

## **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 Blutaussstrich und gefärbter Blutaussstrich, Untersuchung der gefärbten Blutaussstriche, 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

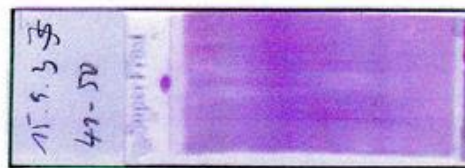
Fixierung nach 4 Stunden Lufttrocknung

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  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

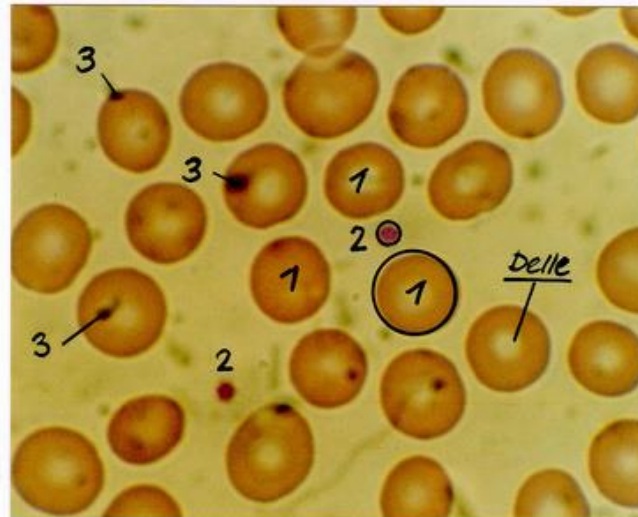
1850x



10  $\mu$ m

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 $\mu\text{m}$	Sauerstofftransport
Stabkernige neutrophile Granulozyten	 ~ 14 $\mu\text{m}$	Phagozytose von Bakterien
Segmentkernige neutrophile Granulozyten	 ~ 14 $\mu\text{m}$	
Eosinophile Granulozyten	 ~ 16 $\mu\text{m}$	Parasitenabwehr Immunregulation
Basophile Granulozyten	 ~ 10-14 $\mu\text{m}$	Lokale Regulation akuter Entzündungsprozesse
Monozyten	 ~ 12-20 $\mu\text{m}$	<u>Großfresser</u> von Bakterien Pilzen, Fremdkörpern → in Gewebe (Makrophagen)
Lymphozyten NK-Zellen	 ~ 6-20 $\mu\text{m}$	Träger der zellulären Immunabwehr
Thrombozyten	 ~ 1-4 $\mu\text{m}$	Blutgerinnung

Schrodt - Hämatologie - Atlas
<u>Mikroskop- und Fotosystem</u>

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  $\phi$ <sup>5</sup> •  
 Objektiv : Olympus Planapochromat  
                   NSC Plan Apo 100/1,40 Oil, 160,  
                   Iris n. A. 0,7 - 1,40, Deckglaskorrektur 0  
 Objektstisch : Drehbarer - u. zentrierbarer Kreuztisch  
 Kondensor : Durchlichtkondensor 402 a, k.-Kopf Arch. 0,90P  
 Lampenhaus : 100 Z mit Halogenglühlampe 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:  $11,5\text{ V}$ , Farbtemperatur  $\sim 3300\text{ K}$

Beleuchtung: Köhlersche Beleuchtung,  
Leuchtfeldblende zentriert und  
auf Sehtfeldgröße 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. Farbkorrekturfitter  
verwendet wurde.

Vergrößerung auf Film:  $415\times$

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

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

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

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

Linienauflösung:  $4200\text{ Lp/mm}$

Punktauflösung:  $0,24\text{ }\mu\text{m}$

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

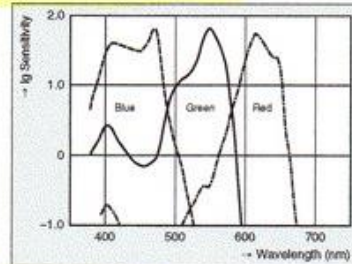
Der preisgünstige Agfa vista 100 Farbnegativ-Amateurfilm (Consumer Film, 3,50 € für 36 Bilder) ist für mittleres Tageslicht mit einer Farbtemperatur von 5500 Kelvin abgestimmt. Die Mikroskop-Halogen-Glühlampe 12 V 100 W hat bei 11,5 V ungefähr eine Farbtemperatur von 3300 Kelvin. Das Ausgleichen der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

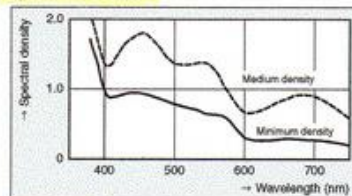
## Wichtige Filmdaten " Agfa Vista 100 "

### Agfa Vista 100

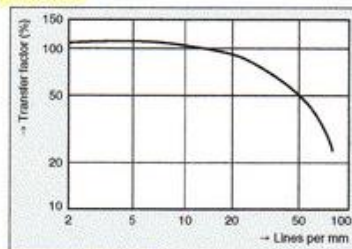
#### Spektrale Empfindlichkeit:



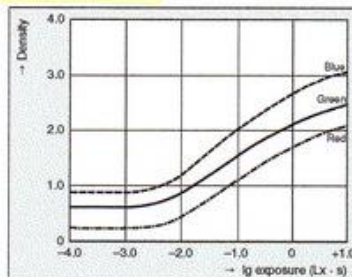
#### Spektrale Dichte:



