

## 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 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 Blutausstrich und gefärbter Blutausstrich, Untersuchung der gefärbten Blutausstriche, 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**

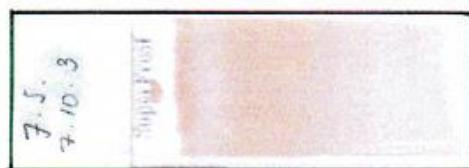
**2 Bildtafeln : Basophile Granulozyten**

**3 Bildtafeln : Lymphozyten**

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

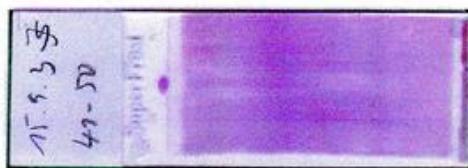
## Blutausstriche

### Fixierter Blutausstrich



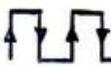
Blutausstrich - Herstellung mit Schub-Methode  
Fixierung nach 4 Stunden Lufttrocknung  
Fixierung mit Methanol  
Fixierungs dauer 10 Minuten  
Trocknung an der Luft auf Trockenständer

### Gefärbter Blutausstrich



Pappenheim - Färbung  
mit 3 Fär betrögen und 2 Spülboxen  
entsprechend Beschreibung

## Untersuchung der gefärbten Blutausschüttungen

- Makroskopisch durch Augenschein
  - Verteilung der Zellen (Aggregate, Löcher?)
  - Färbung (Blaustrich, usw?)
- Mikroskopisch
  - systematische Durchsicht mit Hilfe des Kreuztisches  mäanderförmig
- bei schwacher Vergrößerung (~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 (~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

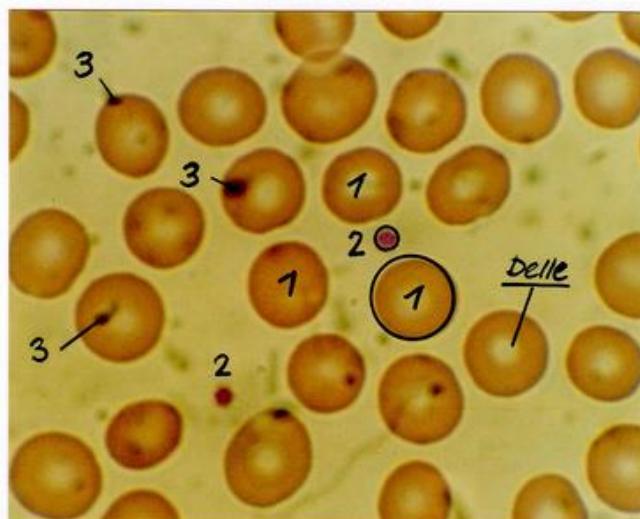
1850x



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 Mikrometer-Schraube werden diese Pseudoeinschlüsse im Gegen-satz 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	
Segmentkernige neutrophile Granulozyten	 ~14 µm	Phagozytose von Bakterien
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
<u>Mikroskop- und Fotosystem</u>

Mikroskop : Leitz - Orthoplan  
 Tubus : Binokularer Fototubus FSA-GW  
 Objektivrevolver : 5-fach mit Tubuslinse 1,25x  
 Vergrößerungswechsler : Variohubus 1 bis 3,2x  
 Okulare : GW 8x / 24  $\delta\delta$  •  
 Objektiv : Olympus Plan apochromat  
                   NSC Plan Apo 100/1,40 Oil, 160,  
                   Iris n. A. 0,7 - 1,40, Deckglaskorrektur 0  
 Objektivtisch : Drehbarer- u. zentrierbarer Kreuztisch  
 Kondensor: Durchlichtkondensor 402 a, k.-Kopf Achr. 0,90 P  
 Lampenhaus: 100% mit Halogenlampe 12 V 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 : 100 x  
 Vergrößerungswechsler : 1,25 x  
 Tubusfaktor : 1,25 x  
 Fotookular : 8 x  
 Kamerafaktor : 0,32 x  
 Bild-Übertragungsfaktor : 4,75 x effektiv

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

Belichtung: Köhlersche Belichtung,  
Leuchtfeldblende zentriert und  
auf Schiebeldgröße geöffnet,  
Aperturblende auf  $\sim 2/3$  geöffnet

Film: Tageslicht-Farbnegativfilm  
AGFA vista 100, ISO 100/27°, 24x36mm,  
Farbtemperatur  $\sim 5500$  Kelvin

Belichtungsmessung: Spotmessung

Schwarzschild-Effekt: nicht berücksichtigt!

Farbverschiebung: Farbverschiebung vorhanden, da  
zur Erzielung einer kurzen Belicht-  
ungszeit 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 Färbetröge

2 Spülboxen

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

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

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

Färbegestell 5x heraus-  
heben u. wieder eintauchen

Pufferlösung pH 6,5  
(Spülen ~ 5 s)

Pufferlösung pH 6,5  
(Spülen ~ 20 s)

Genauer Beschreibung der Färbung bei  
weitergehenden Informationen

Auswirkung der Färbung auf die Blutzellengröße

Gefärbte Blutzellen sind wegen des Wasserverzugs  
rd. 10 % kleiner als ungefärbte Blutzellen!

## Farbverschiebung

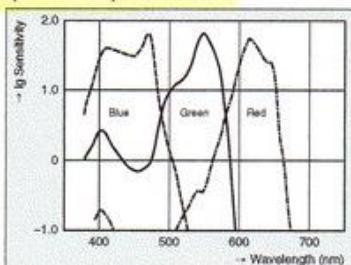
Der preisgünstige Agfa Vista 100 Farbnegativ-  
Amateurfilm (Consumer Film, 3,50 € für 36 Bilder) ist für mittleres Tageslicht mit einer Farbtemperatur von 5500 Kelvin abgestimmt. Die Mikroskop-Halogen-Glühlampe 12 V 100 W hat bei 11,5 V ungefähr eine Farbtemperatur von 3300 Kelvin. Das Ausgleichen der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

Struktur	visuelles Mikroskopbild	farbiges Papierbild
Zellkerne	rotviolett	dunkler violett
Hämoglobin der Erythrozyten	blaßrot	blaßbraun
Zytoplasma der Granulozyten	rötlich	braunlich
Zytoplasma der Lympho- u. Monozyten	graublau	grau
Untergrund	grauweiß	gelbgrün

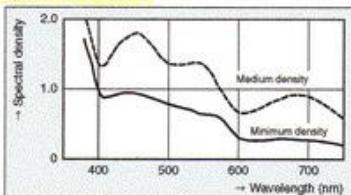
## Wichtige Filmdaten "Agfa Vista 100"

### Agfa Vista 100

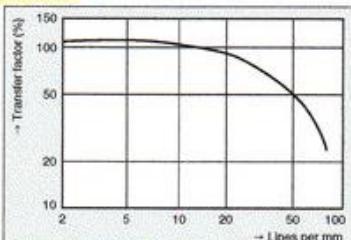
#### Spektrale Empfindlichkeit:



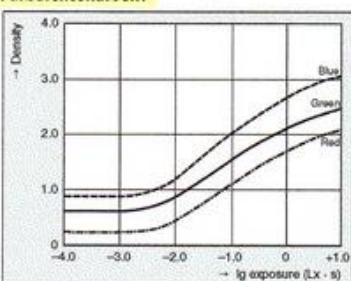
#### Spektrale Dichte:



