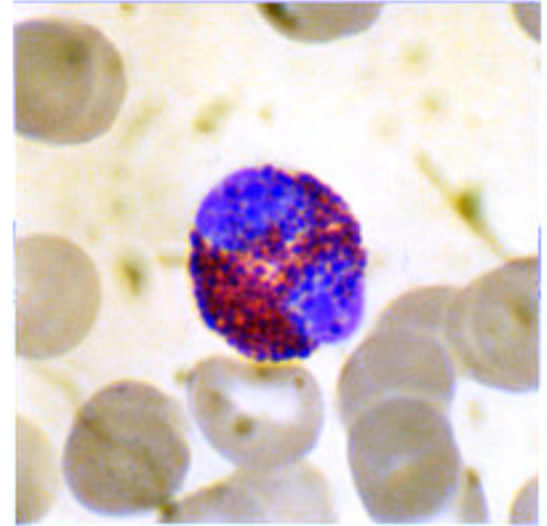
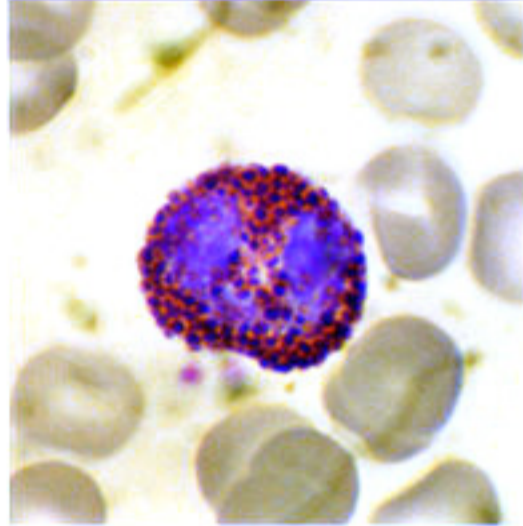
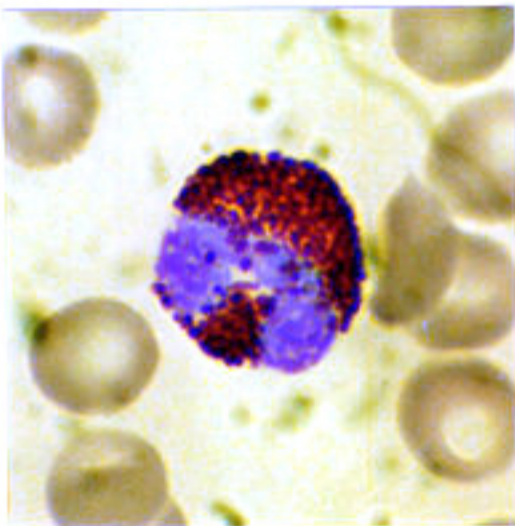
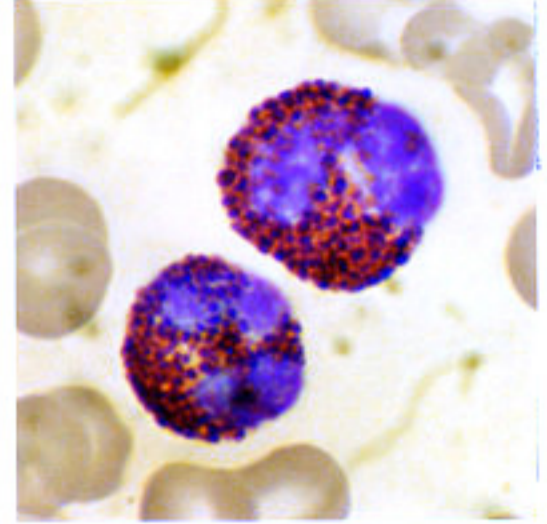
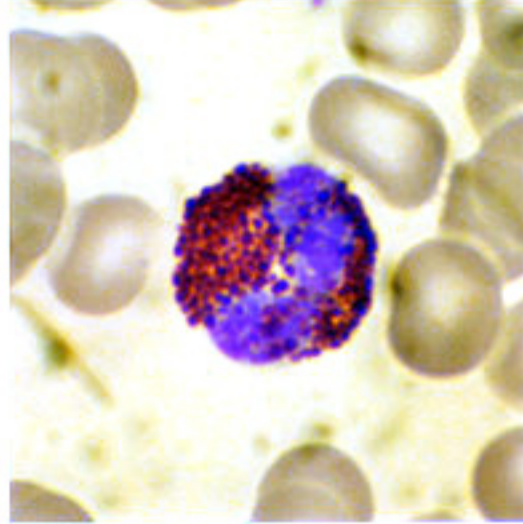
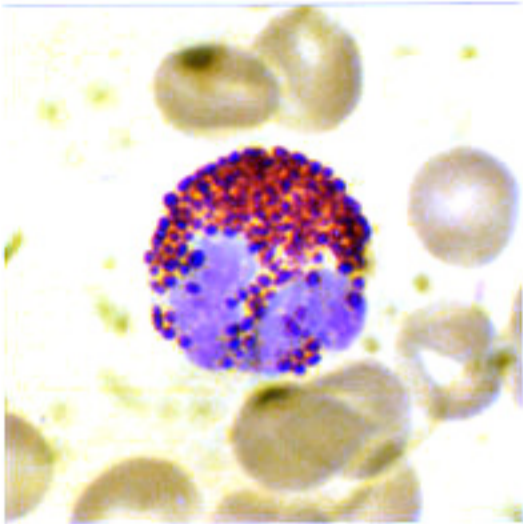
Schrodt