#### 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

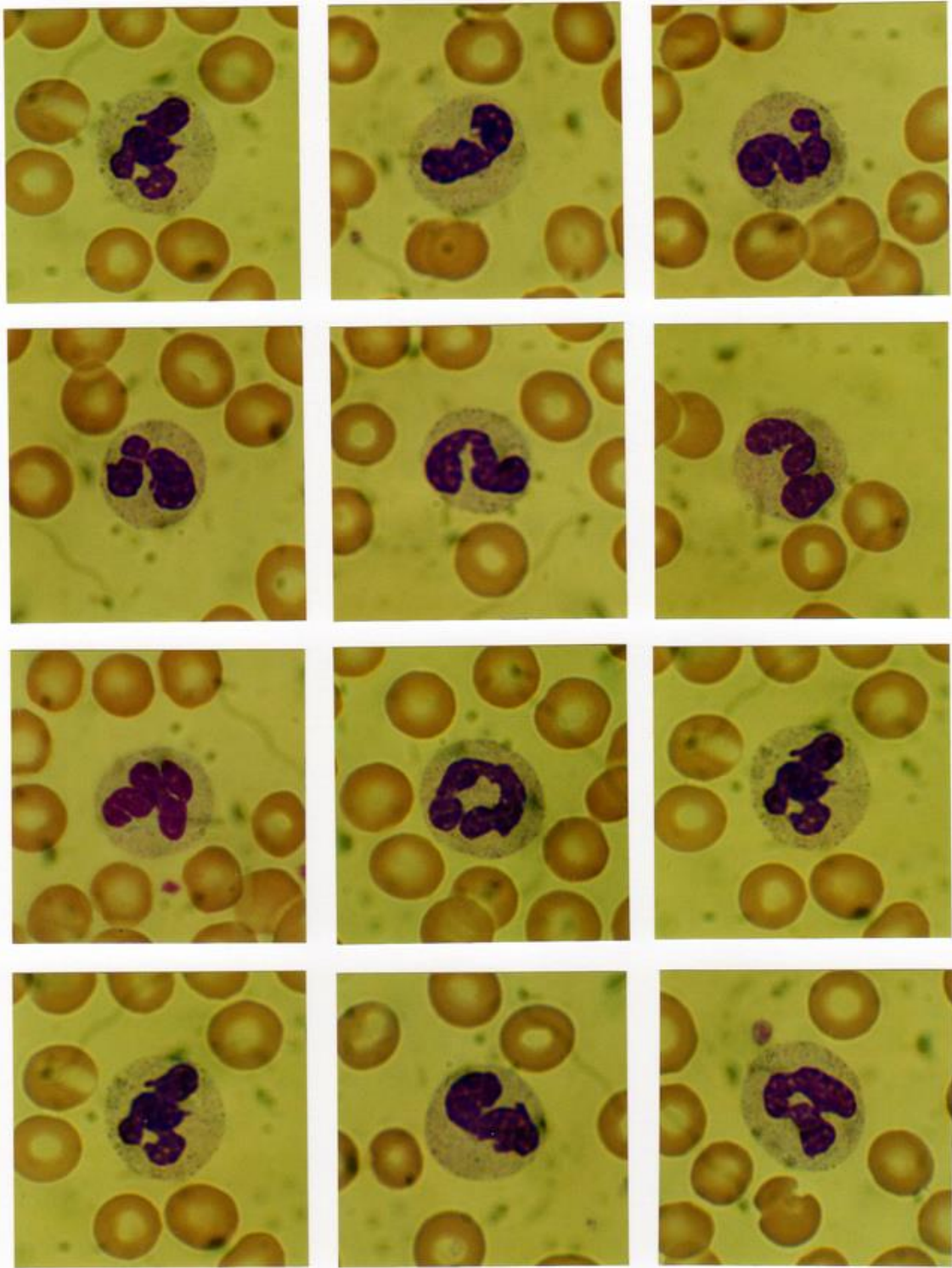


Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

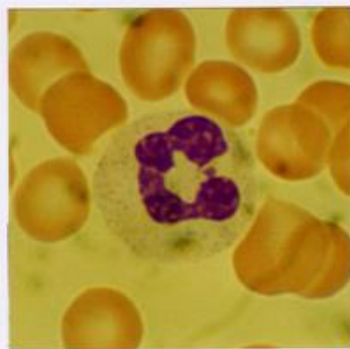
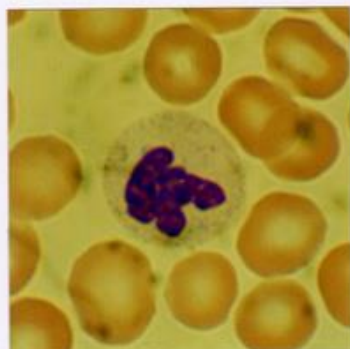
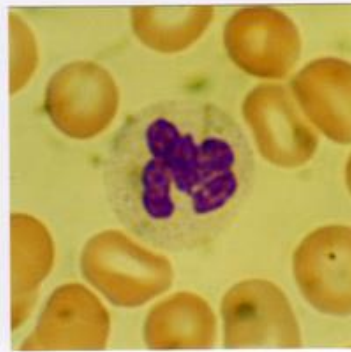
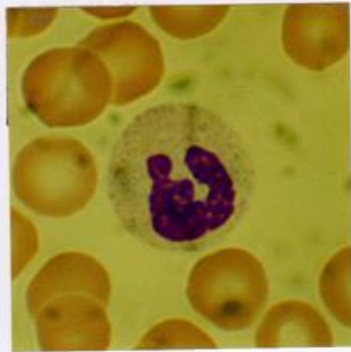
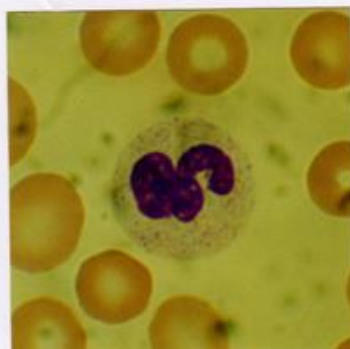
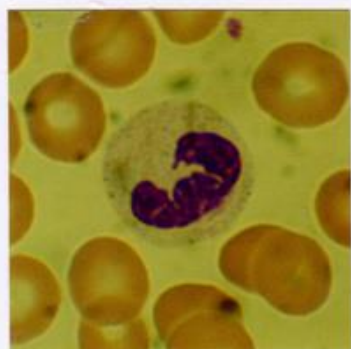
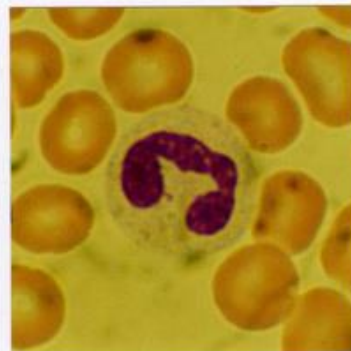


Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m



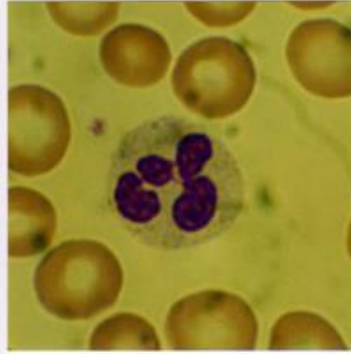
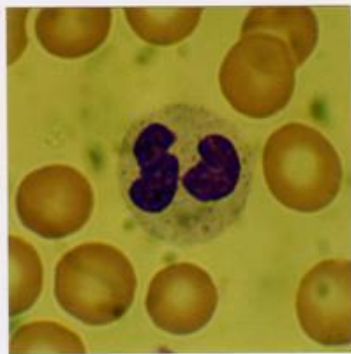
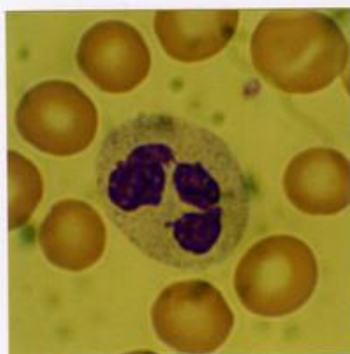
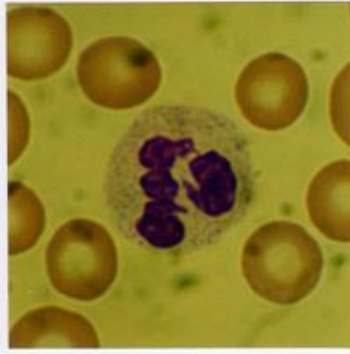
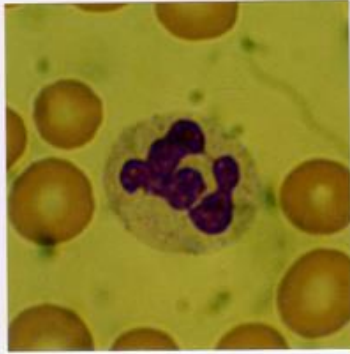
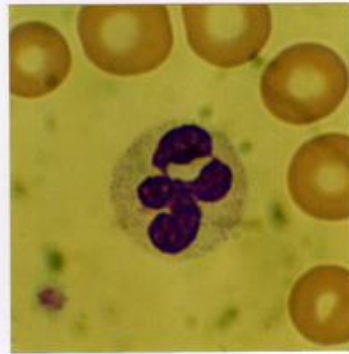
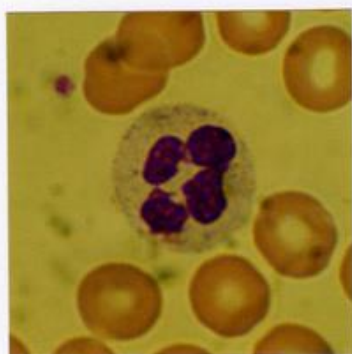
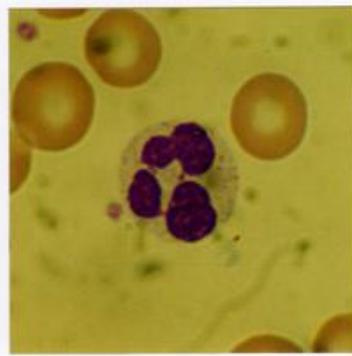
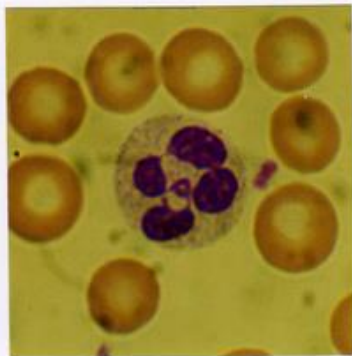
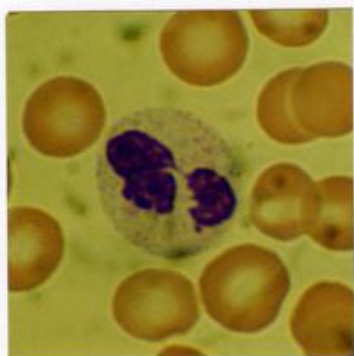


segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m



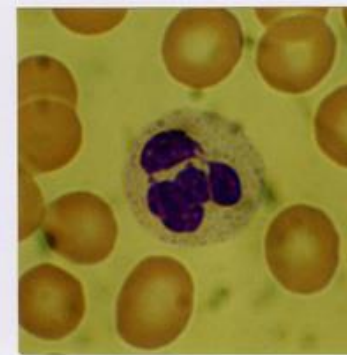
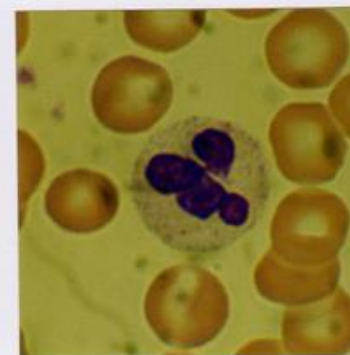
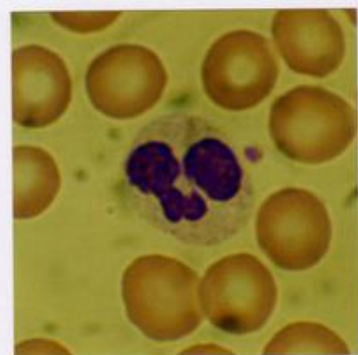
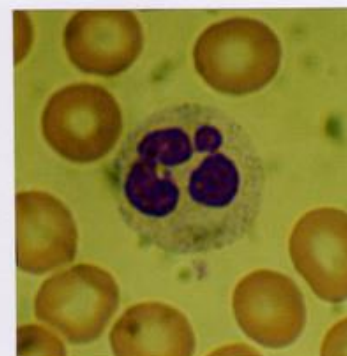
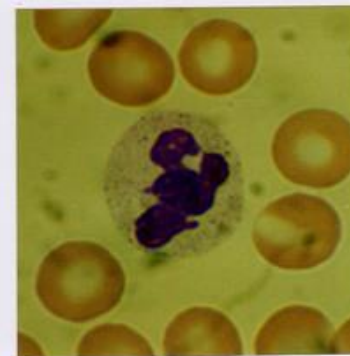
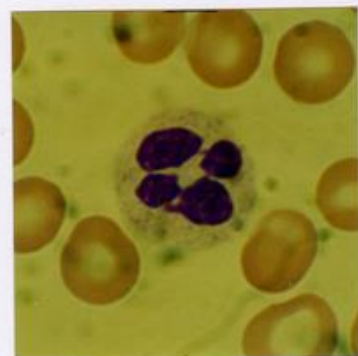
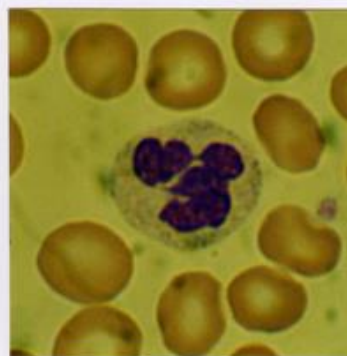
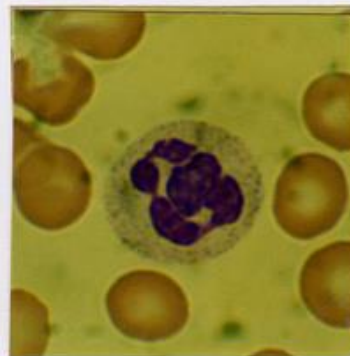
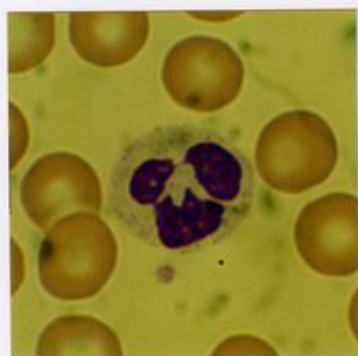
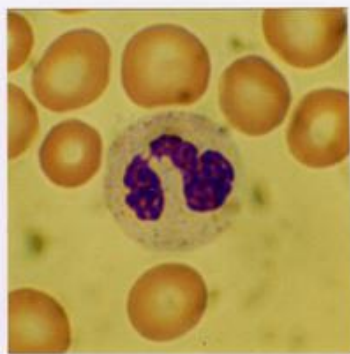
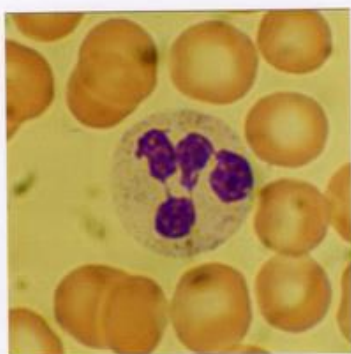


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

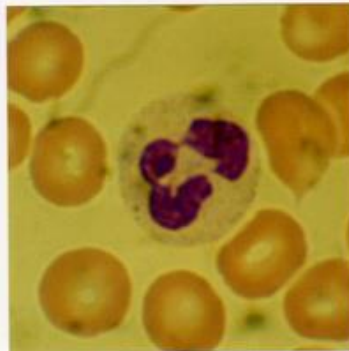
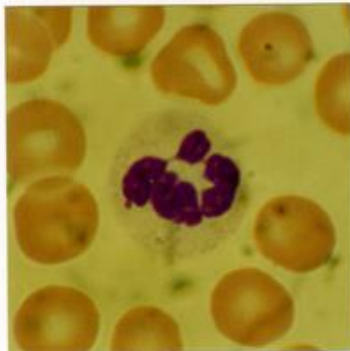
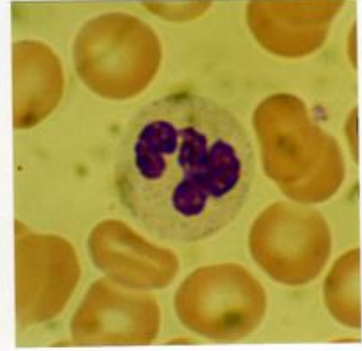
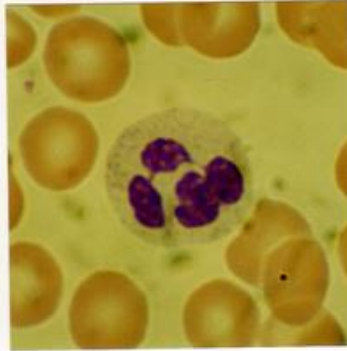
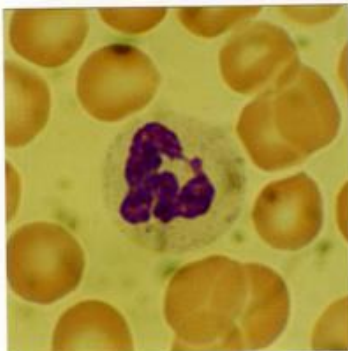
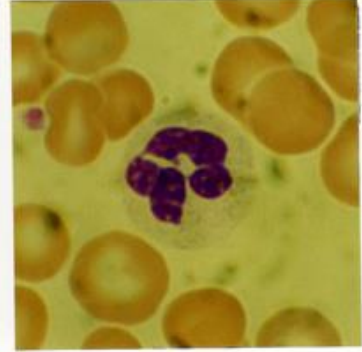
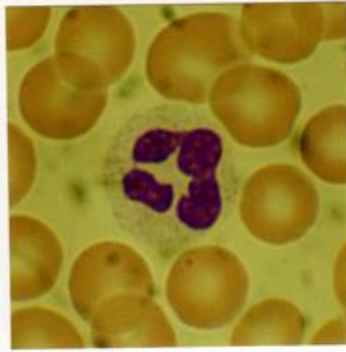
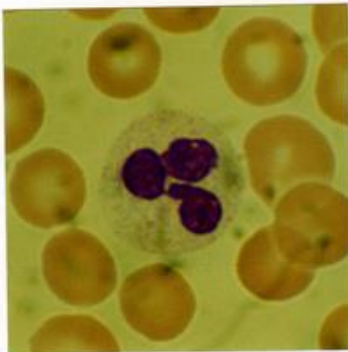
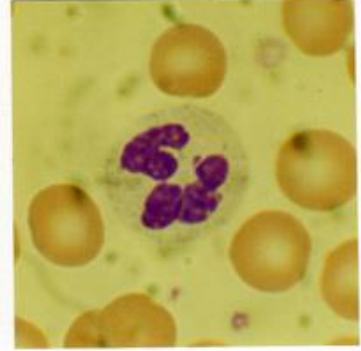
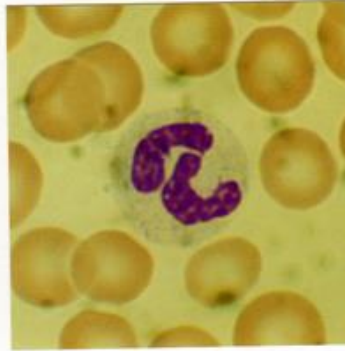
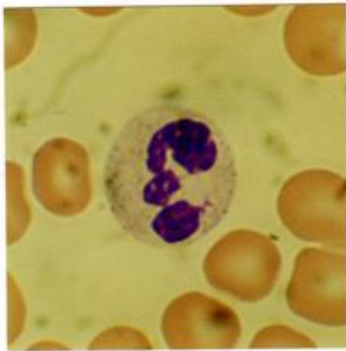


