

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 reizvoller 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 Blutausstrichen, Blutausstrich-Automat, Fixierung und Färbung von Blutausstrichen
- 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.**

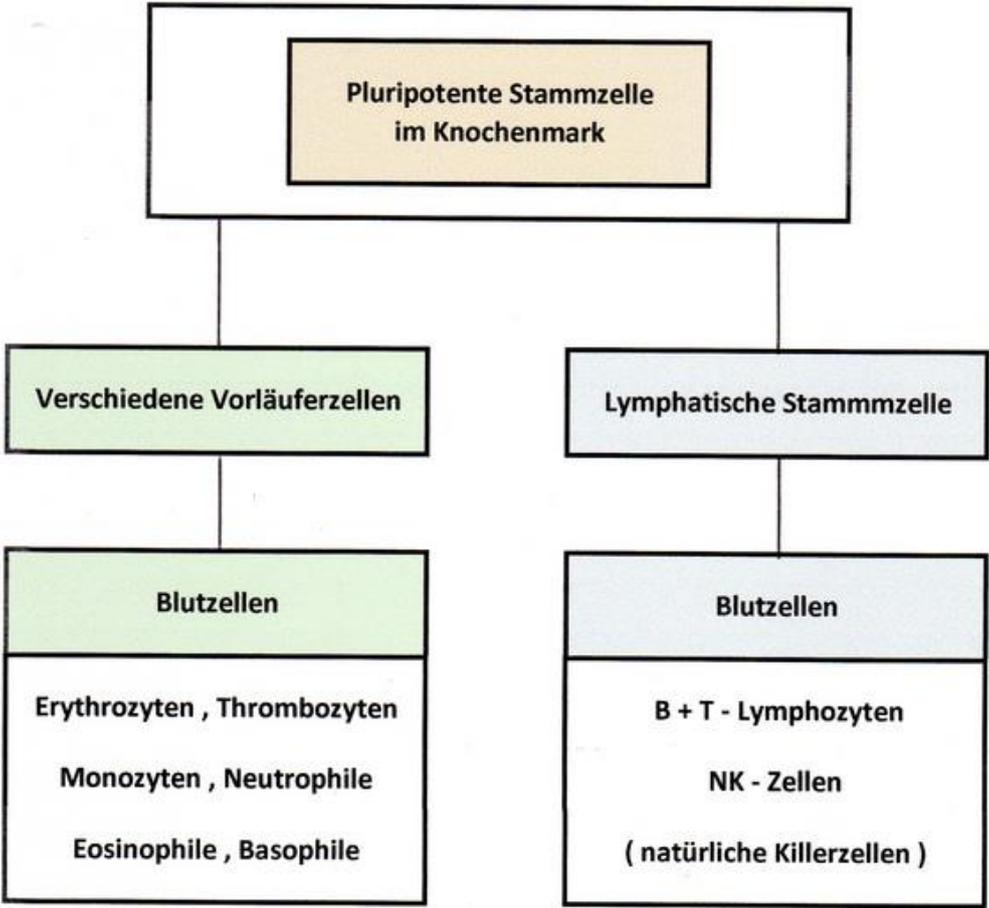
Mittlere Blutmenge des Menschen

ca. 8 % des Körpergewichtes

z.B. Körpergewicht 75 kg

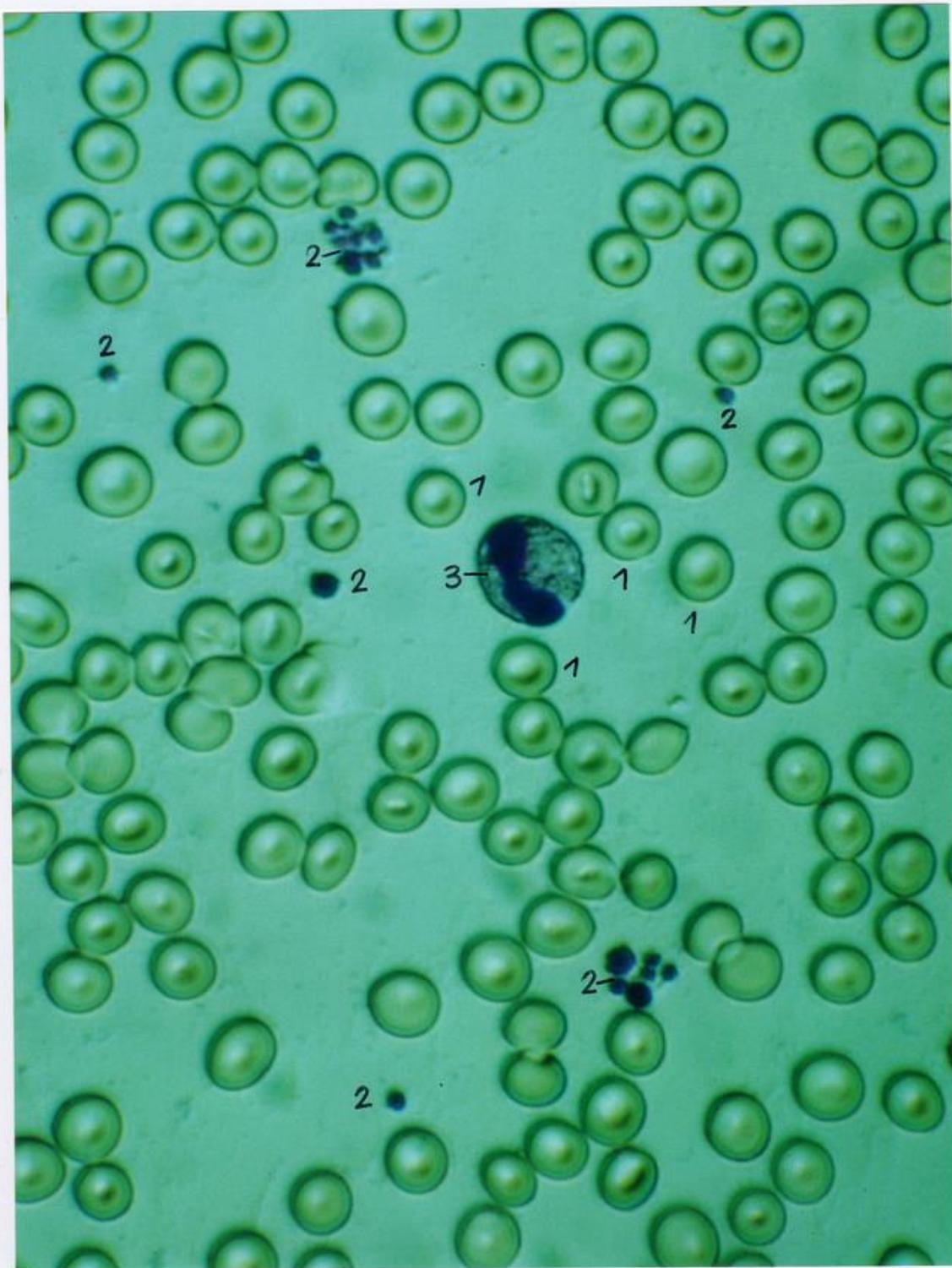
Blutmenge ca. 6 Liter

Blutbildung (vereinfachte Darstellung)



Blutausstrich , DIC , Sangodiff - Färbung , 1350 x , ---|--- 10 μm

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



Stabkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 x



10 μm = 0,01 mm



Segmentkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 X



10 μm = 0,01 mm

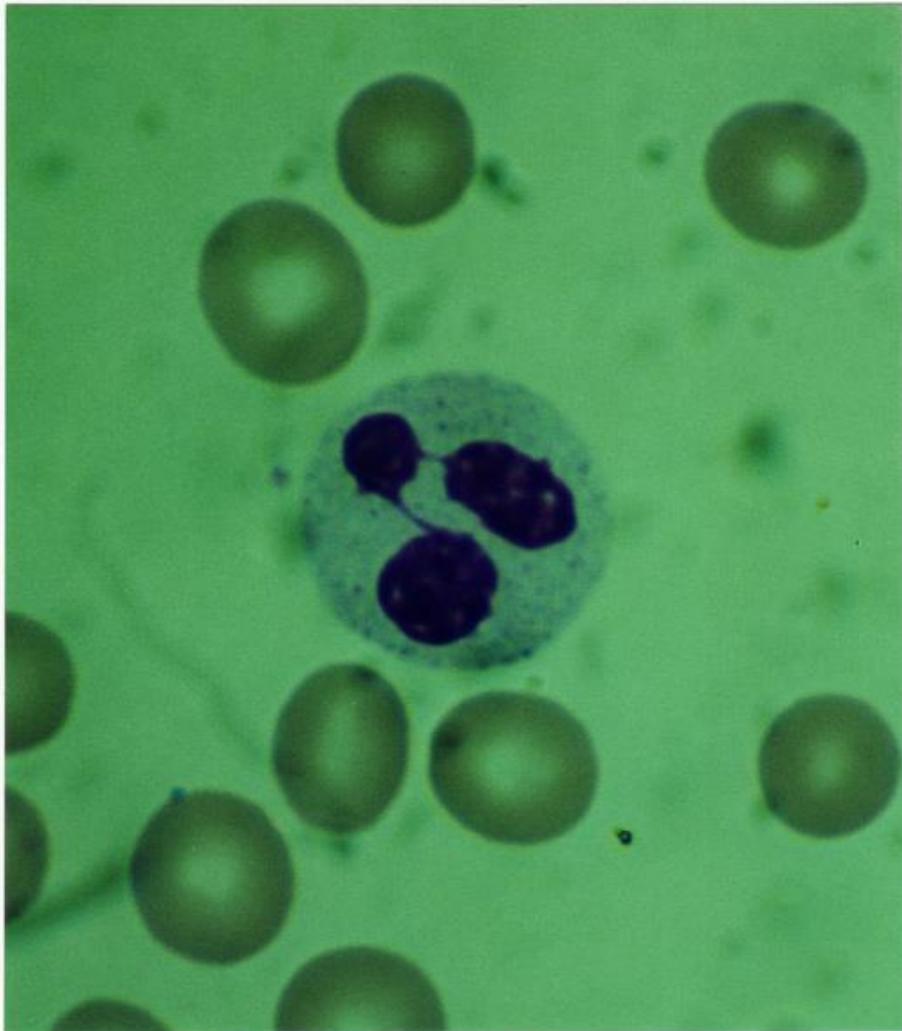


Segmentkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 x



10 μm = 0,01 mm



Segmentkerniger neutrophiler Granulozyt

3500 x



10 μm = 0,01 mm

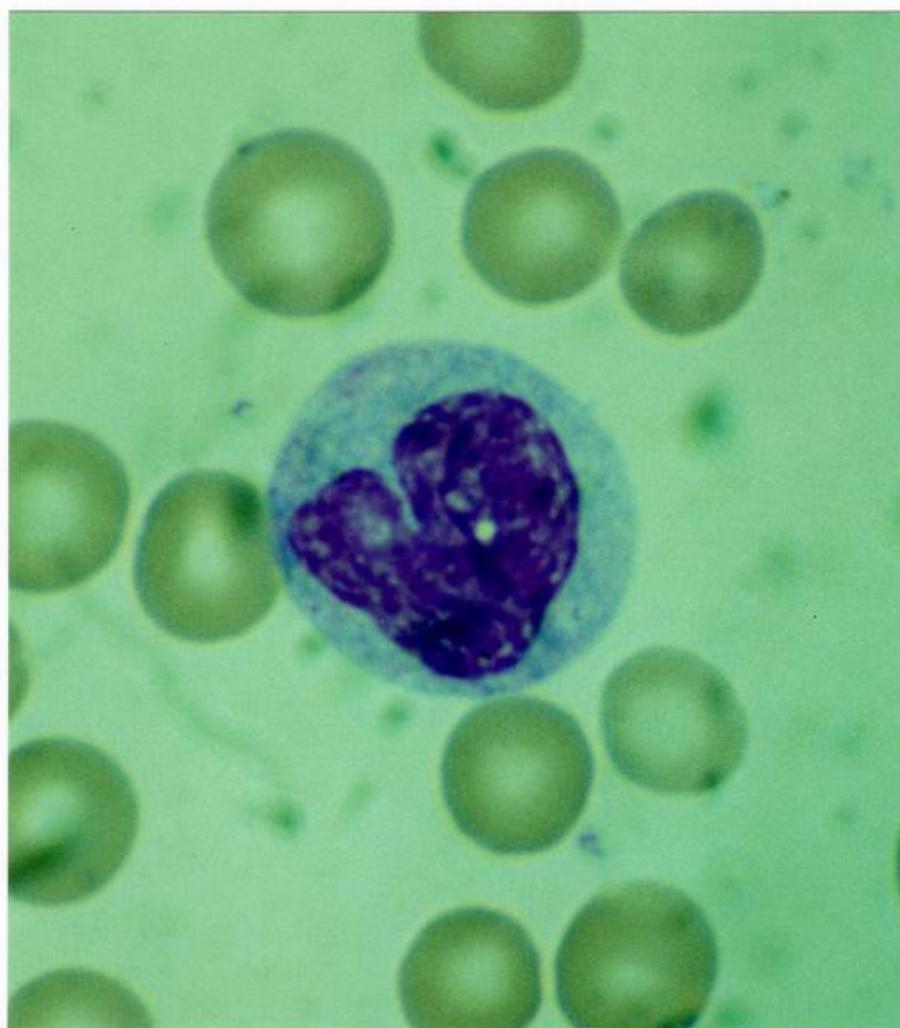


Monozyt

3500 X



10 μm = 0,01 mm



Eosinophiler Granulozyt

3500 x



10 μm = 0,01 mm

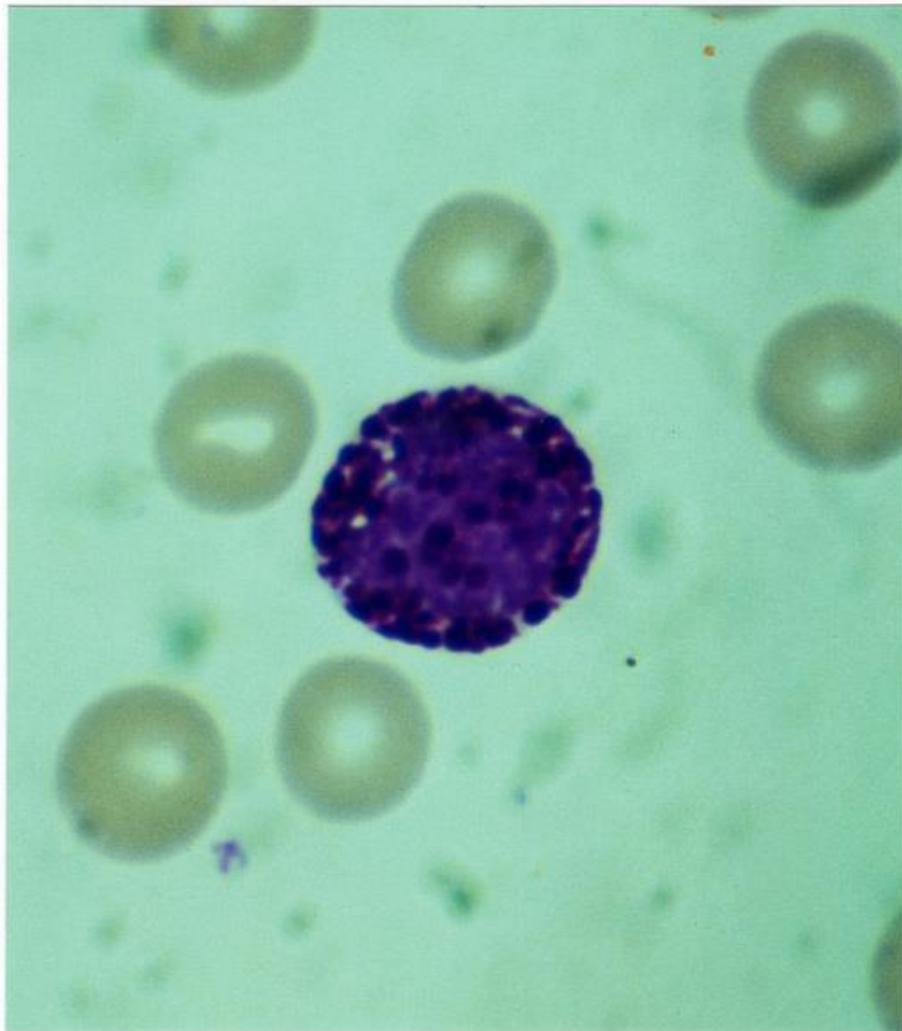


Basophiler Granulozyt

3500 x



10 μm = 0,01 mm

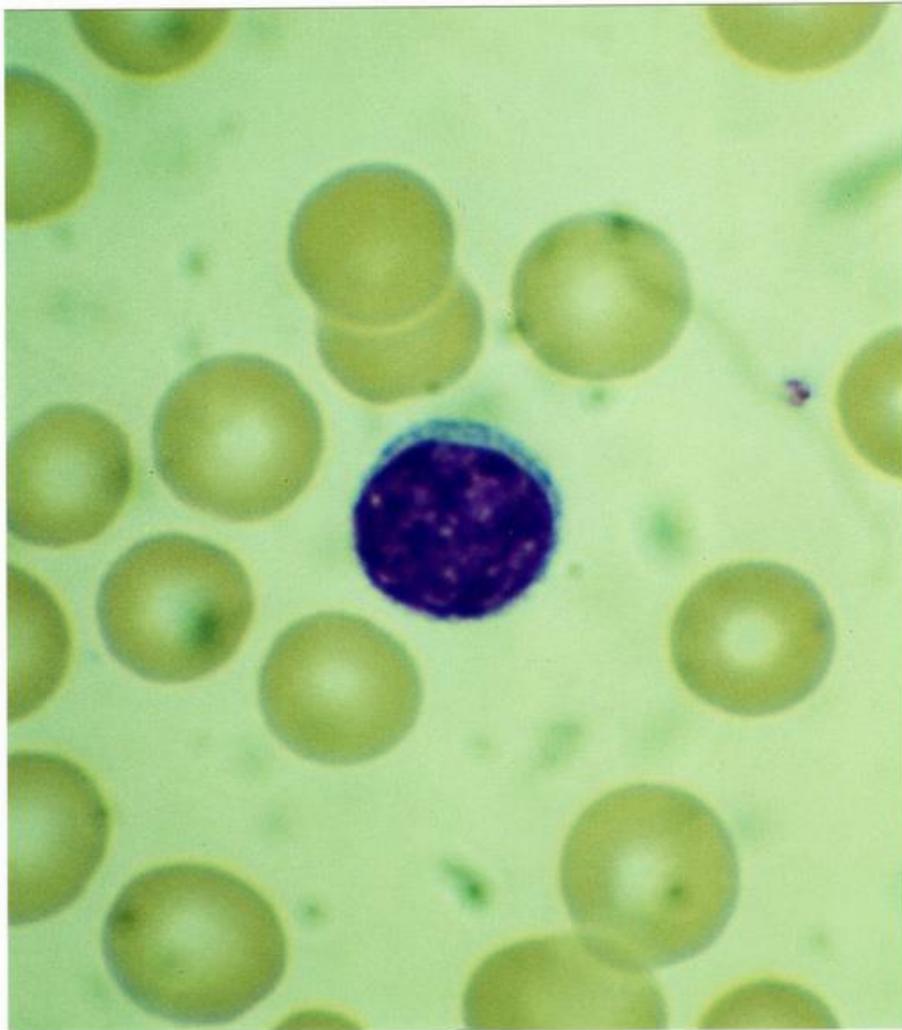


Kleiner granulaloser Lymphozyt

3500 x



10 μm = 0,01 mm

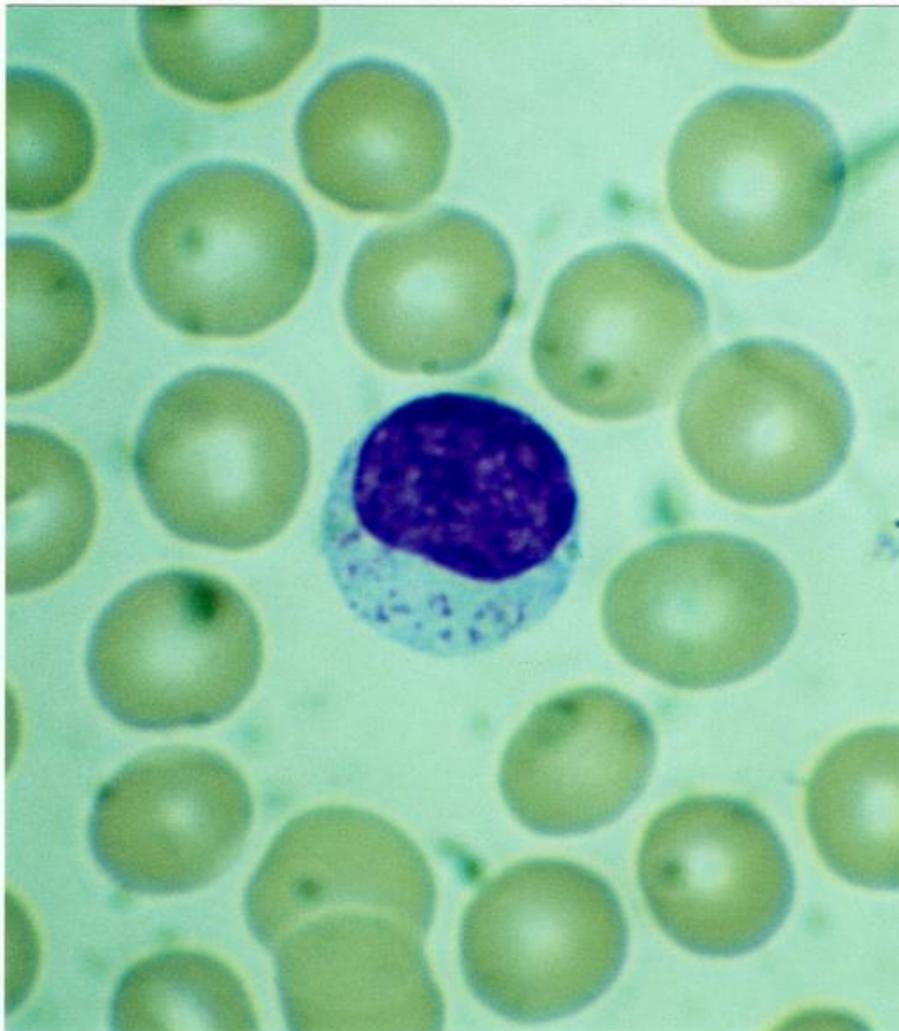


Großer Lymphozyt mit Azurgranula (NK-Zelle)

3500 X



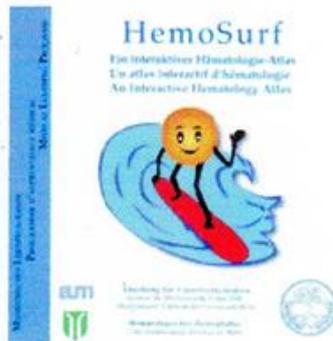
10 μm = 0,01 mm



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 !