Basophile Granulozyten

1850 x

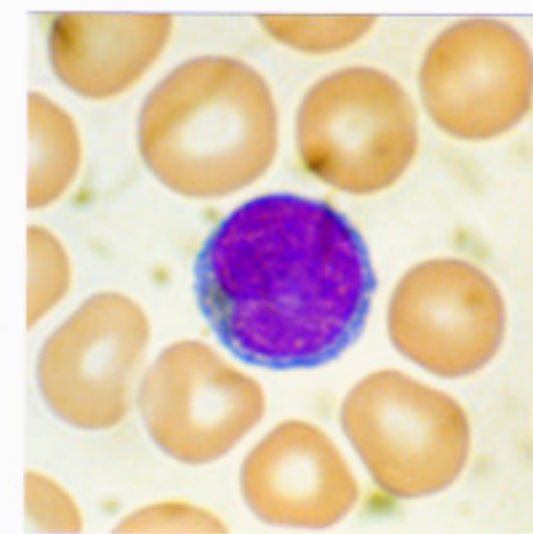
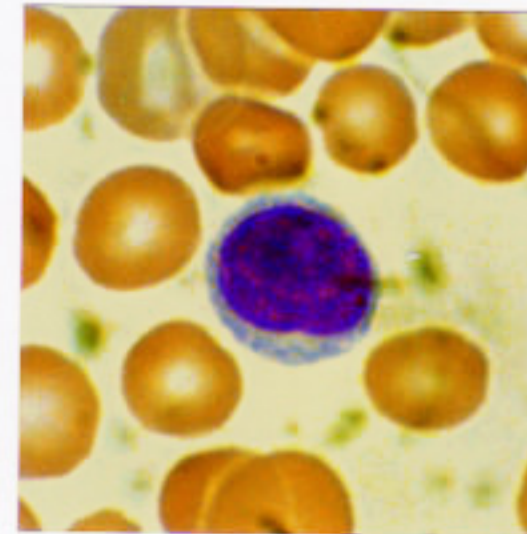
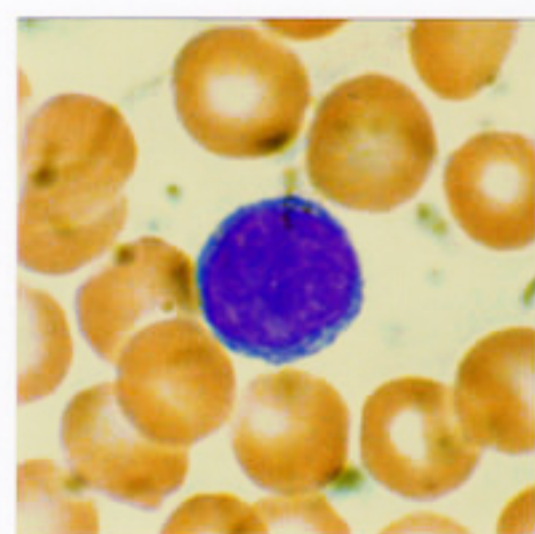
