

Erythrocytenmorphologische Untersuchungsmethoden

Von

K. G. v. Boroviczény

Mit 69 Abbildungen

Erythrocytometrische Werte

Als erythrocytometrische Werte bezeichnen wir Meßwerte und weitere daraus errechnete Parameter des Erythrocyten, die uns über Anzahl, Größe, Form, Hämoglobinbeladung usw. der Erythrocyten Auskunft geben. Die Erythrocytenzahl, der Hämoglobingehalt, der Hämatokritwert und der Erythrocytendurchmesser werden im allgemeinen mit Hilfe der zu beschreibenden Methoden bestimmt; aus den so erhaltenen Meßwerten errechnet man den Färbekoeffizienten, die Hämoglobinkonzentration, das Erythrocyteneinzelvolumen und die Erythrocytendicke. Diese acht Parameter ergeben in ihrem Zusammenhang wichtige Hinweise, die differentialdiagnostische und prognostische Schlußfolgerungen ermöglichen. Weitere Erythrocytenmaße, wie das mittlere Gewicht des Einzelerthrocyten, Erythrocytenoberfläche usw. können ebenfalls ausgerechnet oder bestimmt werden, haben aber keine so große Bedeutung.

Erythrocytenzahl

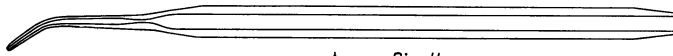
Entnahme und Verdünnung des Blutes

Blutentnahme und Herstellung der Verdünnung sind im Prinzip für sämtliche Zählmethoden gleich, weswegen wir sie vor der Besprechung der einzelnen Zähltechniken abhandeln können. Die Zellzahl wird im venösen Blut oder im Capillarblut festgestellt, wobei es bei richtiger Abnahmetechnik keinen wesentlichen Unterschied bedeutet, woher das Blut entnommen worden ist. Darauf, daß man bei der Abnahme des Capillarblutes aus dem Finger richtig einstechen muß und den Finger nicht quetschen darf, braucht an dieser Stelle wohl nicht eingegangen zu werden. Wenig beachtet wird, daß es bei einzelnen schweren hämolytischen Anämien schon bei der Blutentnahme zu einer Hämolyse kommen kann.

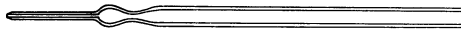
Für die Kammerzählung wird das Blut 1:20 (Leukocytenzahl) oder 1:200 (Erythrocytenzahl) verdünnt. Für die Zählautomaten müssen Verdünnungen bis zu 1:80000 hergestellt werden. Bei der Herstellung der Verdünnung können die ersten, manchmal wesentlichen Fehler, auftreten.

Für die Kammerzählung, aber auch für einzelne Blutkörperchenzählautomaten werden immer noch mit Vorliebe Melangeur-Pipetten verwendet. Dabei sind diese Pipetten oft äußerst ungenau (DRUCKREY und FROMME fanden Abweichungen bis zu 272%!). Natürlich sind die heute von renommierten Firmen in den Handel gebrachten Pipetten wesentlich genauer, aber immer noch lange nicht so genau wie die im folgenden beschriebenen Pipetten und dazu äußerst schwer kalibrierbar. Wegen der Ungenauigkeit der Melangeur-Pipette empfahl A. HEGEDÜS, in leere Penicillinfläschchen (in die er noch 1—2 Glasperlen tat) 0,95 bzw. 9,95 ml Verdünnungslösung zu pipettieren und 0,05 ml Blut mit einer Blutzuckerpipette einzuspülen. Diese Methode hat den Vorteil, daß man mit handelsüblichen, leicht

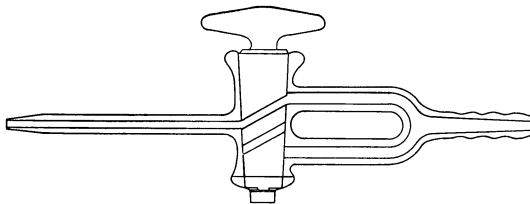
kalibrierbaren Pipetten größere Mengen (also genauer) abmißt und das Verdünnungsverhältnis in pathologischen Fällen leicht beliebig variieren kann. Später wurde von anderen Seiten die Verwendung verschiedener halbautomatischer



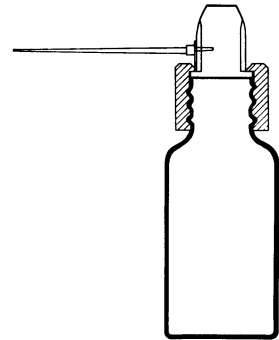
Levy-Pipette



Barrolier-Pipette



Hirschfeld-Pipette



Sanz-Pipette

Abb. 1. Verschiedene Mikropipetten

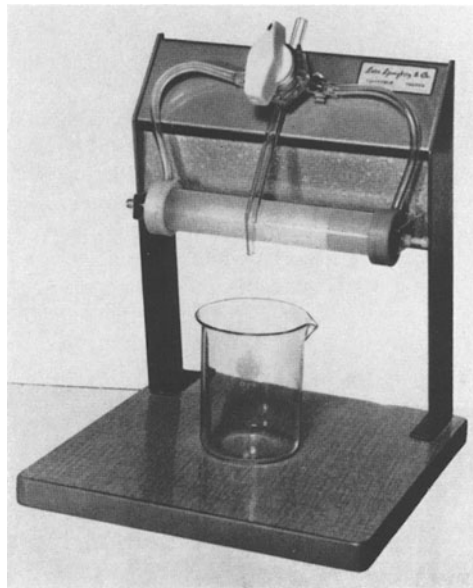


Abb. 2. Automatische Linson-Pipette

Pipetten propagiert, die weitere Vorteile bieten. Bekanntlich schwankt der Pipettierfehler sehr, je nachdem, ob man sich die Zeit nehmen kann, besonders vorsichtig zu pipettieren oder ob man schnell arbeiten muß und auch ob man ausgeruht oder müde ist. Bei Verwendung halbautomatischer Pipetten sind diese von

der Person abhängigen Schwankungen im Pipettierfehler wesentlich geringer. Die Untersuchung mit verschiedenen Systemen (Abb. 1, 2) sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. *Pipettierfehler (nach den Untersuchungen von BAUMGARTEN, SAFFAR und WESTPHALEN)*

Pipettenart	Substrat	Variationskoeffizient
a) Makropipetten		
Vollpipette	5 ml H ₂ O	0,11—0,2%
Vollpipette	1 ml H ₂ O	0,9—1,5% *
Meßpipette 10/0,1 ml	1 ml H ₂ O	2,9% *
Mikropipette	1 ml H ₂ O	0,4%
Pipettiergerät nach HOHN	1 ml H ₂ O	0,3%
Automatische Linson-Pipette	4 ml H ₂ O	0,16—0,17%
b) Mikropipetten		
Sahli-Pipette	0,20 ml Blut	0,1—1,2%
(Lang)-Levy-(Carsberg)-Pipette	0,02 ml Blut	0,6—1,9%
Sanz-Pipette	0,02 ml Blut	0,8—1,3%
Barollier-Pipette	0,02 ml Blut	0,7%
Hirschfeld-Pipette	0,02 ml Blut	1,1—1,3%
Meßpipette 0,1/0,001 ml	0,02 ml Blut	0,7%

Anmerkung. Der Pipettierfehler wurde im allgemeinen als 10×-Versuch durchgeführt und der Variationskoeffizient berechnet. Es wurde zu diesem Zwecke meist mit besonderer Aufmerksamkeit pipettiert. Nur bei den mit * gekennzeichneten beiden Werten wurde so pipettiert, wie es im Massenbetrieb routinemäßig geschieht.

Für die Verdünnungslösungen sind zahlreiche Rezepte mitgeteilt worden. Im folgenden seien einige der gebräuchlichsten angegeben.

<i>Hayemsche Lösung:</i>	Natr. chlor. pur.	1,0 g	
	Natr. sulf. pur.	5,0 g	
	Hydrarg. bichlor.	0,5 g	
	Aqua dest.	ad	200,0 ml
<i>Toissonsche Lösung:</i>	Aqua dest.	160 ml	
	Glycerin	30 g	
	Natr. sulf.	8 g	
<i>Türkische Lösung:</i>	Acid acet. glac.	3,0 g	
	Aqua dest.	300,0 ml	
	Gentianaviolettlösung 1% ig	3,0 ml	
<i>Gowers-Kleine-Lösung:</i>	Na ₂ SO ₄ sicc. p. a.	27,6 g	
	Acid. acet. glac. p. a.	166,5 ml	
	Aqua dest.	ad	1000 ml
<i>Hamilton-Paterson-Jacobson-Lösung</i>	physiol. Kochsalzlösung		1000 ml
	EDTA (Dinatriumsalz) 3% ig		0,6 ml
	Formalin 5% ig		5,0 ml
	Trispuffer		
	(0,608 g Trishydroxymethylaminomethan		
	+ 0,1 n HCl 45 ml + Aqua dest ad 100 ml)		5,0 ml

Es wird auch physiologische Kochsalzlösung verwendet. Für die Erythrocytenzählung in Zählkammern sollte man der Toisson-Lösung den Vorzug geben; sie ist sehr viscos und strömt daher laminar in die Kammer, wodurch der Entmischungseffekt (s. unten) wesentlich vermindert wird. Die Gowers-Kleinesche Lösung wird bei den Blutkörperchen-Zählautomaten nach der Streulichtmethode und nach dem Moldavanschen Prinzip mit Vorliebe angewendet, während mit der

Hamilton-Paterson-Jacobsonschen Lösung die erste Verdünnungsstufe für die Zählautomaten, die nach dem Coulterschen Prinzip arbeiten, angesetzt wird. Mit der Kochsalzlösung sollte man nur die zweite Verdünnungsstufe bei der Zählung mit Zählautomaten ansetzen, unmittelbar bevor die Zählung durchgeführt wird, weil in ihr nach längerem Stehen leicht eine Hämolyse entsteht. Die Hamilton-Paterson-Jacobson-Lösung konserviert die roten und weißen Blutkörperchen 1—2 Tage tadellos, die Gowers-Kleine-Lösung viele Monate lang. In der Hayem-schen Lösung kann bei Plasmocytomen mit extrem hohen γ -Globulinwerten eine Verklumpung der roten Blutkörperchen auftreten, die eine Zählung unmöglich macht.

Zählkammermethoden

Wie bereits angedeutet wurde, sind die Ergebnisse der Blutkörperchenzählung mit der normalen Zählkammer sehr ungenau; das hat verschiedene Gründe (Tabelle 2), die im folgenden kurz besprochen werden sollen.

Tabelle 2. Fehler der Kammerzählmethode

Fehlerquelle	Gerätefehler	systematischer Fehler	persönlicher Fehler
I. Blutentnahme			—
II. Verdünnung			
1. Pipettieren			$s \pm 1\%$
2. Pipetten	$h \pm 3\%$		
3. Verdünnungslösung	—		
III. Zählung			
1. Zählvolumen			
a) Netzteilung	$s \pm 2\%$		—
b) Steghöhe	$h \pm 5\%$		
c) Deckglasauflage	+		$\pm 1-20\%$
2. Entmischung	+	$s \pm 2-11\%$	+
3. Verteilung		$s \pm 3-10\%$	
4. Auszählung		—	$s \pm 3,5\%$
IV. Berechnung			—

Zeichenerklärung: s = Mittelwerte bzw. Standardabweichung; h = Höchstwerte laut Werkangaben, in der Praxis oft wesentlich höher! — = vermeidbare Fehler; + = unvermeidbare Fehler unbekannter Größe.

Das Zählvolumen wird bei der Kammer (Abb. 3) durch die Netzteilung (Abb. 4) und die tatsächliche Kammertiefe bestimmt. Der Fehler der Netzteilung pflegt $\pm 2\%$ nicht zu überschreiten. Bei eigenen Messungen (mit dem Ocularschrauben-Mikrometer) fanden wir an Kammern, die von renommierten Firmen in den Handel gebracht werden, meist nur Abweichungen $< 0,5\%$. Wesentlich größer ist die Herstellungstoleranz der Kammertiefe, die i. a. $\pm 5 \mu\text{m}$, d. h. $\pm 5\%$ beträgt. Dieser Wert entspricht auch der britischen Standardvorschrift 748 (DISCOMBE und MEYER, 1957). Entsprechend der Herstellungstechnik liegt dieser Fehler meist im Plusbereich.

Der Fehler der Kammertiefe hängt aber nicht nur von der Herstellungstoleranz ab, sondern auch von der Deckglasauflage. Dünne Deckgläser können sich, wenn man sie auf die Kammer preßt, wölben, minderwertige Fabrikate sind von vornherein gewölbt. Dazu kommt, daß jedes kleinste Staubkörnchen, das auf dem Kammersteg liegt, eine Keiligkeit der Deckglasauflage hervorruft. Endlich weisen Auflagestege und Deckglas oft Kratzer auf, wodurch der sowieso bestehende Deckglasauflagefehler noch wesentlich erhöht wird. Der Deckglasauflagefehler ist

von KLEINE (1959) eingehend untersucht worden. Er fand für diesen Fehler Werte bis zu $\pm 20\%$ (meistens im Plusbereich).

Beim Einfüllen der Zählflüssigkeit in die Kammer tritt ein Entmischungseffekt auf („lokaler Verteilungsfehler“). Wegen dieses Entmischungseffekts weisen die vom Einfüllort entfernteren Kammerteile mehr Blutkörperchen auf als die dem Einfüllort näher liegenden. Der Entmischungseffekt ist um so größer, je langsamer die Zählflüssigkeit in die Kammer einströmt. Laut BLUNTSCHLI, ROTHLIN und UNDRITZ (1944) beträgt dieser Fehler bei Verwendung nicht viscoser Verdünnungslösungen im Bereich der Netzteilung normaler Zählkammern $\pm 11\%$. Bei Verwendung viscoser Zählflüssigkeiten, die laminar einfließen, ist der Entmischungseffekt wesentlich kleiner ($\pm 2\%$). Aus diesem Grunde wird von verschiedenen Autoren die Toisson-Lösung bevorzugt. Es ist selbstverständlich, daß sich der Entmischungseffekt noch vergrößert, wenn beim Füllen der Zählkammer Luftbläschen entstehen.