#### 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:

Symbol: 3 rote Dreiecke

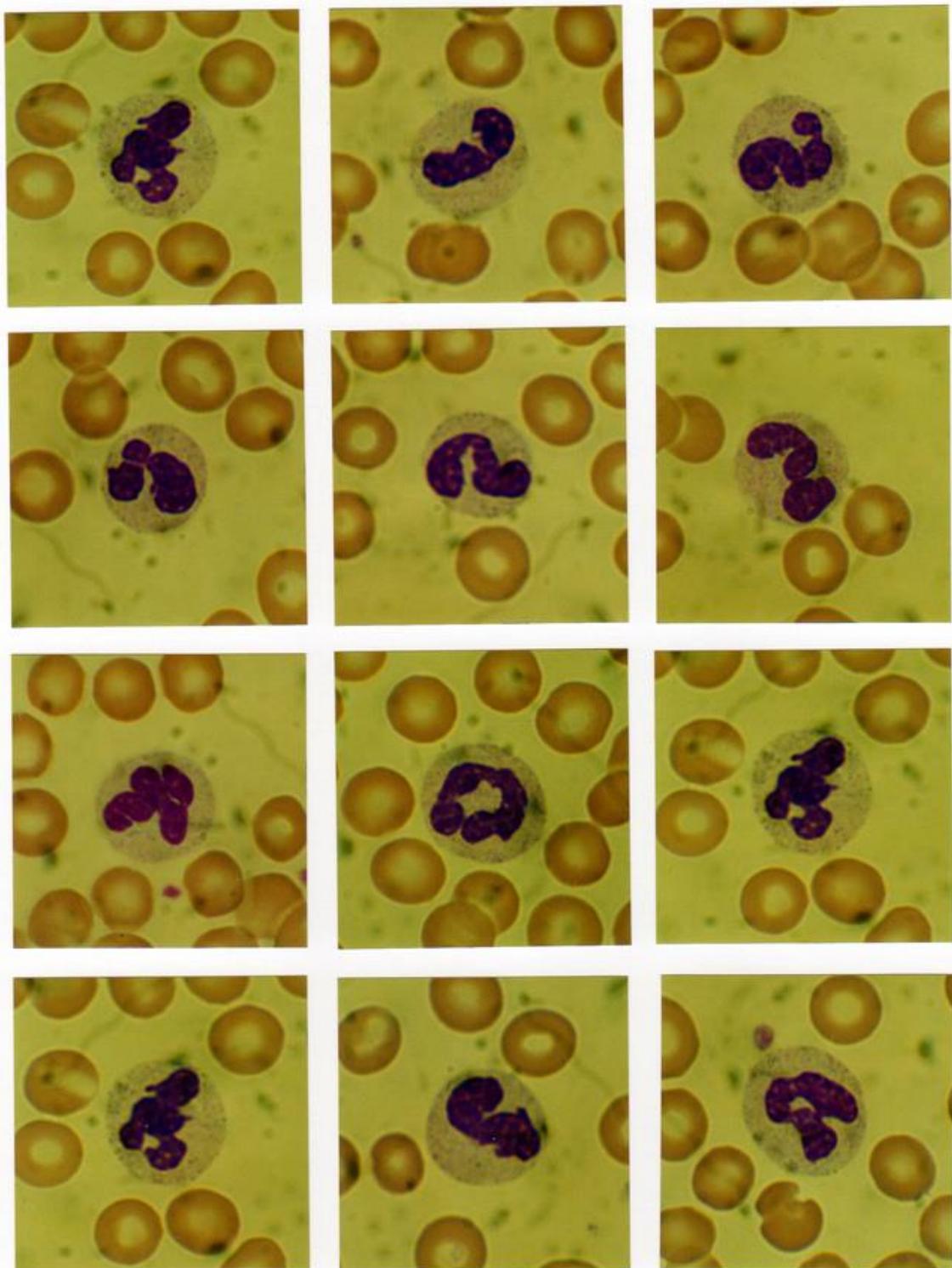
Signiertext: AGFA VISTA 100-C

Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

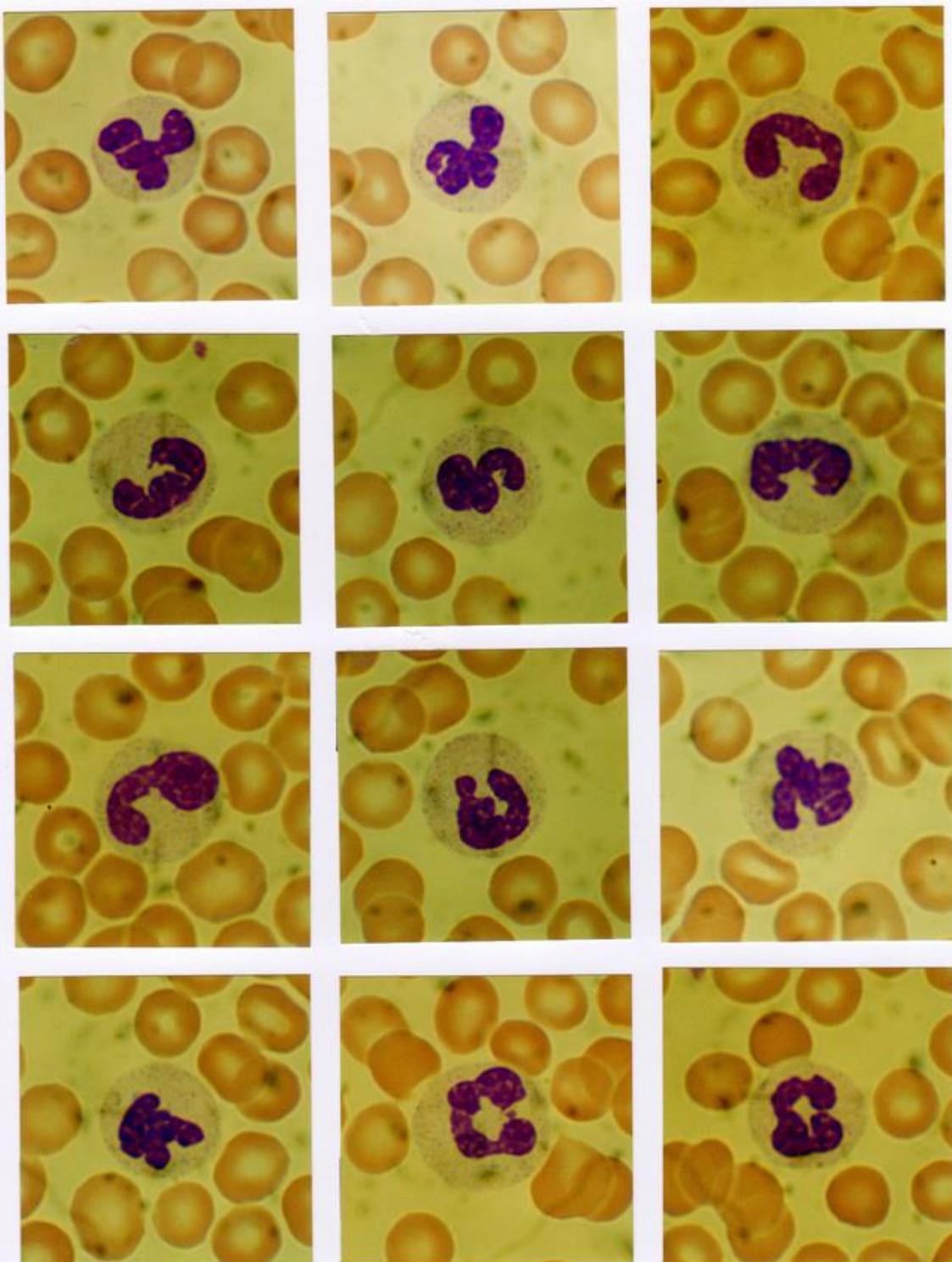


Stabkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10 µm

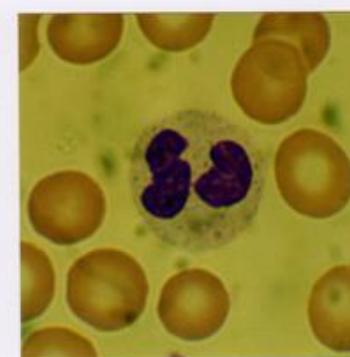