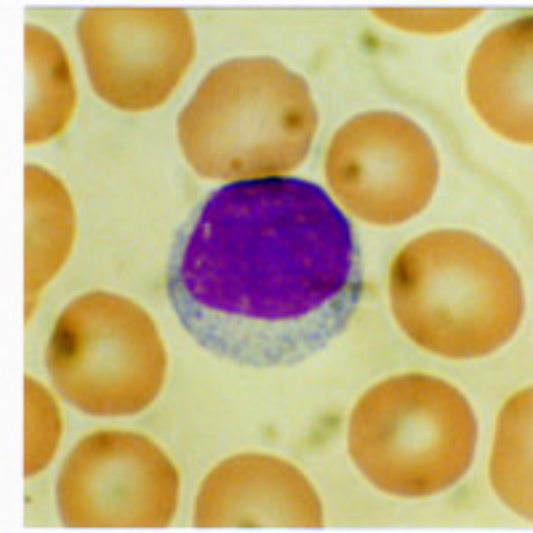
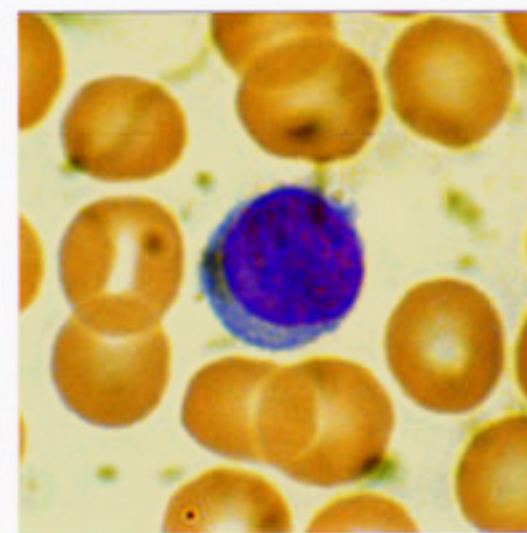
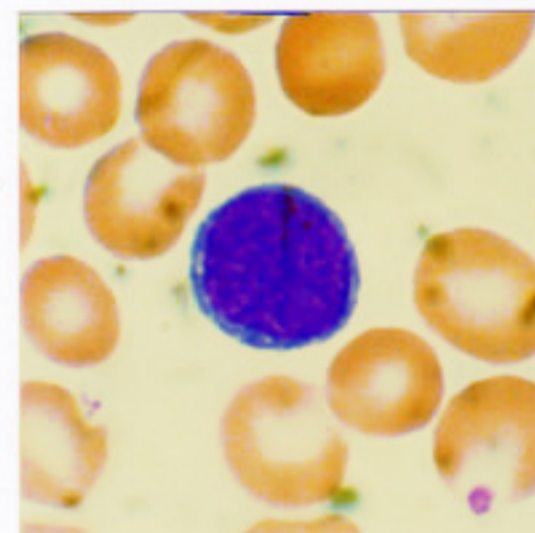
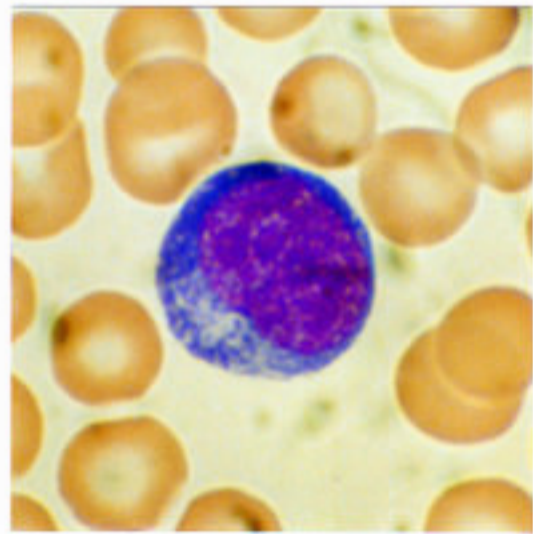
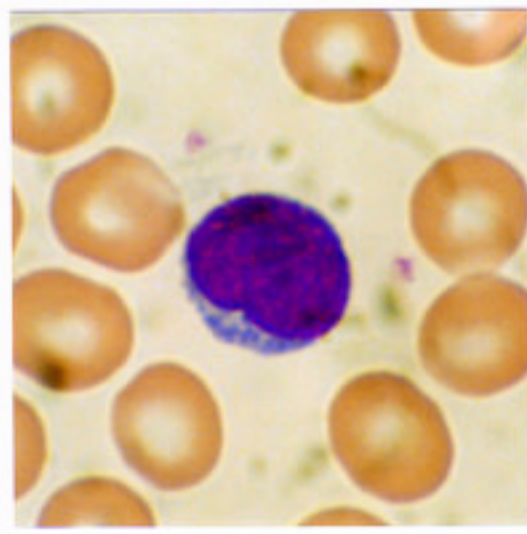