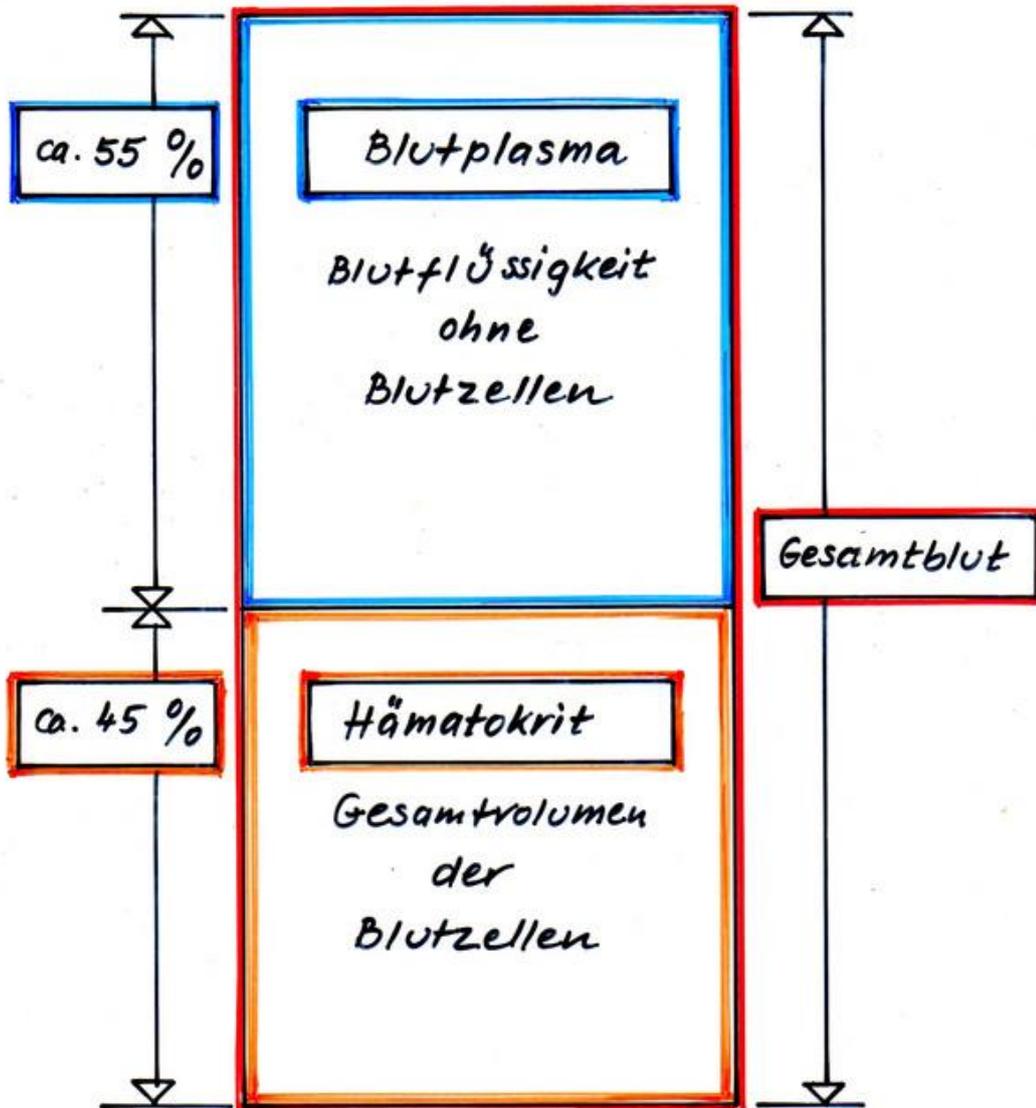
Die Bestimmung der Blutbildwerte erfolgt heute in vollautomatischen "Hämatologie-Straßen" nach dem Prinzip der Durchflusszytometrie, bei dem Zellen durch Bestrahlung mit Laserlicht und nachfolgender Detektion des Streu- und Fluoreszenzlichts quantifiziert und klassifiziert werden.

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

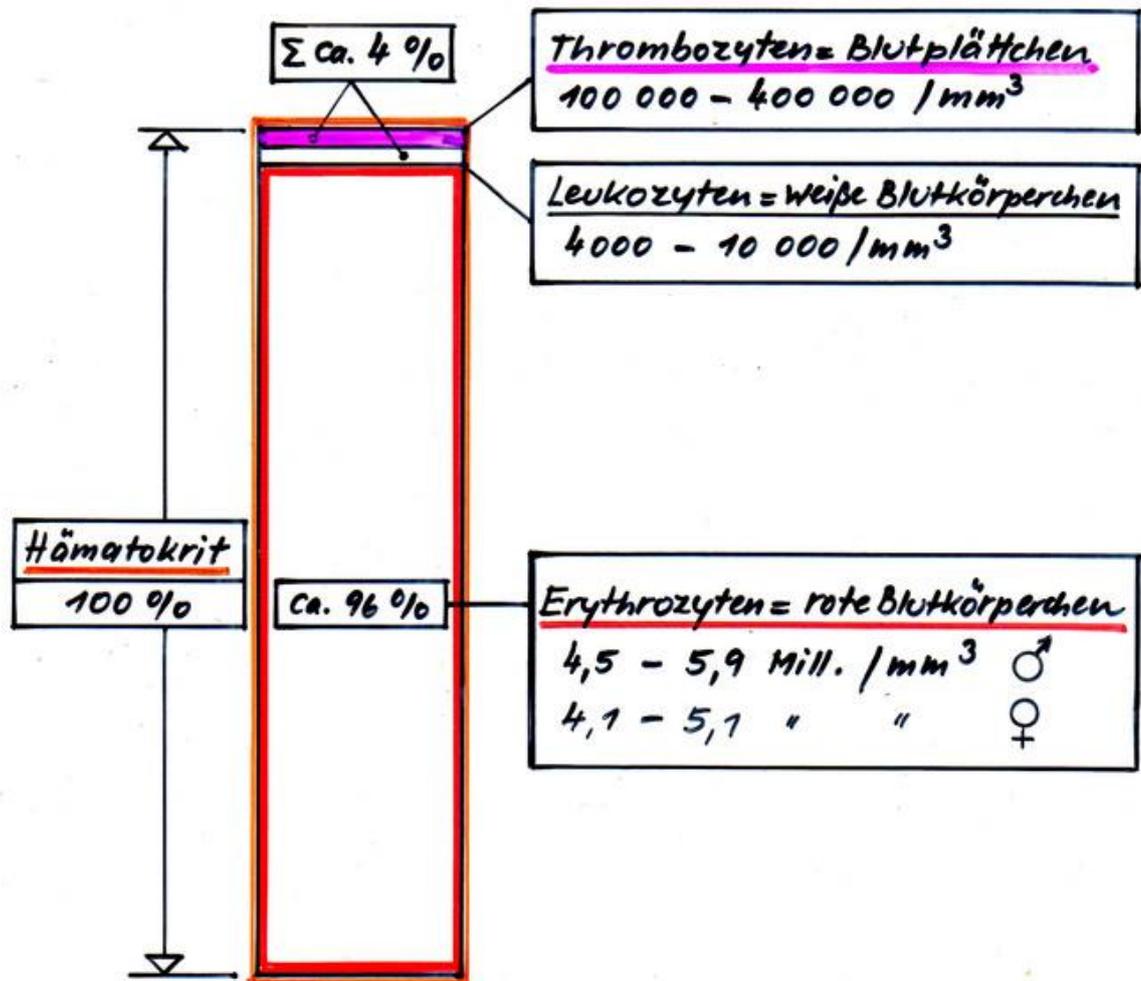
Detaillierte Aussagen über die Morphologie der Blutzellen können jedoch nur durch die Untersuchung eines Blutausstrichs erfolgen. Hierzu wird innerhalb der modernsten "Hämatologie-Straßen" mittels eines standardisierten Verfahrens selbsttätig ein Ausstrich auf einem Objektträger angefertigt. Die mikroskopische 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



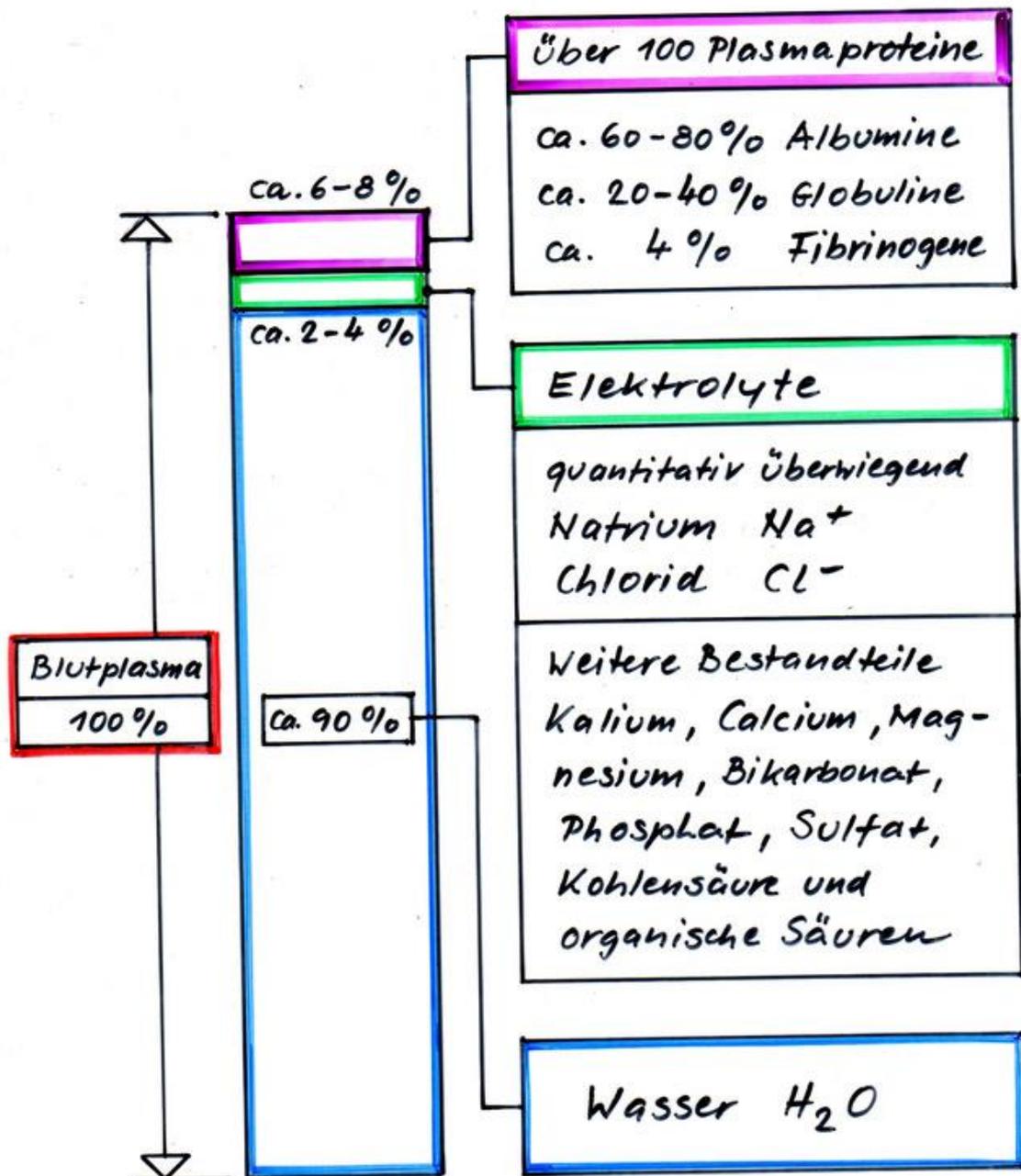
Zusammensetzung des Hämatokrits



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 ³ ○	♂ 4,5 - 5,9 ♀ 4,1 - 5,1
	<u>Hämatokrit</u> (Hk)	○ 38,3 % ○	♂ 36,0 - 48,2 ♀ 34,7 - 44,7
Erythrozyten- indizes	<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 ³	4000 - 10000
3	<u>Thrombozytenzahl</u>	○ 213 000/mm ³	100 000 - 400 000

Ergebnis: Leichte (hyperchrome) makrozytäre Anämie!

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

p = piko = 10¹² te Teil = 1 Billionstel

f = femto = 10¹⁵ te Teil = 1 Billionstel

Großes Blutbild

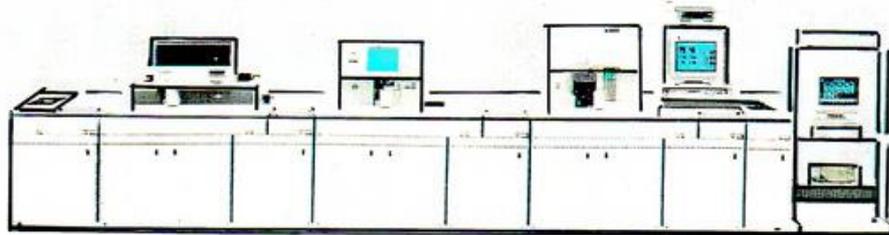
Kleines Blutbild + Differentialblutbild

Weißes Blutbild	IST-WERT (alle Einheiten)	Referenz- bereich
Leukozytenzahl	○ 4500/mm ³	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 Straße

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 Dunkelfelduntersuchung, 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 Blutaussstrichautomaten 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.

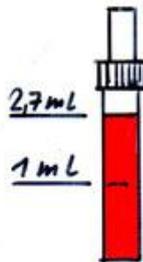
Wenn eine größere Zahl von Blutaussstrichen mit "optimaler Färbung" hergestellt werden soll, ist jedoch die Serienfärbung nach "Pappenheim" zweckmäßig.

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 (α -Naphthyl-Butyrat-Esterase), Saure Phosphatase-Färbung, Periodic-Acid-Schiff (PAS)-Färbung.

Blutentnahme

Venenblut



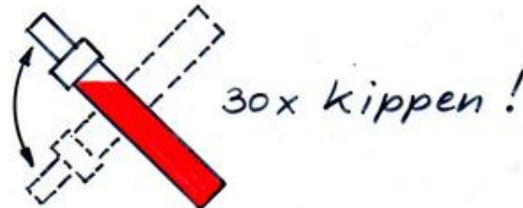
Blutbildröhrchen

mit EDTA - antikoaguliertem Blut

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

Mischen

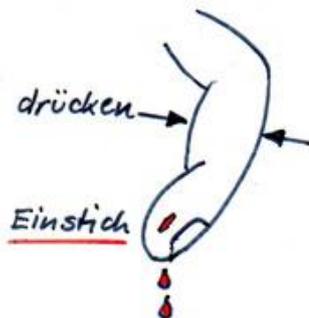
Vor jeder Probeentnahme durch
30 x Kippen schonend mischen.



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

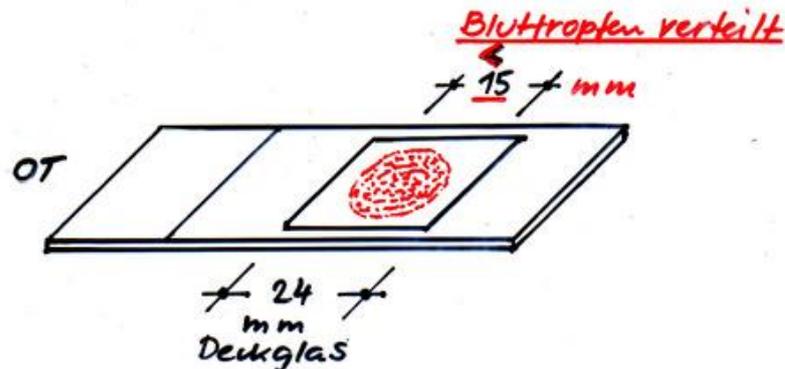
Blutentnahme: Finger am Mittelglied
oben und unten durch drücken kurz
stauen, 1. Bluttröpfchen mit trockenem
Tupfer wegwischen, 2. Bluttröpfchen
mit Pipette entnehmen oder direkt auf
den Objektträger geben. Einstichstelle
mit trockenem Tupfer abwischen und
mit Pflaster abdecken.

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 Randschluß haben.



Objektträger - Methode

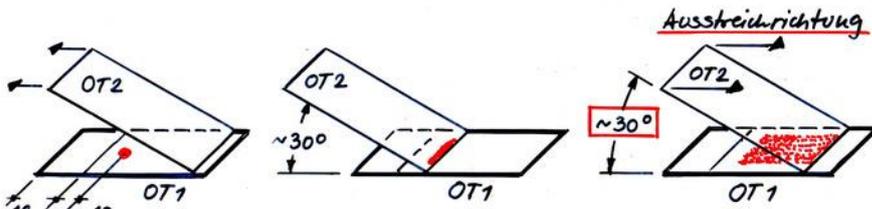
2. Blutropfen aus der Fingerbeere mit einem Objektträger aufnehmen oder mit Pipette abnehmen und auf Objektträger übertragen und sofort mit einem Deckglas 24x24 mm eindecken. Weitere Randbedingungen wie bei Deckglas-Methode.

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

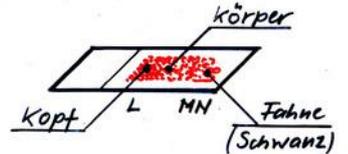


Blutropfen
auf Objektträger
OT1 bringen

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.

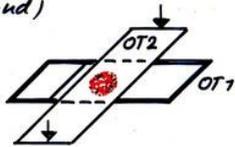
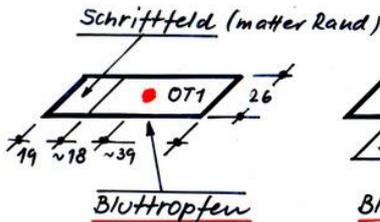
Ausstreichrichtung auch von rechts nach links üblich!

Herstellung von Blutausstrichen mit der „Squash-Methode“

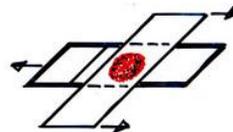
Blutropfen
auf Objektträger
(OT1 76x26mm) bringen

2. Objektträger (OT2)
ohne Druck auf
OT1 auflegen

vor vollständiger Aus-
breitung des Blutropfens
beide Objektträger
schnell auseinanderziehen

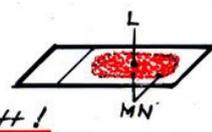


Blutropfen
breitet sich aus



← →
Zugrichtungen

fertiger
Blutausstrich



off!

L = Anreicherung von
Lymphozyten im Zentrum
MN = Anreicherung von
Monozyten und
Neutrophilen
am Rand

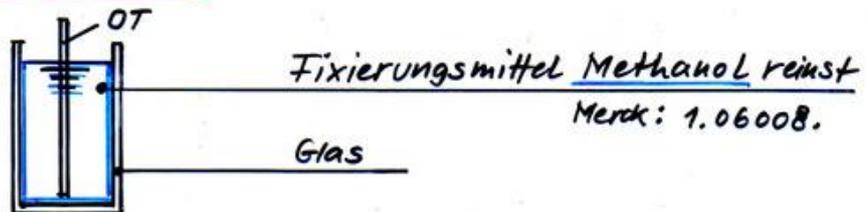
Variante: Objektträger längs überlappend!

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

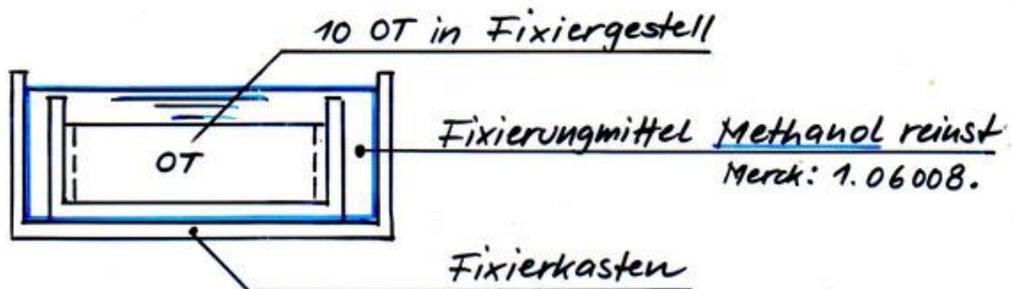
Fixierung von Blutausstrichen

- 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. Gelbfärbung) 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.

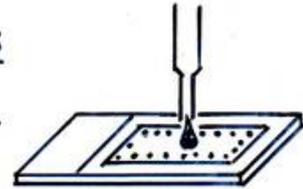
Höchste Ansprüche

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

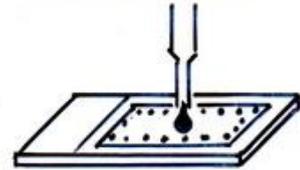
Spezialfärbungen

Blutausstrich - Schnellfärbung nach WRIGHT

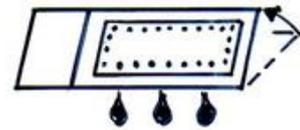
- ① Genau horizontal liegenden luftgetrockneten Blutausstrich mittels Pipette mit 1ml WRIGHTS-Lösung überschichten



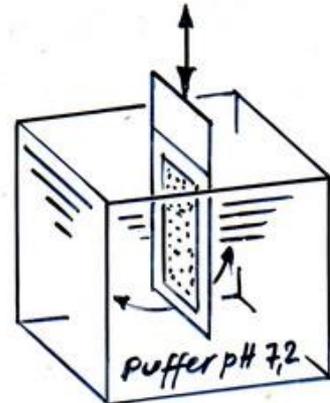
- ② Nach 1 min mittels Pipette mit 1 ml Pufferlösung pH 7,2 überschichten



- 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



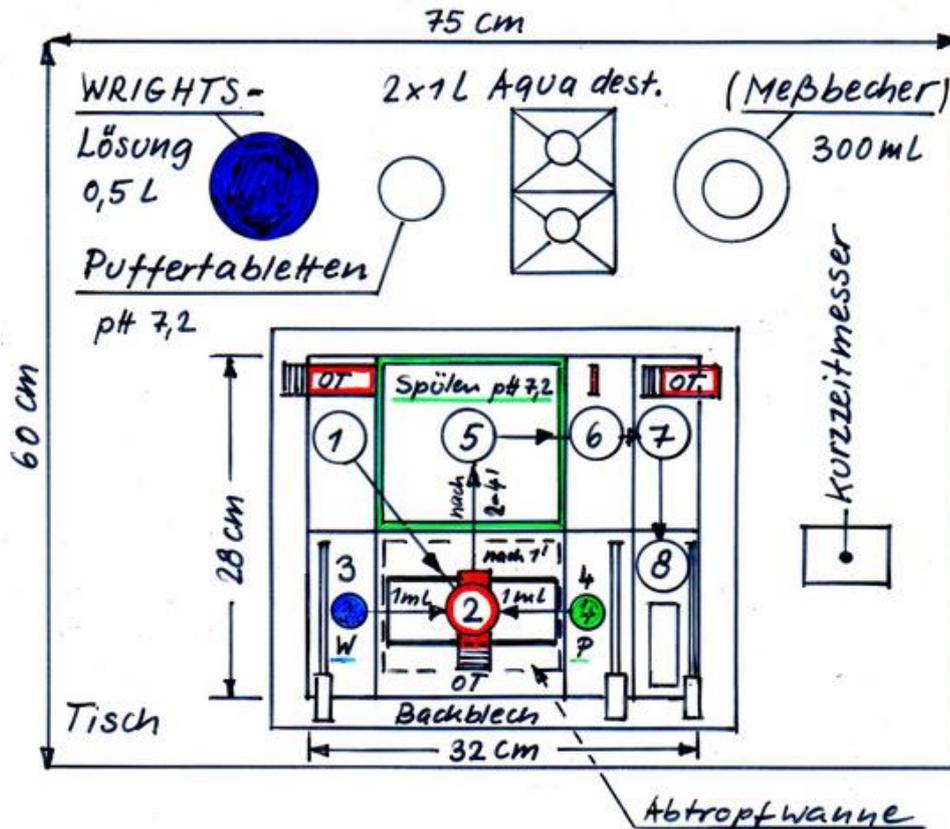
- ⑤ Dann senkrecht über OT-Schmalseite abtropfen lassen oder beidseitig auf Fließpapier drücken