Es bedarf keiner besonderen Erwähnung, daß die Zählflüssigkeit mit den Erythrocyten sorgfältig durchgemischt werden muß, bevor sie in die Kammer gefüllt wird. Trotz sorgfältigster Durchmischung wird aber die Verteilung der Blutkörperchen in der Zählflüssigkeit niemals gleichmäßig sein. Das führt zu dem „statistischen“ Fehler. Dieser Fehler ist berechenbar und ist von ABBE, GOSSET u. a. eingehend untersucht worden. Der so entstehende Fehler als

Variationskoeffizient wird durch die Formel $100 \times n^{-1}$ ausgedrückt, wobei n die Zahl der tatsächlich gezählten Blutkörperchen darstellt. Der statistische Fehler ist um so größer, je weniger Zellen gezählt werden. Bei der Leukocytenzählung ist er also sehr groß, bei den später zu besprechenden Blutkörperchen-Zählautomaten, die in wenigen Sekunden mehrere 10 000 Zellen zählen, entsprechend klein.

Endlich soll noch der persönliche Zählfehler erwähnt werden, der dadurch entsteht, daß es einfach nicht möglich ist, die im Mikroskop sichtbaren Zellen irrtumsfrei zu zählen (Abb. 5). Dieser Fehler wird auch weitgehend durch psychische Faktoren beeinflusst und ist nach Untersuchungen COSTERS (1963) abends etwa doppelt so groß wie morgens. Abhilfe kann hier nur geschaffen werden, indem man ein Mikrophoto anfertigt und auf diesem mit einem elektrischen Kontaktstift zählt, was aber für Routinezwecke viel zu umständlich ist.

Fehler bei der Ausrechnung des Resultates sollten bei Geübten nicht vorkommen.

Die besprochenen Fehler und Fehlerquellen ergeben zusammen einen recht erheblichen Gesamtfehler, so daß die Behauptung, daß die routinemäßig durchgeführte Einzelbestimmung der Blutkörperchenzahl in der Zählkammer nur einen Orientierungswert ergebe, als begründet angesehen werden darf. Es ist demnach völlig unzulässig und wirkt grotesk, wenn als Ergebnis einer Kammerzählung die Erythrocytenzahl mit zwei Dezimalstellen angegeben wird.

Da, wie weiter unten gezeigt werden soll, auch bei Verwendung von elektronischen Zählautomaten auf die Kammerzählung als Kontrollmethode nicht ganz verzichtet werden kann, wurden Überlegungen angestellt, wie man, allerdings mit einem großen Aufwand, die Blutkörperchen in der Kammer verlässlich

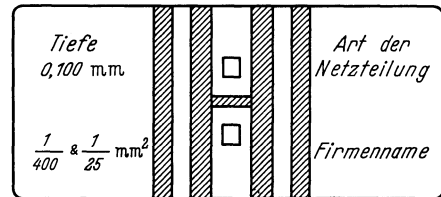
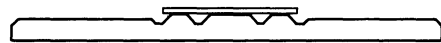


Abb. 3. Zählkammer nach BÜRGER

zählen könnte. Die Verdünnung darf in einem solchen Fall nur mit nachkalibrierten automatischen Pipetten angesetzt werden. Objektive Kammertiefe muß, nachdem die Kammer gefüllt ist, in jedem Falle genau nachgemessen werden. Man hat auch zu diesem Zweck vorgeschlagen (COSTER, 1963), die Kammer mit einer Farblösung zu füllen und durch Extinktionsmessung im Photometer die Tiefenbestim-

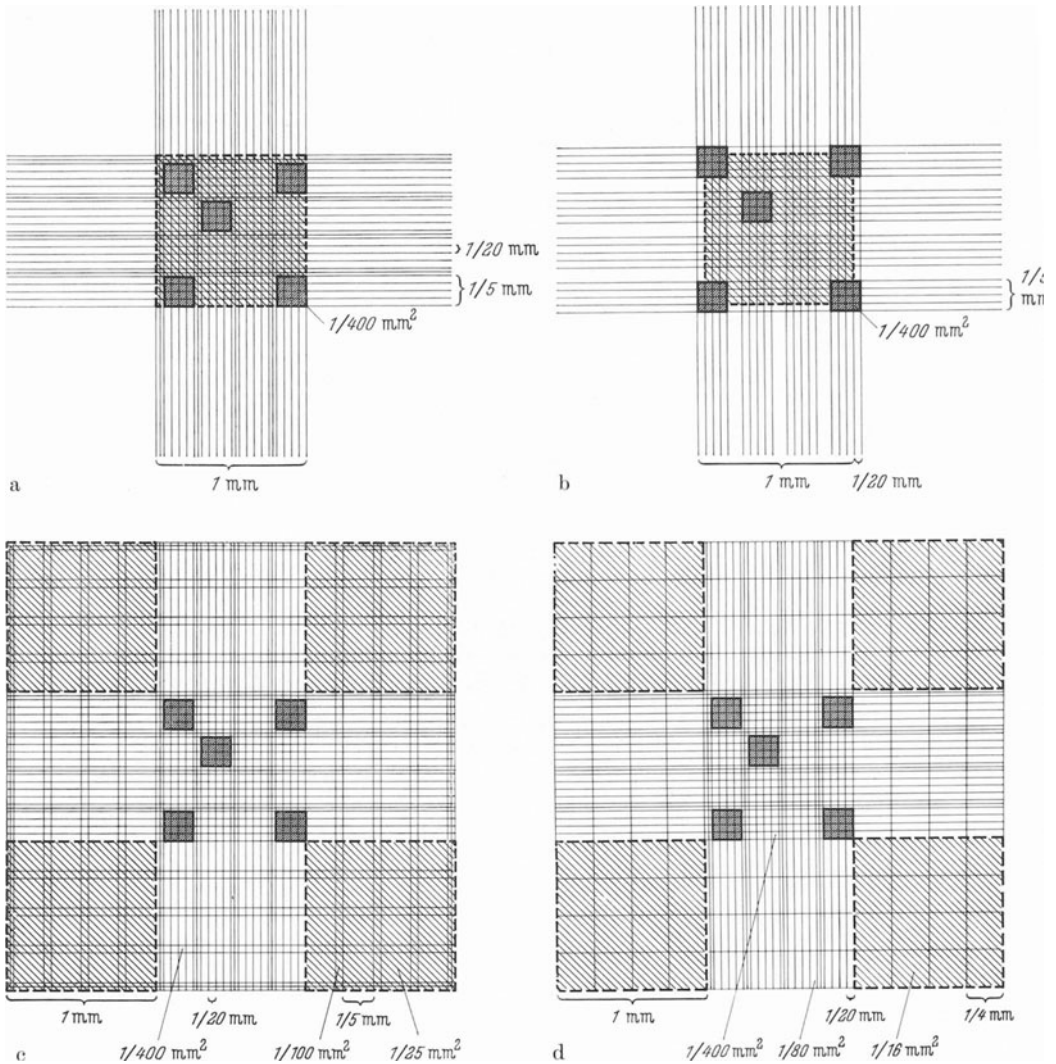


Abb. 4 a—h. Die gebräuchlichsten Netzteilungen: a alte Netzteilung nach THOMA; b verbesserte Netzteilung nach THOMA; c Türkische Teilung; d alte Teilung nach NEUBAUER

mung vorzunehmen. Diese Methode ist für die routinemäßige Kontrolle von Zählkammern sehr geeignet. Höchsten Anforderungen genügt aber die Meßgenauigkeit dieser Methode nicht. Die effektive Kammertiefe muß vielmehr im Interferenzmikroskop (mit Hilfe eines Drehkompensators nach EHRINGHAUS) gemessen werden. Natürlich muß auch der Brechungsindex der Verdünnungsflüssigkeit jedesmal bestimmt werden. An planen Kammerstellen, deren Tiefe exakt fest-

gestellt worden ist, werden nun mit einem genau bekannten Vergrößerungsmaßstab auf Polaroidpapier Mikrophotos hergestellt. Auf diesen Mikrophotos wird ein unter Berücksichtigung des Vergrößerungsmaßstabes ausgerechneter Kammerbezirk bekannter Größe eingezeichnet und die in diesem Areal liegenden Blutkörperchen (unter Berücksichtigung der bekannten Bürkerschen Regel für die

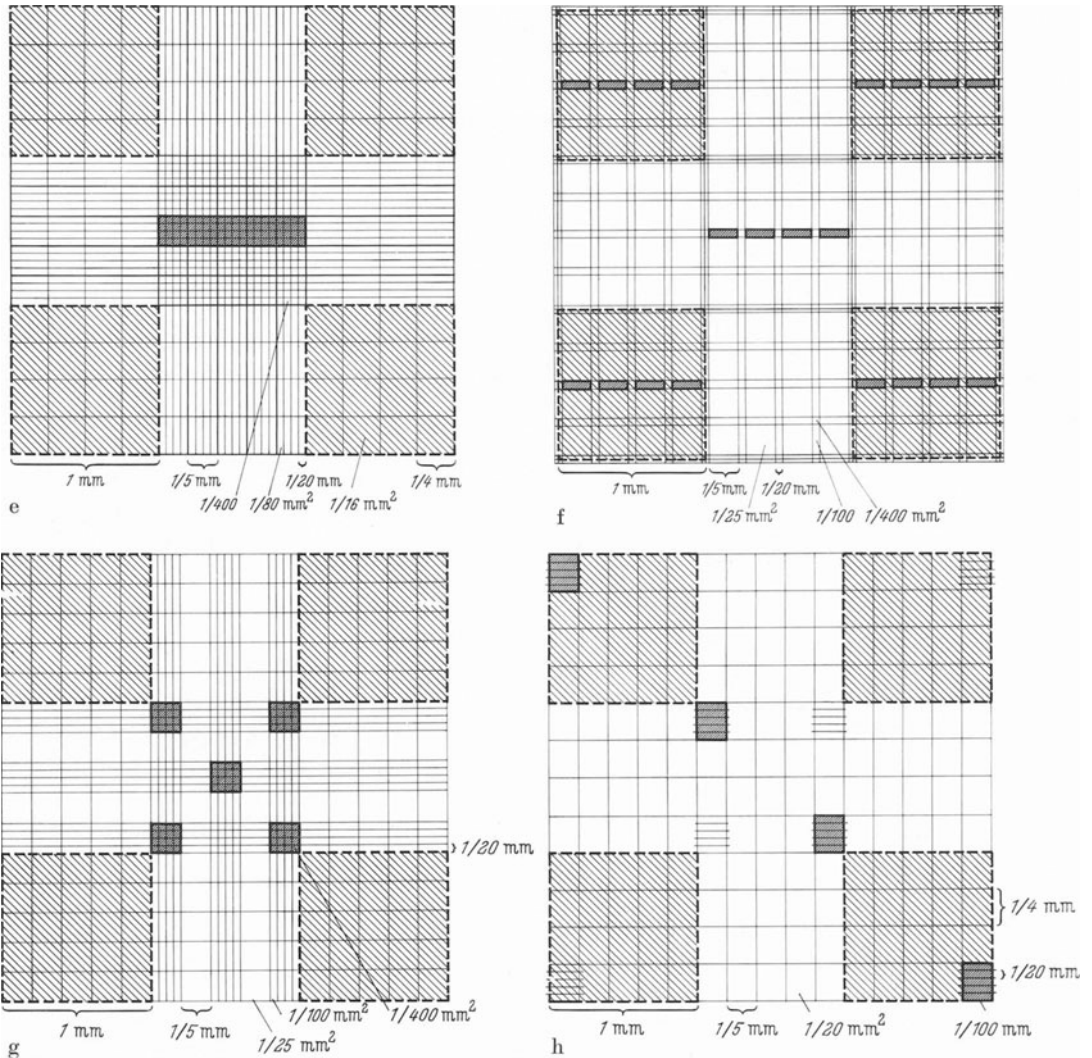
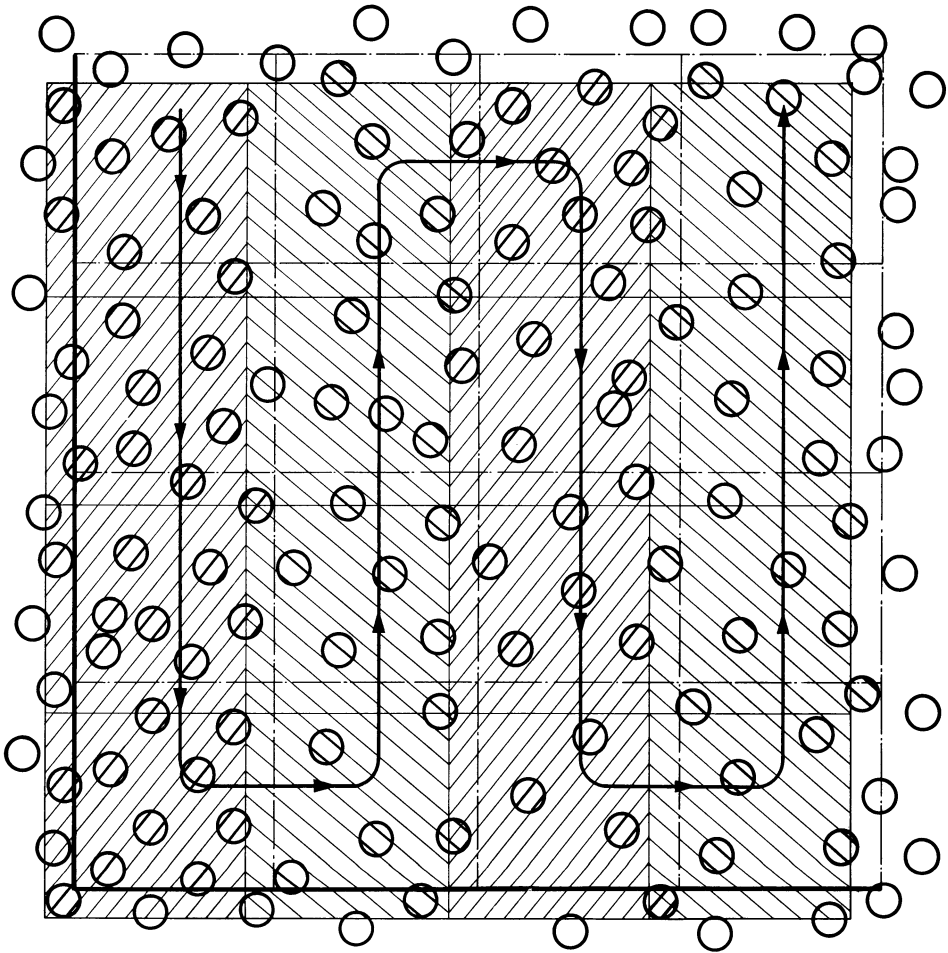


Abb. 4e—f. e verbesserte Teilung nach NEUBAUER; f Netzteilung nach BÜRCKER; g das Schillingsche Kreuznetz; h die Hittmairsche Netzteilung. (Die Zählfläche für die Erythrocyten ist dichter, jene für die Leukocyten dünner schraffiert)

auf der Linie liegenden Zellen) mit Hilfe eines Kontaktstiftes und Zählwerkes ausgezählt. Es müssen auf verschiedenen Bildern mehrere 1000 Zellen gezählt werden, wozu mindestens zehn Kammerfüllungen (aus jeweils neu hergestellten Verdünnungen) verwendet werden sollen. Nur auf diese umständliche Art ist es möglich, eine Kammerzählung so durchzuführen, daß man einen verlässlichen Wert mit bekannter Streuung erzielen kann.



$$35 + 23 + 25 + 22 = 105$$

Abb. 5. Illustration der Bürkerschen Auszählregel; die den linken und den unteren Rand berührenden Zellen werden gezählt, die am rechten und oberen Rand liegenden nicht

Zählapparate

Diffractionslicht-Methode von STEINEMANN, WILBRANDT und KLEINE

Die einfachste apparative Methode zur Bestimmung der Erythrocytenzahl ist die Streulichtmethode. Bereits Ende der zwanziger Jahre erkannte man, daß eine einseitige Korrelation zwischen der Erythrocytenzahl und den Ergebnissen von turbidimetrischen Messungen suspendierter Erythrocyten besteht. Untersuchungen über die Lichtstreuung der Erythrocyten-Suspensionen in den dreißiger Jahren ergaben, daß die turbidimetrischen Werte nicht nur von der Erythrocytenzahl, sondern auch vom Erythrocytenvolumen sowie von der Hämoglobinbeladung des einzelnen Erythrocyten abhängen. Um auf diese Weise die Erythrocytenzahl bestimmen zu können, mußten also die beiden letzten Parameter ausgeschaltet werden.