*Segmentkernige neutrophile Granulozyten*

1850 x



10  $\mu$ m



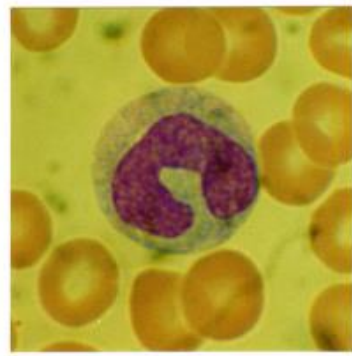
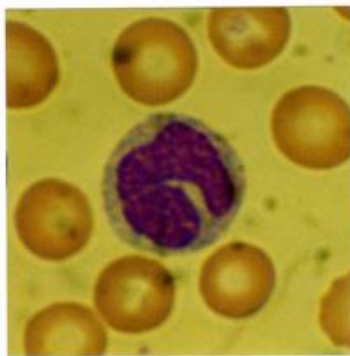
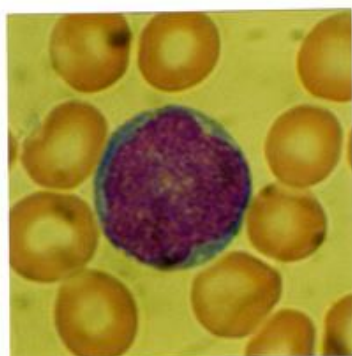
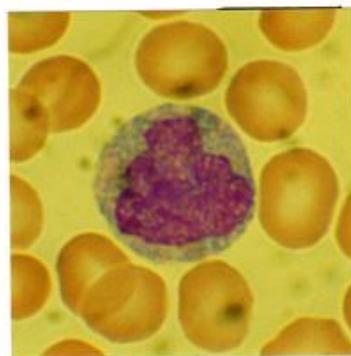
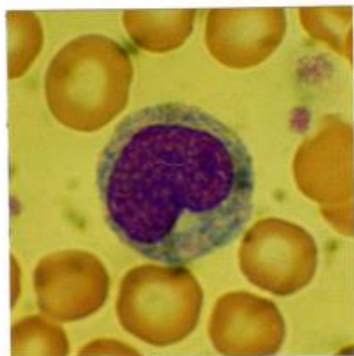
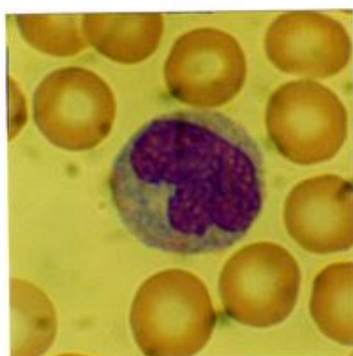
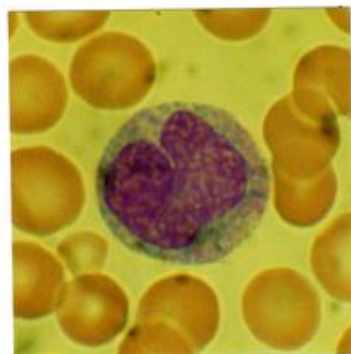
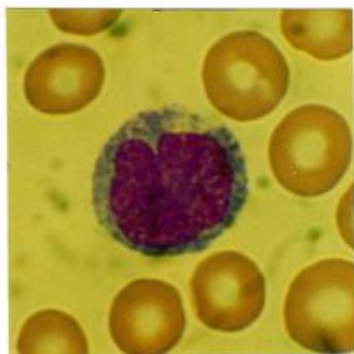
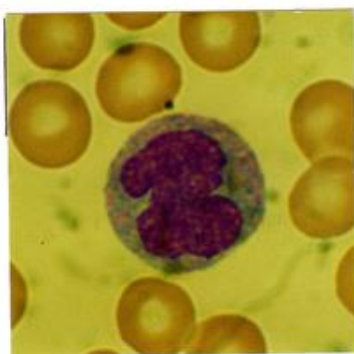
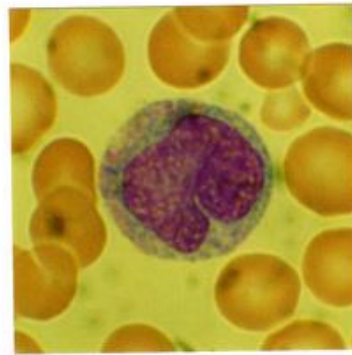
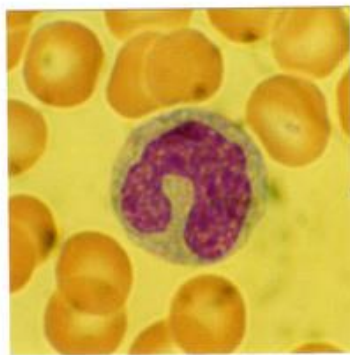
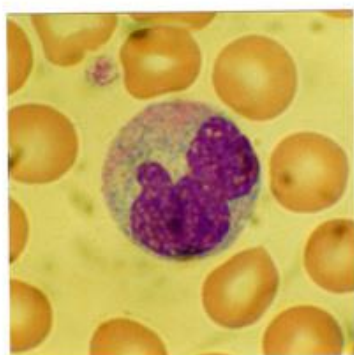