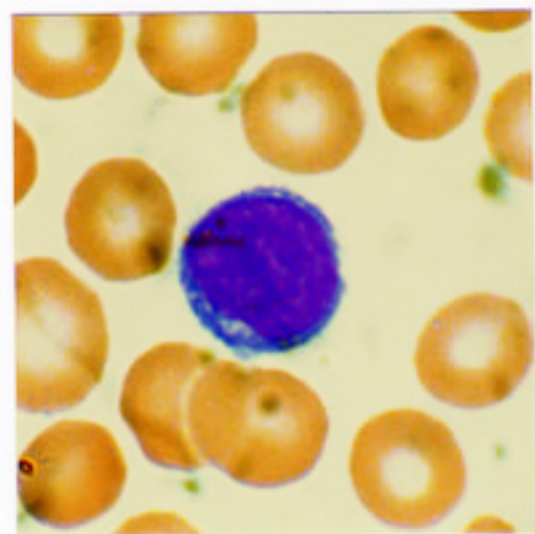
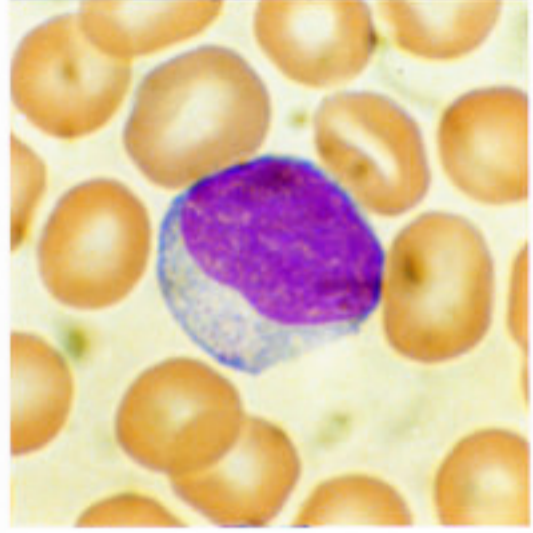
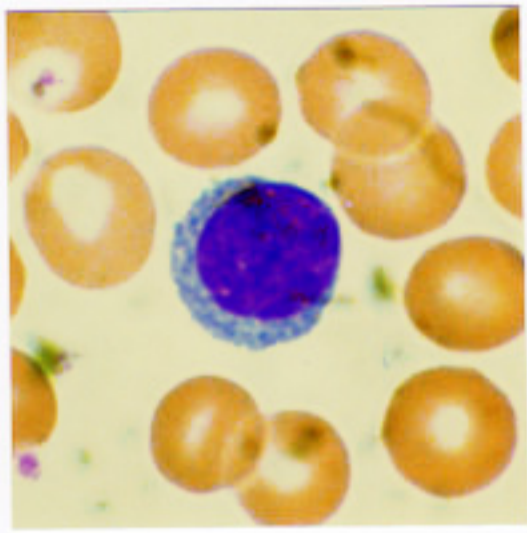
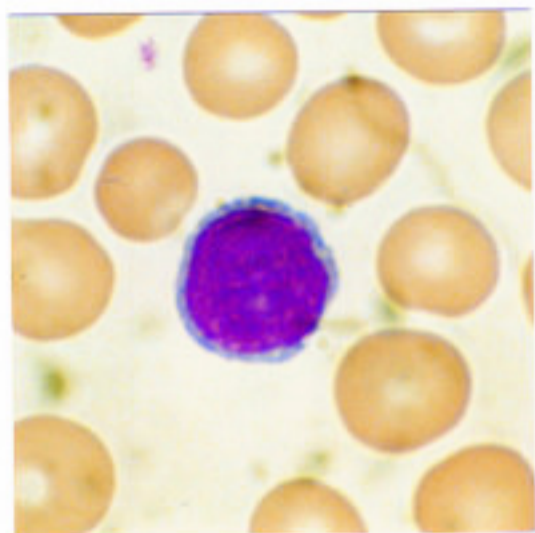