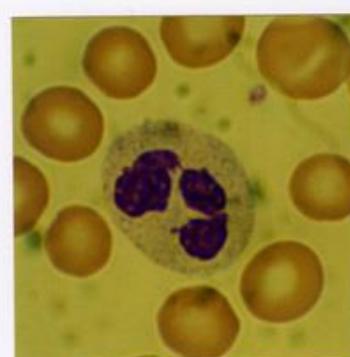
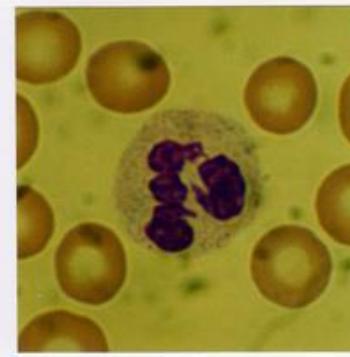
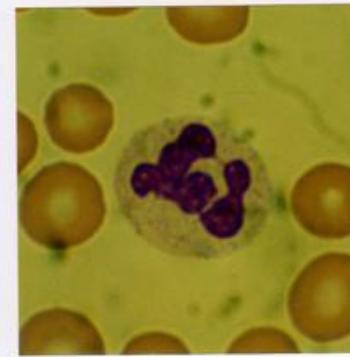
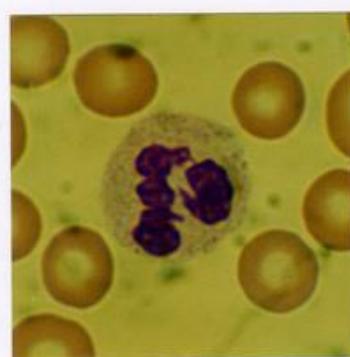
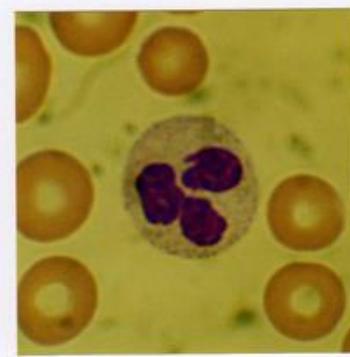
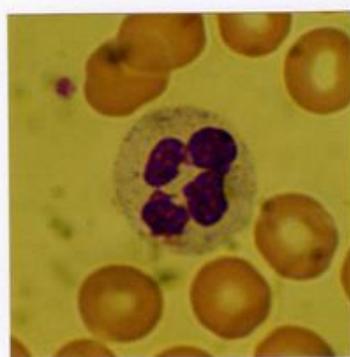
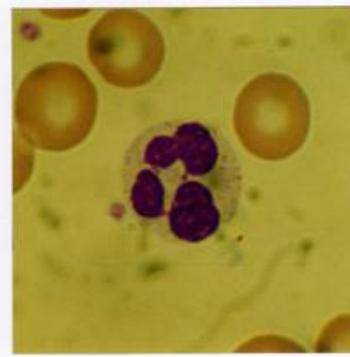
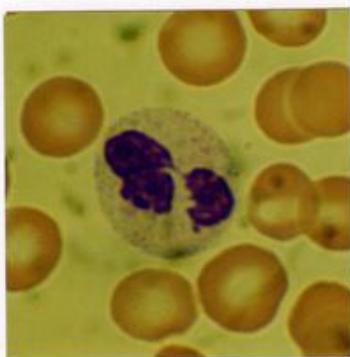


segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

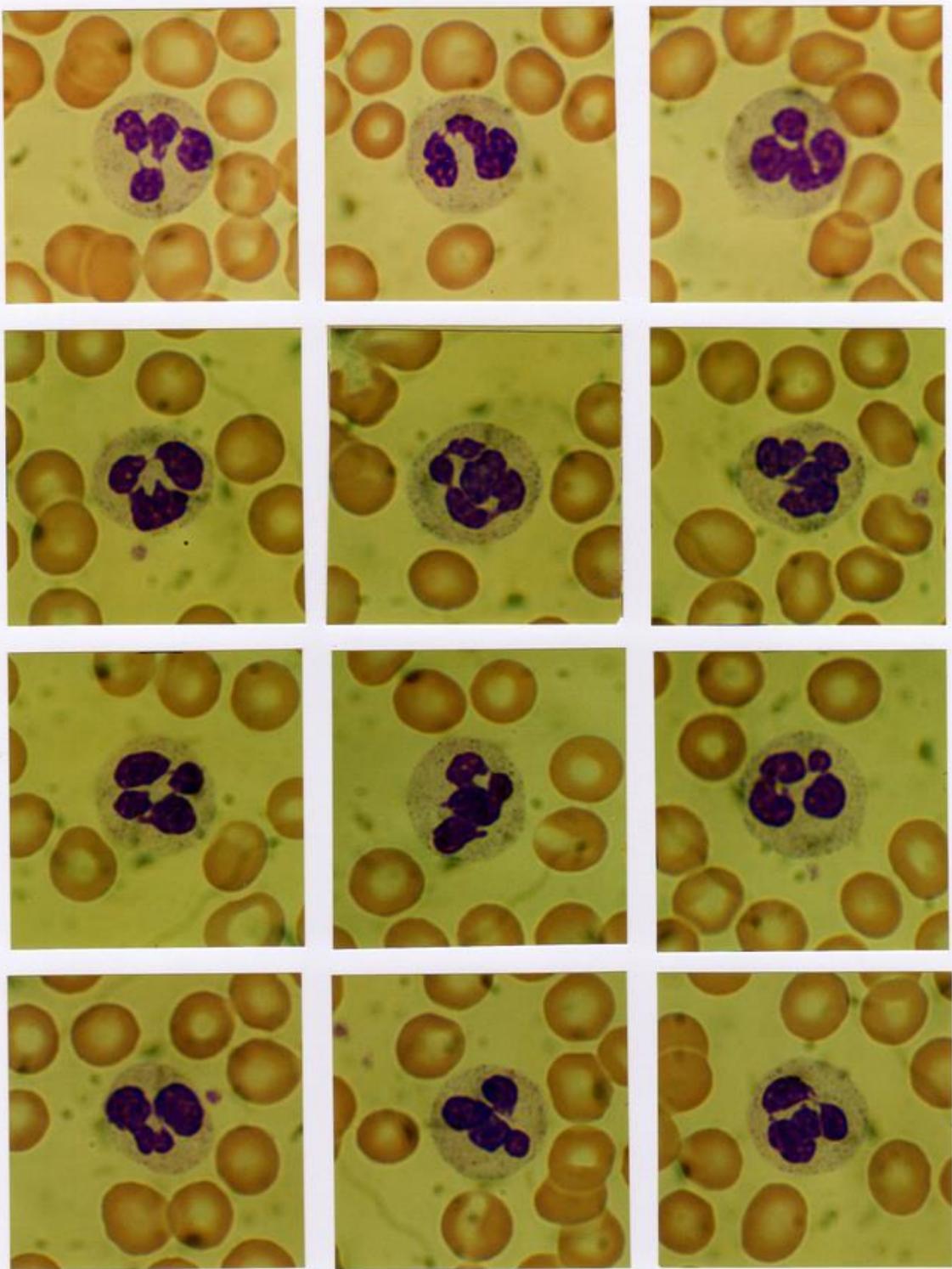


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10 µm

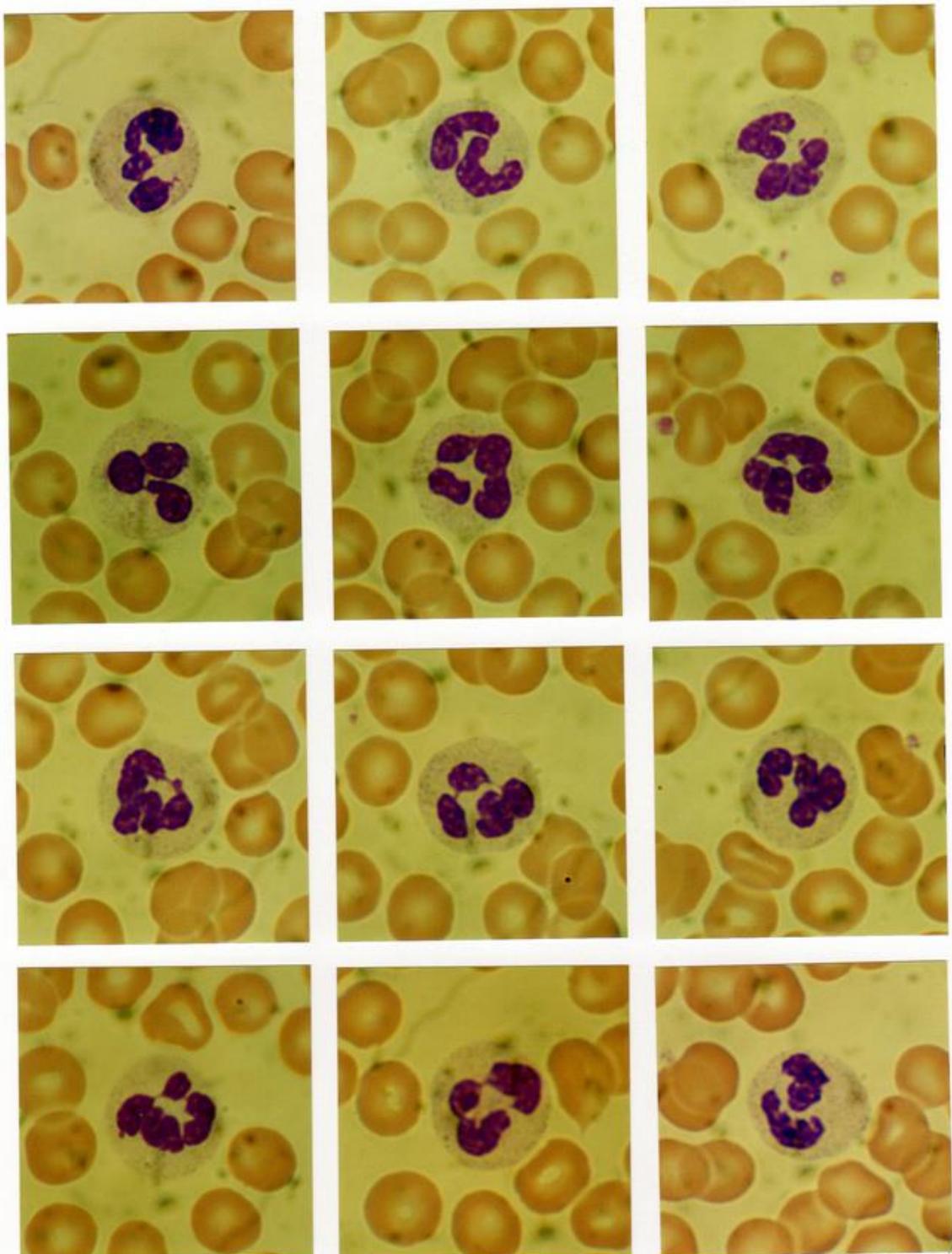


Segmentkernige neutrophile Granulozyten

1850 x



10  $\mu$ m