- ⑥ Blutausstrich schrägstehend lufttrocknen

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

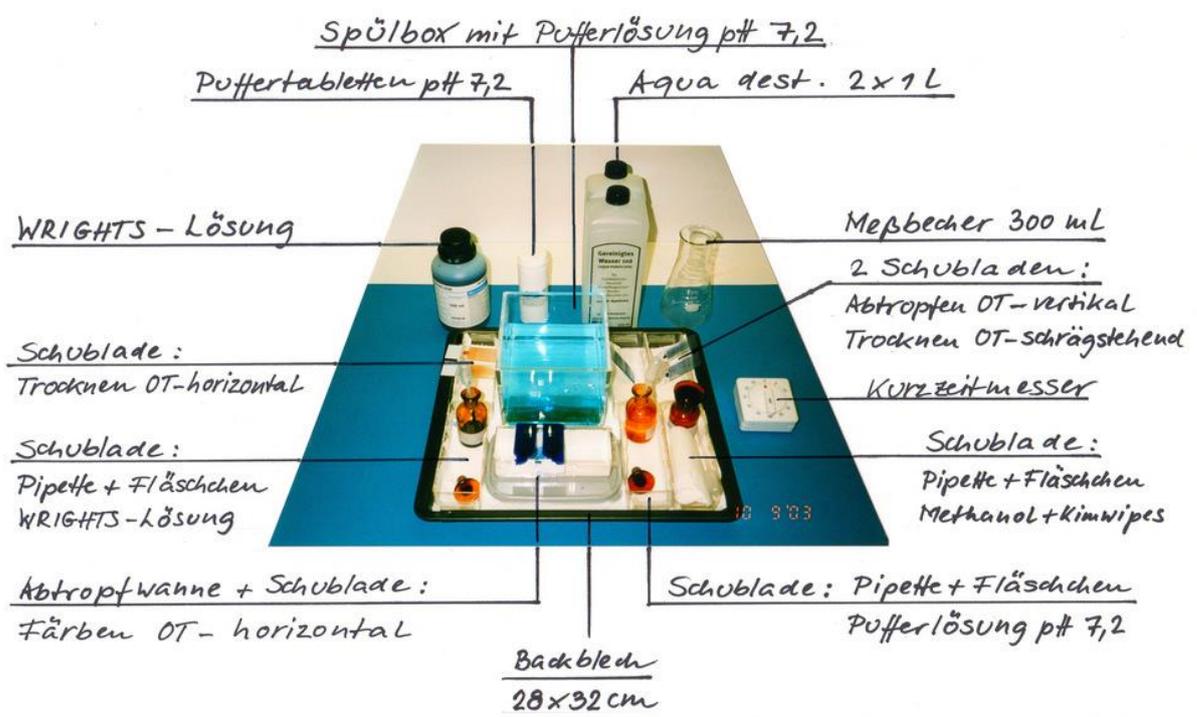


Arbeitsplatzplan
Blutausstrich - Einzelfärbung
nach WRIGHT

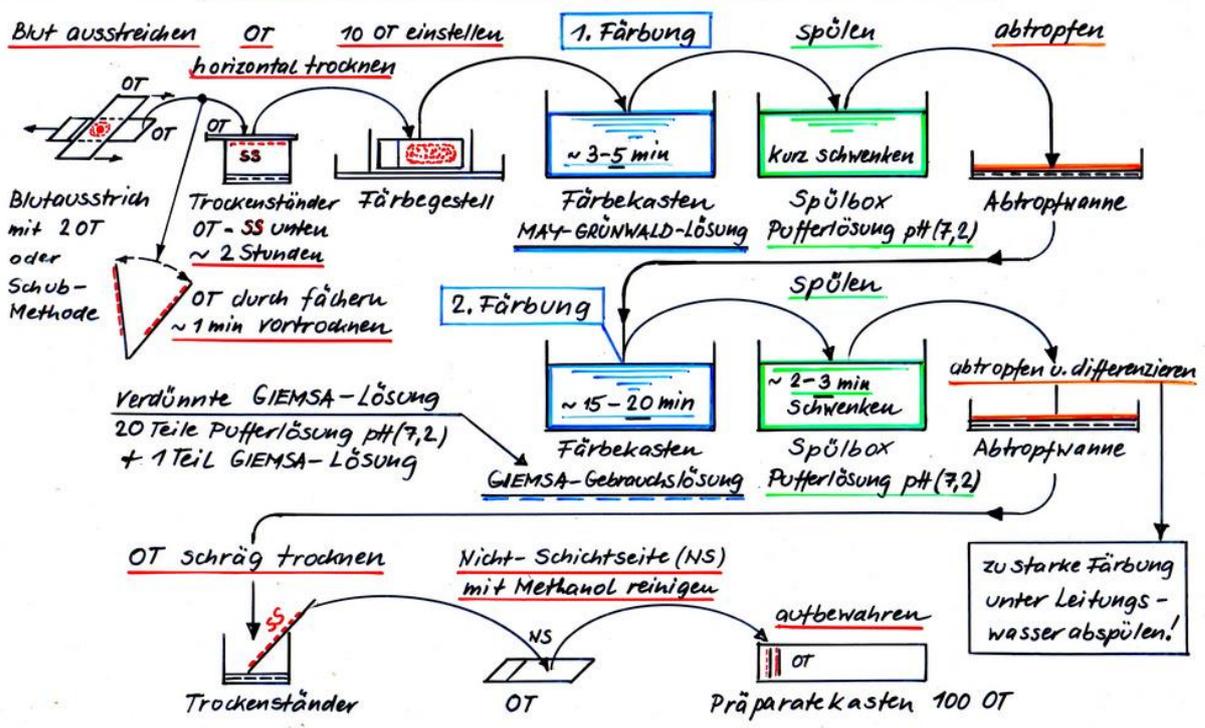


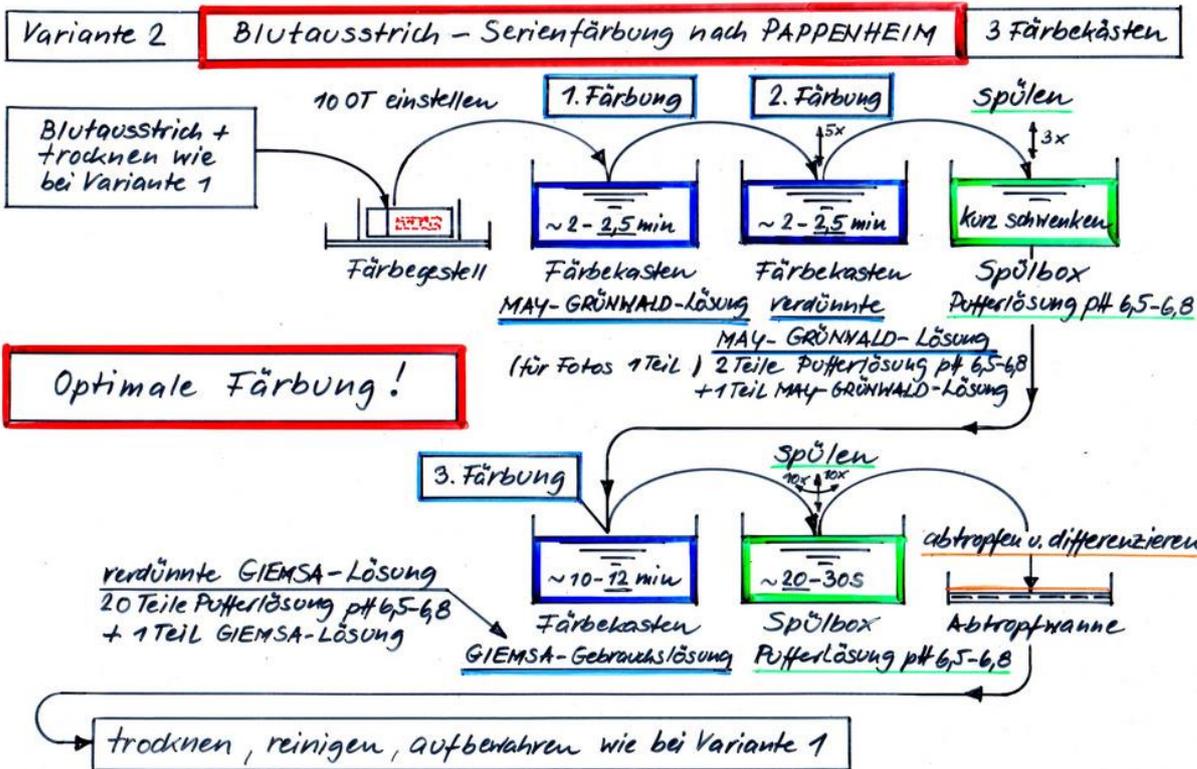
- | | |
|--|--|
| ① Schublade: Trocknen
OT - horizontal | ⑤ <u>Spülbox mit</u>
<u>Pufferlösung</u> |
| ② Schublade: Färben
OT - horizontal | ⑥ Schublade: Abtropfen
OT - vertikal |
| ③ Schublade: Pipette +
<u>Fläschchen WRIGHT</u> | ⑦ Schublade: Trocknen
OT - schrägstehend |
| ④ Schublade: Pipette +
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

Arbeitsplatz für Blutausstrich-Einzel-färbung nach WRIGHT



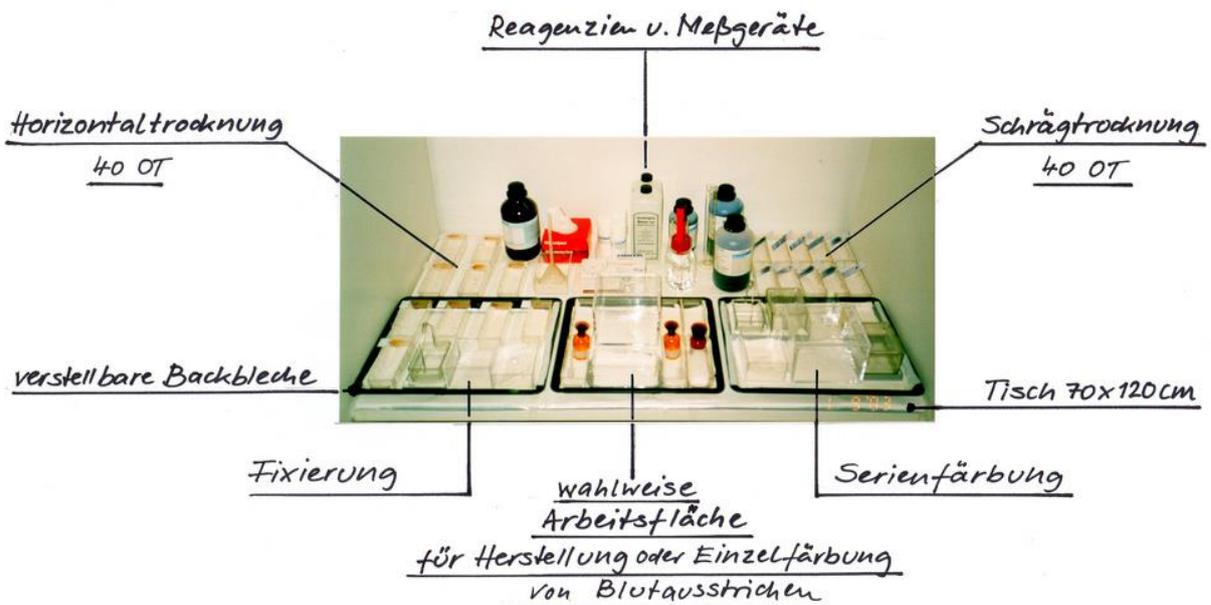
Variante 1 Blutausstrich - Serienfärbung nach PAPPENHEIM 2 Färbekästen





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

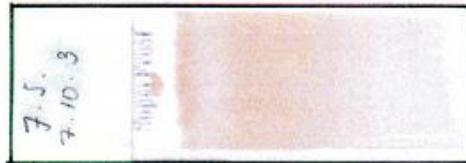
2 Bildtafeln : Basophile Granulozyten

3 Bildtafeln : Lymphozyten

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

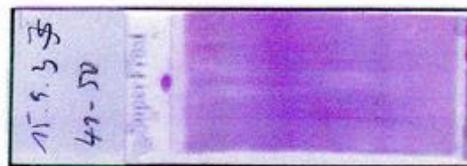
Blutausstriche

Fixierter Blutausstrich



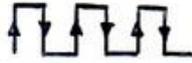
Blutausstrich - Herstellung mit Schub-Methode
Fixierung nach 4 Stunden Lufttrocknung
Fixierung mit Methanol
Fixierungsdauer 10 Minuten
Trocknung an der Luft auf Trockenständer

Gefärbter Blutausstrich



Pappenheim - Färbung
mit 3 Färbetrogen 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  mäanderförmig
- 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

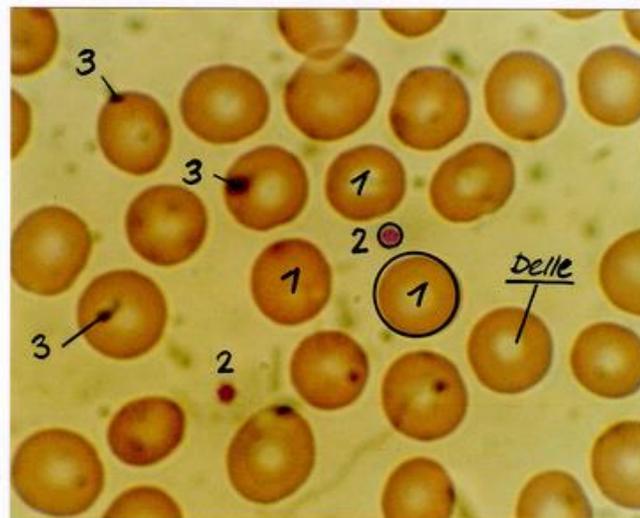
1850x



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.

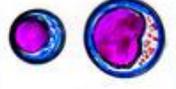


① Erythrozyten ② Thrombozyten

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 ϕ •
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 Färbetöpfe

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

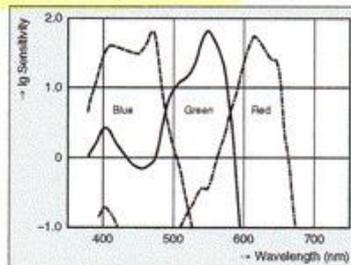
Der preisgünstige Agfa vista 100 Farbnegativ-Amateurfilm (Consumer Film, 3,50 € für 36 Bilder) ist für mittleres Tageslicht mit einer Farbtemperatur von 5500 Kelvin abgestimmt. Die Mikroskop-Halogen-Glühlampe 12 V 700 W hat bei 11,5 V ungefähr eine Farbtemperatur von 3300 Kelvin. Das Ausgleichen der 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 Lympho- u. Monozyten	grau blau	grau
Untergrund	grauweiß	gelbgrün

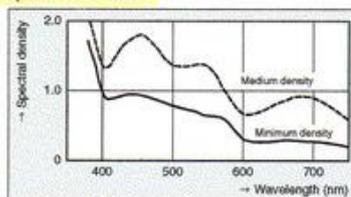
Wichtige Filmdaten " Agfa Vista 100 "

Agfa Vista 100

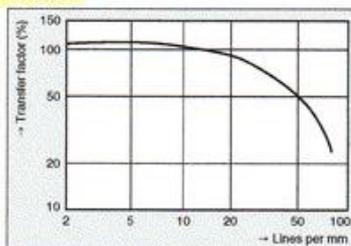
Spektrale Empfindlichkeit:



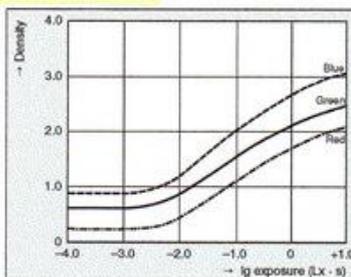
Spektrale Dichte:



Schärfe:



Farbdichtekurven:



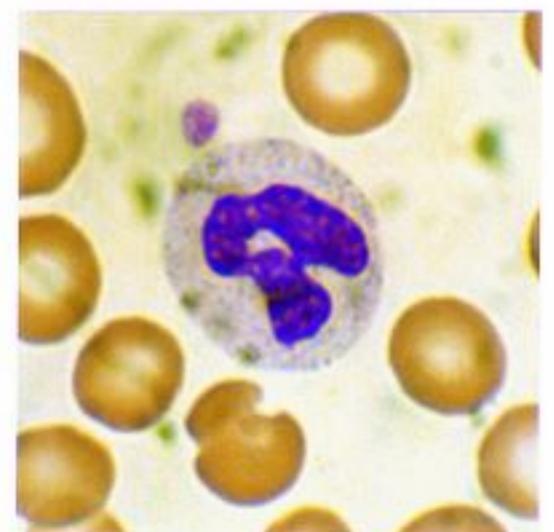
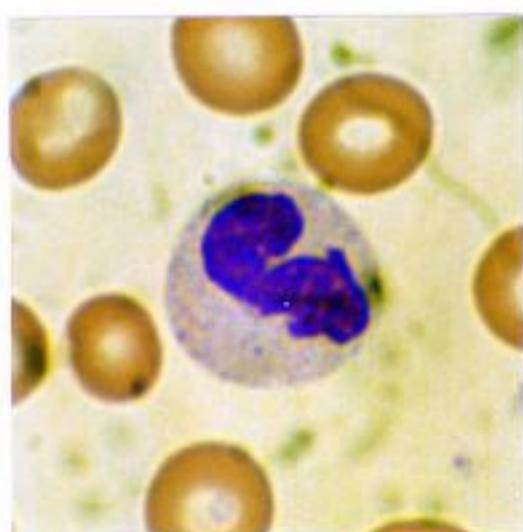
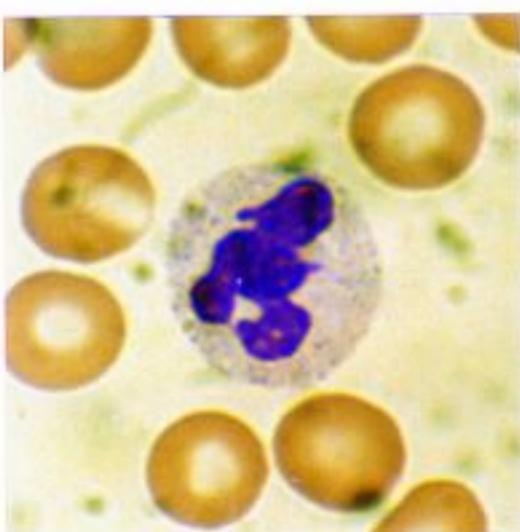
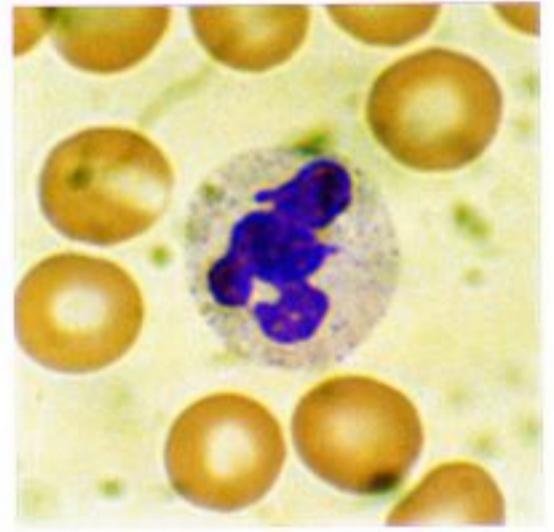
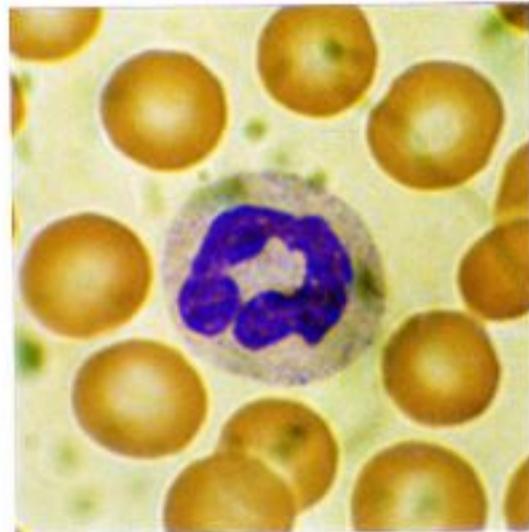
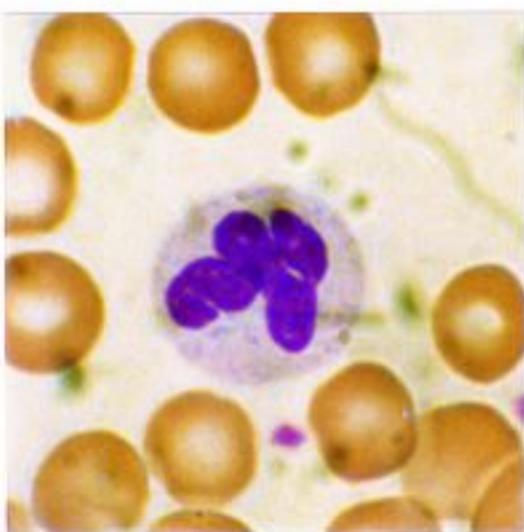
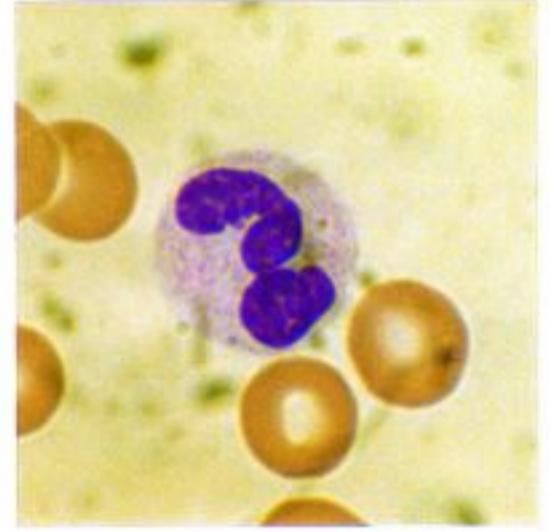
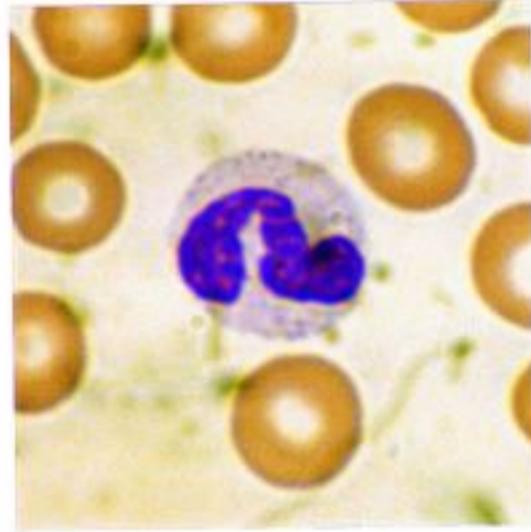
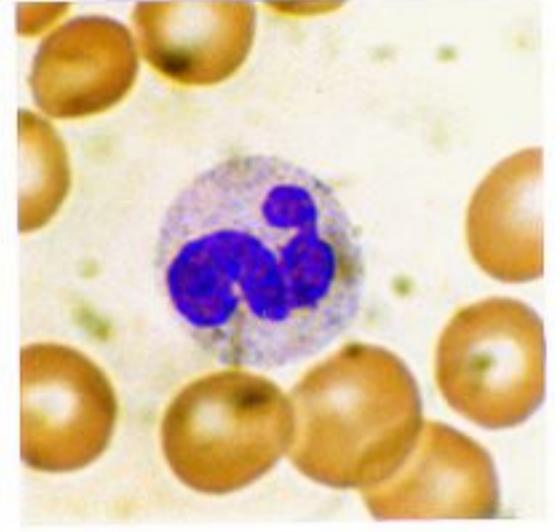
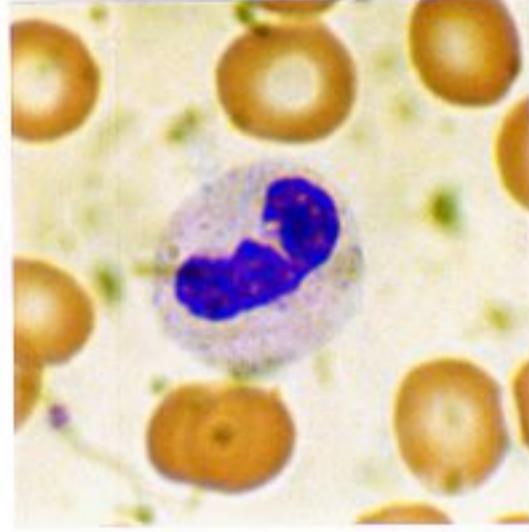
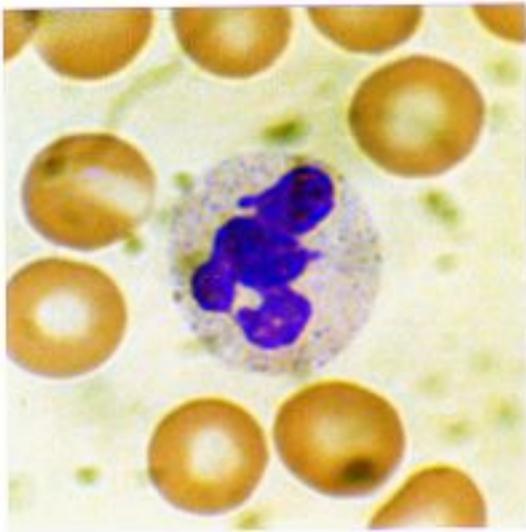
Empfindlichkeit:	ISO 100/21°
Körnigkeit (x 1000):	RMS 4.0
Auflösungsvermögen:	
Kontrast 1000 : 1	130 Linien/mm
Kontrast 1.6 : 1	60 Linien/mm
Belichtungsspielraum:	-1½ bis +3½ Blenden
Schichtdicke:	17 µm
DX-Codierung:	
Patronen-Code:	135-12 = 01819 1
	135-27 = 01819 7
	135-36 = 01819 4
Negativ-Code:	113 - 11
Weitere Kennzeichnungen:	
Symbole:	3 rote Dreiecke
Signiertext:	AGFA VISTA 100-C

Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10 μ m

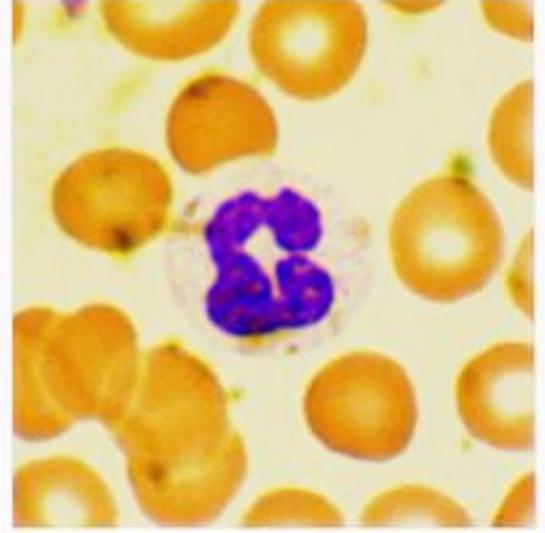
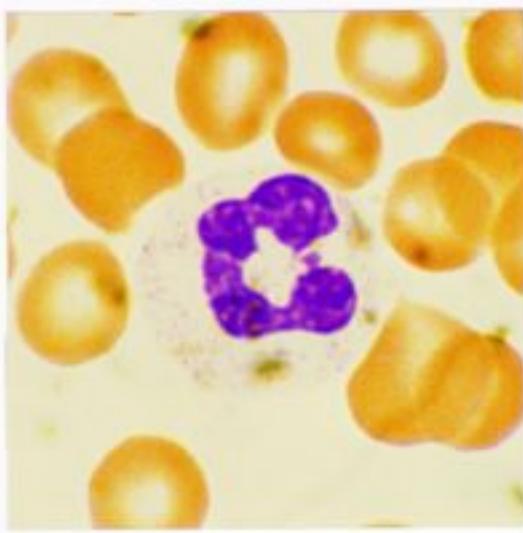
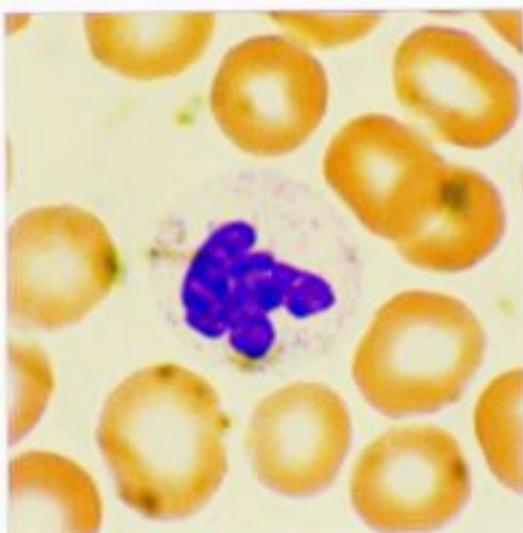
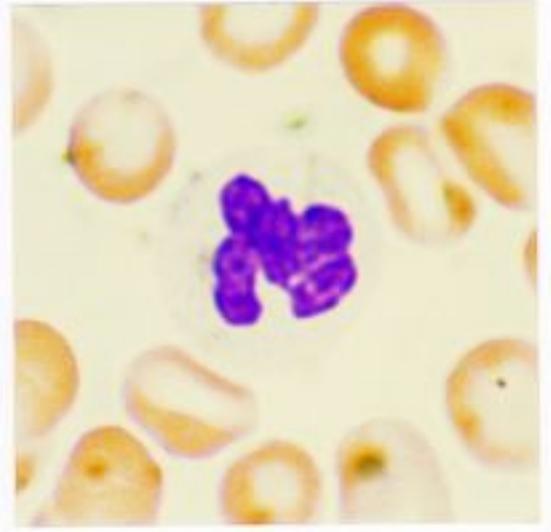
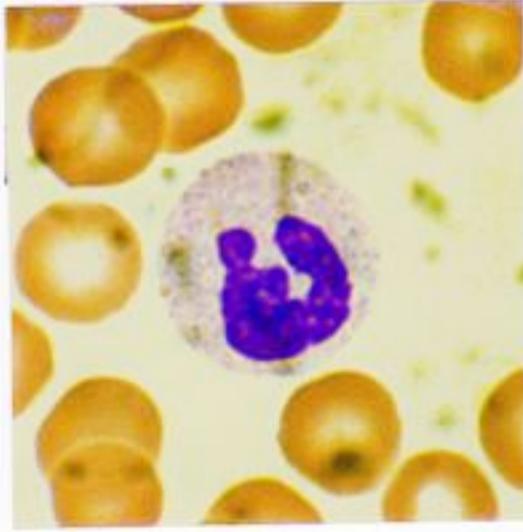
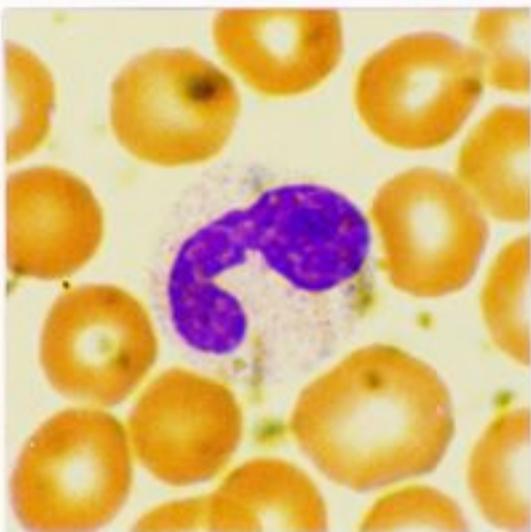
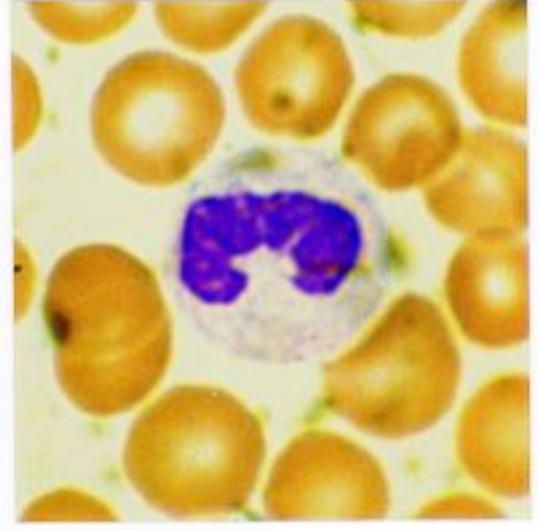
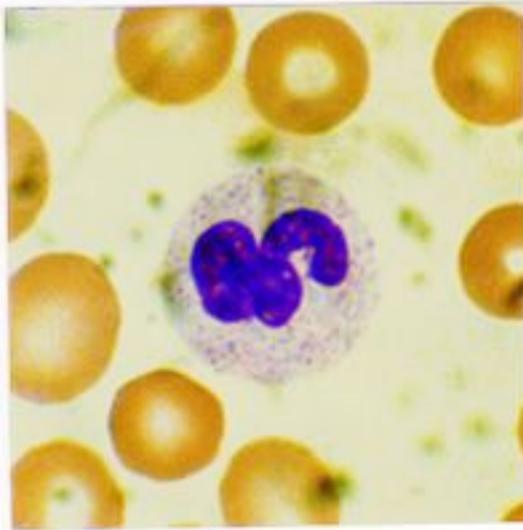
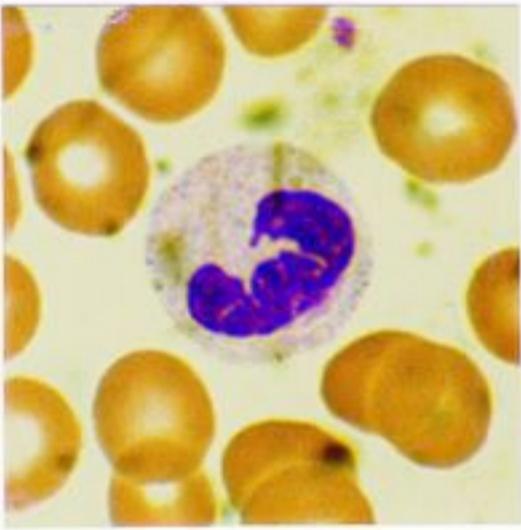
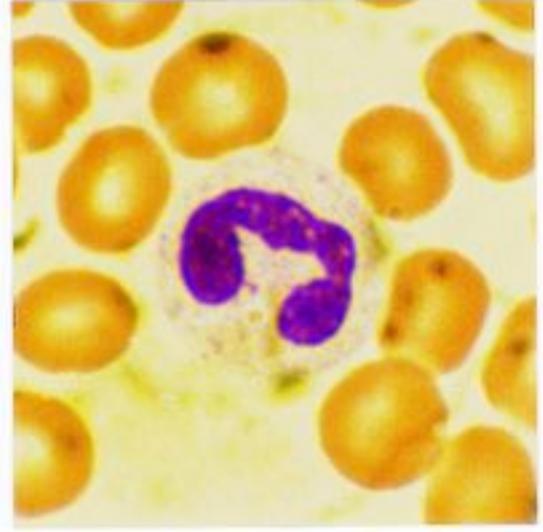
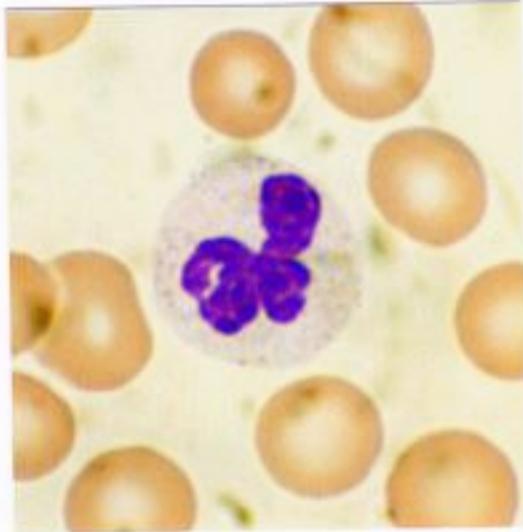
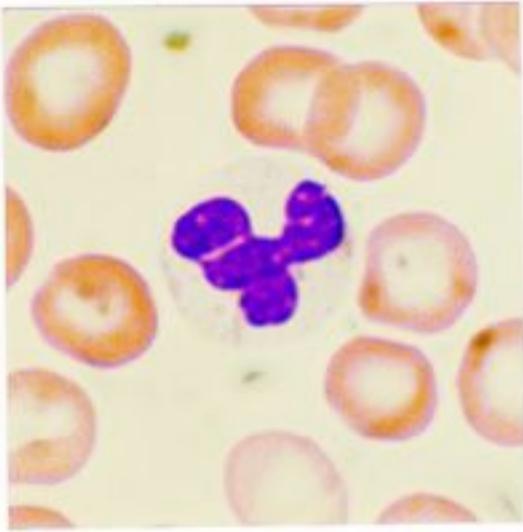


Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10 μ m

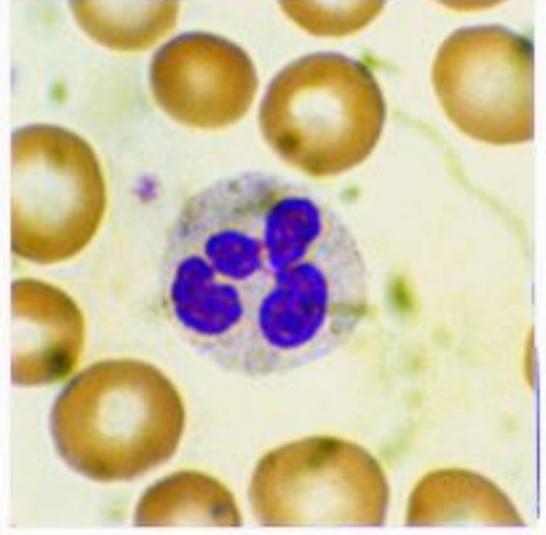
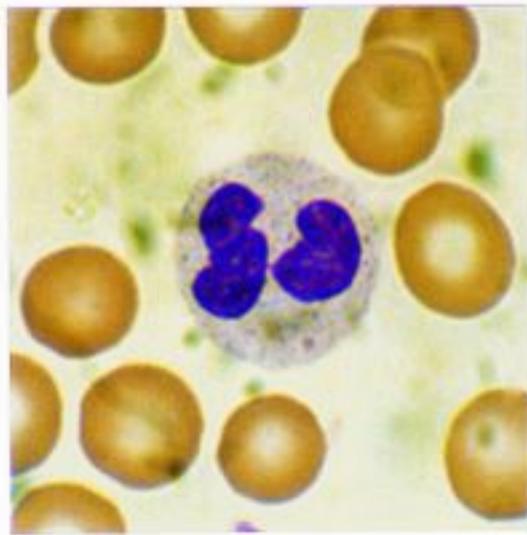
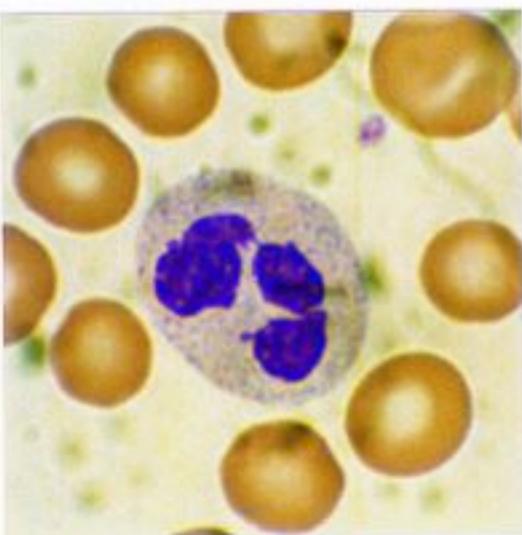
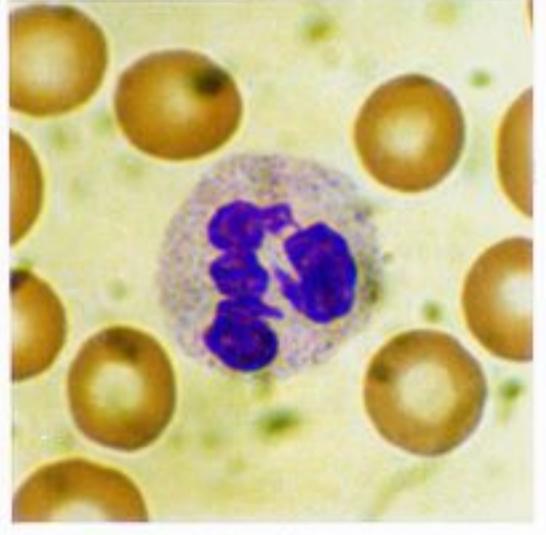
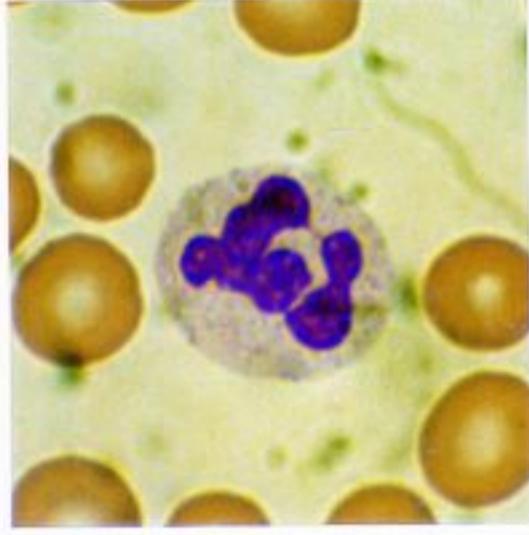
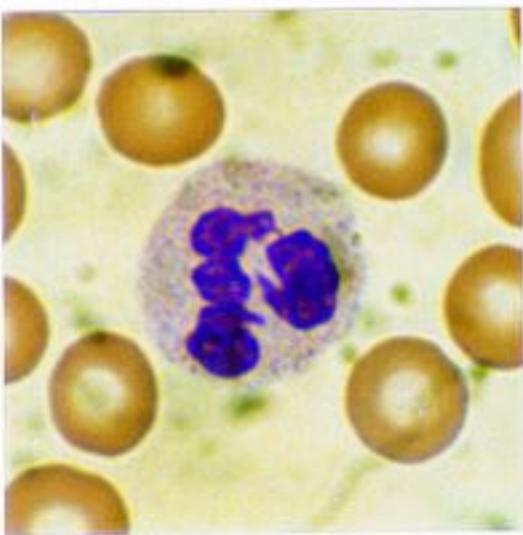
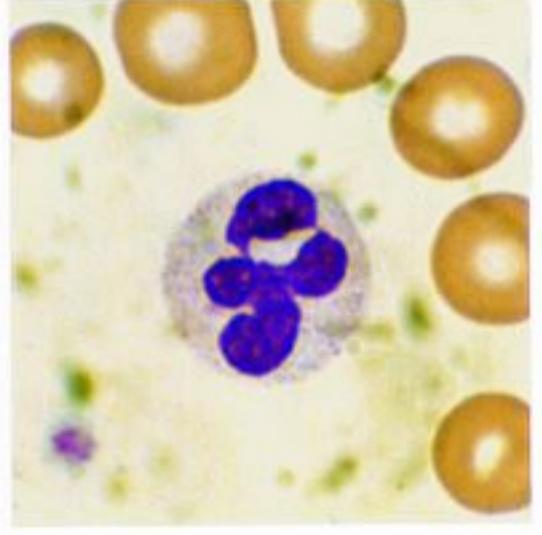
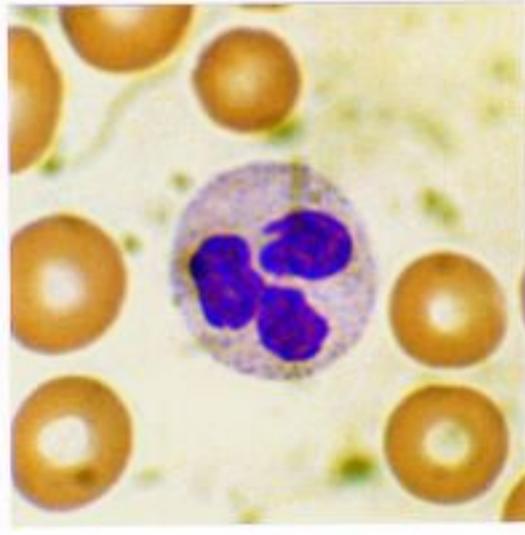
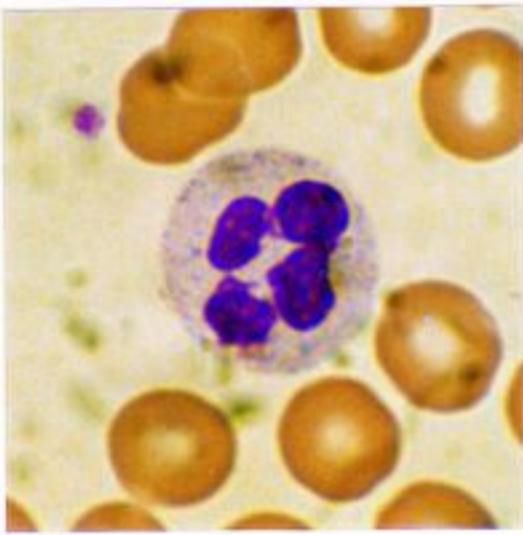
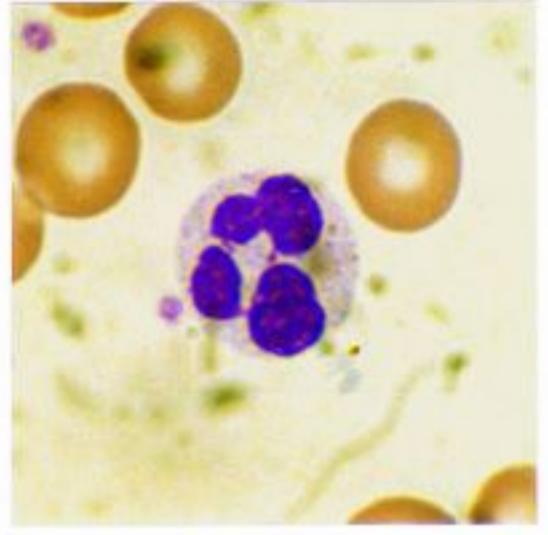
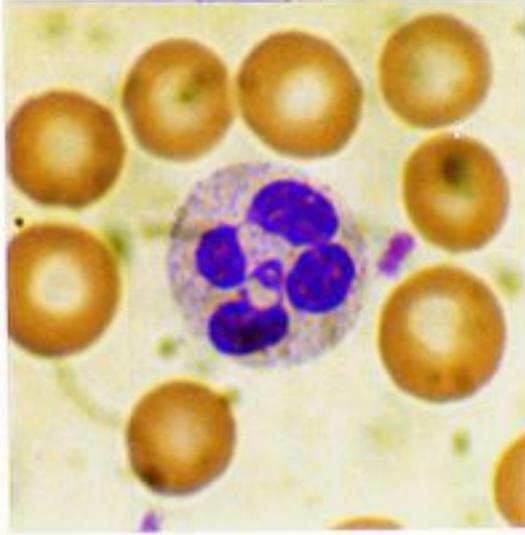
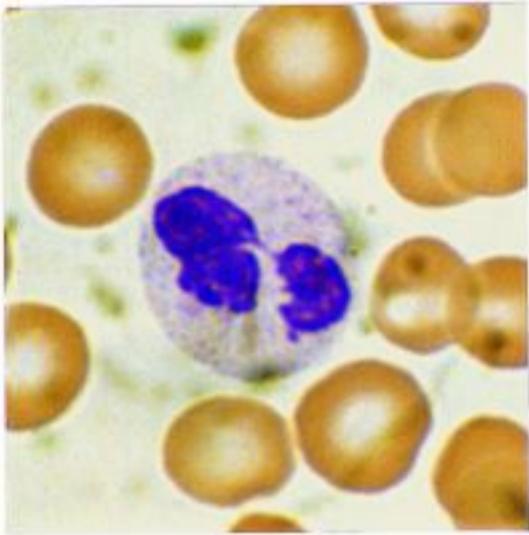