10  $\mu\text{m}$



Lymphozyten

1850 x      |-----|      10  $\mu$ m

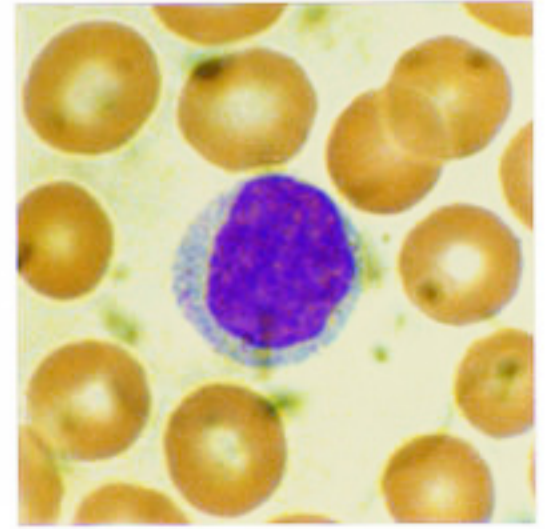
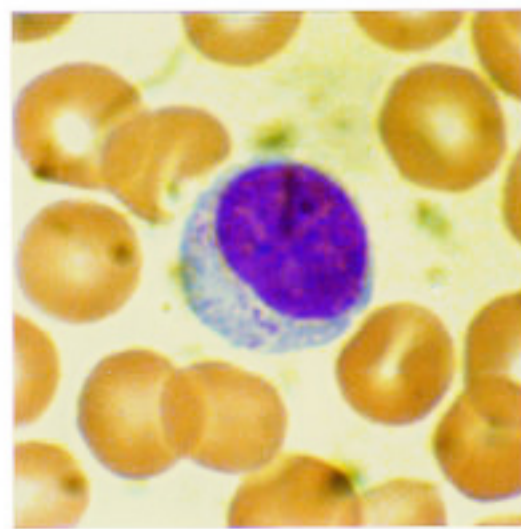
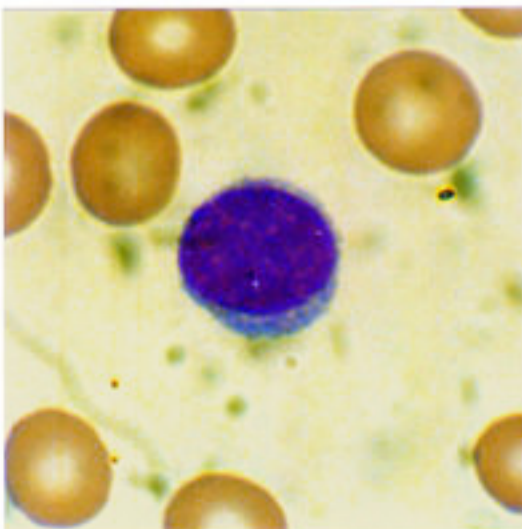