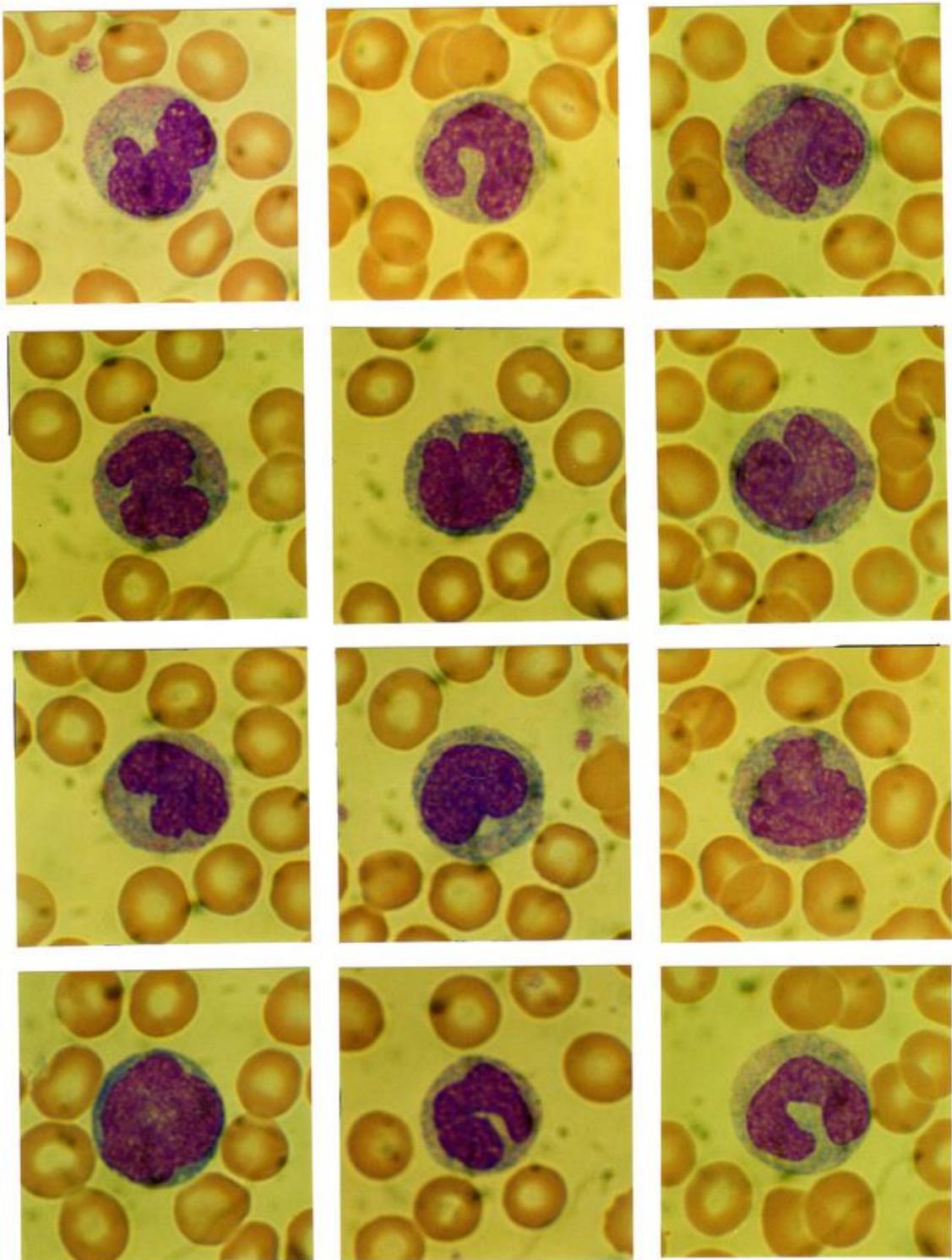


*Monozyten*

1850 x



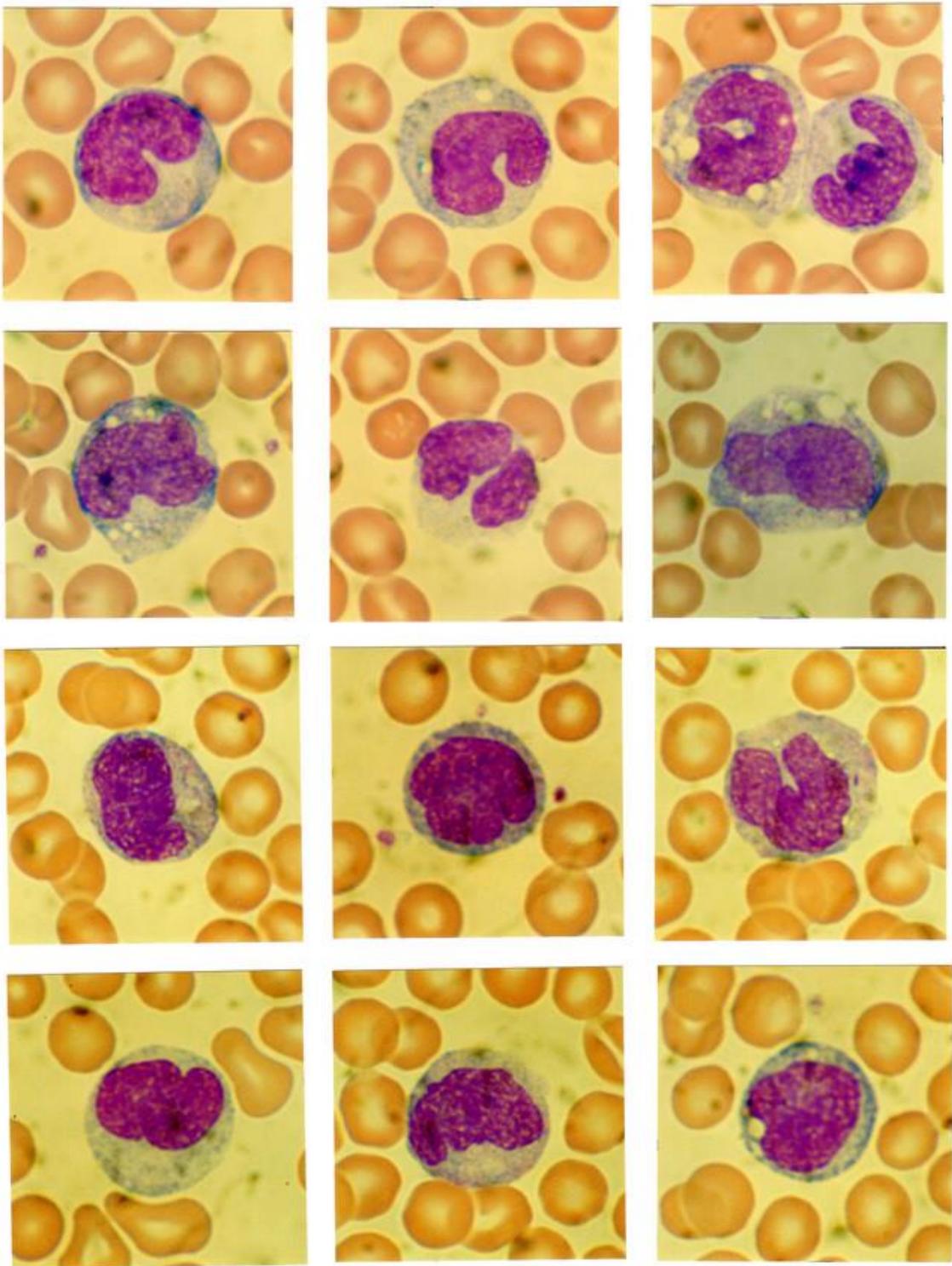
10  $\mu$ m



Monozyten

Pappenheim-Färbung 1850x

10 µm

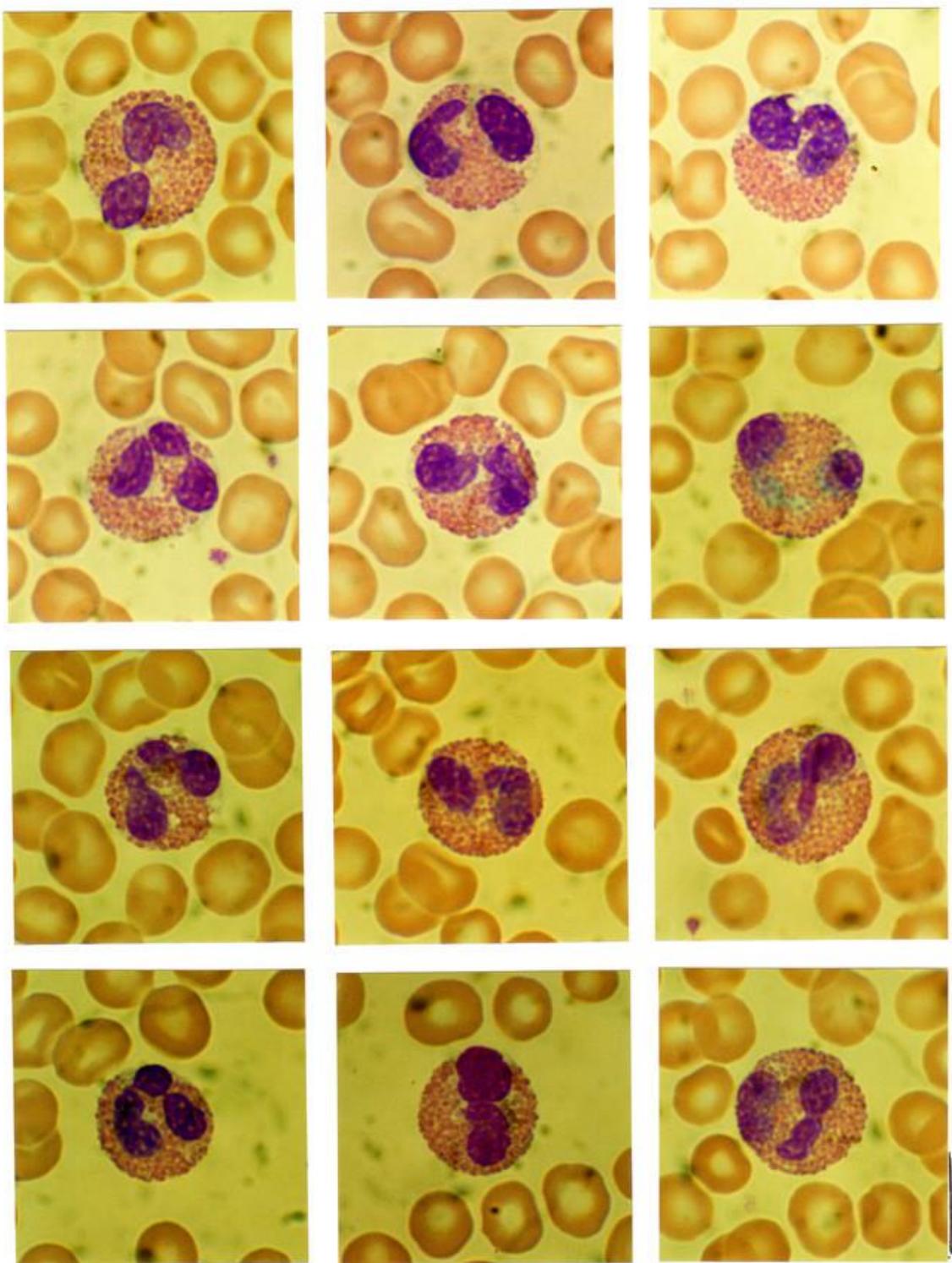


*Eosinophile Granulozyten*

1850 x

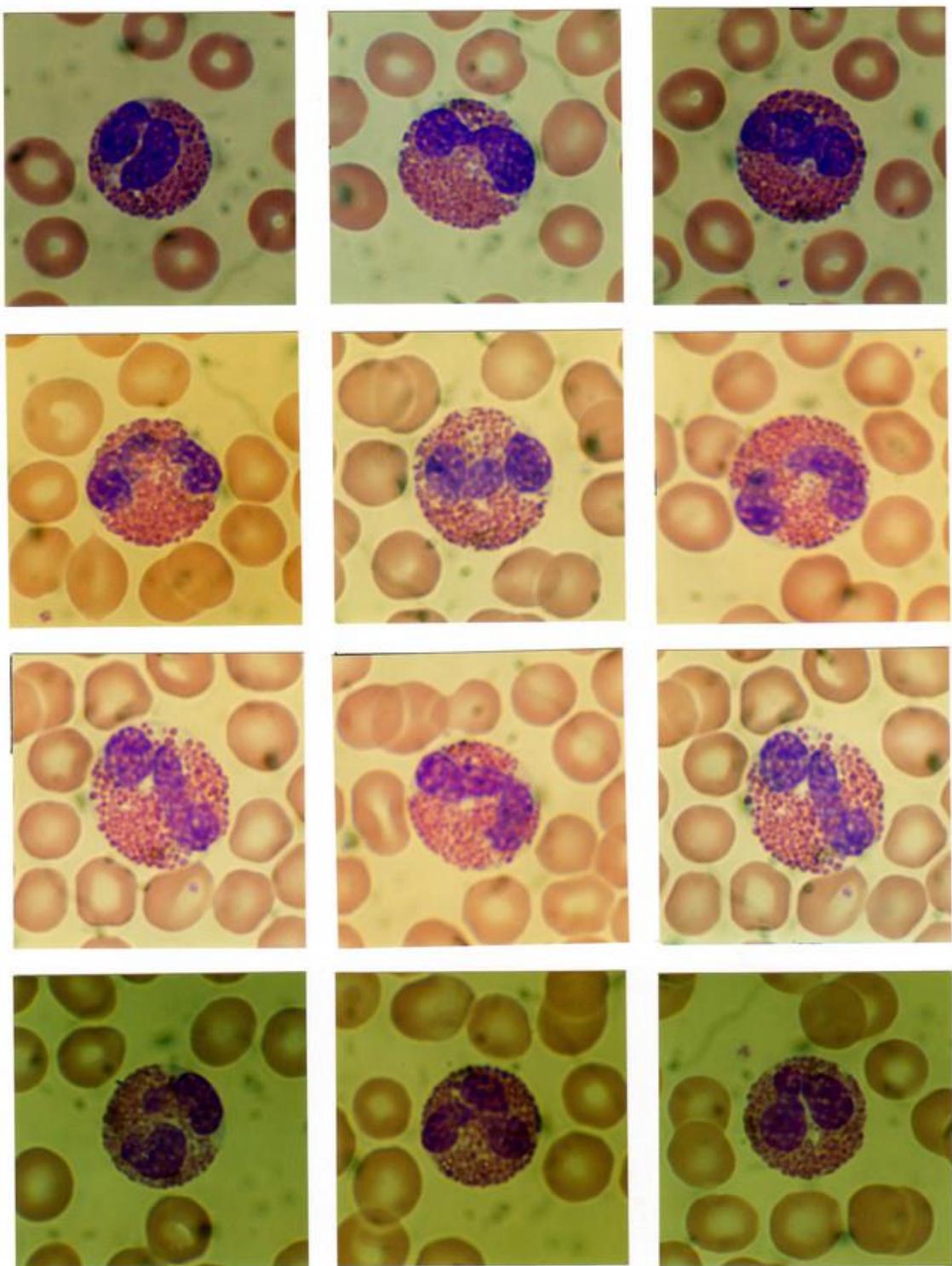


10  $\mu$ m