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10 μ m

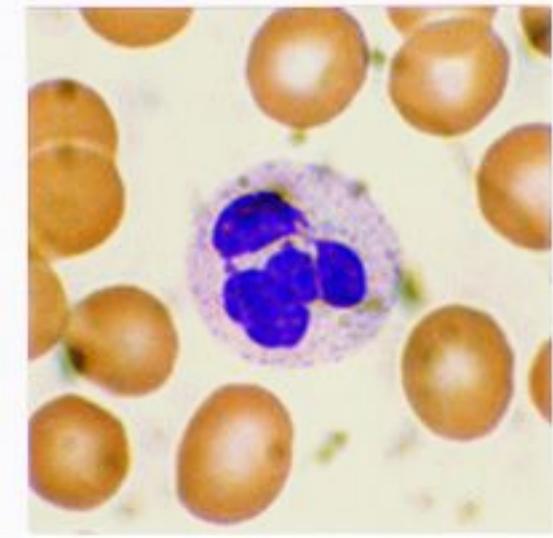
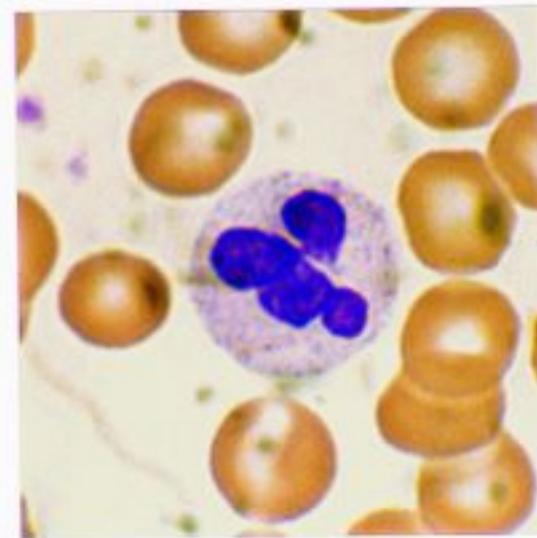
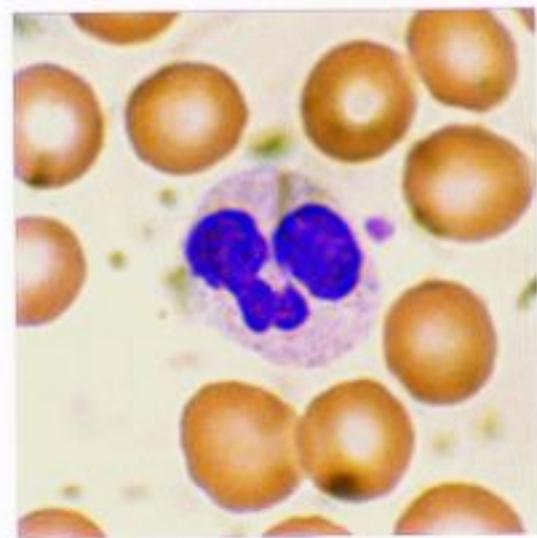
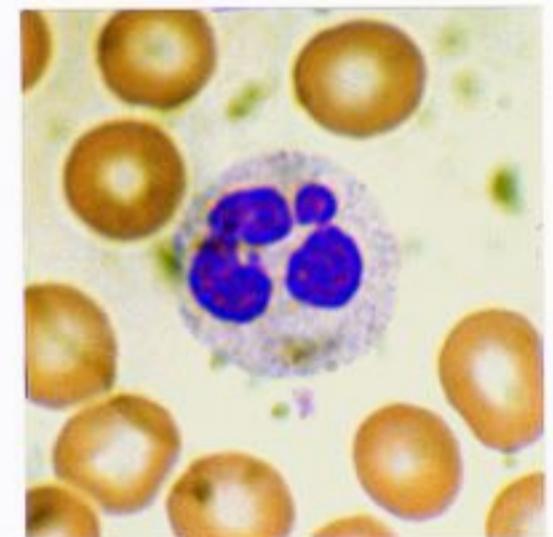
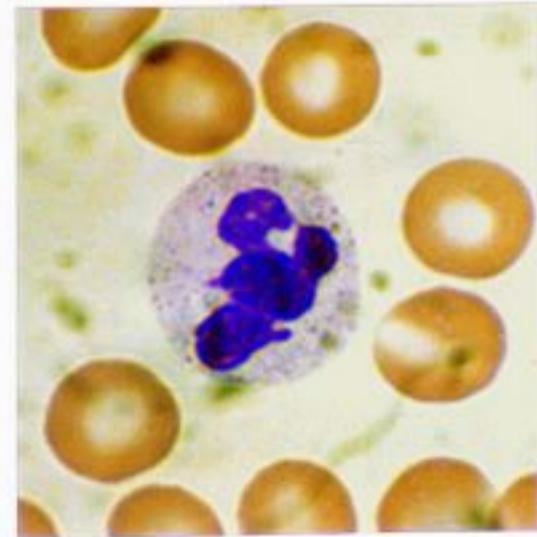
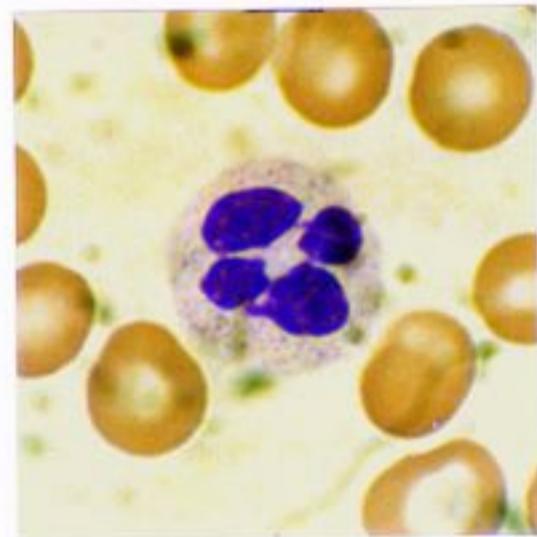
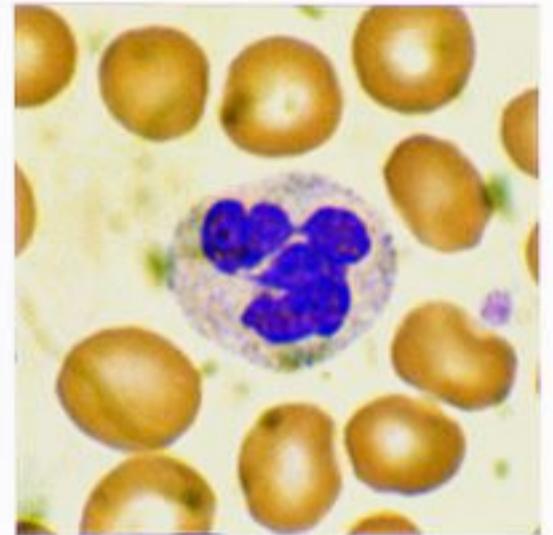
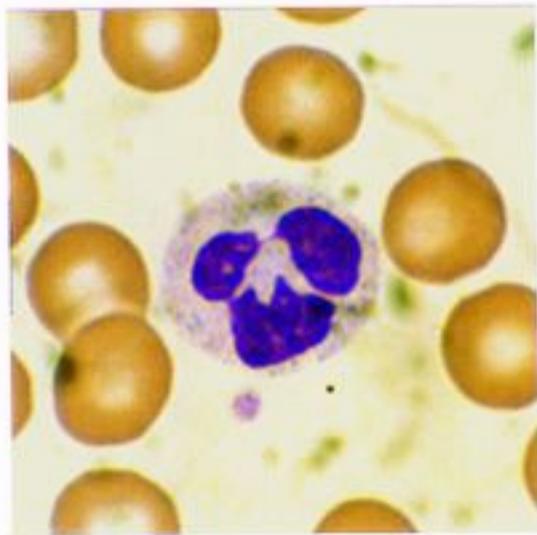
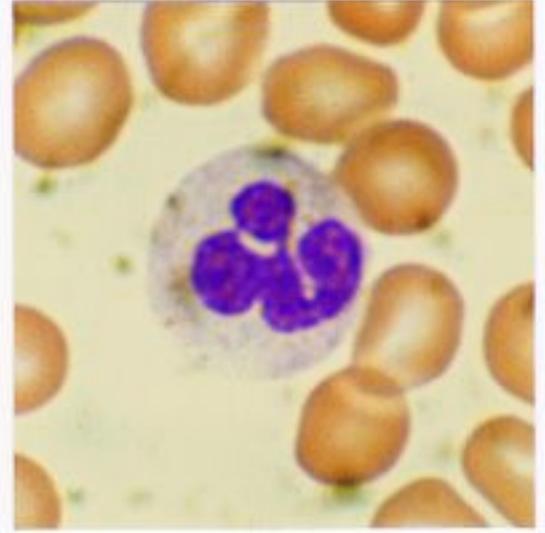
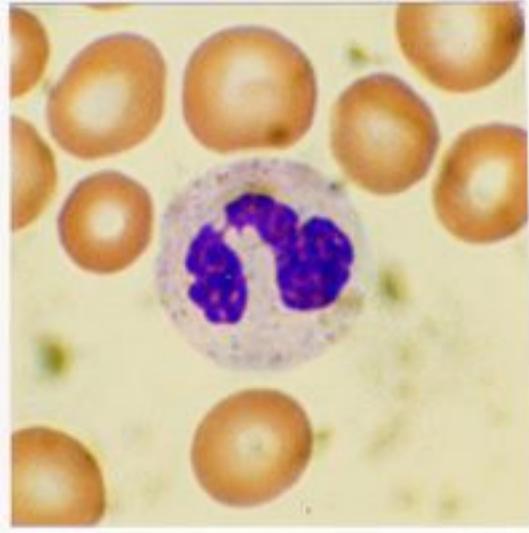
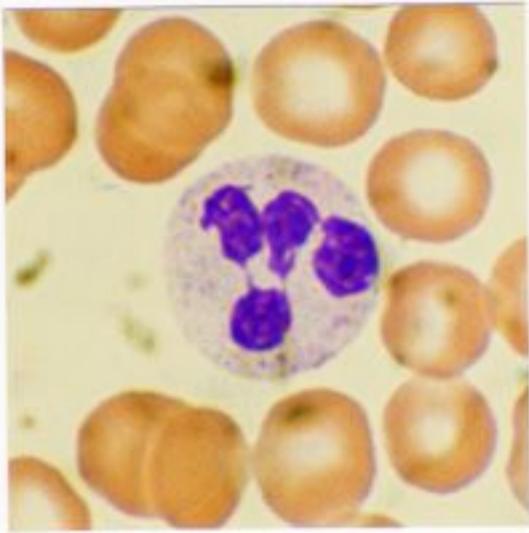


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10 μm

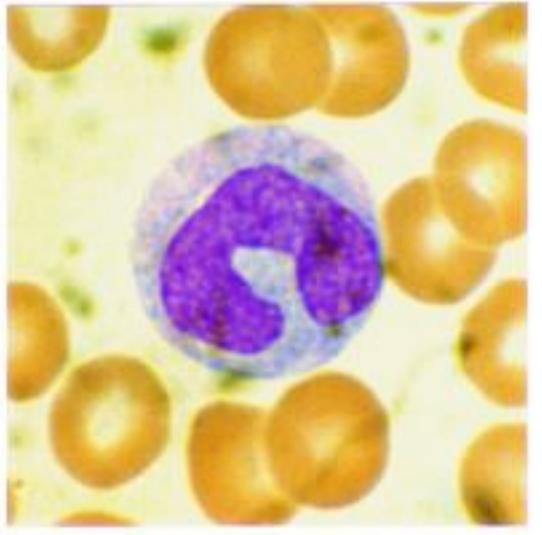
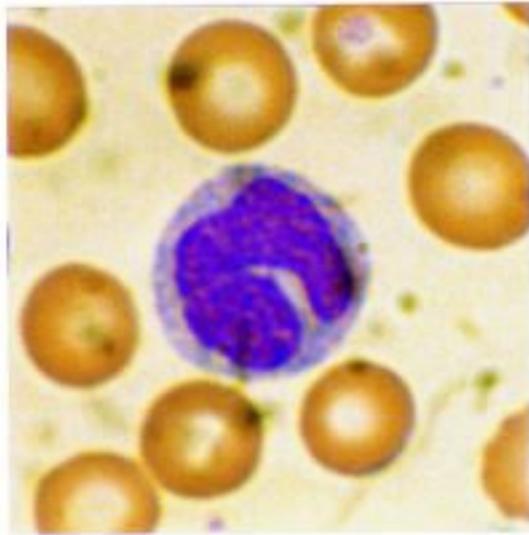
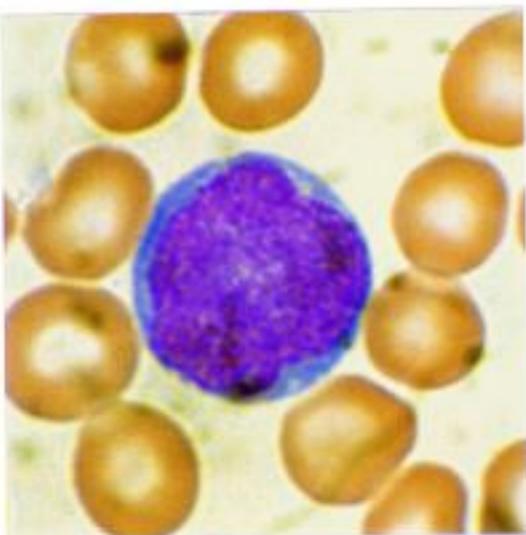
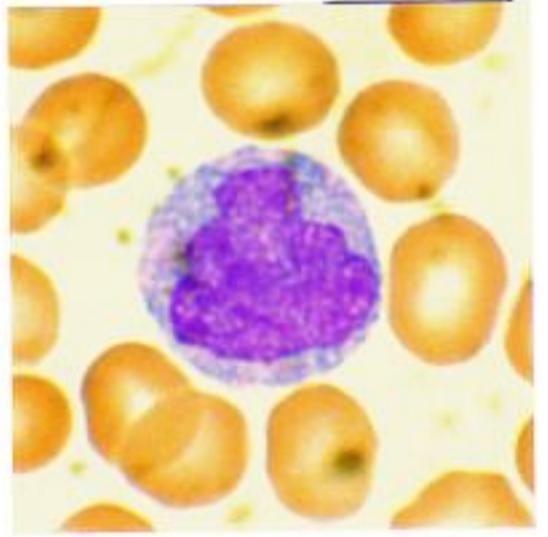
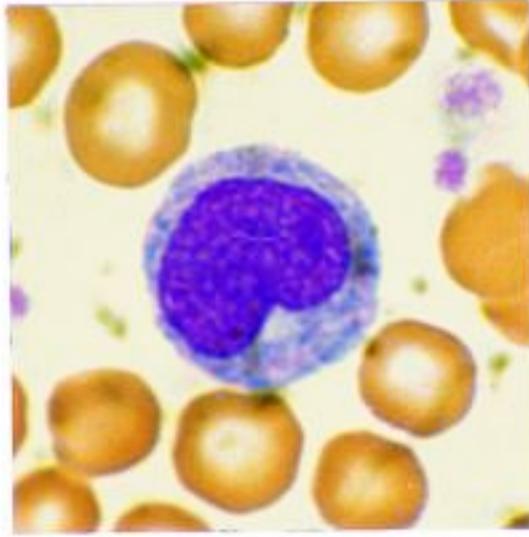
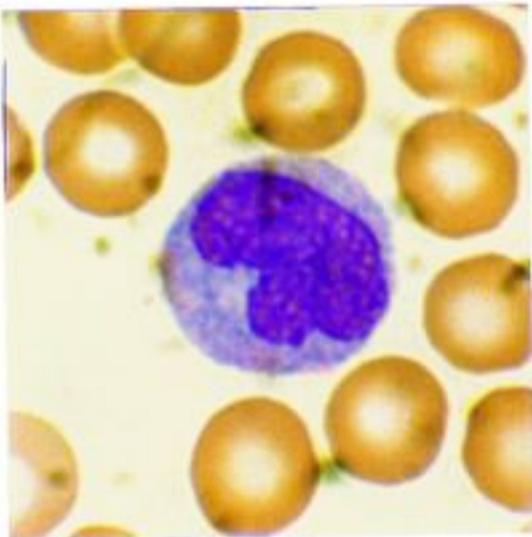
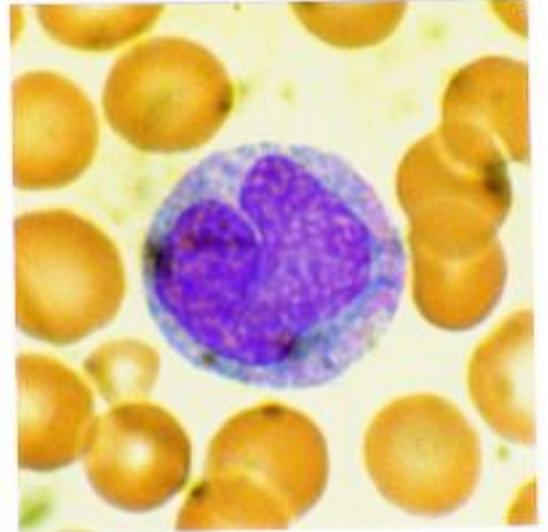
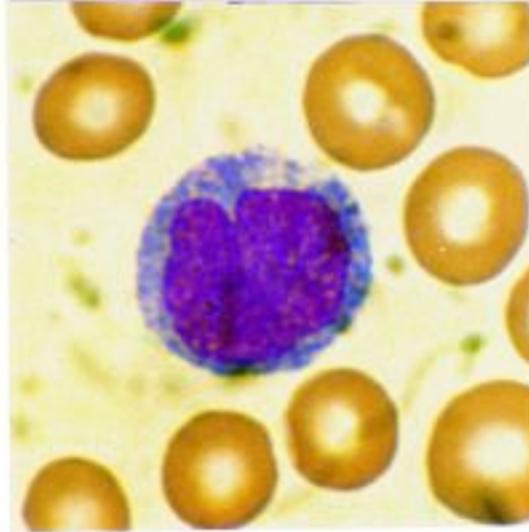
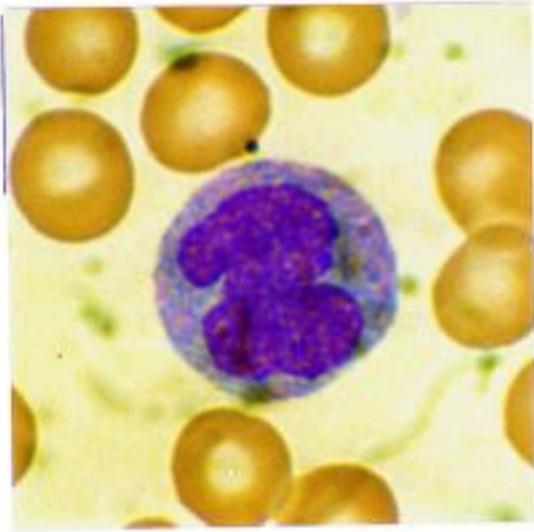
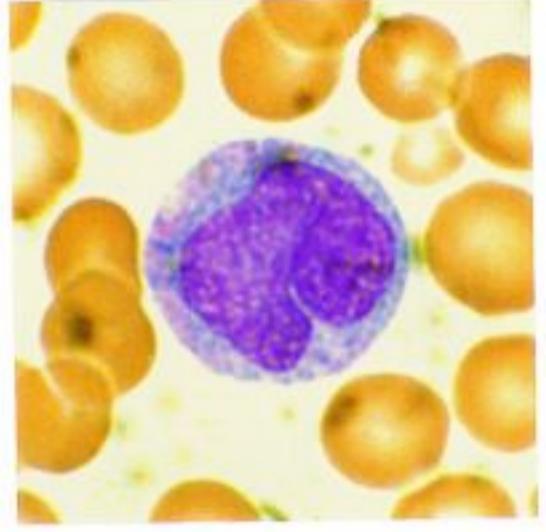
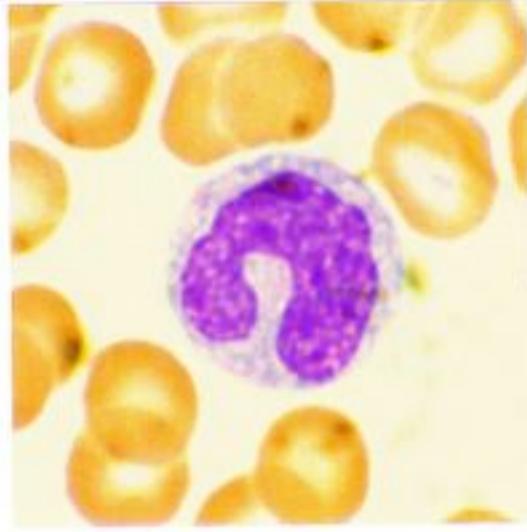
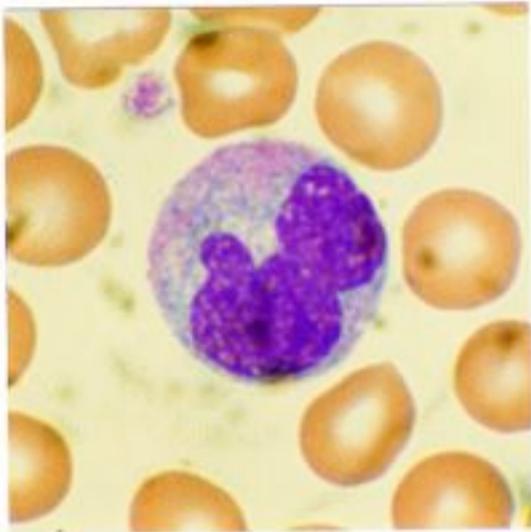