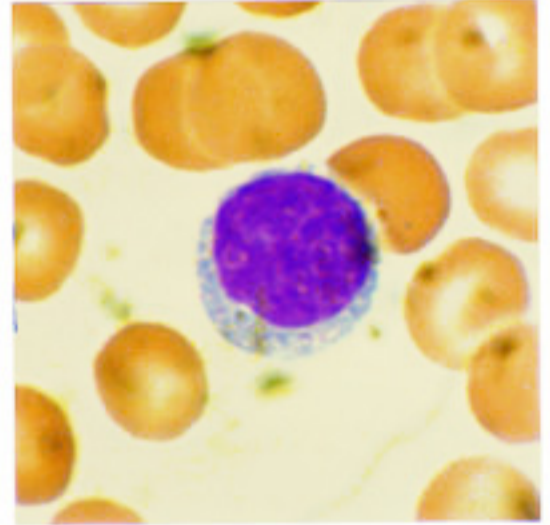
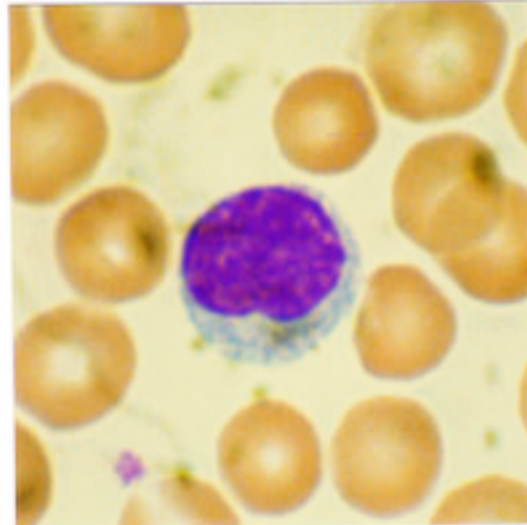
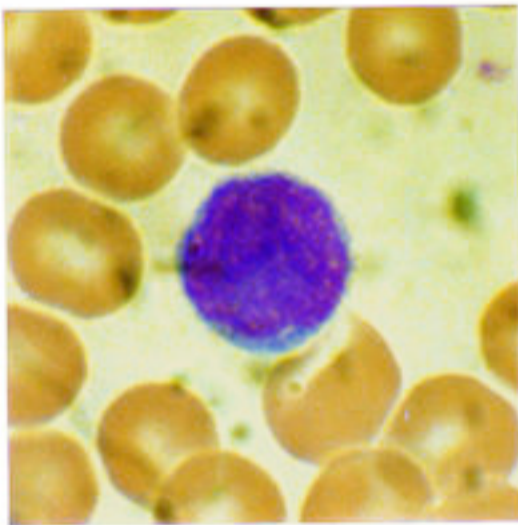
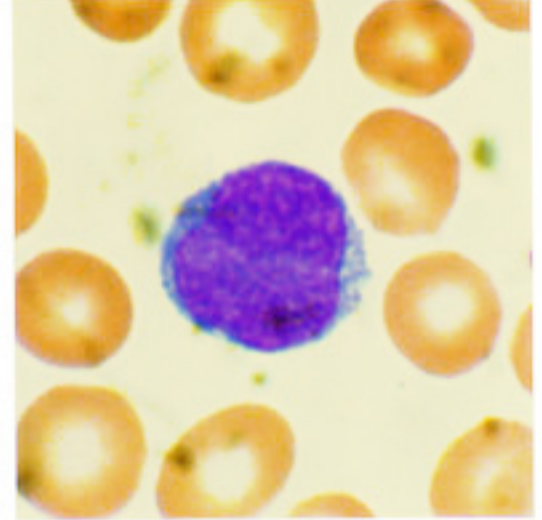
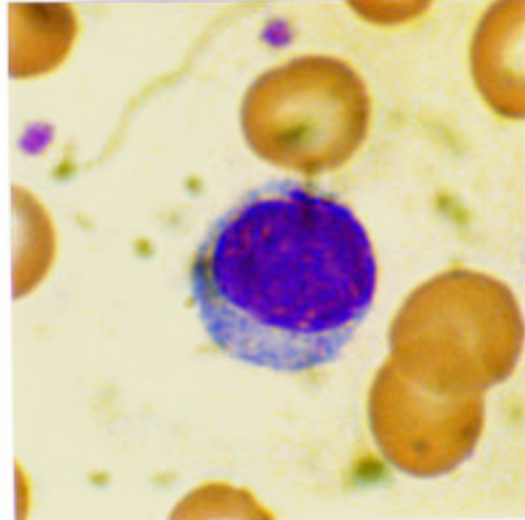
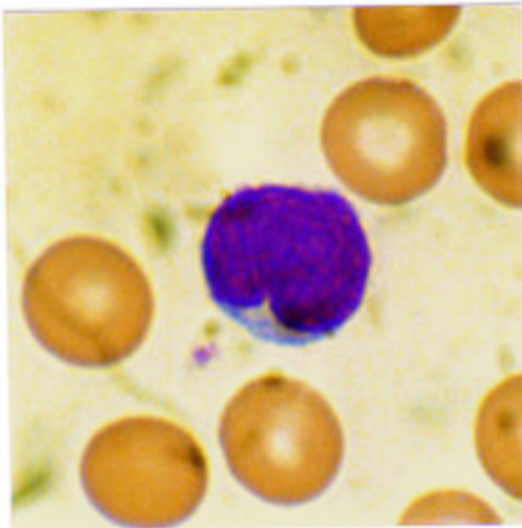