# Monozyten

1850 x



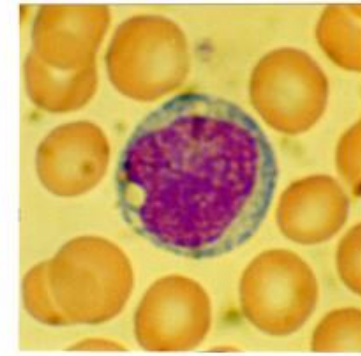
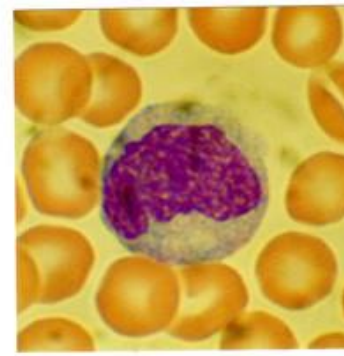
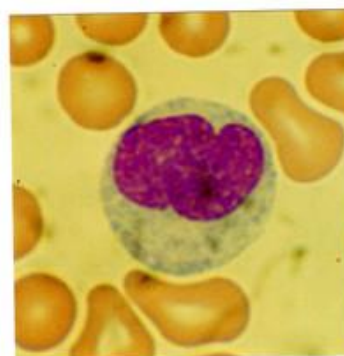
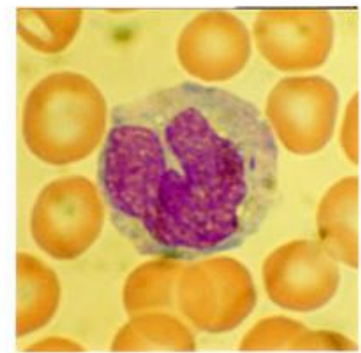
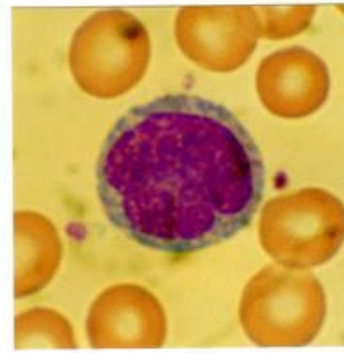
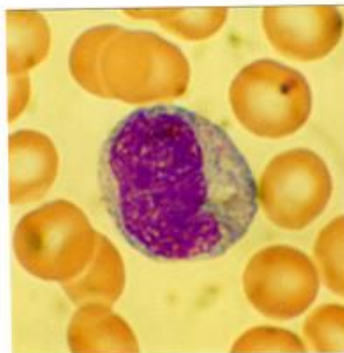
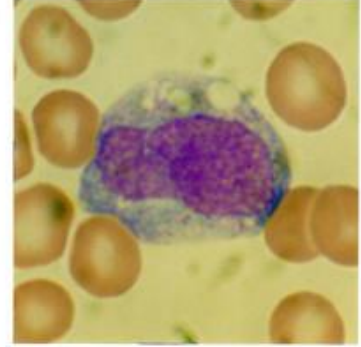
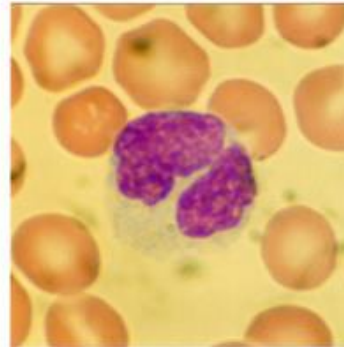
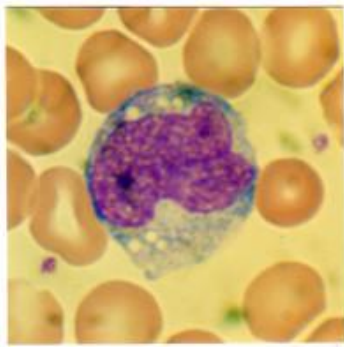
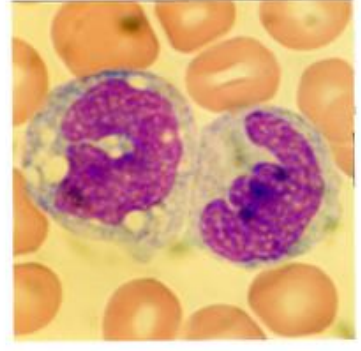
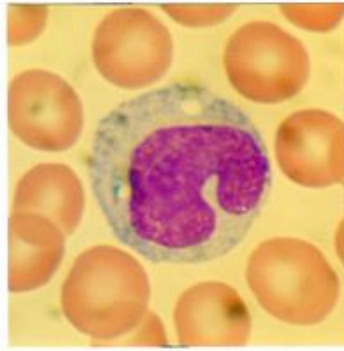
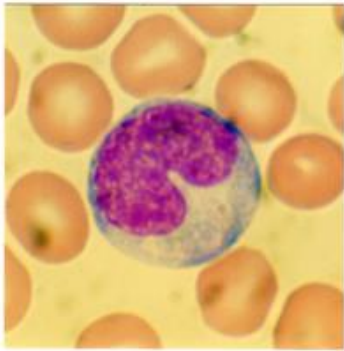
10  $\mu$ m





# Monozyten

Pappenheim-Färbung 1850x  10 µm

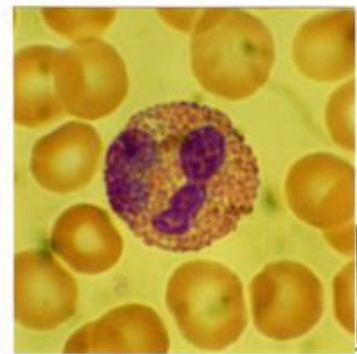
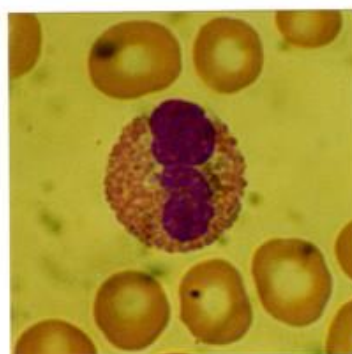
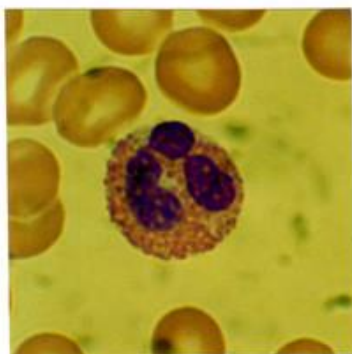
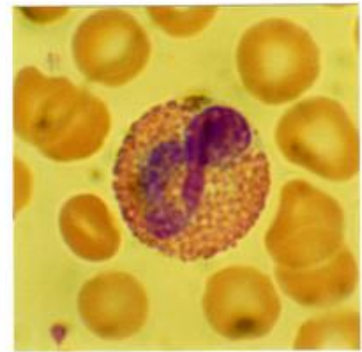
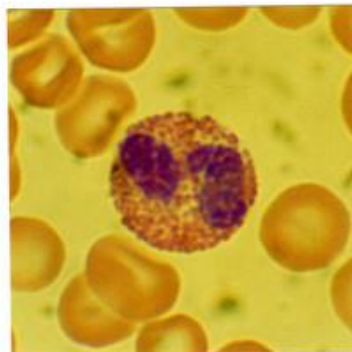
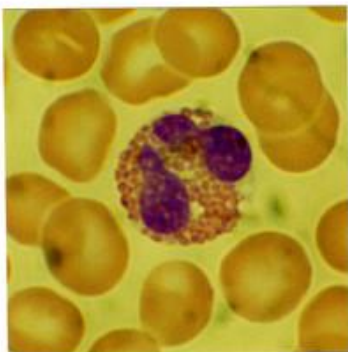
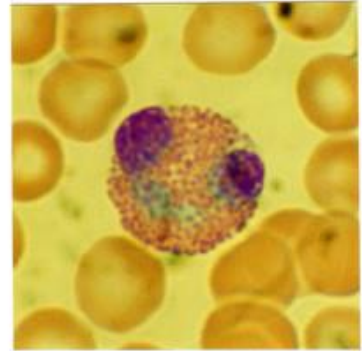
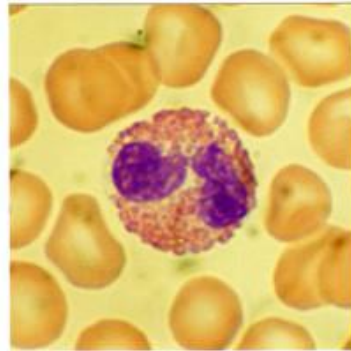
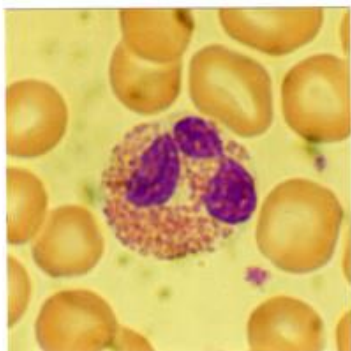
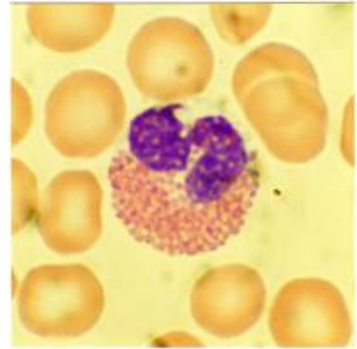
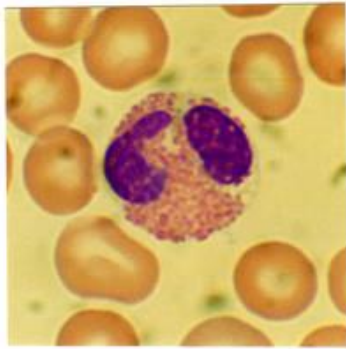
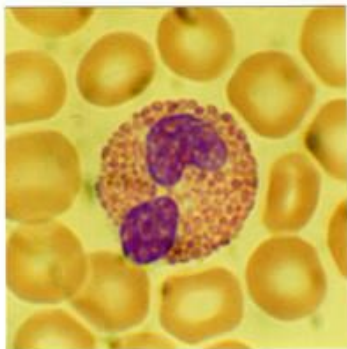