Monozyten

1850 x

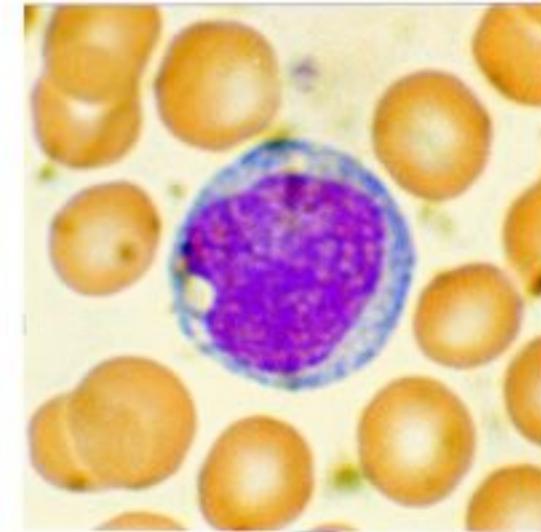
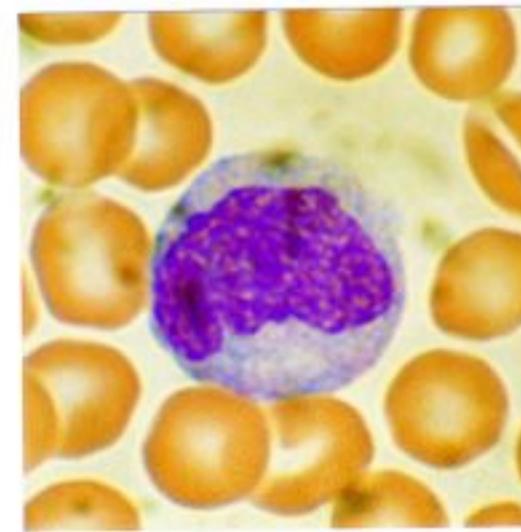
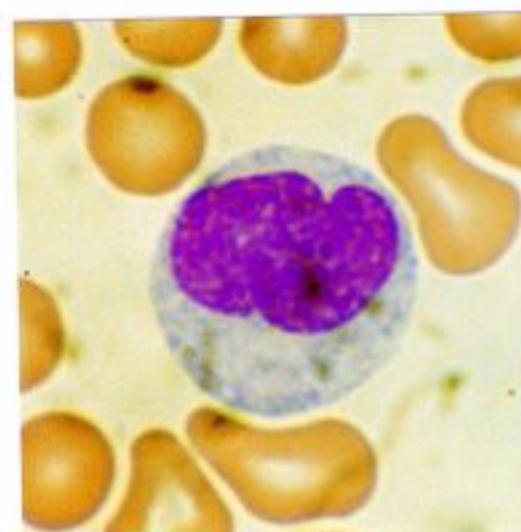
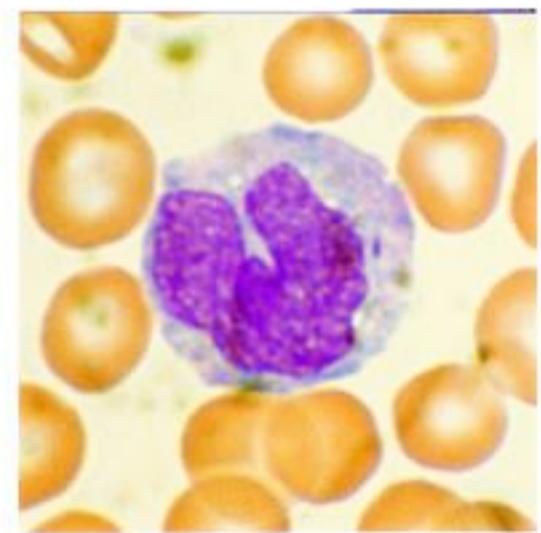
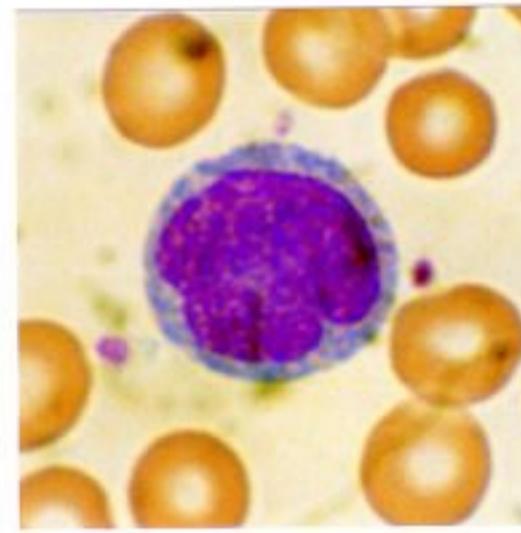
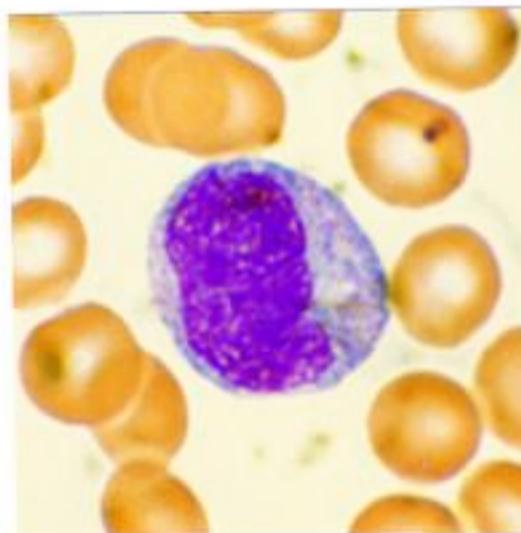
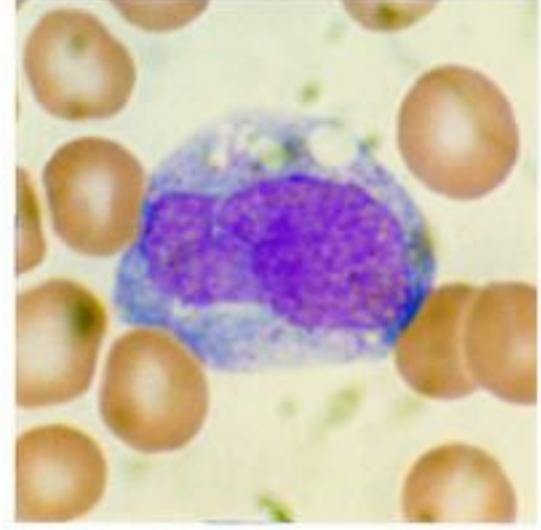
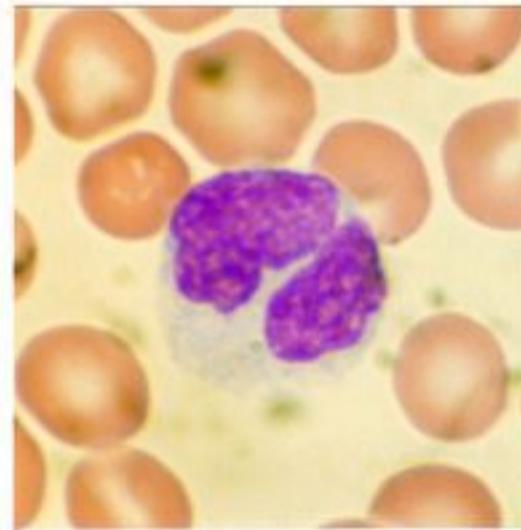
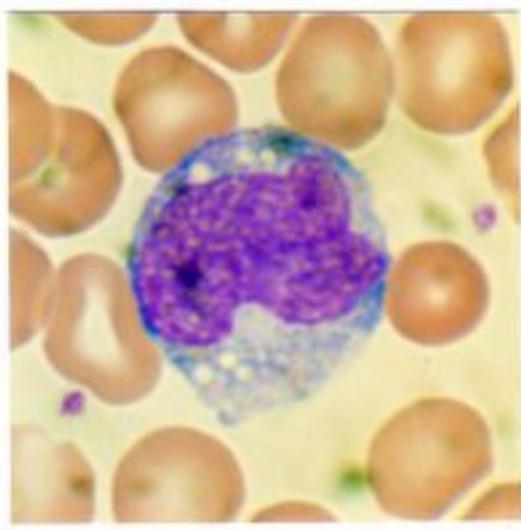
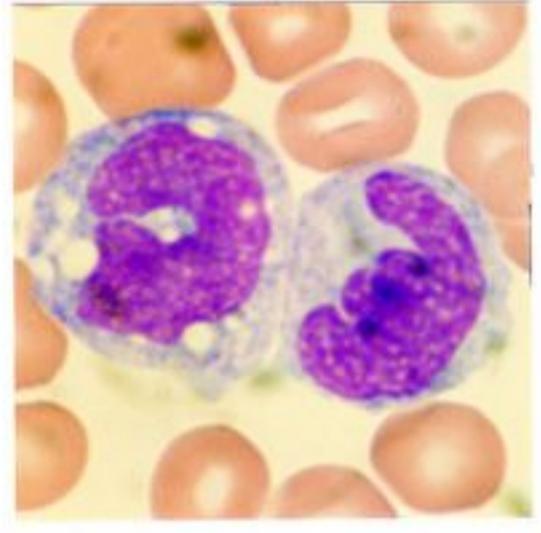
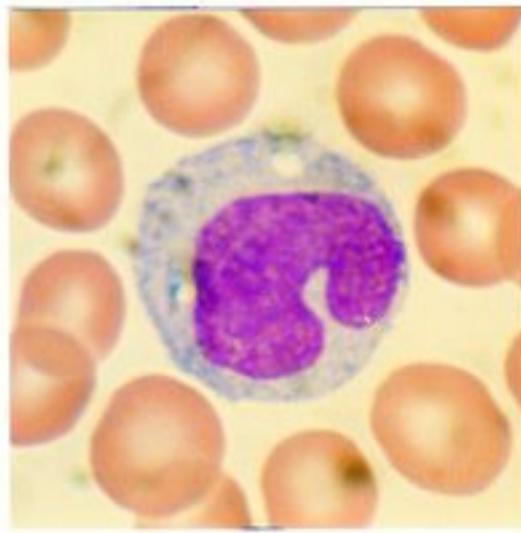
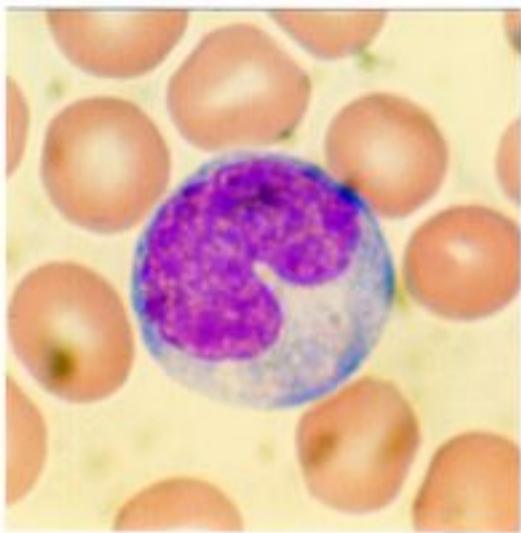


10 μm



Monozyten

Pappenheim-Färbung 1850x  10 μm

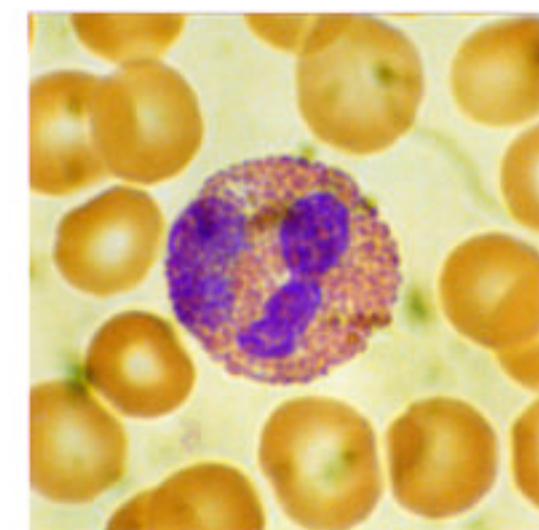
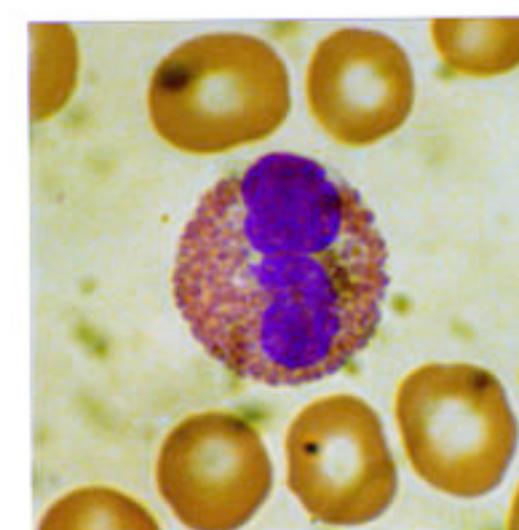
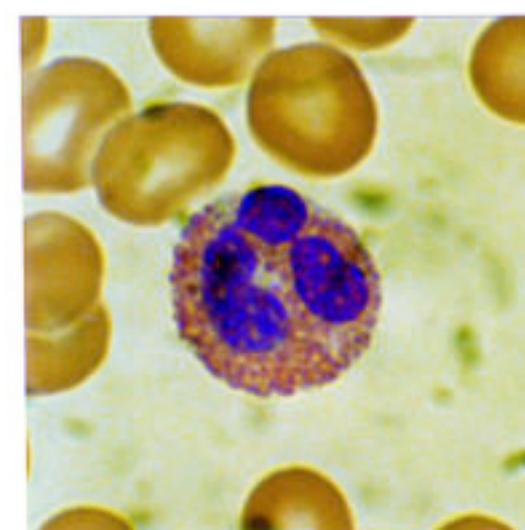
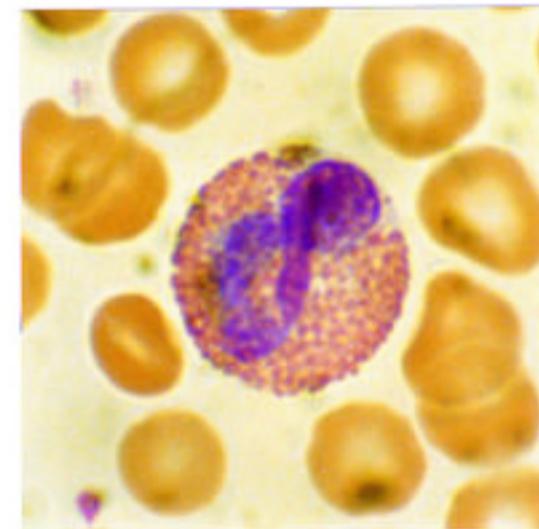
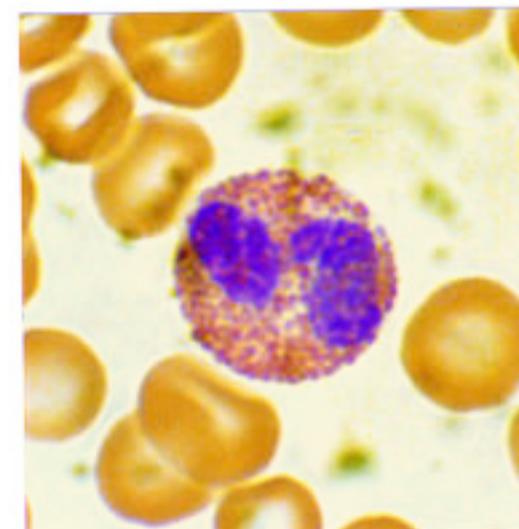
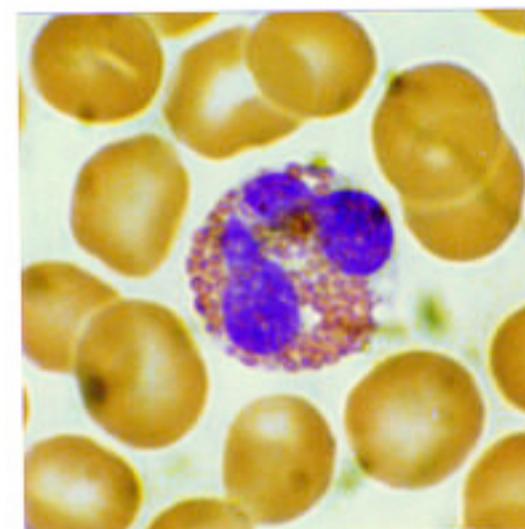
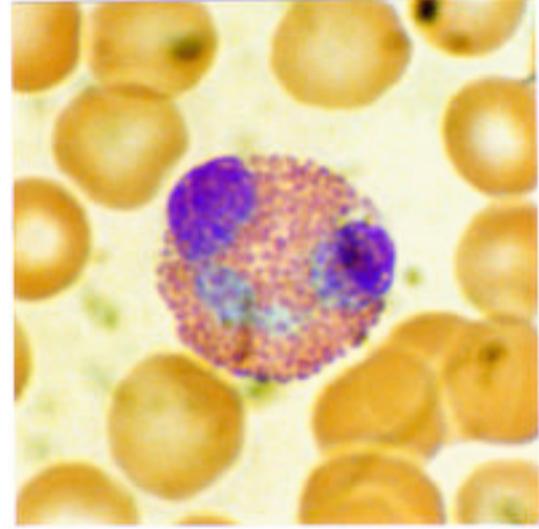
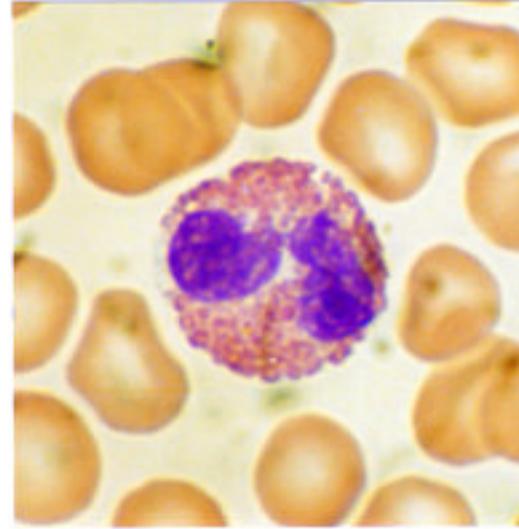
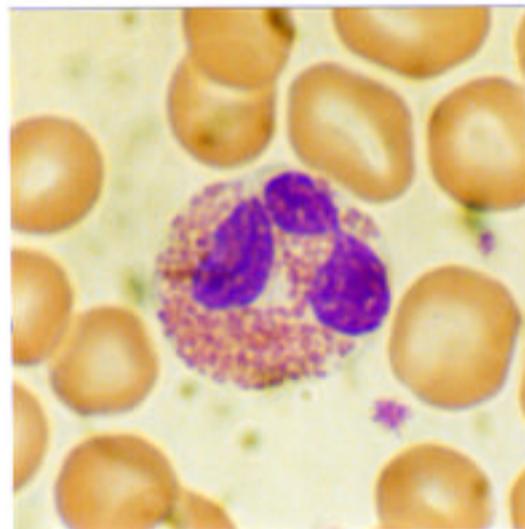
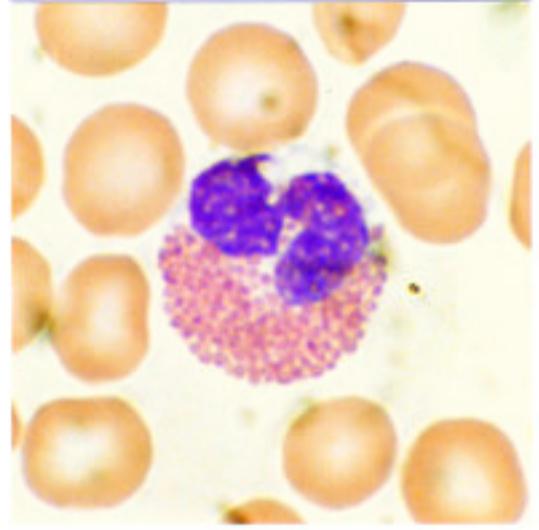
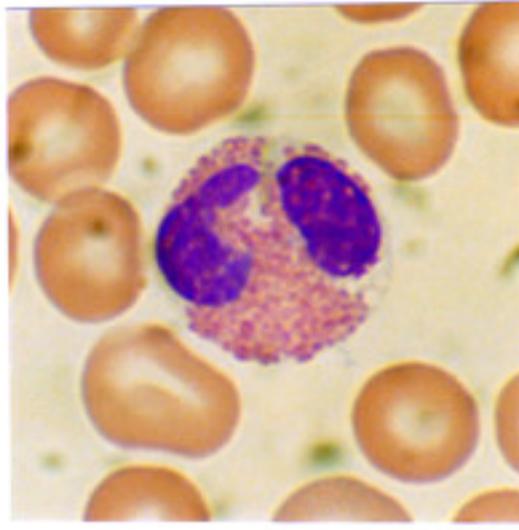
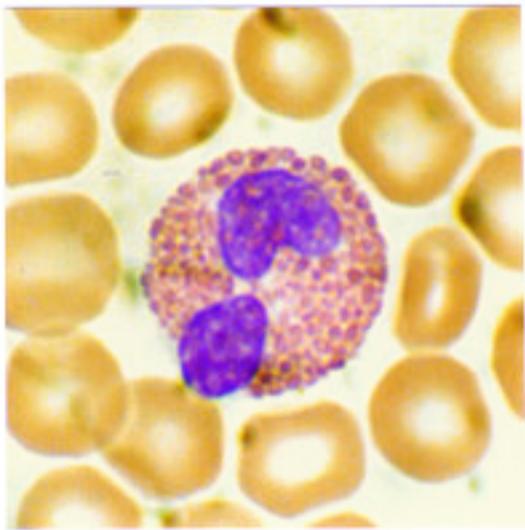


Eosinophile Granulozyten

1850 x

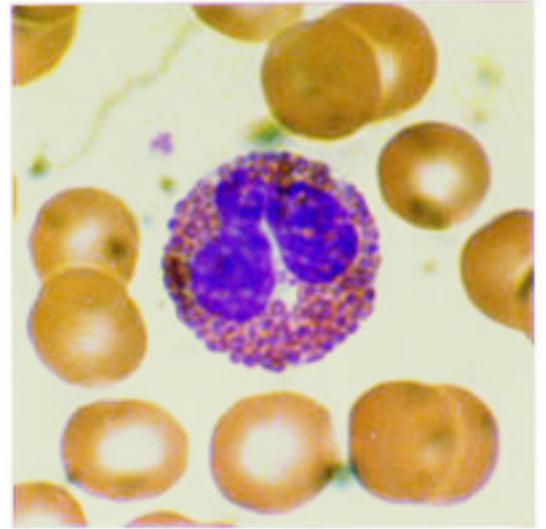
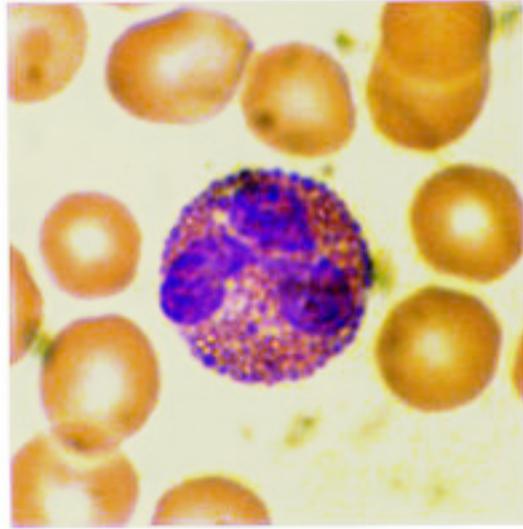
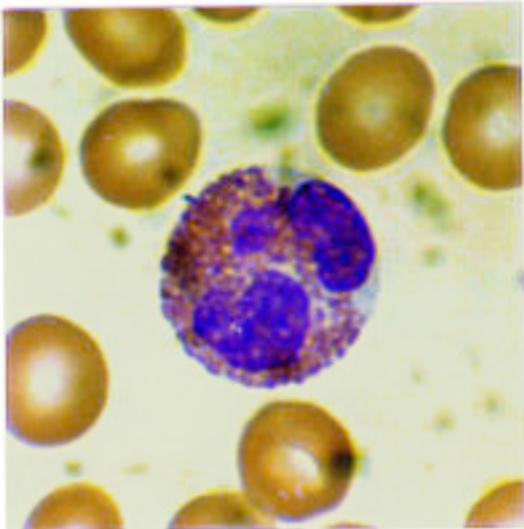
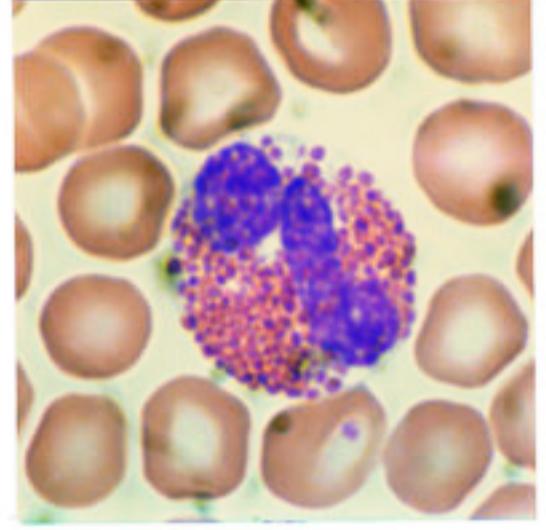
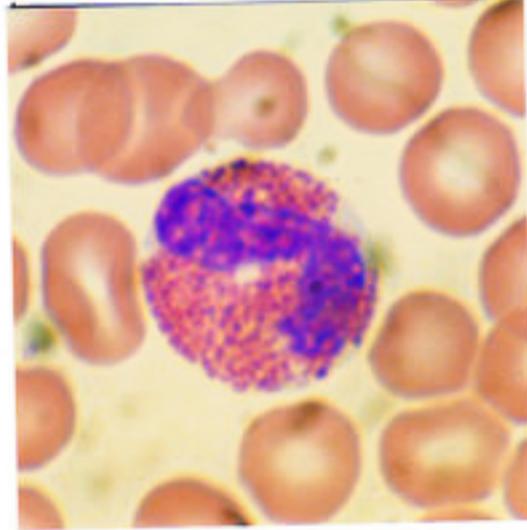
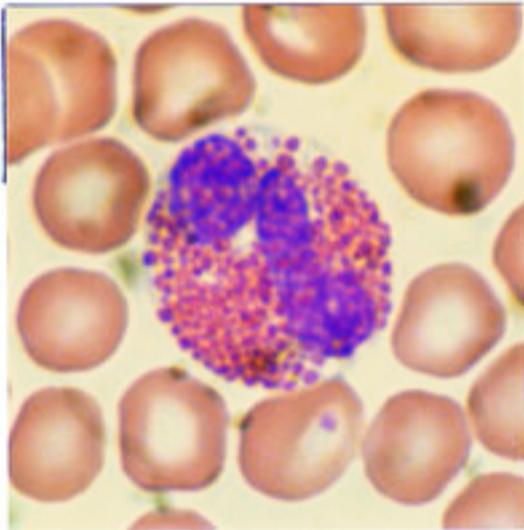
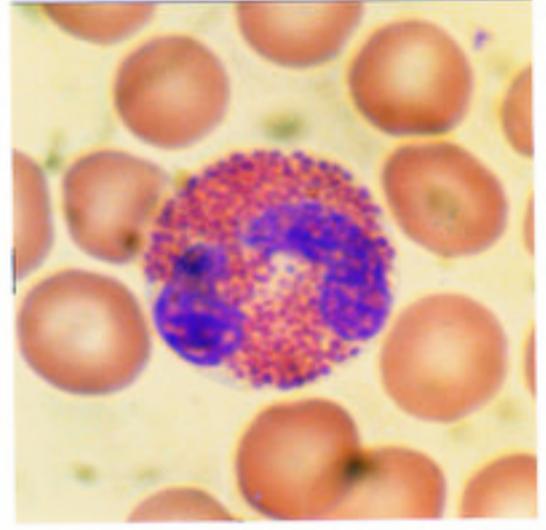
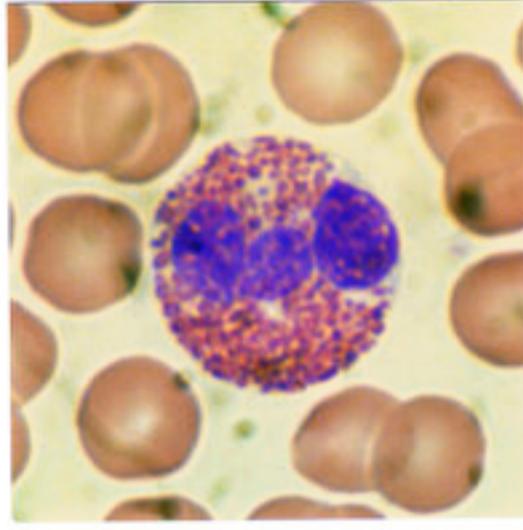
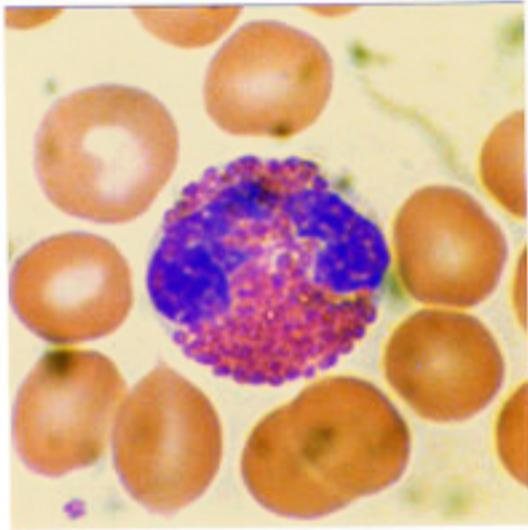
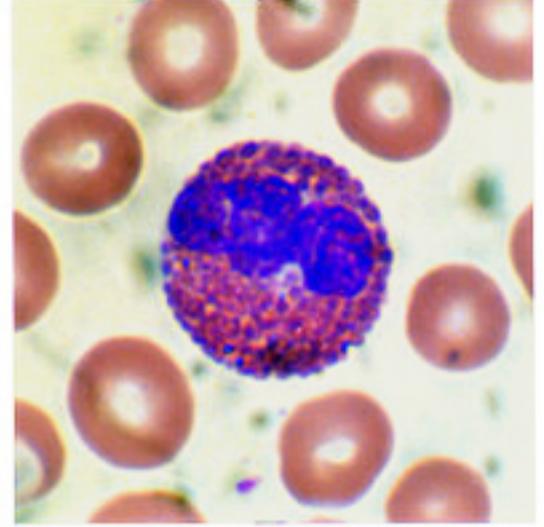
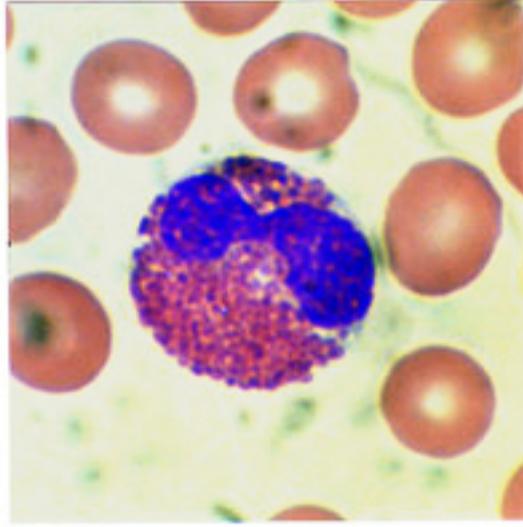
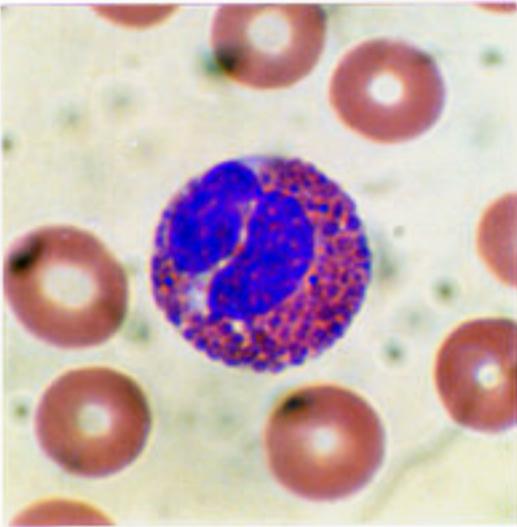