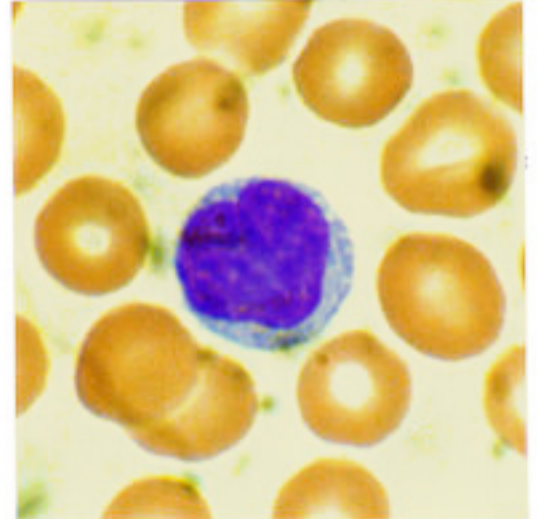
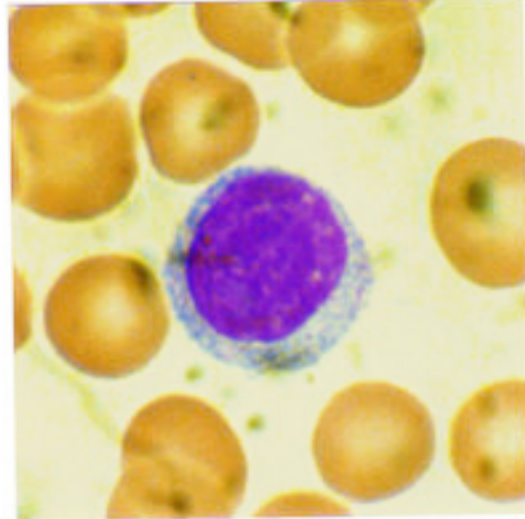
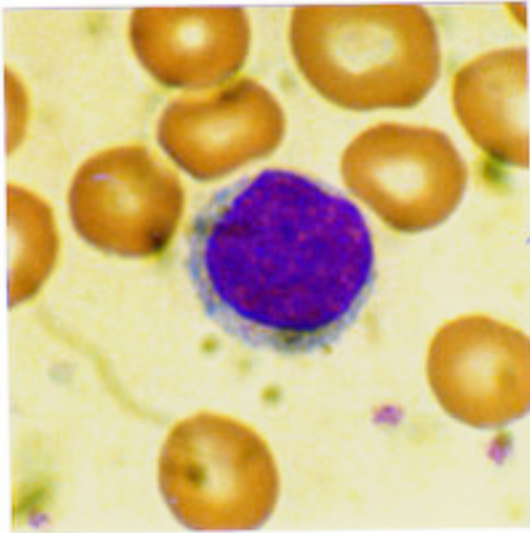


Lymphozyten

1850 x



10  $\mu$ m



Lymphozyten

1850 x



10  $\mu$ m