Zu diesem Zwecke konstruierte WEVER einen Apparat, der mit einer ringförmigen Photozelle versehen war. Dieser Apparat, das „Elektro-Haemoskop“, kam zu Beginn des vergangenen Jahrzehntes in Gebrauch und fand bald große

Verbreitung. Mit dem Gerät konnte man die Erhöhung oder Erniedrigung der Erythrocytenzahl sowie deren Ausmaß und den Therapieerfolg verlässlich feststellen und verfolgen. Es stellte sich aber heraus, daß die vom Apparat angezeigten Erythrocytenzahlen besonders bei Anämien, die mit der Verformung von Erythrocyten einhergehen, fehlerhaft waren.

Eine weitere Verbesserung konnte KLEINE durch die Suspension der Erythrocyten in der Gowers-Lösung erreichen: in der Gowers-Lösung nehmen alle Erythrocyten Kugelgestalt an, so daß der Fehler durch Verformung der Erythrocyten entfällt. Nach ausgedehnten Untersuchungen konnte KLEINE ferner durch exaktere Festlegung der Abmessung des ringförmigen Photoelementes den durch

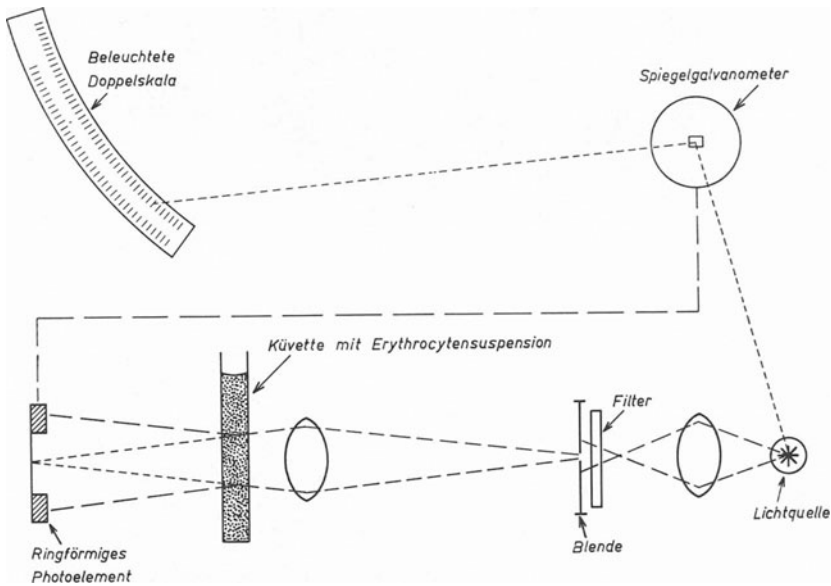


Abb. 6. Schema des Erymat

Anisocytose auftretenden Fehler kompensieren und durch Verwendung monochromatischen Lichtes von entsprechender Wellenlänge gleichseitig den Einfluß der Brechungsindex-Unterschiede aufheben. Nach Angaben von KLEINE wurde nun ein neuer Apparat, der „Erymat“, konstruiert, der von Fritz Hellige & Co., GmbH, auf den Markt gebracht wird. Seither wurde auch für das in Europa weitverbreitete Präzisionsphotometer „Eppendorf“ der Firma Netheler & Hinz ein nach genau denselben Prinzipien arbeitender Aufsatz konstruiert, mittels dessen auch dieses Photometer für die Bestimmung der Erythrocytenzahl verwendet werden kann. Die Arbeitsweise dieser Apparate ist sehr einfach. Nach Einschalten werden die Empfindlichkeit (Justier-Mattscheibe im Apparat) und der Nullpunkt justiert. Das Blut wird bei der Abnahme 1:2000 mit Gowers-Lösung verdünnt; die Bestimmung kann sogleich oder nach beliebig langer Zeit durchgeführt werden. Vor der Messung wird die Suspension umgeschwenkt, in eine Cuvette gefüllt und die Cuvette in den Apparat geschoben, wonach die Erythrocytenzahl in $10^6/\mu\text{l}$ auf einer beleuchteten Skala sofort abgelesen werden kann. Mit diesen Geräten kann natürlich auch die Hämoglobinbestimmung durchgeführt werden (Abb. 6, 7).

Soll die Eignung eines Apparates zur Bestimmung der Erythrocytenzahl überprüft werden, so kann man wie folgt vorgehen: Der Inhalt einer Blutkonserve wird durch Zentrifugieren getrennt, dann wird 0; 0,5; 1,0; 1,5 9,5; 10,0 ml

Erythrocytenbrei genommen und der Inhalt der 21 Röhrenchen mit dem eigenen Plasma immer auf 10,0 ml ergänzt. Die so hergestellte Verdünnungsreihe wird dann gleichzeitig mit mehreren Blutkörperchenzählapparaten untersucht, das Ergebnis im Diagramm eingetragen, wonach die Regressionsgerade, der Kor-



Abb. 7. Erymat

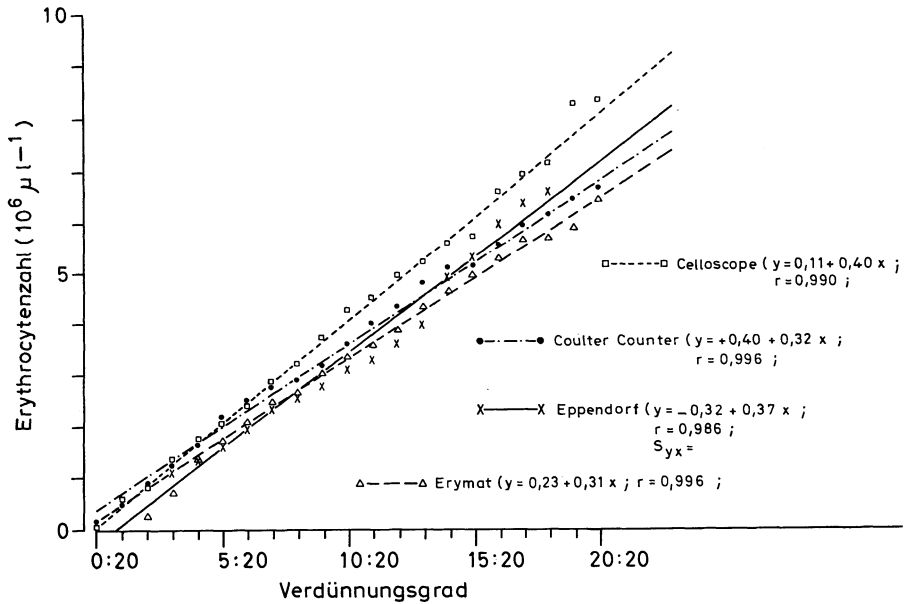


Abb. 8. Vergleichszählungen mit dem Erymat, dem Eppendorf-Photometer, dem Coulter Counter und dem Celloscope

relationskoeffizient, die Streuung und der Variationskoeffizient ausgerechnet werden können. Außerdem sollte man mit den verschiedenen Apparaten bei einer größeren Anzahl von Kranken (bevorzugt hämolytische Diagnosen) Erythrocytenzählungen durchführen. Auf diese Weise sind die in den Abb. 8, 13 und 17 wiedergegebenen Ergebnisse ermittelt worden.

Die nach der Streulichtmethode arbeitenden Apparate haben den großen Vorteil der außerordentlichen einfachen Arbeitsweise. Es muß nur eine Verdünnung

hergestellt werden und diese wird in eine Cuvette gefüllt und kann sofort oder zu einem beliebigen Zeitpunkt abgelesen werden. Der ganze Meßvorgang dauert nicht länger als 10—15 sec. Konstruktion und Benützung des Apparates sind dieselben wie eines beliebigen Photometers. Es ist also die jeder technischen Assistentin bekannte Meßtechnik.

Es muß mit Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß entgegen den Angaben einzelner Hersteller mit den üblichen Photometern und Nephelometern die Erythrocytenzahl *nicht* bestimmt werden kann.

Scanning-Methode nach LANGERCRANZ

Die von LANGERCRANZ eingeführte Methode ähnelt eigentlich der visuellen Blutkörperchenzählung am meisten mit dem Unterschied, daß hier der zählende Mensch durch einen kleinen Motor, der die Zählkammer antreibt und durch einen Photomultiplier, der die Zellen zählt, ersetzt worden ist. Der schematische Aufbau dieses Apparates geht aus Abb. 9, 10 hervor. Dieser Apparat führt eine normale

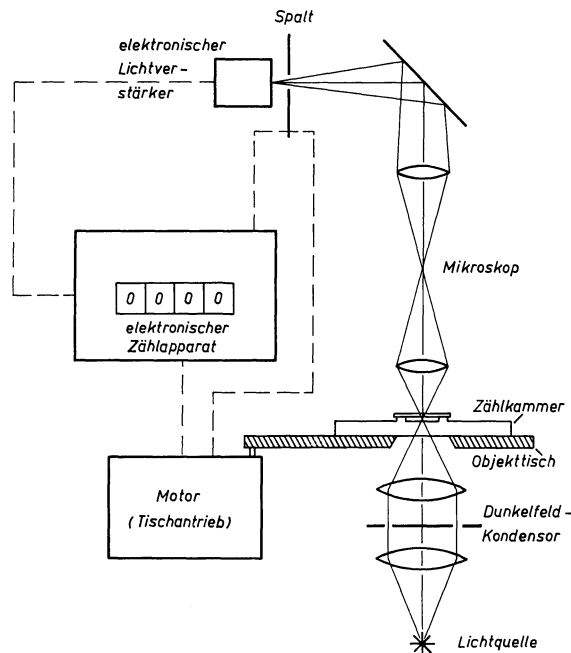


Abb. 9. Schema des Zählautomaten von Casella

Kammerzählung vollautomatisch durch. Das Blut wird 1:1000 verdünnt (übliche Verdünnungslösungen verwendbar) und in eine Zählkammer (ohne Netzteilung) gefüllt und die im Apparat auf den Objektisch gestellt. Diesen Objektisch bewegt ein kleiner Elektromotor so, daß die Zählfläche (12,0 × 4,0 mm) mit einem Dunkelfeldmikroskop zeilenweise durchmustert wird. Im Dunkelfeldmikroskop erscheinen die Blutkörperchen als Lichtpunkte, welche durch einen elektronischen Lichtverstärker entsprechend verstärkt und von einem elektronischen Zählgerät einzeln gezählt und registriert werden. Der vor dem elektronischen Lichtverstärker angeordnete Spalt wird während des Zählvorgangs automatisch entsprechend verändert, wodurch der Fehler, der durch die „am Rande“ liegenden Blutzellen entstehen würde, kompensiert wird. Der Zählvorgang dauert nahezu 1 min. Ein nach diesen Prinzipien gebauter Apparat wird von der Firma Casella

Ltd., Haxby Road, York, England, auf den Markt gebracht. Von demselben Werk werden auch noch größere Modelle angeboten, mit denen auch Price-Jones-Kurven aufgenommen werden können.