10 μ m



Eosinophile Granulozyten

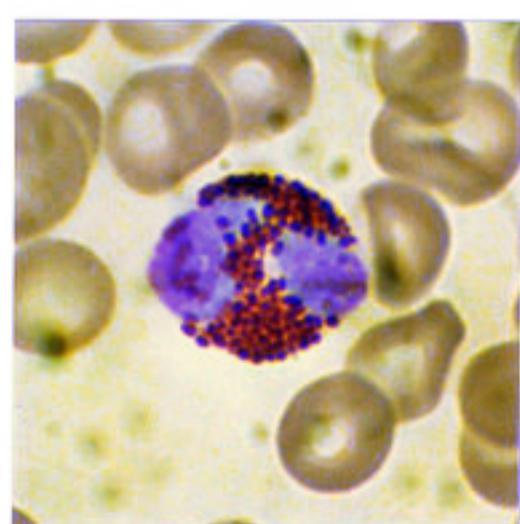
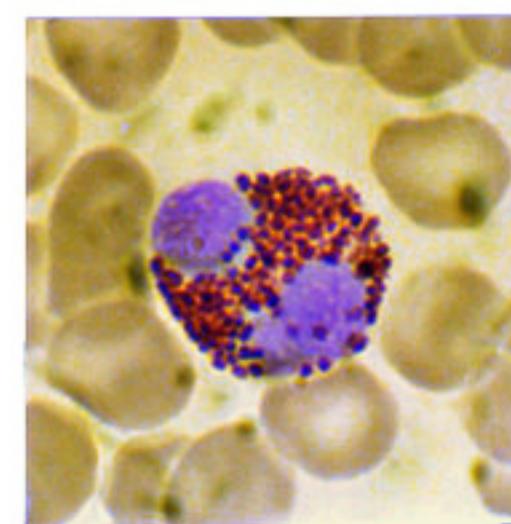
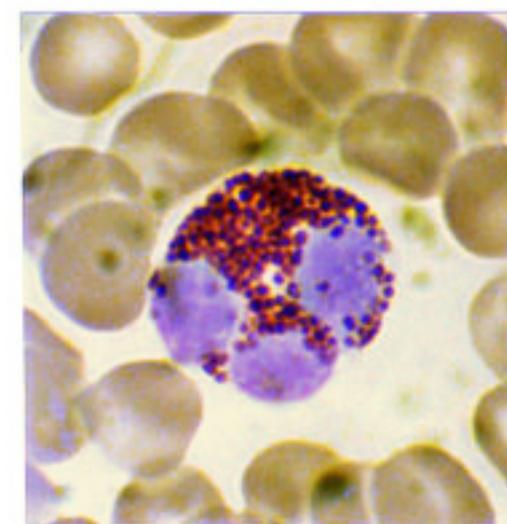
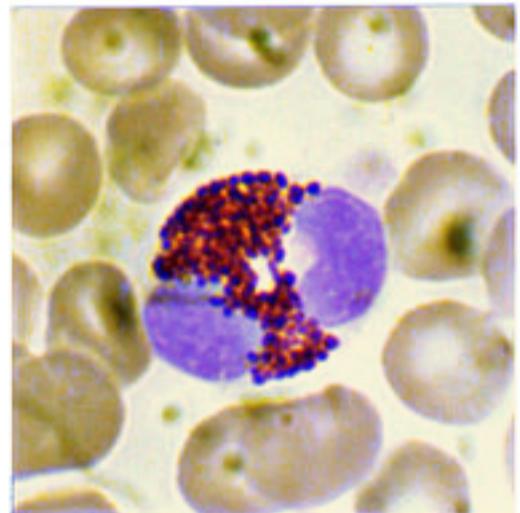
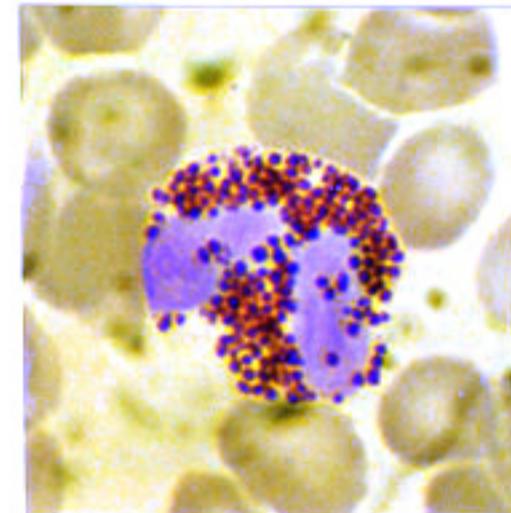
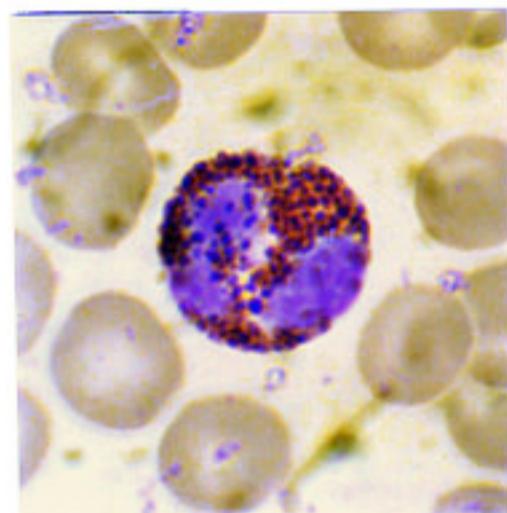
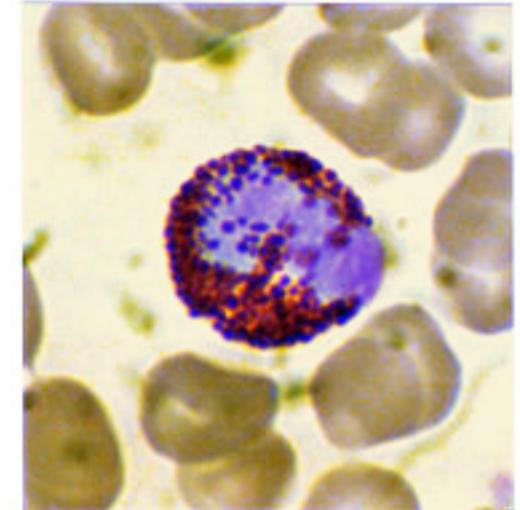
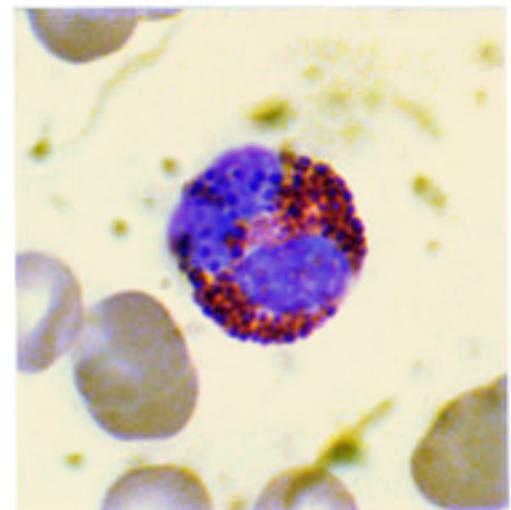
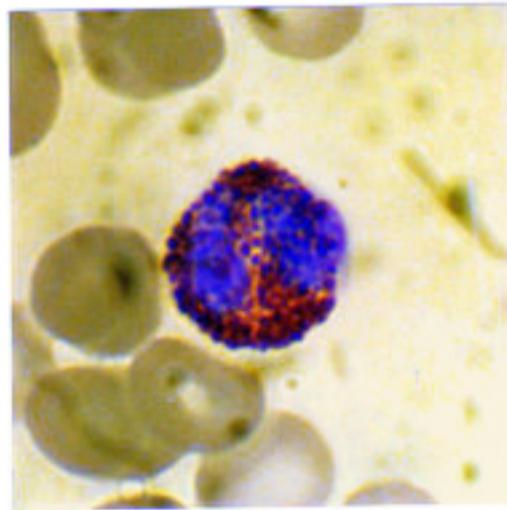
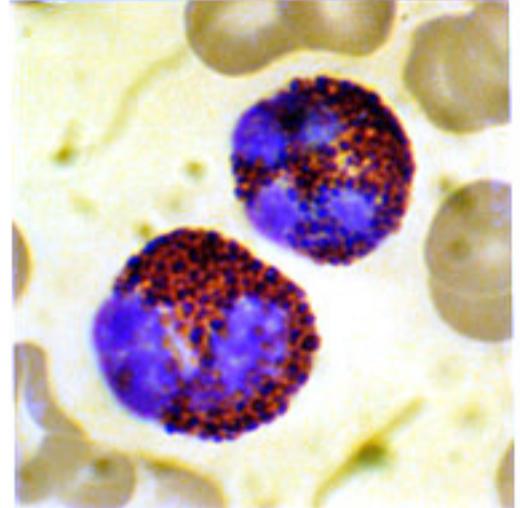
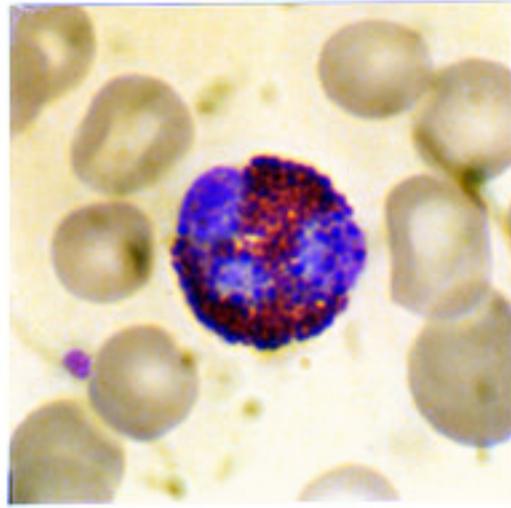
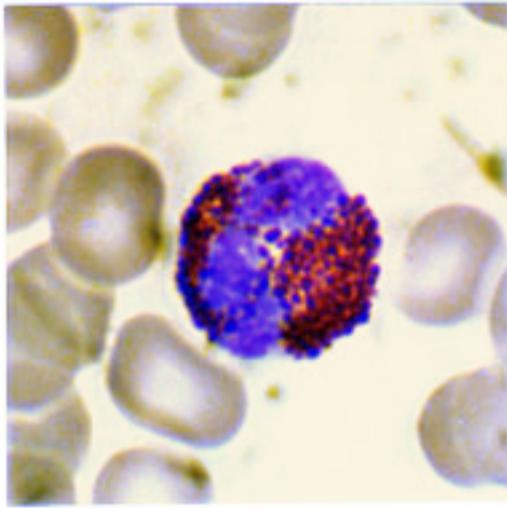
Pappenheim - Färbung 1850x  10 µm



Schrodt

Basophile Granulozyten

Pappenheim - Färbung 1850x \longleftrightarrow 10 μ m



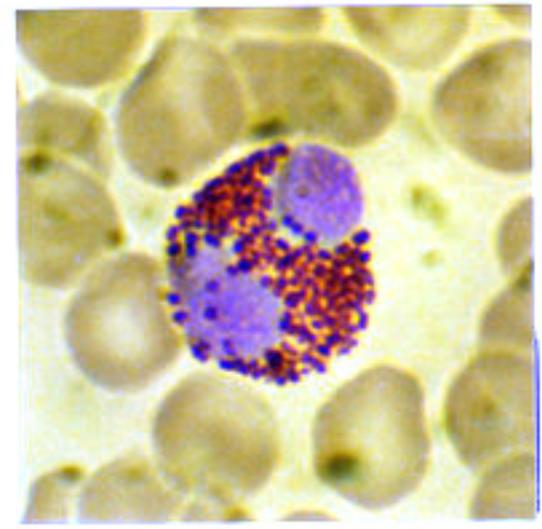
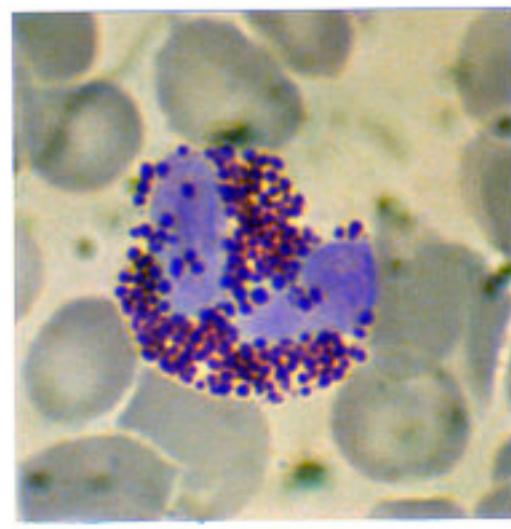
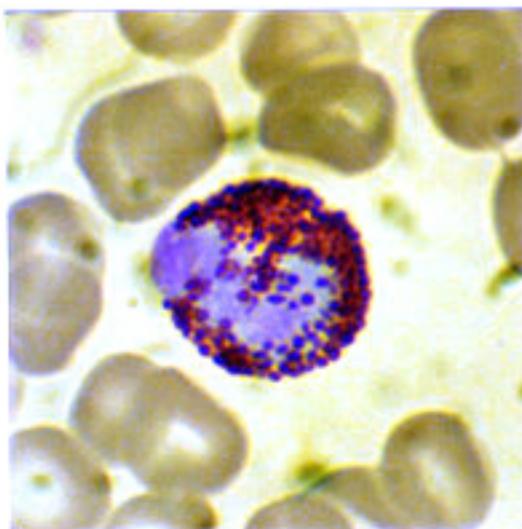
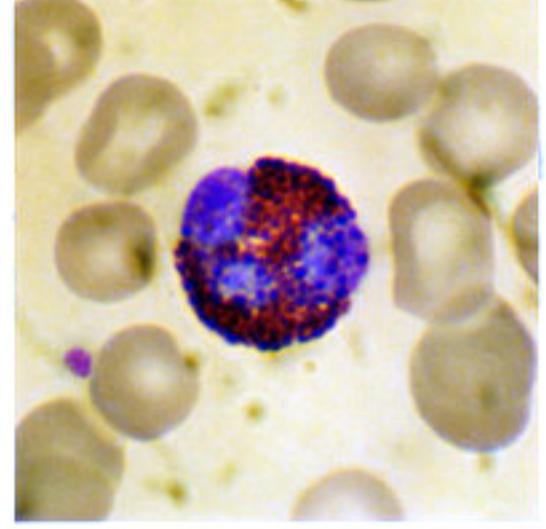
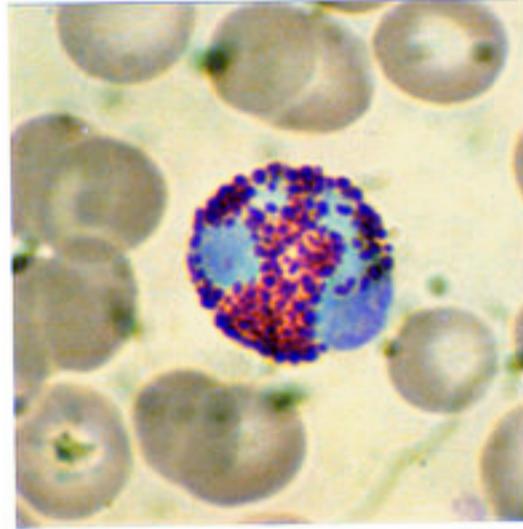
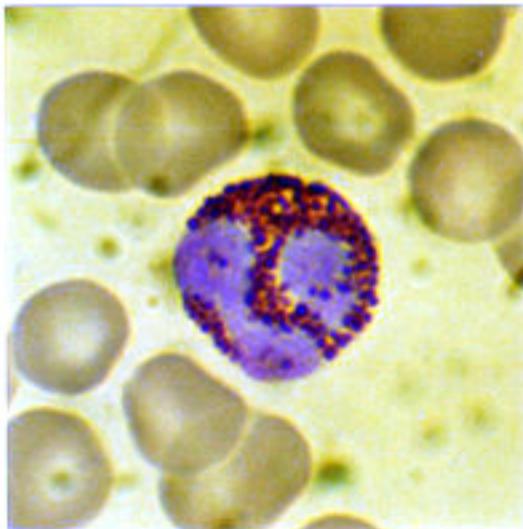
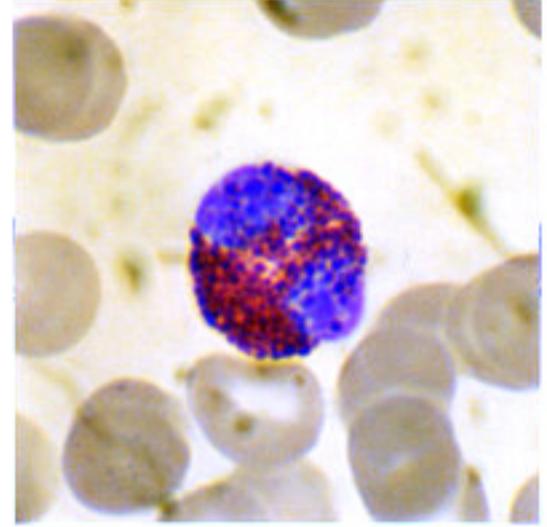
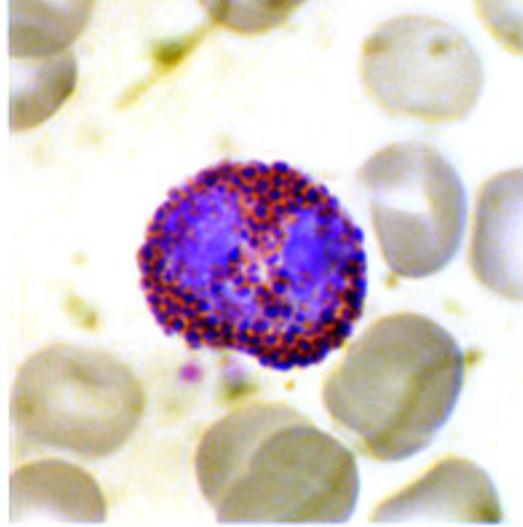
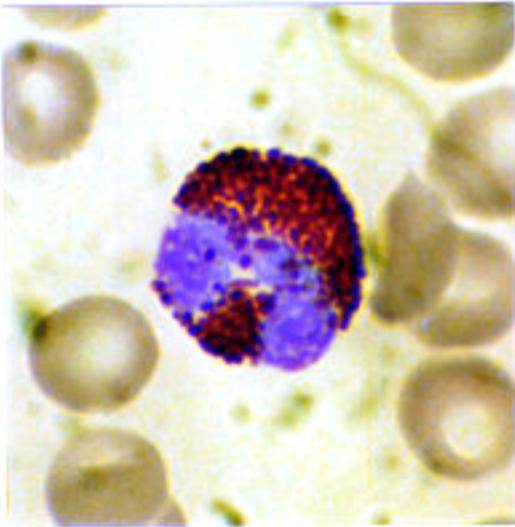
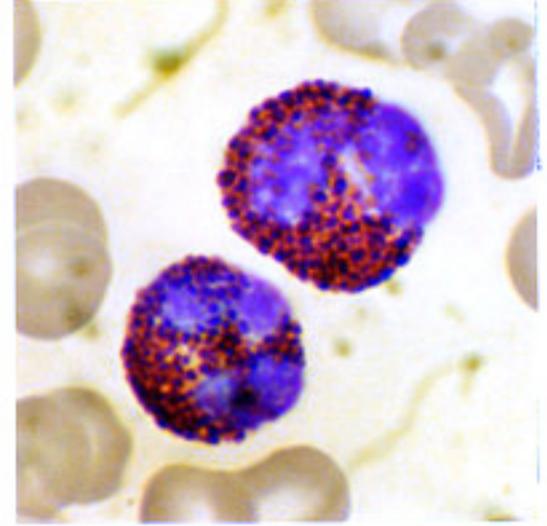
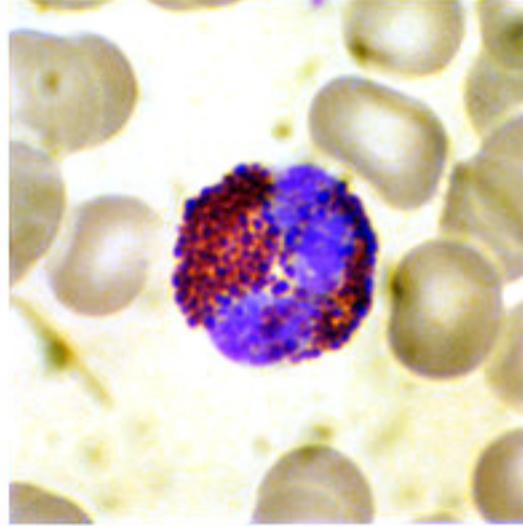
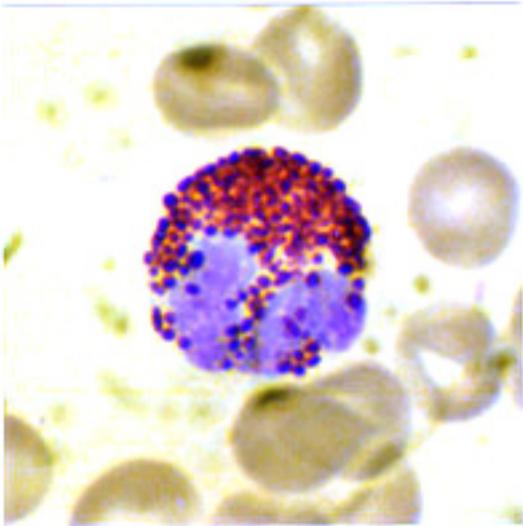
Schrodt