Eosinophile Granulozyten

1850x



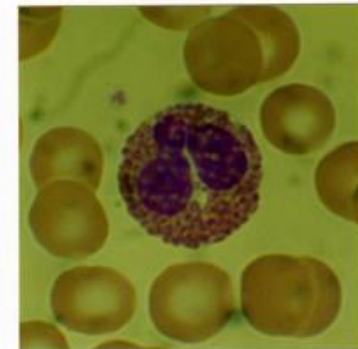
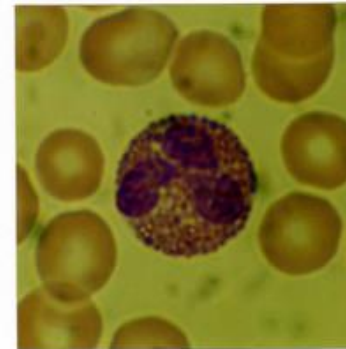
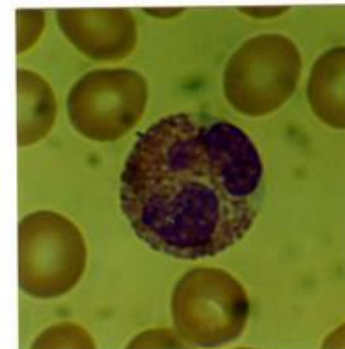
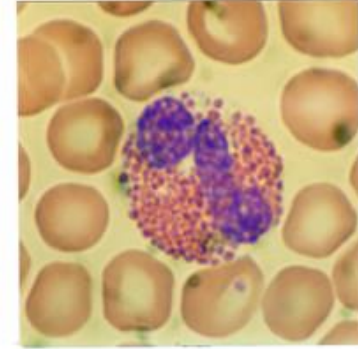
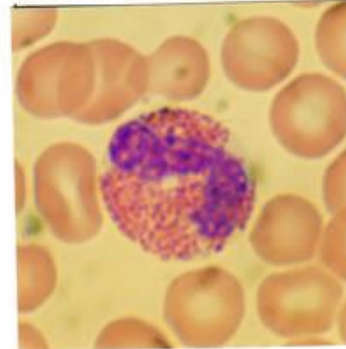
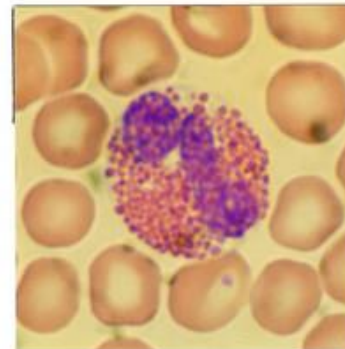
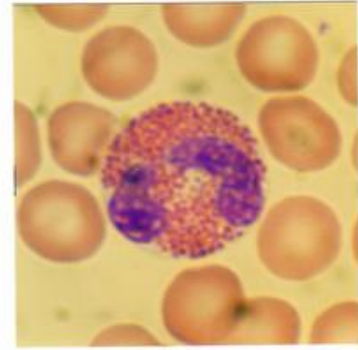
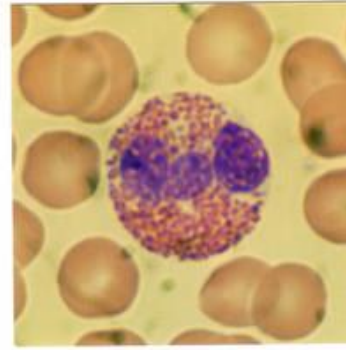
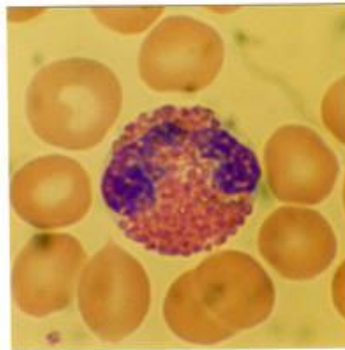
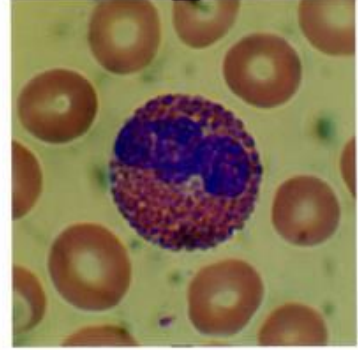
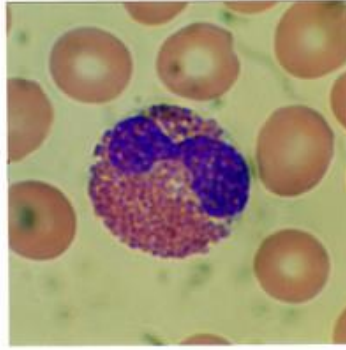
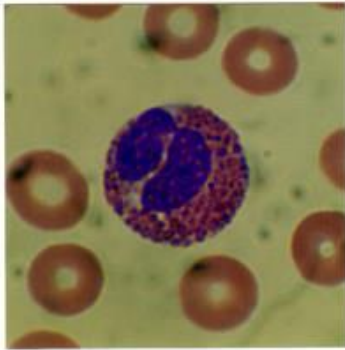
10  $\mu$ m





# Eosinophile Granulozyten

Pappenheim - Färbung 1850x  $\text{---|---|}$  10  $\mu\text{m}$

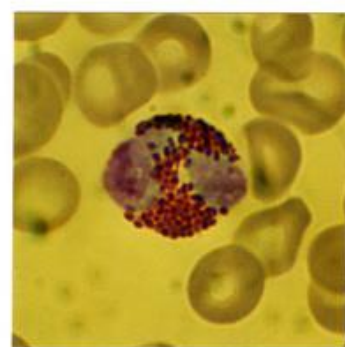
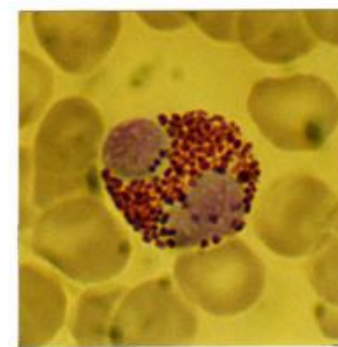
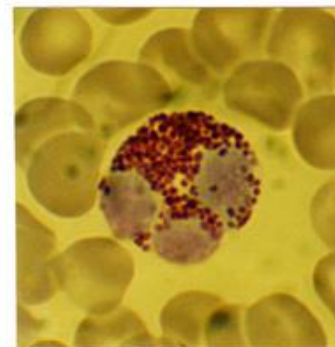
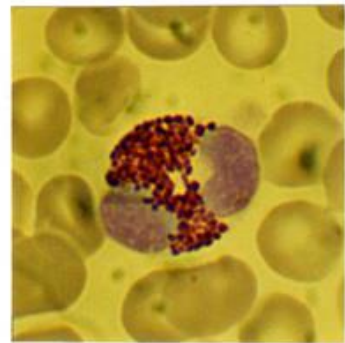
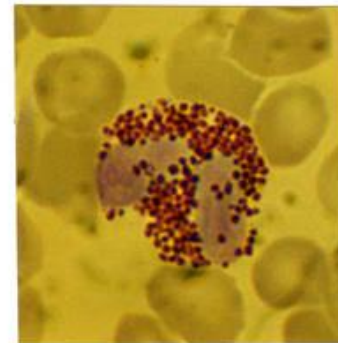
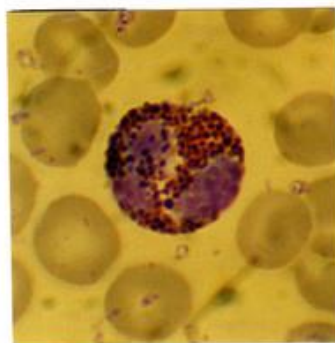
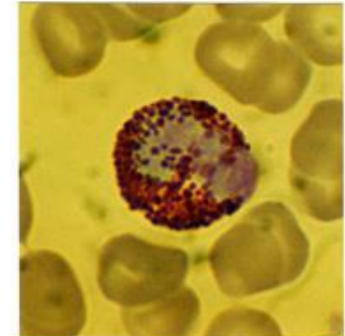
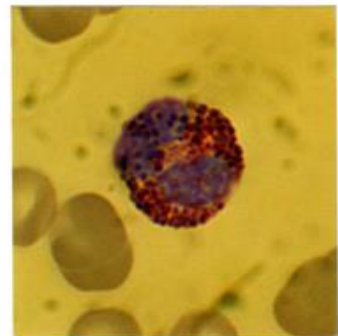
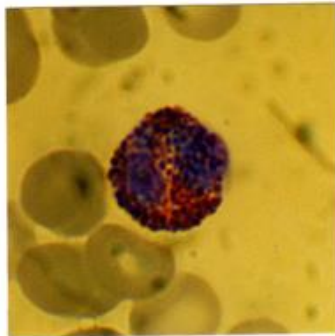
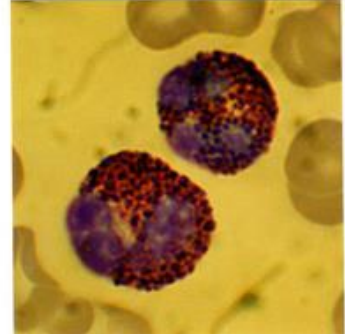
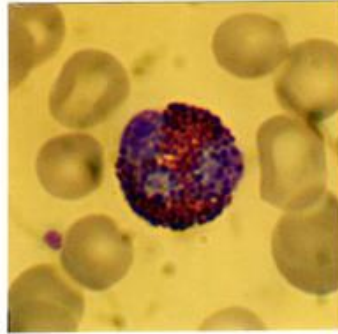
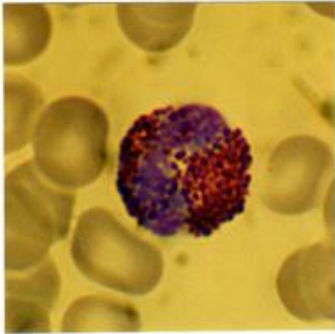