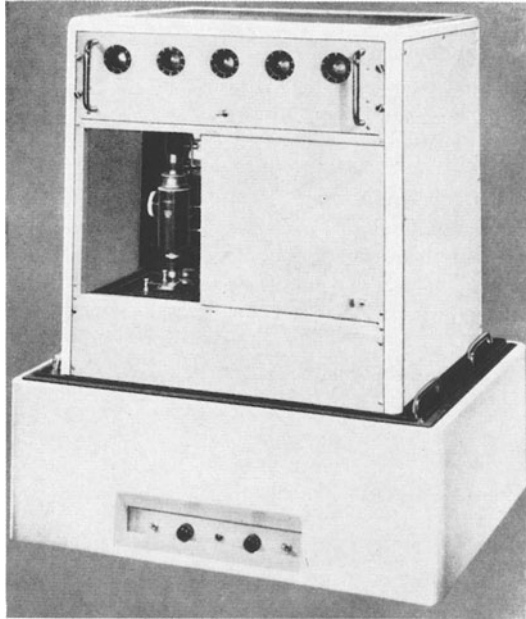


Abb. 10. Der Zählautomat der Fa. Casella

Capillarmethode nach MOLDAVAN

Bei den nach diesem System konstruierten Apparaten fließt die Zellsuspension durch eine Durchflußküvette (Abb. 11), die seitlich über einen Dunkelfeldkonden-

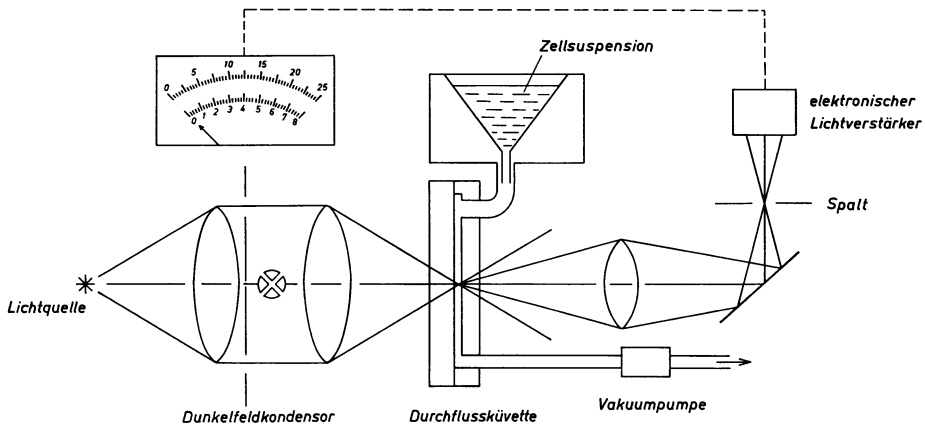


Abb. 11. Schema des Sanborn-Counter

sor beleuchtet wird. Im Focus des Dunkelfeldkondensators, wo die Durchflußküvette zu einer optischen Kammer ausgebaut ist, leuchtet jedes Blutkörperchen kurz auf (wie im Dunkelfeldmikroskop). Die so entstehenden Lichtimpulse werden im Photomultiplier in Stromimpulse umgewandelt. Bei entsprechender Verdün-

nung und Kammerabmessung werden Einzelimpulse entstehen und der Prozentsatz der Zeit, in welchem Lichtimpulse abgegeben werden, ist der Zellkonzentration proportional — unabhängig von der Durchflußgeschwindigkeit. Die Zahl



Abb. 12. Zählautomat der Fa. Sanborn

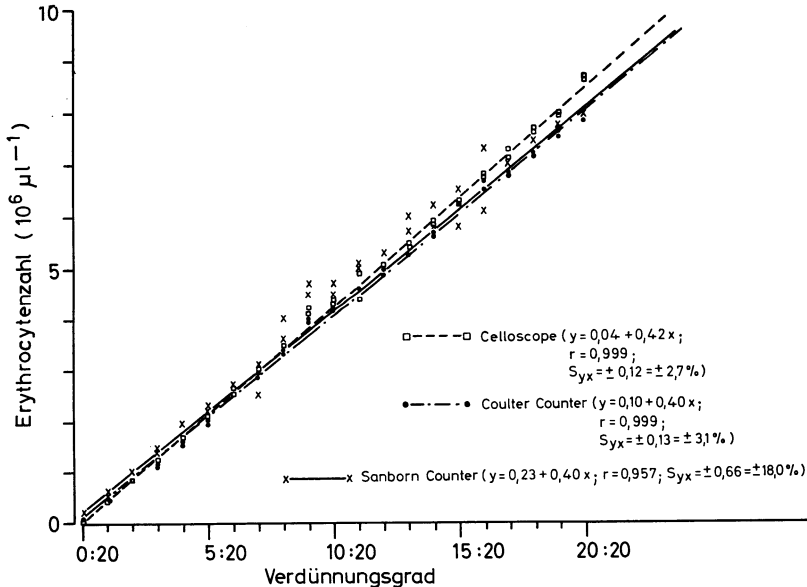


Abb. 13. Vergleichszählungen mit dem Sanborn-Counter, Coulter-Counter und Celloscope

der Blutkörperchen pro Mikroliter Vollblut wird auf einer Skala direkt angezeigt. Durch entsprechende Einteilung der Skala und entsprechende Konstruktion des elektronischen Teiles kann der systematische Zählfehler und der Fehler durch unterschiedliche Zellgröße weitgehend ausgeschaltet werden. Die Empfindlichkeit des Apparates wird eingestellt, indem durch Drehung einer kleinen Scheibe, die



Abb. 14. „Autocytometer“ der Fa. Fisher

sich im Dunkelfeldkondensator befindet und kleine Schlitz enthält, definierte Lichtimpulse entstehen, die den Lichtimpulsen bei der Blutkörperchenzählung

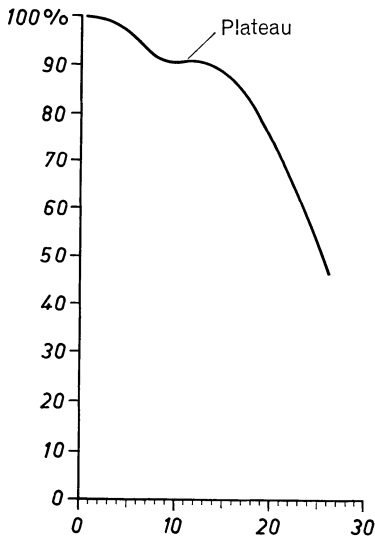


Abb. 15. Graphische Darstellung des Plateaus, bei welchem gezählt werden soll

entsprechen. Nach diesem System funktionieren der Sanborn-Counter (Hersteller: Picker & Harting, 19, South Broadway, White Plains, New York, USA) und das Autocytometer [Hersteller: Fisher Scientific, Pittsburgh (19) 711, Forbes Ave., USA] sowie ein Auto-Analyzersystem.

Der Sanborn-Counter (Abb. 12) ist ein robuster, ausgesprochen für die Routine zugeschnittener Apparat. Er hat einen großen Plastiktrichter, in den man die verdünnten Blutproben einfach hineinschüttet (Verdünnung für die Erythrocytenzählung 1:30 000, für die Leukocytenzählung 1:100). Danach muß man nur einen Hebel herunterdrücken und nach etwa 20 sec kann man das Ergebnis auf der Skala ablesen. Die Justierung des Gerätes wird vom Werk bei Lieferung eingestellt und muß angeblich nicht mehr verstellt werden. Ein großer Vorteil des Apparates ist es, daß man die Kammer mit einem

einzigem Griff herausnehmen und säubern kann. Ebenfalls vorteilhaft ist die Kontrolllampe, die auf Verunreinigungen aufmerksam macht.

Das Autocytometer (Abb. 14) arbeitet nach dem gleichen Prinzip, weicht aber in der Ausführung in vielen Einzelheiten ab. Die Ableseskala ist etwas länger (aber auch hier fehlt eine Spiegelunterlage). Die Einstellung und Sauberkeit der

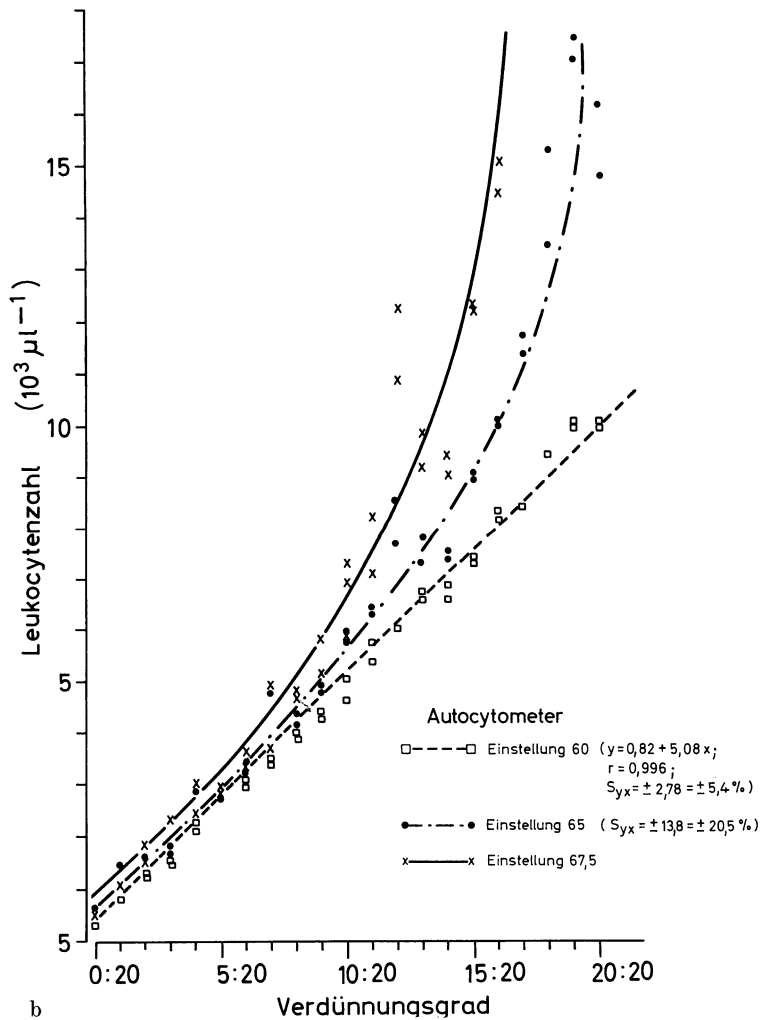
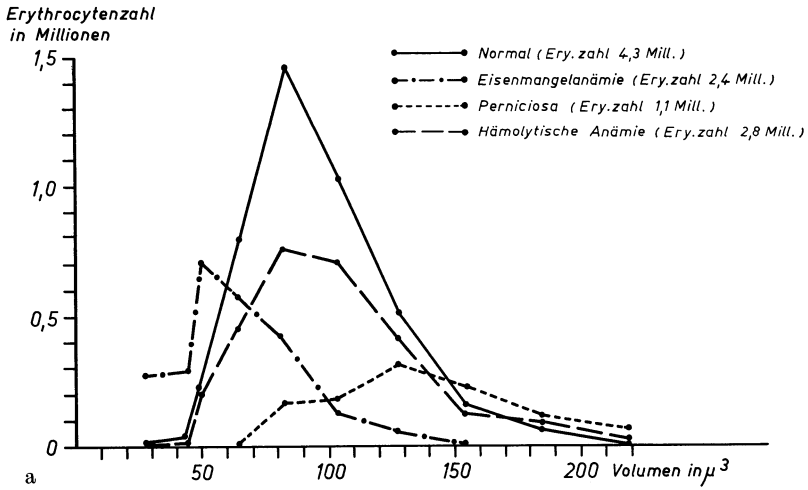


Abb. 16. a Volumenverteilungskurven. b Einfluß einer falschen Diskriminator-Einstellung auf das Zählergebnis

Dunkelfeldsystems kann, wie in einem normalen Mikroskop, visuell überprüft werden. Ferner kann und soll mit einem Treshold die Justierung des Apparates dauernd überprüft werden. Mit Hilfe dieses Treshold (Discriminator; eine Einrichtung, die auch sämtliche weiter unten zu besprechenden Apparate aufweisen) kann man Impulse unter einer einzustellenden Größe aus dem Zählvorgang ausschalten. Wird der Zählvorgang bei verschiedenen Einstellungen wiederholt, dann werden erst Blutplättchen und Verunreinigungen mitgezählt. Dann bekommt man bei mehreren Einstellungen nahezu denselben Wert, auf dieses „Plateau“ soll

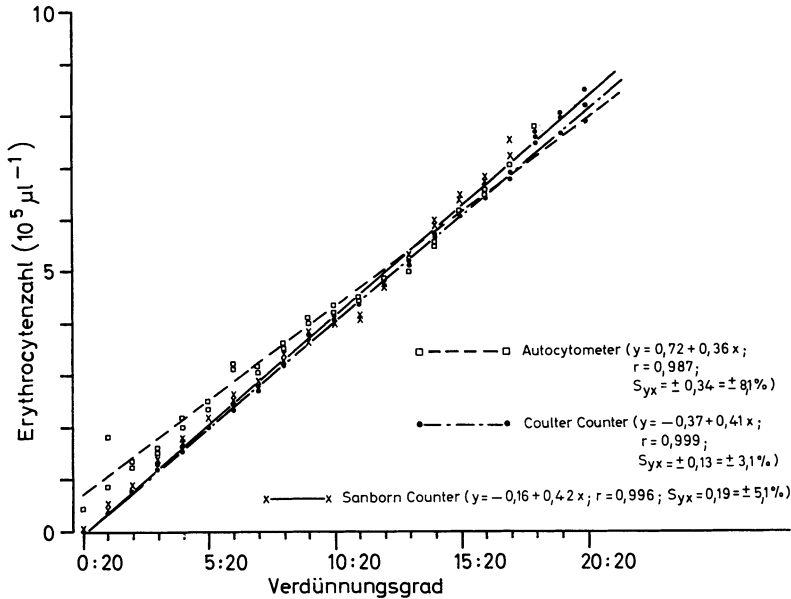


Abb. 17. Vergleichsuntersuchungen mit dem Autocytometer, Coulter Counter und Sanborn Counter

man dann beim eigentlichen Zählen immer einstellen (Abb. 15), hier werden sämtliche Blutkörperchen gezählt. Dann erhält man immer kleinere und kleinere Werte bei Einstellungen, bei denen nur die mittelgroßen und größeren Partikelchen gezählt werden. Auf diese Art kann man eine Volumenverteilungskurve aufstellen (Abb. 16a), wie dies von RUHENSTROTH-BAUER u. Mitarb. untersucht worden ist (1966). Die richtige Einstellung des Treshold ist von größter Wichtigkeit, wie dies auf Abb. 16b illustriert ist. Es wird nochmals betont, daß die Ausführungen über die Tresholdeinstellung für das Autocytometer und für alle im folgenden besprochenen Zählautomaten gilt.

Beim Autocytometer arbeitet man mit Verdünnungen 1:251 (Leukocytenzählung) 1:63 000 (Erythrocytenzählung), was wir als Vorteil hervorheben möchten, da dies in den Laboratorien sowieso vielfach verwendeter Verdünnungsgrad ist (Hämoglobinbestimmung) und da die erste und zweite Verdünnung mit den gleichen Pipetten durchgeführt werden kann. Einen weiteren Vorteil des Autocytometers sehen wir darin, daß sich durch seine Konstruktionsmerkmale ein weiterer Ausbau zu einem vollautomatischen Gerät nahezu anbietet. Aus dem Gerät hängt ein Plastikschlächchen, das mit dem Hauptbedienungshebel in Verbindung steht. Es ließe sich leicht einrichten, daß die verdünnten Blutproben aus einem entsprechend gestalteten Fraktionssammler vollautomatisch entnommen werden. Man müßte dann nur noch einen Schreiber zum Registrieren der Ergebnisse anschließen.

Auf dem gleichen Prinzip ist es möglich, einen wesentlich einfacheren Zählautomaten zu konstruieren. Jeder Arzt hat ein Mikroskop, oft ist sogar ein Dunkelfeldkondensator vorhanden. Wenn man in das Mikroskop anstelle der Zählkammer eine entsprechend durchkonstruierte Durchflußvuvette bringt und anstelle des Oculars einen Photomultiplier, so erhält man (bei richtig gewählter Verdünnung) elektrische Impulse, die in einem Zählwerk registriert werden können. Man braucht das Zählwerk nur mit einem verstellbaren Zeitschalter auszurüsten und das System mit einer Standardsuspension, deren Zellzahl bekannt ist, zu justieren. Diese sehr einfache wartungsfreie und äußerst preiswerte Einrichtung ermöglicht es jedem praktischen Arzt die Zellzahl exakt zu bestimmen.