Basophile Granulozyten

1850 x

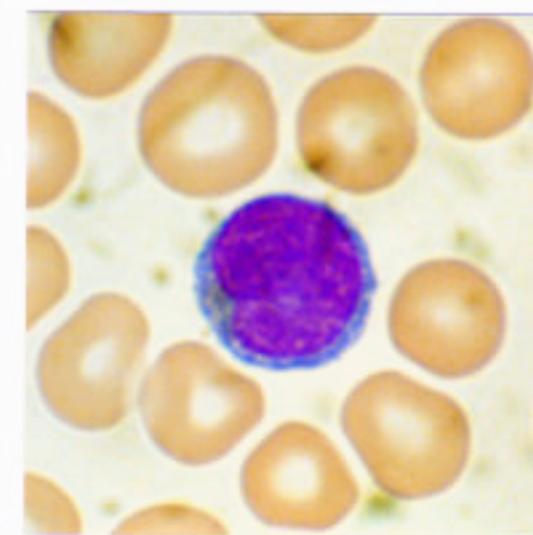
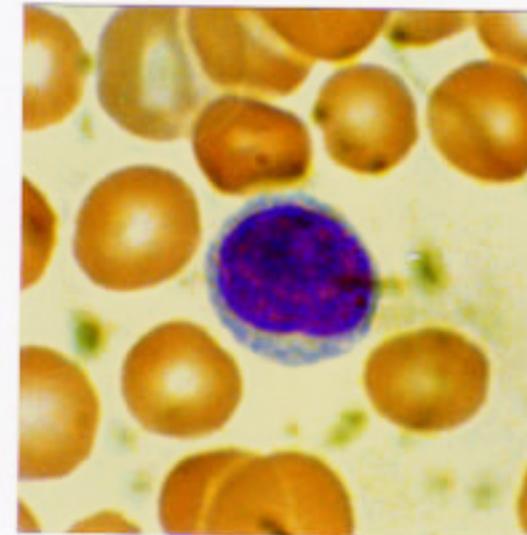
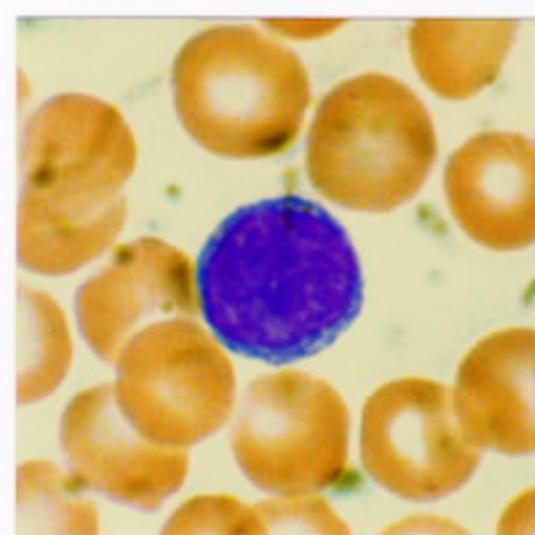
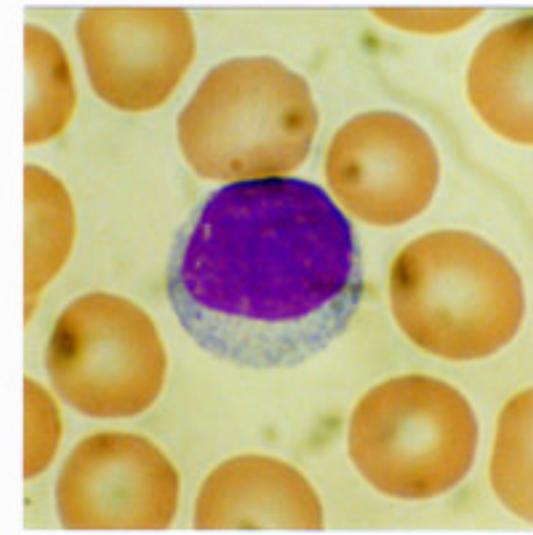
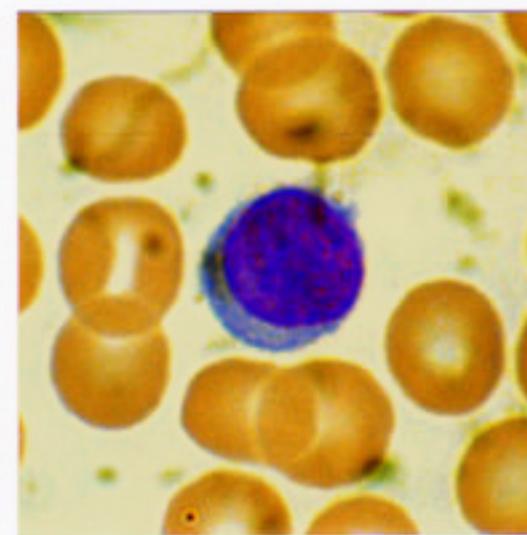
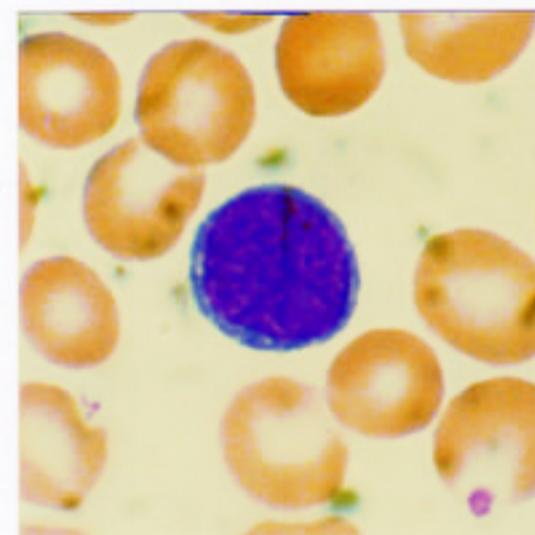
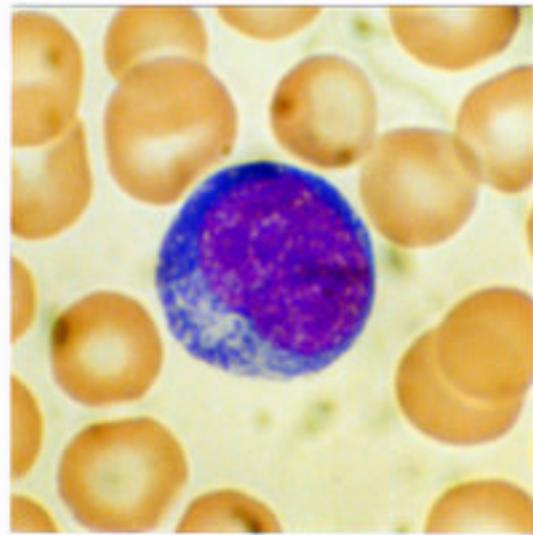
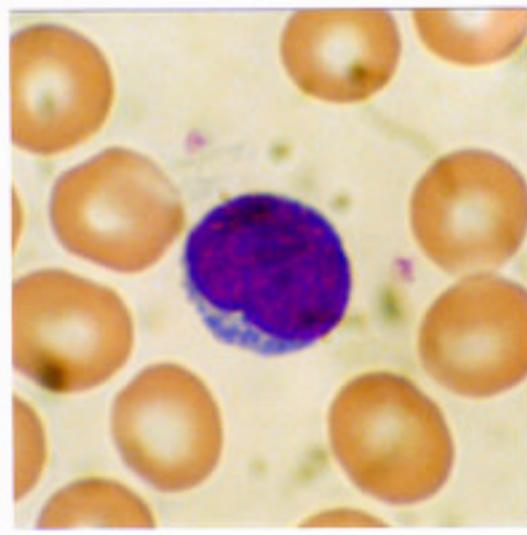
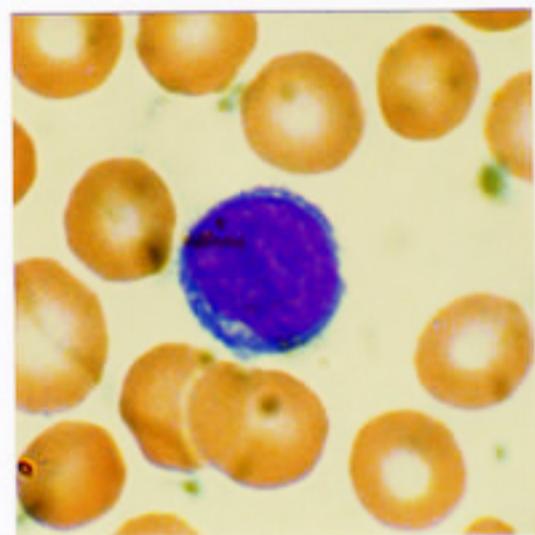
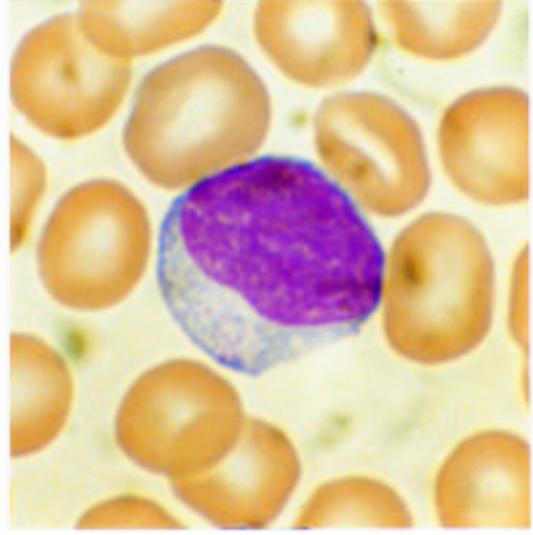
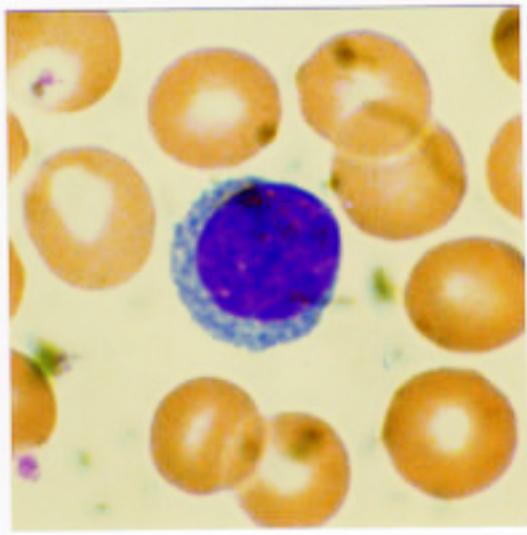
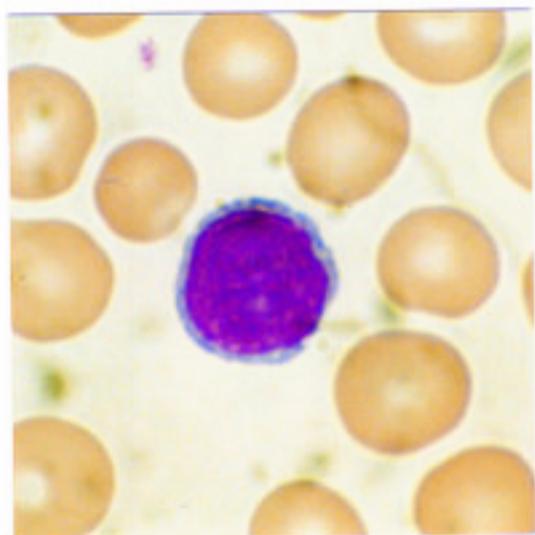


10 μ m



Lymphozyten

1850 x |——| 10 μ m

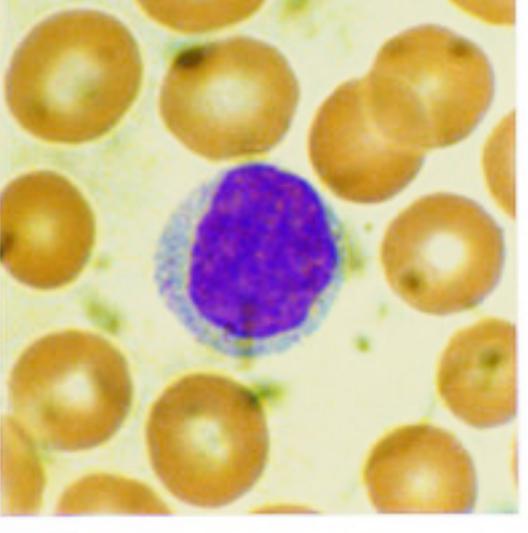
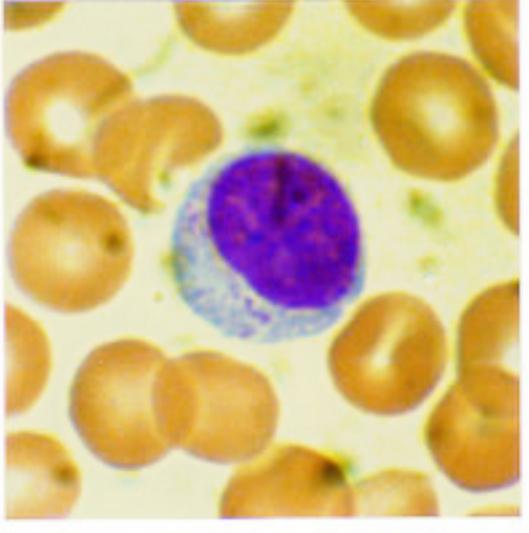
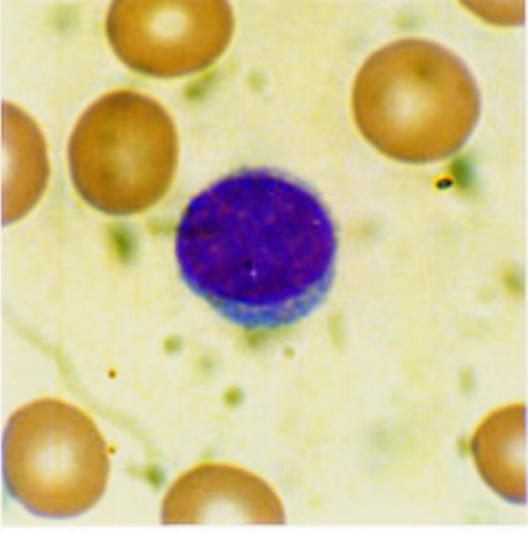
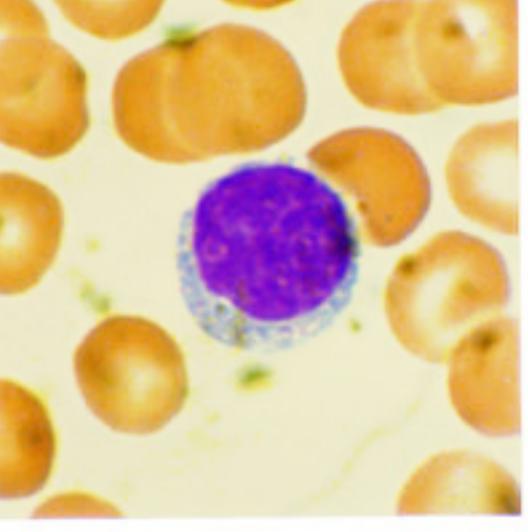
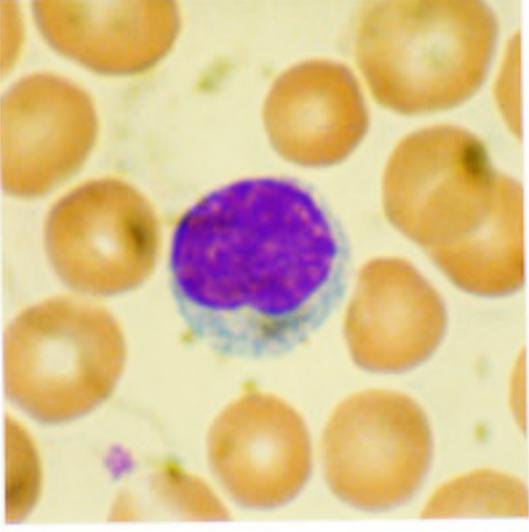
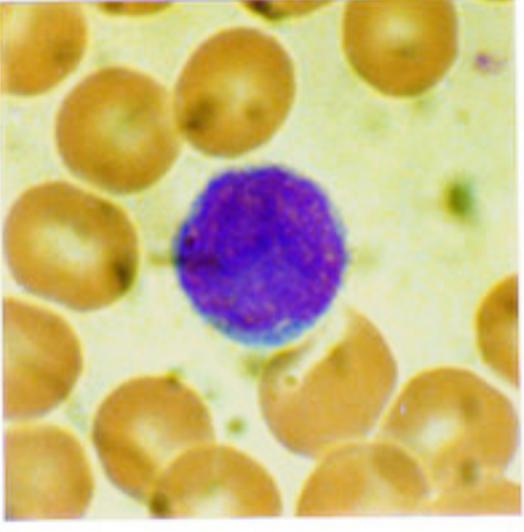
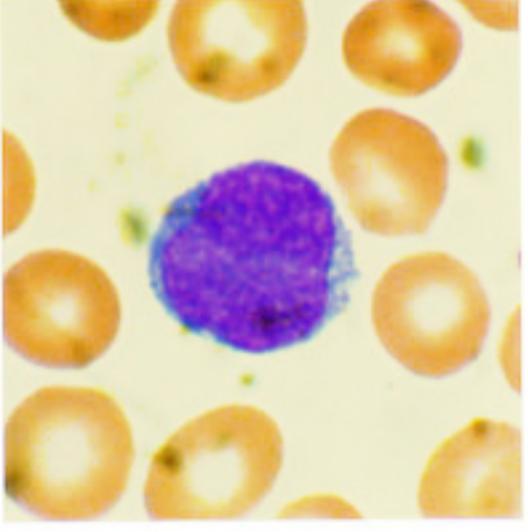
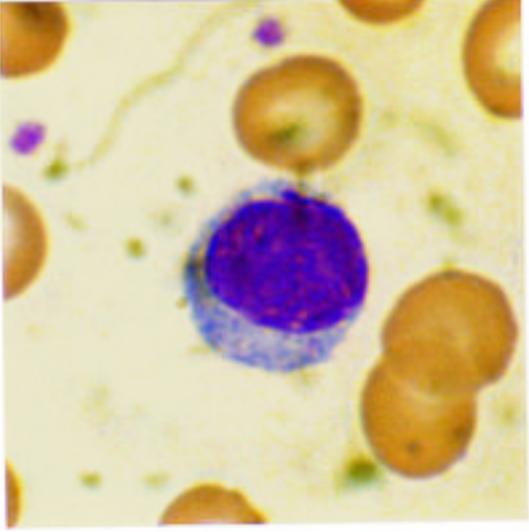
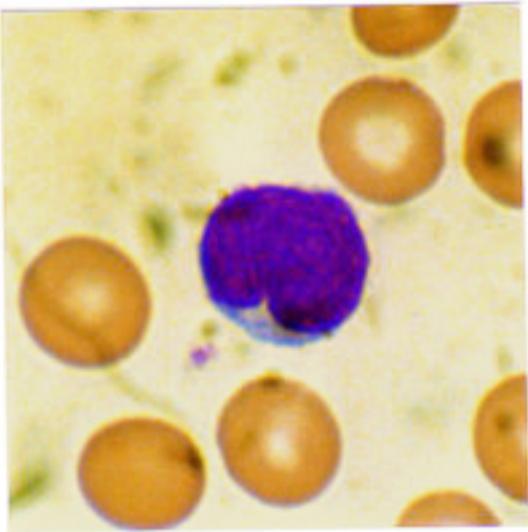
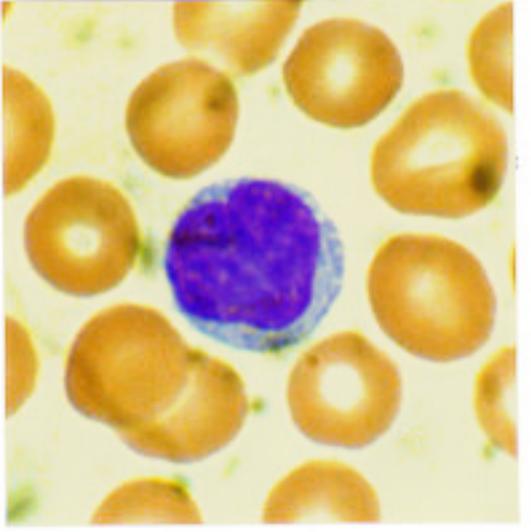
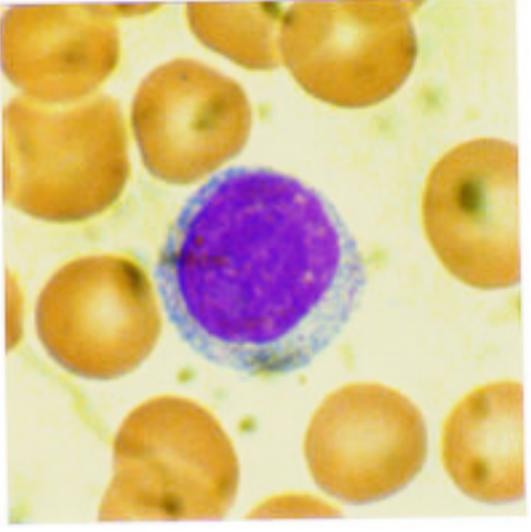
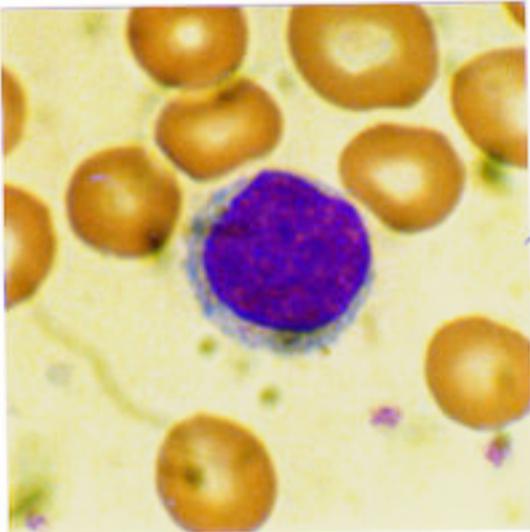


Lymphozyten

1850 x



10 μ m



Lymphozyten

1850 x



10 μ m