*Eosinophile Granulozyten*

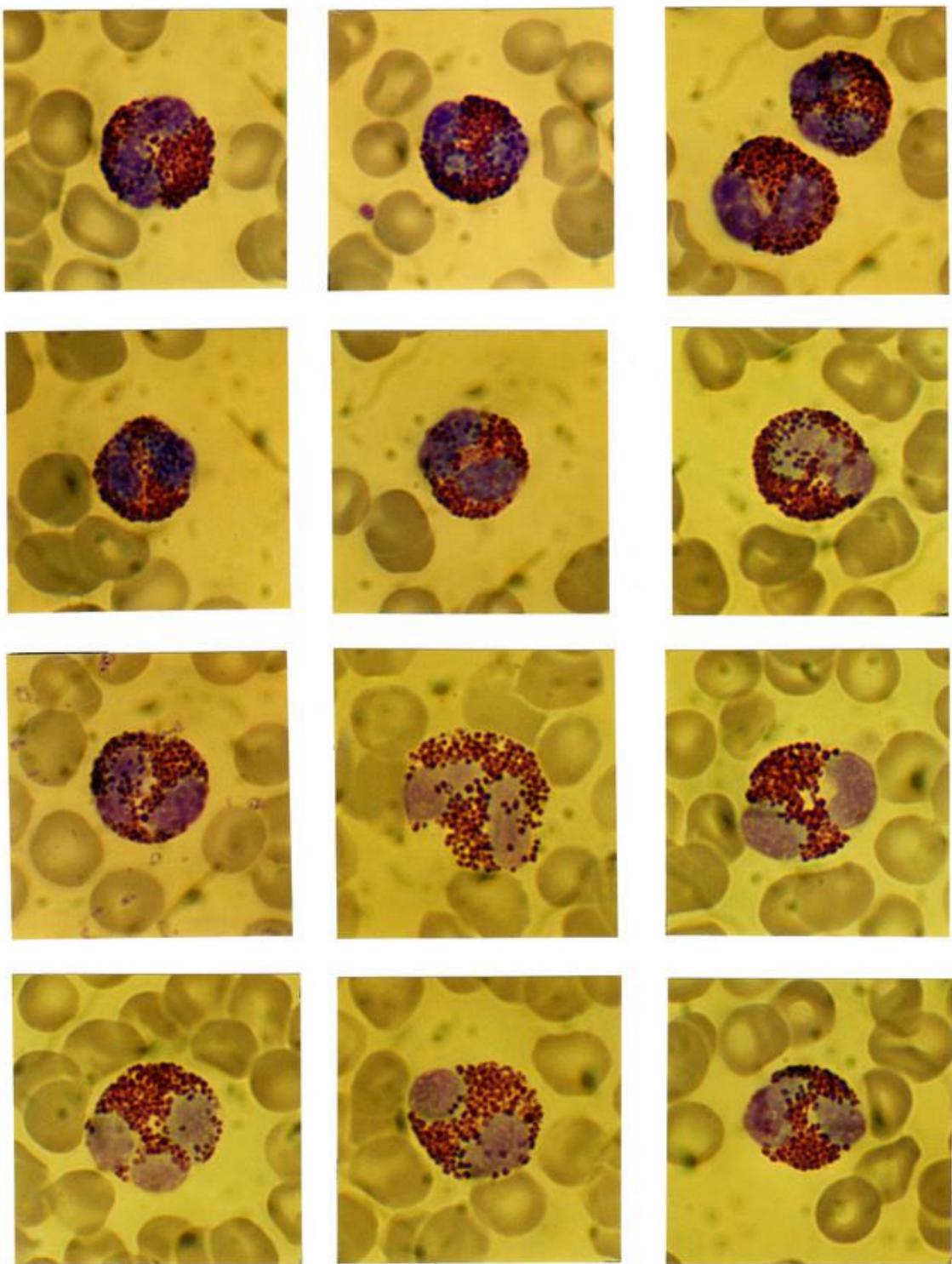
Pappenheim - Färbung 1850x  10 µm



*Schrödt*

*Basophile Granulozyten*

Pappenheim - Färbung 1850x  10  $\mu$ m

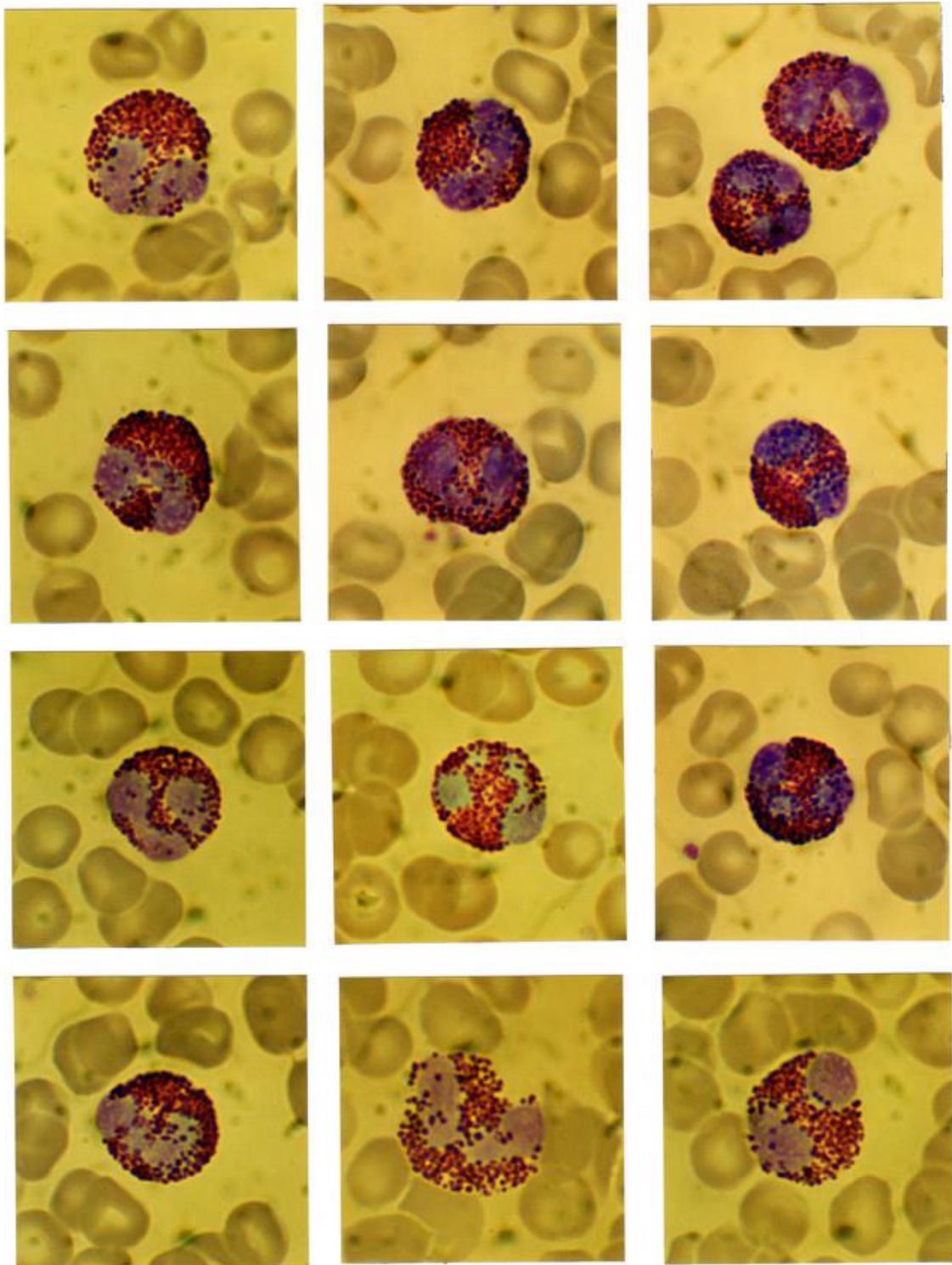


*Schrodt*

*Basophile Granulozyten*

1850x

10  $\mu$ m