Einspritzmethode von CROSLAND-TAYLOR

Das von GROS LAND-TAYLOR 1953 entwickelte große Blutkörperchenzählgerät (Abb. 18, 19) wird von der Firma Evans Electroselenium Ltd. (St. Andrew's sorks, Halstead, Essex, England) hergestellt. Bei dem EEL-Gerät werden die Blut-

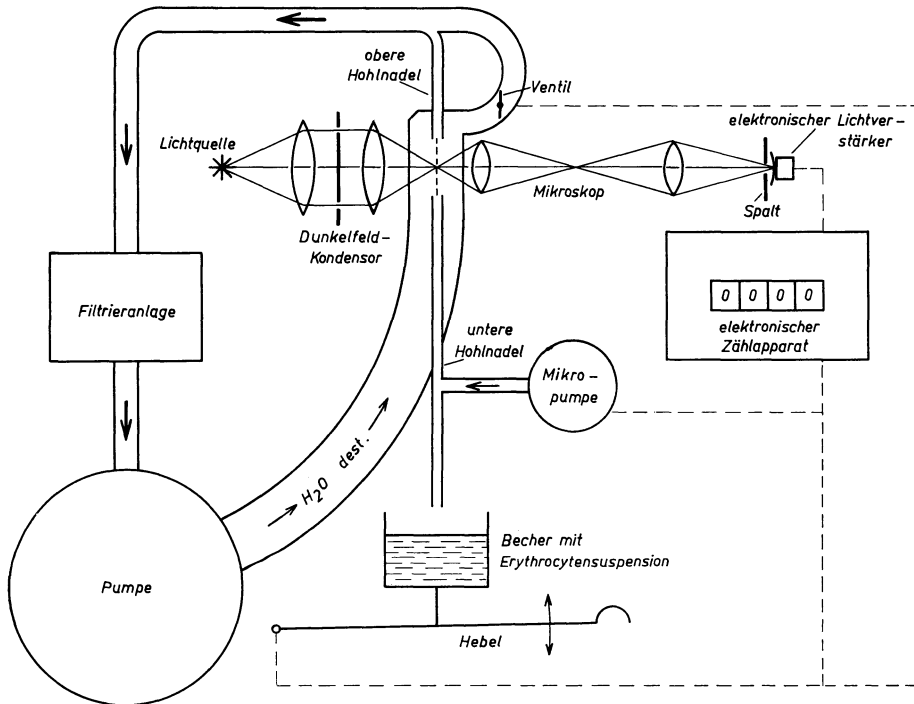


Abb. 18. Schema des EEL-Zählautomaten

körperchen in einem feinen Capillarstrahl durch das Dunkelfeldmikroskop geführt und gezählt. Eine Pumpe unterhält in diesem Apparat einen Wasserkreislauf, welcher durch den Zählraum strömt. Die Zu- und Abflußröhrchen des Zählraumes sind so bemessen, daß ein Sog (wie bei einer Wasserstrahlpumpe) entsteht. Bei geschlossenem Ventil hält dieser Sog die Flüssigkeitssäule in der unteren Hohl-nadel gerade im Gleichgewicht; wird aber das Ventil geöffnet, so strömt auch der Inhalt der Hohl-nadel in den Zählraum und fließt durch diesen ab. Das Blut wird für die Erythrocytenzählung 1:200 (formol-citrathaltige Kochsalzlösung), für die Leukocytenzählung 1:10 (Cetavlon-Lösung) verdünnt und in einem Glasbecher mit einem Hebel hochgehoben, so daß die untere Hohl-nadel in die Blutkörperchen-

suspension taucht. Zur gleichen Zeit wird automatisch das Ventil geöffnet und dadurch wird die untere Hohnadel mit der Blutkörperchensuspension durchspült, außerdem wird gleichzeitig das Zählwerk auf 0 gestellt. Wenn der Hebel dann wieder heruntergelassen wird, wird auch das Ventil wieder geschlossen (die Blutkörperchensuspension steht nun in der unteren Hohnadel) und anschließend die Mikropumpe in Gang gesetzt. Diese Mikropumpe bewirkt, daß ein genau einstellbares Volumen der Blutkörperchensuspension aus der Hohnadel in den Zähl-

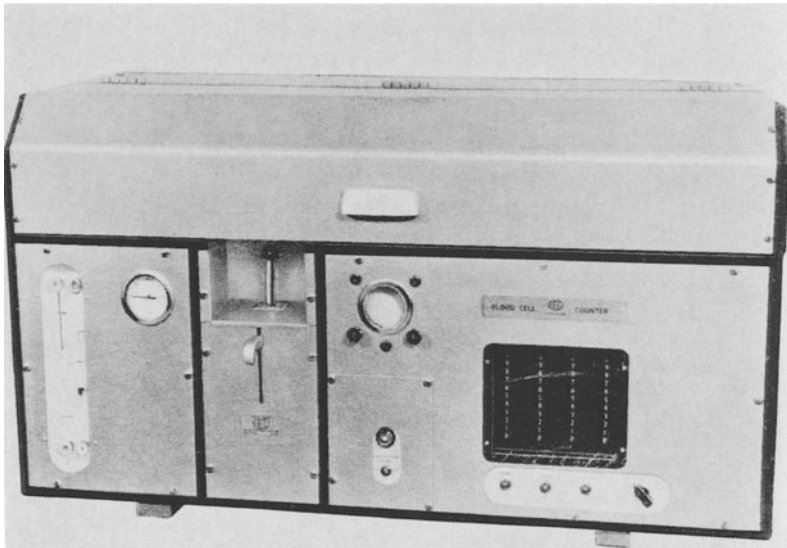


Abb. 19. EEL-Blutkörperchenzählautomat

raum eintritt und im Zählraum durch das strömende Wasser in Form eines feinen Strahles in die obere Hohnadel geführt wird. Dieser feine Strahl kreuzt im Zählraum die optische Achse eines Dunkelfeldmikroskopes, die Blutkörperchen leuchten auf und diese Lichtimpulse werden vom elektronischen Lichtverstärker aufgenommen und in Form eines verstärkten Stromimpulses dem inzwischen automatisch eingeschalteten elektronischen Zählgerät zugeleitet, welches diese Impulse zählt und registriert. Durch einfaches Heben und Senken des Hebels wird der ganze komplizierte Mechanismus also programmgemäß geschaltet und gesteuert; das Zählergebnis kann in 10 sec am Apparat abgelesen werden. Dieser Apparat (und auch die weiter unten besprochenen) hat auch ein Oscilloscope, auf dem man die einzelnen Impulse während des Zählvorganges sehen und überprüfen kann.

Elektrische Widerstandsmethode von COULTER

Während die bisher besprochenen Apparate alle optische Geräte waren, ist das von COULTER 1956 beschriebene System ein ganz anderes: es wird hier der Umstand ausgenutzt, daß die Blutkörperchen ein schlechter elektrischer Leiter sind.

Für die Erythrocytenzählung wird das Blut 1:50000 verdünnt, in einen Becher gefüllt und in den Apparat gestellt (Abb. 20). Der Hahn wird kurz geöffnet und das angeschlossene Vakuum hebt das Quecksilber in den rechten Schenkel des U-Röhrchens. Wenn der Hahn wieder geschlossen wird, saugt die langsam sinkende Quecksilbersäule die Erythrocytensuspension durch die Capillare (die

Capillare hat einen Durchmesser von $50\ \mu\text{m}$ und ist in ein Saphirplättchen gebohrt). Das Zählwerk schaltet sich ein, wenn das Quecksilber den Kontakt K_2 erreicht und schaltet wieder ab, wenn das Quecksilber den Kontakt K_3 erreicht; damit ist das Zählvolumen auf sehr einfache Weise definiert. Die Blutkörperchen sind in einer Elektrolytlösung suspendiert, die als guter elektrischer Leiter einen Kontakt zwischen den beiden Elektroden herstellt. Sowie ein Blutkörperchen in die Capillare gelangt, tritt eine dem Volumen des Blutkörperchens proportionelle elektrische Widerstandsänderung auf. Diese Widerstandsänderungen werden vom elektronischen Zählwerk gezählt und registriert. Bei der Entnahme wird erst eine Verdünnung 1:200 hergestellt, gleich danach oder beliebig später wird aus dieser

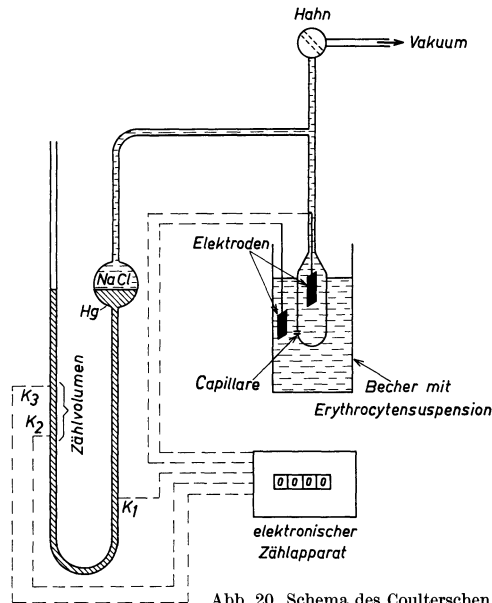


Abb. 20. Schema des Coulterschen Zählautomaten

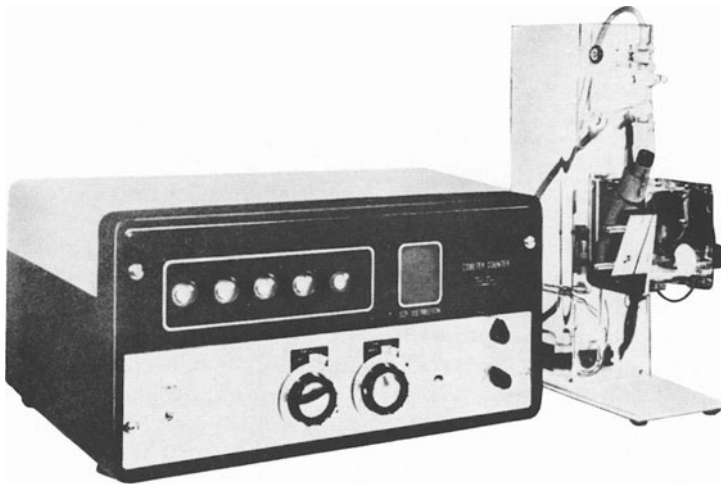
ersten Verdünnung mittels einer Mikropipette eine kleine Probe entnommen und 1:250 weiterverdünnt. So entsteht die Verdünnung 1:50000 für die Erythrocytenzählung. Der Rest der ersten Verdünnung wird mit etwas Saponin versetzt und zu einer Endverdünnung von 1:500 weiter verdünnt; damit wird die Leukocytenzählung durchgeführt. Die Zählung im Apparat dauert 24 sec. Auf der Seite des Apparates ist ein kleines Mikroskop angebracht, durch welches während der Zählung die Capillare beobachtet werden kann, so daß eine Behinderung des freien Durchflusses durch Fremdpartikelchen oder Luftbläschen sofort erkannt und durch Abstreifen mit dem Finger entfernt werden kann. Auf einem Sichtgerät (Oscillograph, auf der Frontseite des Apparates) werden die Impulse als senkrechte Ausschläge dargestellt. Das Oscillogramm veranschaulicht die ungefähre Größe der Teilchen und dient außerdem ebenfalls zur Funktionsprüfung des gesamten Gerätes.

Der „Coulter Counter“ dürfte der zur Zeit am weitesten verbreitete Blutkörperchenzählautomat sein. Von der Firma wird neben dem kleinen Modell D, welches sich besonders in Europa durchgesetzt hat, das größere Modell A (hauptsächlich in Amerika verbreitet) angeboten und das ganz große Modell B, mit dem vollautomatische Volumenverteilungskurven registriert werden können. Neuestens wird eine interessante Weiterentwicklung angeboten: das volltransistorisierte Modell F (Abb. 21 a—d).

Nach genau dem gleichen Prinzip arbeitet auch das schwedische Gerät „Celloscope“ (Ljungberg, Stockholm NO, Gyllenstiernsgatan 18). Es ist etwas einfacher, es fehlt das Mikroskop, durch welches man die Capillare beobachten kann, und



a



b

Abb. 21. a Coulter Counter Modell A. b Coulter Counter Modell B Zählgerät

auch die Capillare ist einfacher ausgebildet und besteht aus Glas (Abb. 22). Ergebnisse mit diesem Apparat sind auf Abb. 8 und 13 wiedergegeben. Neuerdings hat auch diese Firma ein großes Modell (Celloscope 202) herausgebracht.

Eine Zeitlang wurde auch in Holland ein ähnliches Gerät hergestellt (Marius-Cyt-0-Counter). Ein weiteres wird in Dresden hergestellt (Teilchen-Zählgerät TuR ZG 1), noch andere in Ungarn (Abb. 23a und b) und in Italien (Abb. 24).

Es wurde schon wiederholt auf den Koinzidenzfehler hingewiesen, der bei allen Zählautomaten auftritt. Dieser Fehler ist dadurch bedingt, daß trotz hochgradiger Verdünnung und kleiner Abmessung der Capillaren zuweilen zwei oder drei Blut-



c



d

Abb. 21. c Registrieranteil zum Coulter Counter Model B. d Coulter Counter Model D

körperchen gleichzeitig oder so nahe hintereinander durch die Capillare treten, daß nur ein Zählimpuls erfolgt. Die Wahrscheinlichkeit dieses Ereignisses kann berechnet werden, wenn die Maße der Capillare bekannt sind. Der Quotient

Istwert/Sollwert ergibt sich an Hand der Binominalverteilung aus folgender Formel:

$$\frac{1 - P_0}{1 - P_0 + (P_2 + P_3 + \dots + (n-1) P_n)}$$

$$P_0 = e^{-m} \quad \text{also} \quad 1 n \frac{1}{p_0} = m \quad \text{und} \quad P_n = \frac{m^n}{n!} e^{-m}$$

m = durchschnittliche Erythrocytenzahl im dreifachen Capillarovolumen.