Schrodt



# Basophile Granulozyten

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



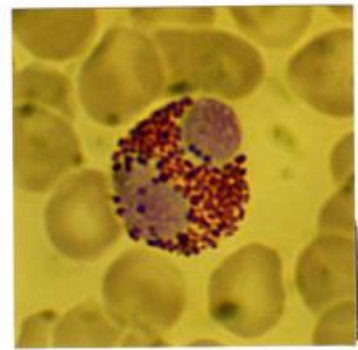
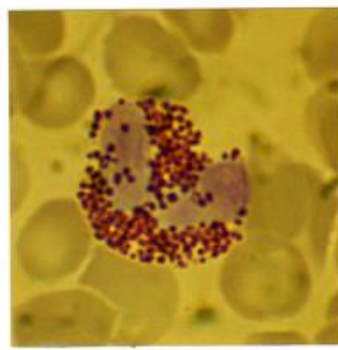
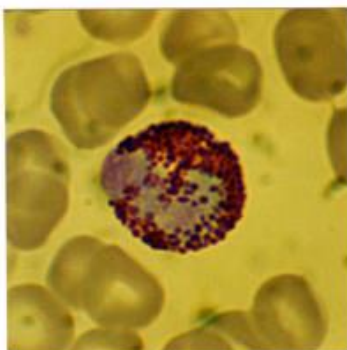
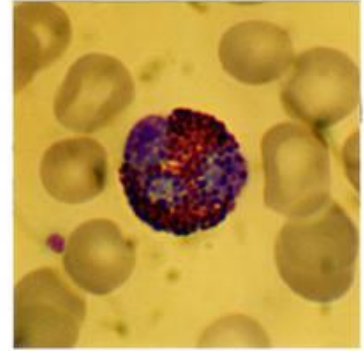
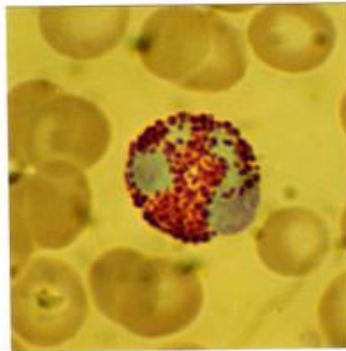
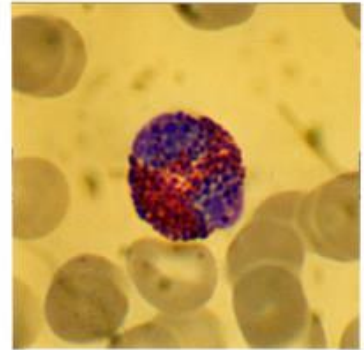
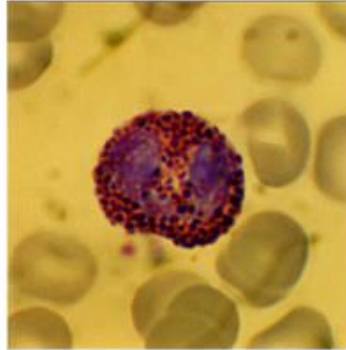
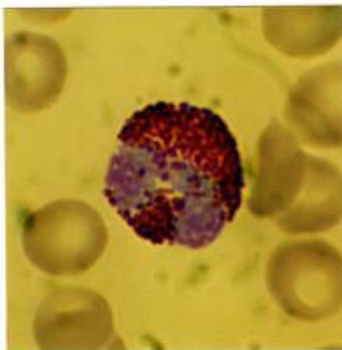
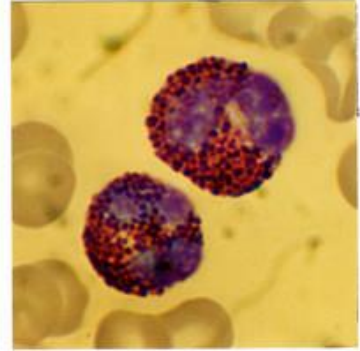
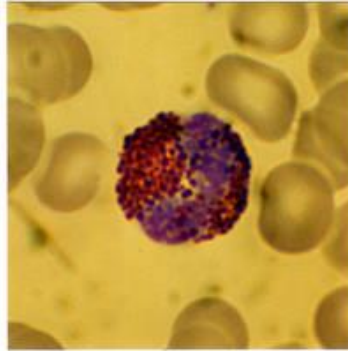
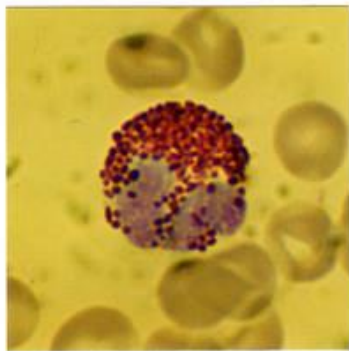
Schrodt