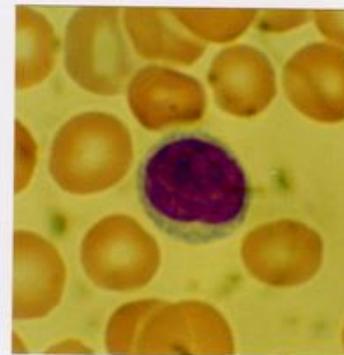
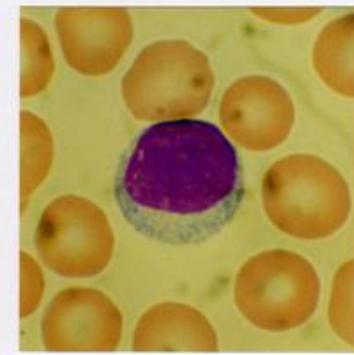
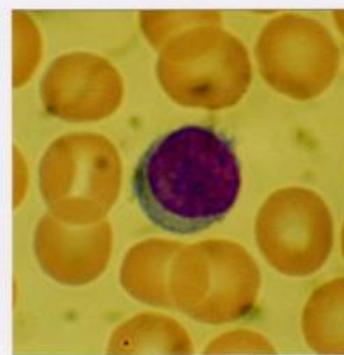
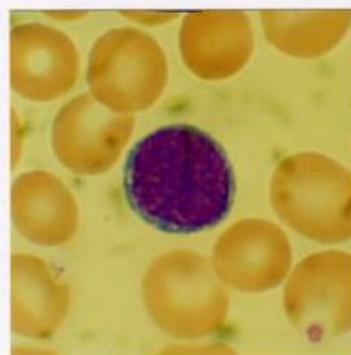
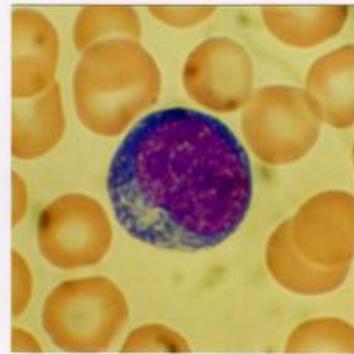
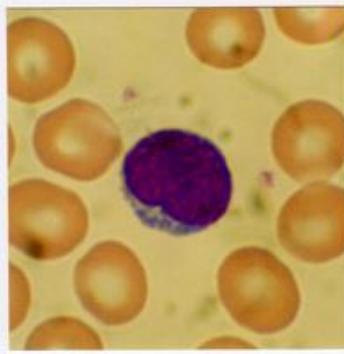
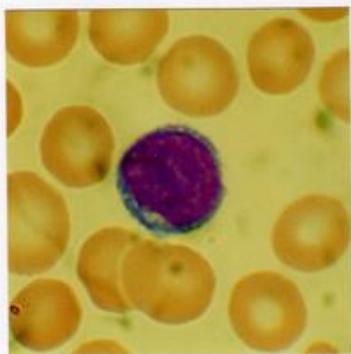