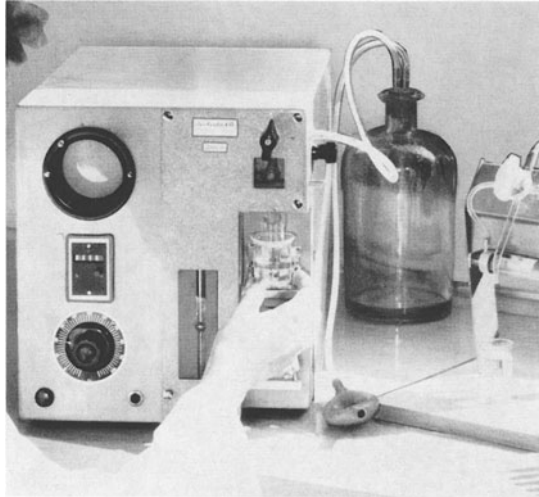


Abb. 22. Der Zählautomat „Celloscope“

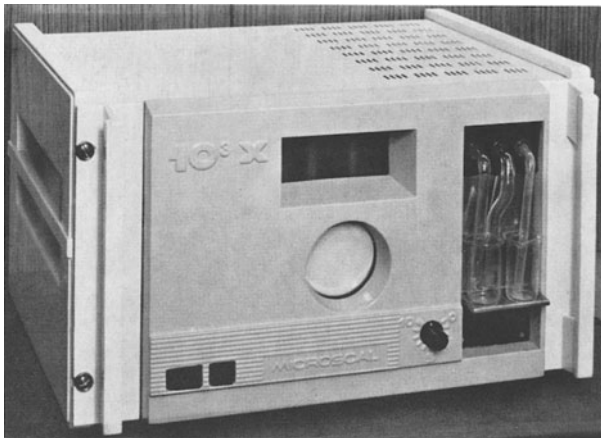


Abb. 23 a. Der Microsal-Zählautomat

Dieser Fehler ist bei einzelnen Geräten durch entsprechende Gestaltung der Ablesekala eliminiert. Bei anderen Geräten wird vom Hersteller eine Koinzidenztabelle geliefert, nach der eine Korrektur vorgenommen werden kann.

Elektronisch untersuchendes Mikroskop

Es werden in Forschungsinstituten seit einigen Jahren Versuche mit dem „Flying spot“-Mikroskop durchgeführt. Bei diesem System wird das mikro-

skopische Bild elektronisch abgetastet, wodurch Form und Größe der Zellen und Zellkerne erfaßt und analysiert werden können. Durch geeignete Programmierung können mit diesen sehr aufwendigen, aber auch außerordentlich vielseitigen Einrichtungen zahlreiche cytologische Fragen bearbeitet werden.



Abb. 23 b. Der Picoscal-Zählautomat

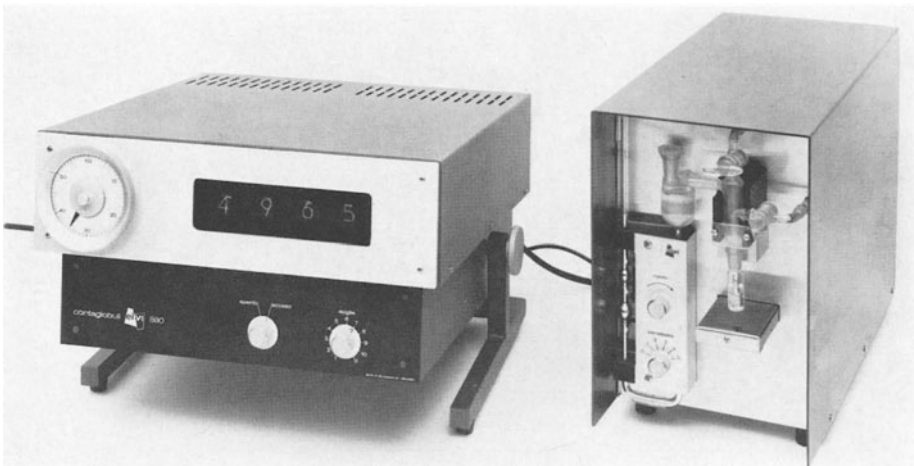


Abb. 24. Der „Elvi“ Zählautomat

Bei der regelmäßig gestellten Frage über „Normalwerte“ wird meist nicht beachtet, daß die hämatologischen Normalwerte bzw. zumindest die Werte für die Erythrocytenzahl, Hämoglobingehalt und das Zellpackungsvolumen (Hämatokrit) von Ort zu Ort je nach der Höhenlage verschieden sind. Die in diesem Kapitel genannten Normalwerte gelten nur für das Tiefland. Über die Normal-

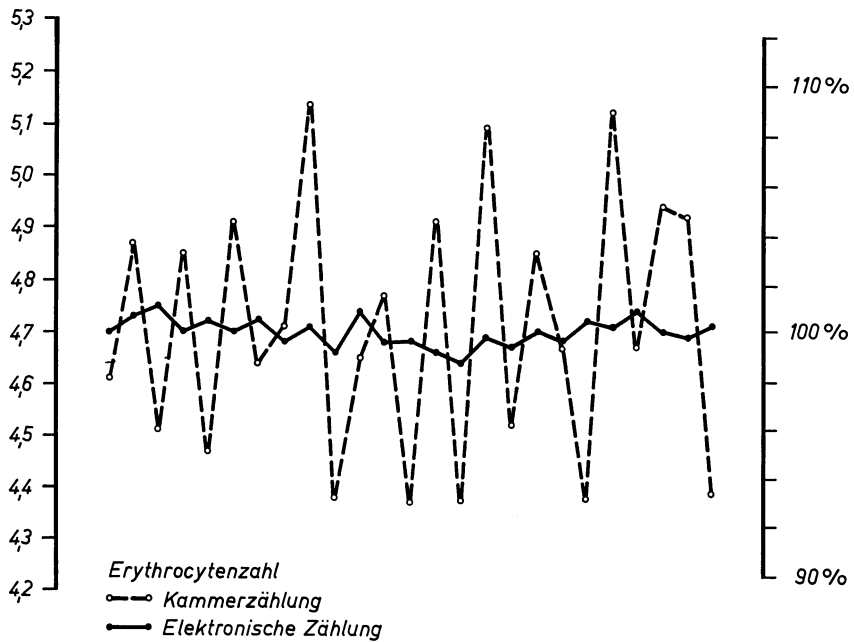


Abb. 25. Vergleichszählungen mit der Zählkammer und dem Celloscope

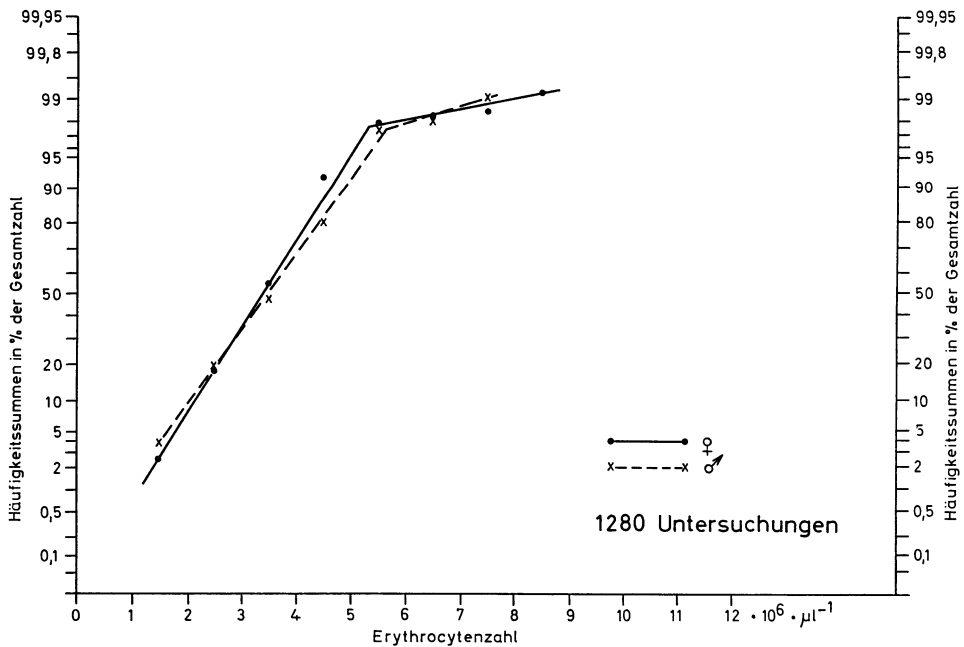


Abb. 26. Die Verteilung der Erythrocytenzahlen bei kranken Menschen

werte bei der Erythrocytenzählung sind kürzlich von GREENDYKE u. Mitarb. (1962) ausführliche Untersuchungen vorgenommen worden. Sie fanden bei 950 gesunden amerikanischen Soldaten einen Mittelwert von $5,2 \cdot 10^6 \cdot \mu\text{l}^{-1}$ mit einem Bereich ($\pm 2 s$) von $4,4$ — $6,0$ Mio. pro Mikroliter. KAVAKITA (1965) fand bei 575

japanischen Soldaten 4,99 (4,01—6,00) Mio., also eine sehr gut vergleichbare Zahl. BOROVICZÉNY und CORDES untersuchten die Verteilung der Erythrocytenzahlen bei 1280 *kranken* Menschen und fanden bei den Männern 3,5 (1,3—5,6) Mio., bei Frauen 3,4 (1,5—5,3) Mio. pro Mikroliter (s. Abb. 26). Die Verteilung beim Kranken ist von Interesse einerseits, da interessanterweise die in einem Krankenhaus festgestellten Mittelwerte (wenn diese aus genügend viel Einzeluntersuchungen gebildet sind) sehr konstant sind und als Langzeit-Präzisionskontrolle verwendet werden können, andererseits an den so gewonnenen Extremwerten feststellen kann, wie niedrige bzw. wie hohe Werte vorkommen, wie weit also die Skala eines Instrumentes oder eines Nomogramms reichen soll. Die Blutkörperchenzählung ist unter DIN 58932 genormt.

Hämoglobinbestimmung

Allgemeines

Definition: Das Hämoglobin ist ein Chromoproteid. An Hand der bekannten chemischen Struktur der α - und β -Ketten des Globins sowie des Häms kann das Molekulargewicht des wasserfreien Hämoglobins mit 64458 angenommen werden (BRAUNITZER, 1961). Da ein Hämoglobinmolekül vier Eisenatome enthält, beträgt der Eisengehalt des wasserfreien Hämoglobins 0,3466%. Wie viele andere Proteine hat auch das Hämoglobin einen spiralförmigen Aufbau; es ist eine α -Helix. Beim Hämoglobin ist diese Spirale vielfach gebogen und geknickt und ergibt ein etwa ellipsoidförmiges Knäuel. Innerhalb der Spirale und um sie herum sowie um das ganze Molekül ist das Hydratationswasser, welches aus Wasserkristallen besteht, sich also in einem eisähnlichen Zustand befindet. Das Hämoglobin enthält pro Gramm Trockensubstanz etwa 0,4 g Hydratationswasser, welches zu etwa einem Drittel irrational (d. h. unbeweglich), zum übrigen Teil etwas lockerer an das Protein gebunden ist. Dieses Hydratationswasser ist ein wesentlicher Bestandteil des Hämoglobinmoleküls, da ohne Wasser das Hämoglobin überhaupt nicht am Gasaustausch teilnehmen kann. Das entwässerte Hämoglobin ist eine funktionsuntüchtige, denaturierte, polymerisierende, hämochromogenartige Substanz.

Das Häm ist ein Ferroporphyrin mit der Zusammensetzung $C_{34}H_{32}O_4N_4Fe$. Es ist leicht oxydabel und geht durch eine Oxydation reversibel in das Hämatin über, in welchem das Eisen schon dreiwertig ist. Das Hämatin bildet mit Säuren Salze, die Hämine genannt werden. Das Häm ist bei allen Tierarten, Protozoen und Pilzen, welche Hämoglobin bilden, identisch. Das Globin ist artspezifisch. Bei der Hämoglobinbestimmung verhalten sich alle bisher bekannten menschlichen Hämoglobine gleich.

Im Erythrocyten sind die Hämoglobinmoleküle so dicht angeordnet, daß sie gerade noch frei in jeder Richtung rotieren können. Sie sind echt gelöst, aber bereits wie in einem Kristall in „Reih und Glied“ ausgerichtet. Die Anordnung der Hämoglobinmoleküle im Zellinneren ist somit ein Zwischenzustand zwischen der Ordnung in einem Kristall und der Unordnung in einer echten Lösung (Abb. 27).

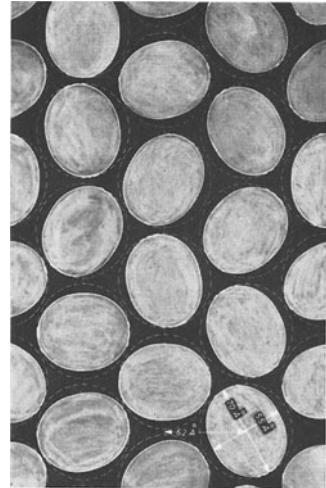


Abb. 27. Schematische Darstellung der Anordnung der Hämoglobinmoleküle im Erythrocyten

An das komplexgebundene Eisen des Hämoglobinmoleküls kann O_2 bzw. H_2O locker, leicht reversibel angelagert werden (Oxygenation), wodurch Oxyhämoglobin bzw. das reduzierte Hämoglobin entsteht; CO_2 kann ebenso locker gebunden werden. Dank dieser Eigenschaften ist das Hämoglobin die ideale Trägersubstanz des Gasstoffwechsels. Andere Gase, wie CO und CN, haben eine viel größere Affinität zum Hämoglobin als O_2 , werden dauerhafter gebunden und können somit das Hämoglobin zum Sauerstofftransport ungeeignet machen. Bei einer *Oxydation* wird das zweiwertige Ferroeisen des Hämoglobins in dreiwertiges Ferriseisen umgewandelt, es entsteht Hämiglobin (älterer Name: Methämoglobin), welches zum Sauerstofftransport ebenfalls ungeeignet ist. Normalerweise findet man im Erythrocyten Oxyhämoglobin, reduziertes Hämoglobin, CO_2 -Hämoglobin sowie etwas CO-Hämoglobin und Hämiglobin. Durch die Einwirkung von Alkalien wird das Hämoglobin in ein bisher nicht näher definiertes Produkt umgewandelt, welches Alkalihämatin oder alkalisches Hämoglobin genannt wird. Durch Säureeinwirkung wird das Hämoglobin ebenfalls denaturiert. Die Strukturformeln der verschiedenen Hämoglobinderivate sowie deren Zusammenhänge sind auf Abb. 28 wiedergegeben, dabei sind auch die bei den Hämoglobinbestimmungsmethoden meist verwendeten Reagentien angegeben.