Basophile Granulozyten

1850x



10  $\mu$ m



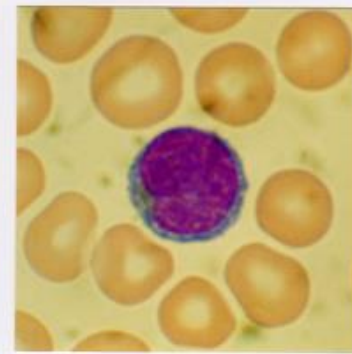
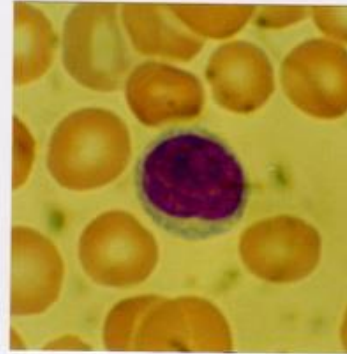
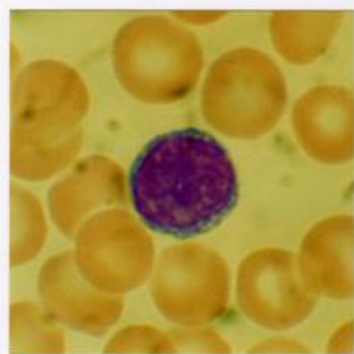
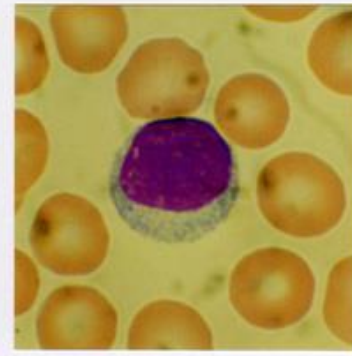
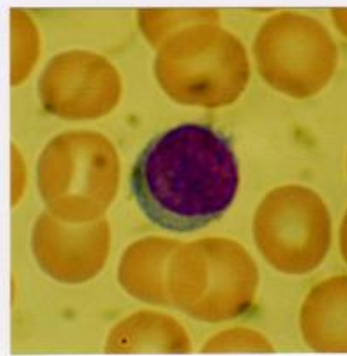
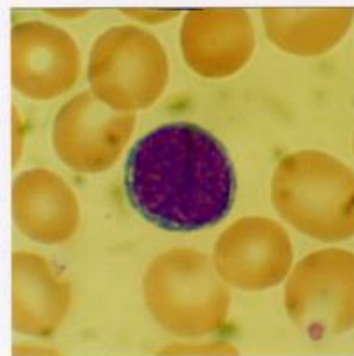
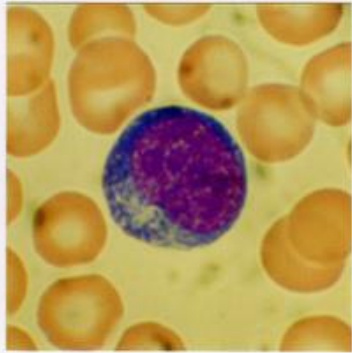
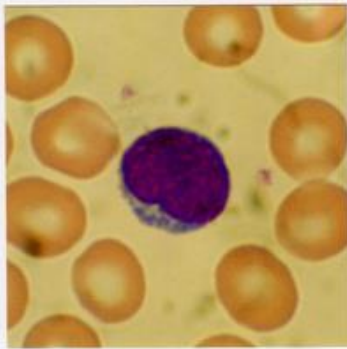
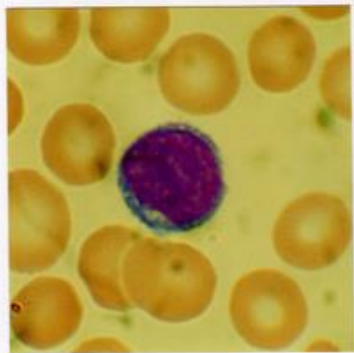
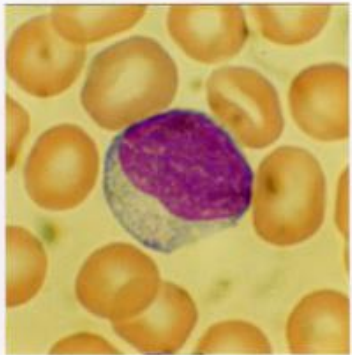
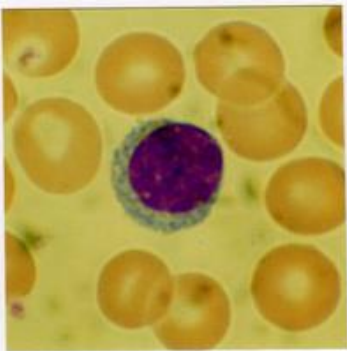
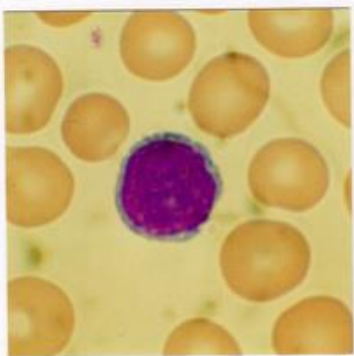


Lymphozyten

1850 x



10  $\mu$ m

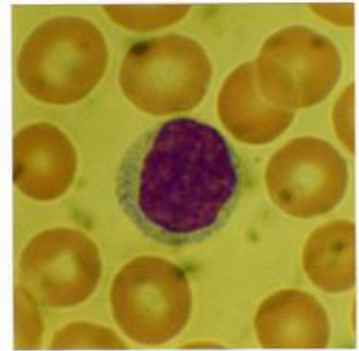
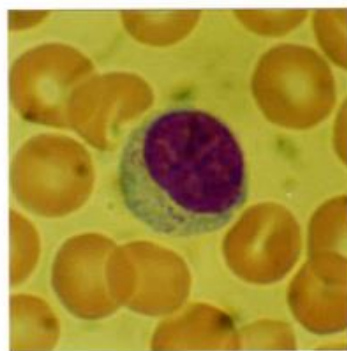
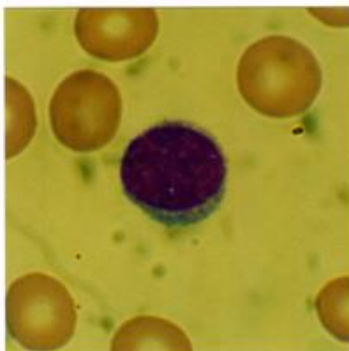
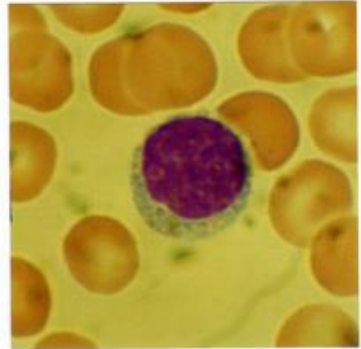
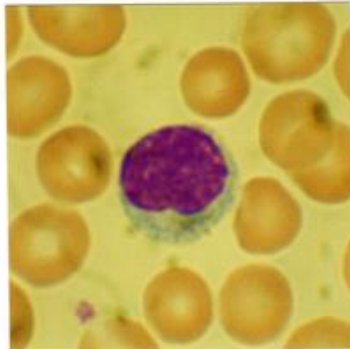
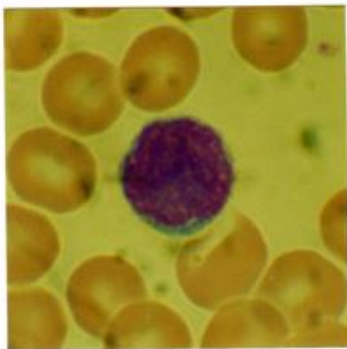
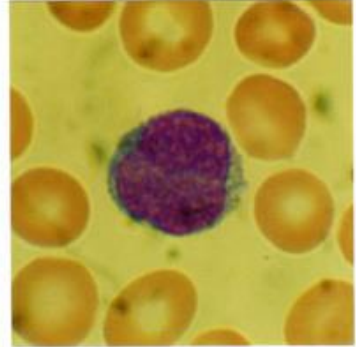
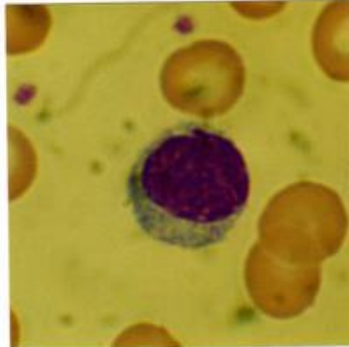
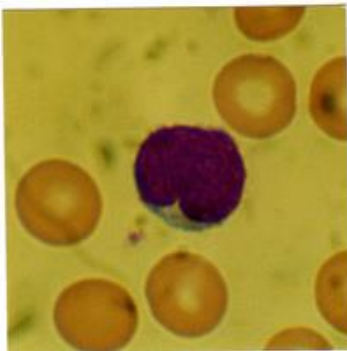
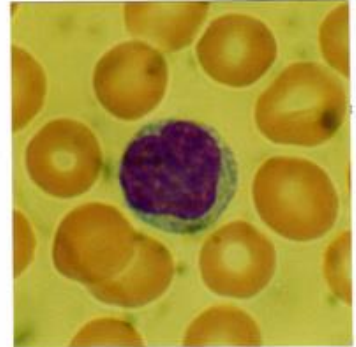
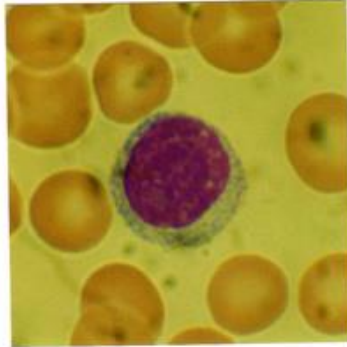
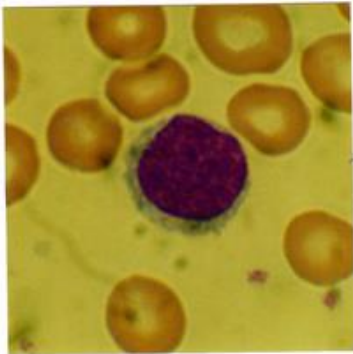


Lymphozyten

1850 x




10  $\mu$ m





Lymphozyten

1850 x            10 μm