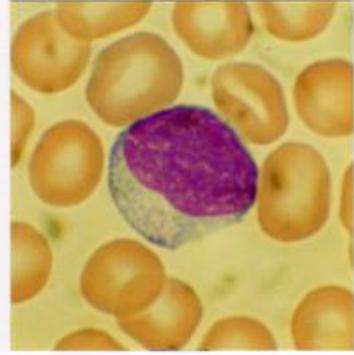
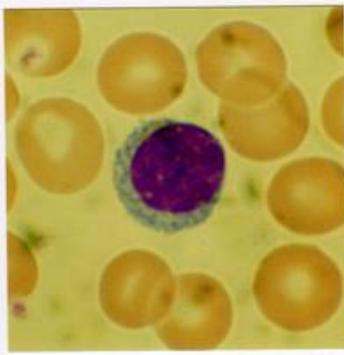
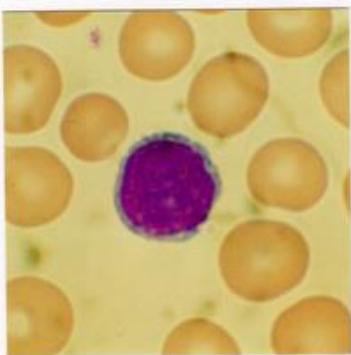


*Lymphozyten*

1850 x



10  $\mu$ m

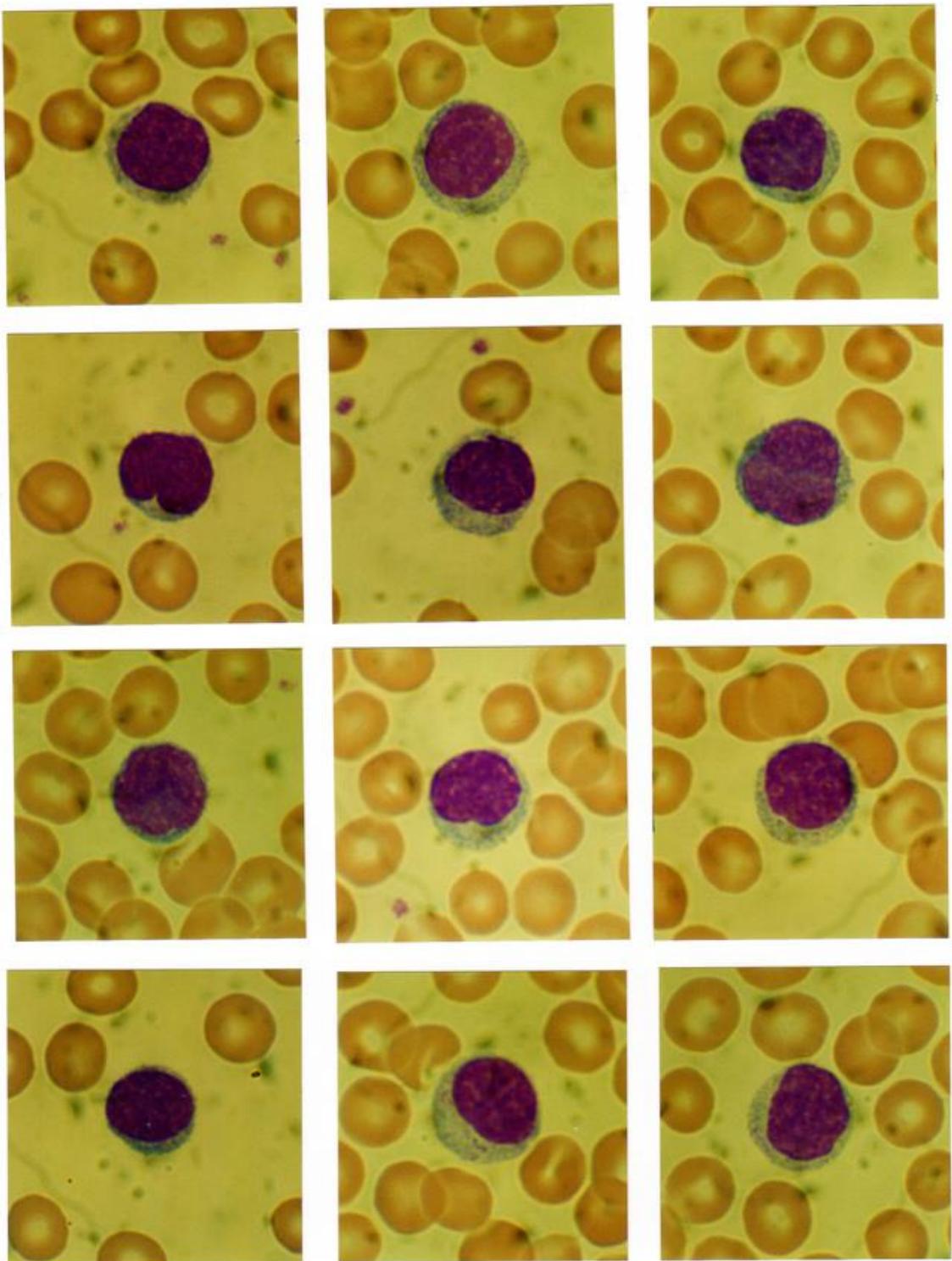


Lymphozyten

1850 x



10  $\mu$ m



Lymphozyten

1850 x



10  $\mu$ m