Zur Hämoglobinbestimmung stehen uns verschiedene Methoden zur Verfügung. Die Eisenbestimmung, die gasometrischen Bestimmungsmethoden und die Ferricyanid-Titrationsmethoden sind ziemlich zeitraubende Eichmethoden, die nur in großen, gut eingerichteten Laboratorien durchgeführt werden. Für die tägliche Routinearbeit eignen sich besser Farbmeßmethoden. Das Hämoglobin und seine verschiedenen Derivate sind rot. Diese rote Farbe entsteht dadurch, daß die Hämoglobinmoleküle das weiße Licht nicht gleichmäßig, sondern in verschiedenen Spektralabschnitten verschieden stark mit einem Maximum in Grün absorbieren (s. Abb. 30, 35 und 36). Wenn wir eine Hämoglobinlösung betrachten, so scheint sie eine desto sattere rote Farbe zu haben, je mehr Moleküle sich dem Gang der Lichtstrahlen in den Weg stellen, d. h., je konzentrierter die Lösung oder je größer die Schichtdicke ist. Diese Eigenschaft farbiger Lösungen, welche mit dem Lambert-Beerschen Gesetz ausgedrückt wird, ermöglicht es, durch Farbmessung die Konzentration des Farbstoffes zu bestimmen. Da die Absorption des Lichtes im geometrischen Verhältnis zur Dicke der absorbierenden Schicht bzw. zur Konzentration der absorbierenden Lösung steht, wird sie oft nicht in Prozent der Durchlässigkeit, sondern als deren Extinktion (die in linearem Verhältnis zur Konzentration steht) angegeben. Die Extinktion einer gefärbten Lösung ist der negative Logarithmus der durchgelassenen Lichtmenge, in Bruchteilen des einfallenden Lichtes gemessen. Die Extinktion bezogen auf die Einheit der Schichtdicke (1 cm) drückt der Extinktionskoeffizient aus. Der Extinktionskoeffizient ist direkt proportional der Konzentration und ist somit der einfachste Ausdruck für die relative Konzentration eines Farbstoffes. Ist der Extinktionskoeffizient einer bekannten Konzentration ermittelt, so kann die unbekannte Konzentration durch Bestimmung ihres Extinktionskoeffizienten einfach berechnet werden. Das Lambert-Beersche Gesetz gilt nur für Messungen im monochromatischen Licht. Monochromatisches Licht ist streng einfarbig, hat also nur *eine* Wellenlänge. Die Messung der Extinktionskoeffizienten im monochromatischen Licht ist die genaueste Methode zur Bestimmung der Konzentration einer Farblösung, wobei beim Meßvorgang die Extinktion des Lösungsmittels gleich 0 gesetzt wird, was einer Absorption von ebenfalls 0 oder einer Transmission von 100% entspricht. Dazu ist noch zu bemerken, daß praktisch alle modernen Photometer eine Doppelskala besitzen. Auf dem einen Teil liest man steigend von links nach rechts, in 100 gleich große Teile (die Prozente) eingeteilt, die Transmission ab, auf dem

anderen Teil zeigt die Skala von links nach rechts abfallend in logarithmischer Einteilung die Extinktion. Das Ablesen einer gleichmäßig geteilten Skala erfolgt im allgemeinen mit größerer Präzision als bei einer unregelmäßigen Skala. Zur Messung der Extinktion im monochromatischen Licht benötigt man ein Spektralphotometer — ein teures Gerät, das im allgemeinen nur in größeren Laboratorien

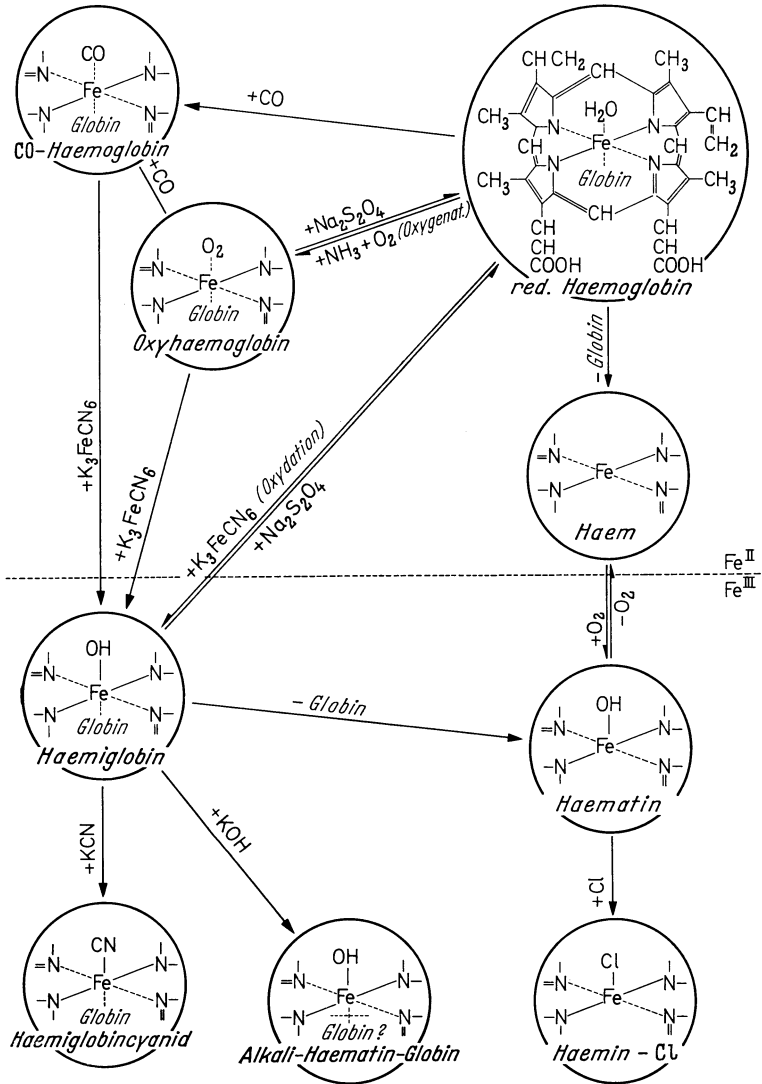


Abb. 28. Strukturformel der wichtigsten Hämoglobin-Derivate

zur Verfügung steht. Die Hämoglobinbestimmung kann aber auch mit Filterphotometern vorgenommen werden; diese sind wesentlich billiger, viel einfacher zu handhaben und ergeben noch genügend genaue Resultate. Man unterscheidet visuelle Filterphotometer und die genaueren photoelektrischen Filterphotometer. Noch einfacher (und billiger), aber meist auch wesentlich ungenauer, sind die Colorimeter, bei denen die Farbe der Hämoglobinlösung visuell mit einer Farbskala (oder einem Farbkeil) verglichen wird; dabei ergeben sich oft Farbtonunter-

schiede, die die genaue Ablesung erschweren und damit eine wesentliche Fehlerquelle bedeuten.

Um photometrische Hämoglobinbestimmungen durchführen zu können, muß, wie weiter oben ausgeführt wird, erst der Extinktionskoeffizient einer Lösung mit genau bekanntem Hämoglobingehalt ermittelt werden. Dabei begegnet man leider größten Schwierigkeiten, da man nicht einfach „chemisch reines“ Hämoglobin kaufen kann, um sich nach Einwaage eine entsprechende Lösung herzustellen. Andererseits gelang es selbst großen Laboratorien, die mit den nötigen Hilfsmitteln ausgerüstet sind, bisher nur selten, Hämoglobinlösungen aus dem Eisen- und dem Gasbindungsvermögen mit einem Fehler unter 1—2% zu bestimmen (REMMER, 1960). Auf diesen Umstand ist es zurückzuführen, daß z. B.

Tabelle 3. Einige „normale“ Hämoglobinwerte, die als 100 Hämometereinheiten benutzt wurden (nach SCHULTEN, ergänzt)

Autor, Jahr	100% HE = g%
QUINQUAND (1873)	12,5
HALDANE (1900)	13,8
FLEISCHL (1885)	14,0
LEICHENSTERN (1878)	14,1
WINTROBE (1947)	14,5
KING (1947)	14,8
STADIE (1920)	15,0
FROEHLICH (1922)	15,6
OSGOOD (1926)	16,0
WILLIAMSON (1916)	16,9
SAHLI (1911)	17,3
LEITZ (?)	18,2
SAHLI (?)	21,2
SELEKTA (?)	23,2

die in England seit der Jahrhundertwende benützte Standardisierungsvorschrift nach neueren Untersuchungen (KING, 1947, 1948, 1951) um etwa 4% zu niedrige Werte ergibt, die in Deutschland vor 30 Jahren ausgearbeitete Standardisierungsvorschrift (HEILMEYER, 1936) hingegen um 2% gegenüber dem gegenwärtigen Standard zu hohe (REMMER, 1956; KLEINE, 1959).

Unglücklicherweise hat HAYEM 1877 den Begriff „Hämoglobin in Prozent der Norm“ in die Hämatologie eingeführt. Gegen diesen unklaren Begriff wurde sofort und seither sehr oft protestiert, doch leider mit ungenügendem Erfolg. Es wurde eine ganze Reihe von „Normalwerten“ festgestellt, die voneinander zum Teil sehr beträchtlich abweichen (s. Tabelle 3, nach SCHULTEN, ergänzt). Diese Unterschiede

sind teils methodisch, teils aber auch durch die unterschiedliche Höhenlage, endlich sogar durch kommerzielle Gesichtspunkte (HEILMEYER, 1951) bedingt. Wie die Umfrage einer schweizerischen Firma [Ärztl. Laborat. 8 (1962), 25—31] ergab, werden in Mitteleuropa von vielen Ärzten 100% mit 16 g-% gleichgesetzt, bei einigen bedeuten aber 100% 14,0, 14,5, 15,0, 15,5 oder auch mehr oder weniger g-%. Schon in England bedeuten 100% in den allermeisten Fällen 14,8 g-%, manchmal auch 14,5 oder 15,6 g-%. Es ist wohl selbstverständlich, daß heutzutage eine solche verwirrende Vielfalt der „Maßeinheiten“ nicht mehr verwendet werden sollte. Heute muß jedes kleine Krankenhaus, ja jeder Praktiker damit rechnen, daß er gelegentlich Patienten aus dem Ausland oder aus Übersee behandeln muß, dementsprechend müssen die von ihm mitgeteilten Befunde internationale Gültigkeit haben. Man muß fordern, daß jeder Arzt die Hämoglobinbestimmung nach den international anerkannten Standardvorschriften durchführt und das Ergebnis in mval/l, oder in mmol/l, oder in g-% (g/100 ml Blut) mitteilt.

Hämiglobineyanidmethode

Die vom Internationalen Komitee für Standardisierung in der Hämatologie (ICSH) vorgeschriebene internationale Standardmethode ist die Hämoglobinbestimmung als Hämiglobineyanid, bei der das Hämoglobin durch die Zugabe von Kaliumferricyanid zu Hämiglobin oxydiert, aus welchem in Anwesenheit von Cyan-Ionen Hämiglobineyanid gebildet wird. Dabei werden mit Ausnahme des

Verdoglobins alle im Blut normalerweise vorhandenen Hämoglobinverbindungen erfaßt.

Die Methode wird wie folgt ausgeführt:

Mit einer Sahli-Pipette wird 0,02 ml Blut abgenommen, mit einer Reaktionslösung verdünnt, und nach 3 min oder beliebig später kann das Ergebnis abgelesen werden. Das Verdünnungsverhältnis beträgt je nach Hämometer entweder 1:251 oder 1:101. Es müssen also 5,0 oder 2,0 ml Verdünnungslösung vorgelegt werden. Die Reaktionslösung kann als unbegrenzt haltbares Konzentrat bezogen werden, das auf etwa 1 Liter verdünnt wird; die verdünnte, gebrauchsfertige Reaktionslösung hält sich in braunen Flaschen mehrere Wochen.

Als Reaktionslösung empfehlen VAN KAMPEN und ZIJLSTRA: 200 mg $K_3Fe(CN)_6$, 50 mg KCN, 140 mg $KHPO_4$ und 0,5 ml Sterox SE werden in Wasser gelöst und auf 1 Liter verdünnt. Der pH dieser Lösung soll 7,0—7,4 betragen. Bei Zimmertemperatur in einer schwarzgestrichenen Flasche aufbewahrt, hält diese Lösung mehrere Monate lang. Sie soll regelmäßig kontrolliert werden und darf nicht einfrieren. (Sterox SE ist ein Netzmittel und kann bei der Hartman-Leddon Co., Philadelphia/Pa (USA), bezogen werden. Es ist oft säurehaltig, muß in diesem Falle erst neutralisiert werden. Als gleichwertig kann noch (1,0 ml/l) das Nonidet P 40 der Shell Internat. Chem. Co., London, empfohlen werden.)

Auf den Umstand, daß die Hämiglobincyanidmethode ungefährlich ist, kann nicht oft genug hingewiesen werden.

Die gebrauchsfertige Reaktionslösung enthält neben Kaliumferricyanid, Puffer-substanzen, Lösungsvermittler und Stabilisator nur 0,05 g Kaliumcyanid pro Liter, d. h., daß die zur tödlichen Vergiftung nötige Menge KCN in 4—5 Liter Lösung enthalten ist. Wer also beim ohnehin unvorschriftsmäßigen Pipettieren mit dem Mund etwas Reaktionslösung schlucken sollte, braucht keine Angst zu haben. Bei der schlecht schmeckenden Lösung besteht auch keine Gefahr, daß sie irrtümlich in gefährlichen Mengen getrunken wird. Auch können die Reaktionslösung und die durchgemessenen Blutproben unbedenklich in den Abguß gegossen werden, wobei man jedoch das Wasser laufen lassen sollte. Es ist aber keinesfalls ratsam, die Lösung literweise in den Ausguß oder gar in einen Eimer zu gießen, da dabei durch Säureeinwirkungen schon gefährliche Mengen Cyangas frei werden könnten. Giftig im eigentlichen Sinne des Wortes ist das Konzentrat, das deshalb verschlossen im Giftschrank aufbewahrt werden soll.

Die Hämiglobincyanidmethode ist sehr *verlässlich*, da dabei die meisten Fehler der colorimetrischen Hämoglobinometrie wegfallen oder vernachlässigt werden können. Ein großer Vorteil ist weiterhin der, daß man praktisch zu jedem beliebigen Zeitpunkt ablesen kann. Bei Verdünnung mit der von VAN KAMPEN-ZIJLSTRA angegebenen Reaktionslösung werden in etwa 3 min alle im Blut vorkommenden Hämoglobinderivate (außer Verdoglobin) in Hämiglobincyanid umgewandelt. Die Farbe des Hämiglobincyanids bleibt dann mehr als 1 Jahr lang völlig unverändert, vorausgesetzt natürlich, daß eine Verunreinigung durch Staub, Bakterien oder Pilze vermieden wird. Wie nachgewiesen wurde, kann der Bilirubinfehler und der Eiweißfehler bei der Hämiglobincyanidmethode vernachlässigt werden, während sich diese Fehlerquellen wie auch der Zeitfehler auf das Ergebnis der Sahli-Methode stark auswirken. Der Leukocytenfehler, auf den als erster schon LEICHTENSTERN hingewiesen hat, tritt nur bei schweren Leukämien auf; in diesen Fällen sollte man vor dem Messen scharf zentrifugieren.

Der Verbreitung der Hämiglobincyanidmethode stand lange Zeit der Umstand im Wege, daß es für sie keine preiswerten Hämometer gab. Es wurden deshalb in Zusammenarbeit mit den Hämometerherstellern neue Apparate entwickelt und auch verschieden gängige Modelle auf die Umstellungsmöglichkeit hin untersucht.

Tabelle 4. *Apparate für die Hämiglobincyanidmethode**

Apparat	Hersteller und Typ	Verdünnung	Variationskoeffizient (P=68,3%)	Preis (DM)
Präzisionsphotometer	Beckman DB, DU Netheler-Hinz, Eppendorf Zeiss Elko II, Elko III, PMQ II Spe-Pho	1:251	2—3%	4000—14000
Elektrohämometer	Evans-Electroselenium-Hämometer Hellige Co. Erymat Ljungberg Linson-Junior Testa Hämotest II Vitatron Hämometer	1:251	4—5%	400—1400
Visuelle Colorimeter	Hellige Co. Autenrith-Königsberger Zeiss-Ikon Polytest	1:101	6—7%	150—250
Verdünnungshämometer	Link-Hämofix ERKA Cyan-Hämometer	1:20—120	8—9%	20—50
Filterpapier-skala	Schleicher-Schüll Selektahämoglobinskala	0	10—11%	2—3

* In die Tabelle sind nur die Hämometer aufgenommen, die in der letzten Zeit von der Hämometerprüfstelle ausführlich getestet wurden. Es gibt zahlreiche andere Fabrikate, mit denen ebenso gute Ergebnisse erzielt werden können. Im angegebenen Variationskoeffizienten ist der Pipettierfehler bei routinemäßigem Arbeiten mit enthalten.

Das Ergebnis dieser von BOROVICZÉNY zusammen mit FODOR, LEGOWSKI, ROEBER und WESTPHALEN durchgeführten Untersuchungen findet sich in Tabelle 4, wo die Apparate in Gruppen zusammengefaßt sind und bei jeder Gruppe der beim Routinebetrieb ungefähr zu erwartende Fehler angegeben ist. Der Variationskoeffizient gibt die Standardabweichung σ bzw. s in Prozent des Ergebnisses an, die in etwa zwei Drittel der Fälle nicht überschritten wird; in etwa 95% der Fälle wird der doppelte σ -Wert, in etwa 99,7% der Fälle der dreifache σ -Wert nicht überschritten.

Die Präzisionsphotometer, die in den Laboratorien und anspruchsvollen Fachpraxen vorhanden sind, eignen sich alle gut zur Hämoglobinbestimmung. Ist die Wellenlänge veränderbar (Spektralphotometer), so wird bei 540 nm gemessen, während man mit Filterphotometern möglichst nahe zu diesem Maximum mißt (z. B. Hg 546 oder S 53). Bei diesen Photometern wählt man die Verdünnung 1:251 und kann gegen leere Reaktionslösung oder einfach gegen Wasser messen, da die Reaktionslösung bei 540 nm eine Extinktion kleiner als $0,02 \text{ cm}^{-1}$ aufweist. Die Reaktionslösung hat ein Maximum bei 420 nm; man kann deshalb beim Ansetzen der Lösung hier die Extinktion bestimmen und zeitweise kontrollieren, ob die Lösung noch unverändert ist.

Die Elektrohämometer kosten wesentlich weniger, sind aber auch etwas ungenauer als die Präzisionsphotometer. Diese Geräte werden in erster Linie in Laboratorien eingesetzt, in denen sehr viele Hämoglobinbestimmungen durchgeführt werden (Polikliniken, Blutbanken usw.). Sie haben meist eine Durchflußcuvette und eine Skala, auf der man das Ergebnis in g/100 ml (oder mval/l) direkt ablesen kann, was die Arbeit vereinfacht.

Nicht aufgeführt, ist die große Gruppe der einfacheren photoelektrischen Filterphotometer und Colorimeter (Coleman, EEL, Lange, Riele usw.), die sich auch alle zur Hämoglobinbestimmung mit der Hämiglobincyanidmethode eignen. Wie auf Abb. 30 und 31 zu sehen ist, hat das Hämiglobincyanid bei 540 nm ein

sehr breites Maximum. Dieser breite Buckel verträgt auch so manche Ungenauigkeiten der Filter, die bei billigeren Geräten dieser Gruppe manchmal vorkommen. Wichtig ist, daß eine Eichkurve aufgestellt und in regelmäßigen Abständen kontrolliert wird, da gerade in dieser Gruppe neben tadellosen Geräten leider auch (besonders in der unteren Preisklasse) solche mit Konstruktions- und Fertigungsfehlern vorzufinden sind. Gemessen wird auch bei diesen Geräten mit dem Grünfilter.

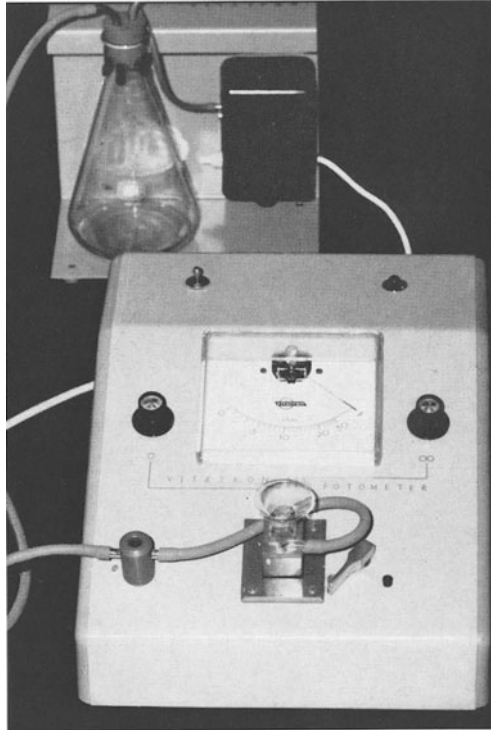


Abb. 29. Das photoelektrische Hämometer der Fa. Vitatron

Von den angeführten visuellen Colorimetern ist das Autenrieth-Königsberger-Colorimeter der Fa. Hellige & Co. sowie das Zeiss-Ikon-Polytest-Colorimeter seit Jahrzehnten weitverbreitete Instrumente sind. Beim Farbscheibenhämometer kann das Ergebnis direkt abgelesen werden; beim Apparat nach AUTENRIETH-KÖNIGSBERGER besorgt man sich einen Hämiglobincyanidkeil vom Hersteller; beim Polytest kann der Oxyhämoglobinkeil verwendet werden, doch muß man eine Eichkurve (s. Abb. 34) anlegen, da die Skala des Oxyhämoglobins nicht für die Hämiglobincyanidmethode paßt. Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, kann man mit diesen preiswerten (und vielfach schon vorhandenen) Hämometern ganz gute Ergebnisse erzielen. Bei sorgfältiger Arbeit und Doppelbestimmung wird mit diesen Hämometern die Genauigkeit vieler drei- bis viermal teurerer photoelektrischer Apparate erreicht, ja oft übertroffen, weil ein einfaches visuelles Colorimeter viel weniger Fehlermöglichkeiten hat als ein photoelektrisches Gerät. Bei diesen visuellen Hämometern wird mit einer Verdünnung 1:101 gearbeitet.

Die angeführten „Verdünnungshämometer“ sind Neukonstruktionen, die nach der von GOWERS angegebenen Methode (meist als „Sahli-Methode“ bekannt),

aber als Hämoglobincyanidhämometer arbeiten. Bei diesen einfachen Hämometern wird niemand Umstellungsschwierigkeiten haben; man arbeitet genau wie mit dem alten „Sahli“: Etwas Reaktionslösung (statt HCl) wird vorgelegt, und 0,02 ml Blut werden mit der Sahli-Pipette eingespült; nach 3 min wird mit der Reaktionslösung weiter bis zur Farbgleichheit verdünnt und dann abgelesen. Man ist aber

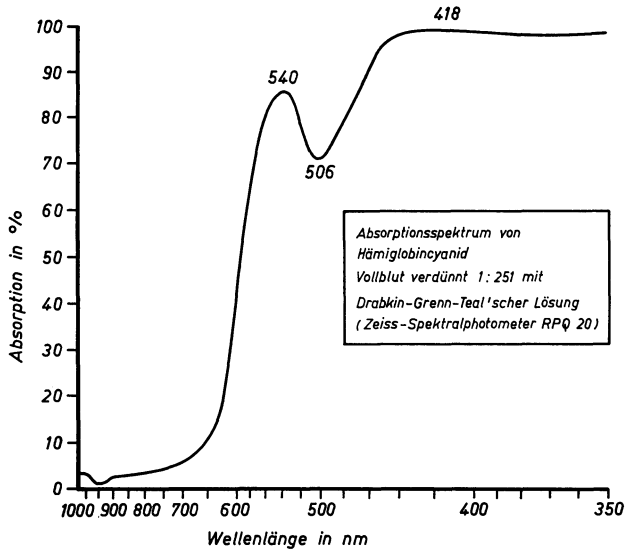


Abb. 30. Das Absorptionsspektrum von Hämoglobincyanid

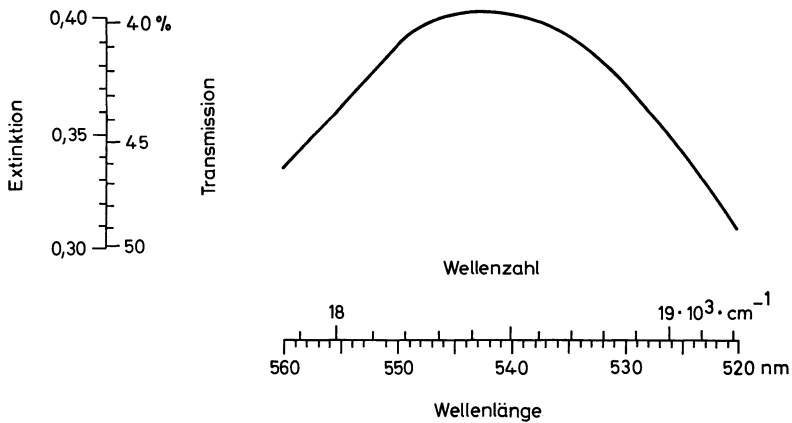


Abb. 31. Teil des Spektrums einer etwa 15 g/100 ml Hämoglobincyanid enthaltenden Standardlösung

nicht, im Gegensatz zur Sahlimethode, zeitgebunden, denn man kann gleich gut nach 3 min wie auch nach 3 Std oder Tagen ablesen. Auch der Eiweißfehler und der Bilirubinfehler machen sich nicht mehr störend bemerkbar. Im Gegensatz zum Sahli-Hämometer kann man diese Hämometer auch leicht selbst prüfen. Der Standard muß genau die gleiche Farbe haben wie eine 198 mg-%ige (= 20 g/100 ml) Standardlösung; die Vierkantcuvette muß eine Schichttiefe von genau 6 mm haben und die 10 g-%-Marke muß einem Inhalt von 1,0 ml, die 20 g-%-Marke einem Inhalt von 2,0 ml entsprechen. Durch Fortfall der genannten Fehlerquellen und durch normgerechte Anfertigung welche den physiologischen Fähigkeiten

des Auges angepaßt ist, kann mit diesen Hämometern eine fast doppelt so große Genauigkeit erreicht werden wie mit den alten Sahli-Hämometern. Berücksichtigt man noch den sehr günstigen Preis dieser Hämometer, so ist tatsächlich zu erwarten, daß sich jeder auf die neue Standardmethode umstellt (Abb. 32a, b).

Abschließend muß noch die gute Kontrollierbarkeit der Hämiglobincyanidmethode kurz besprochen werden.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Farbe des Hämiglobincyanids sehr beständig ist und sich jahrelang hält. Dieser Umstand ermöglicht es, Stan-

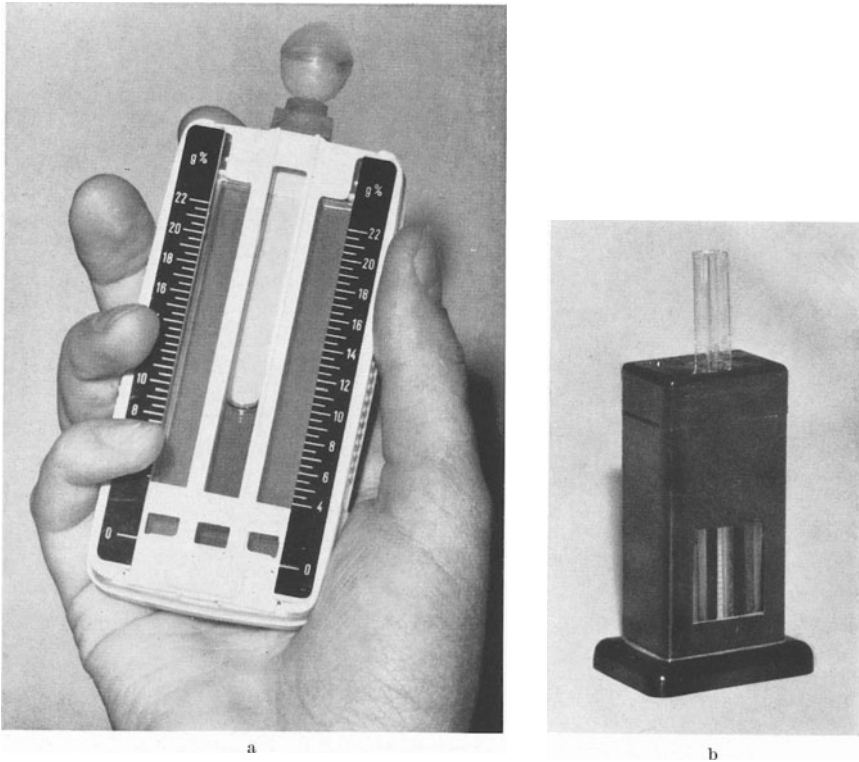


Abb. 32a und b. Verdünnungshämometer für die Hämiglobincyanid-Methode. a Das Hämometer der Fa. Kallmeyer. b Das „Hemotest“-Hämometer der Fa. Link

dardlösungen herzustellen, die steril, in Ampullen abgefüllt in den Handel gebracht werden. Auf diesen Ampullen wird der Hämiglobincyanidgehalt meist in mg-% (richtiger mg/100 ml) angegeben. Dieser Wert soll mit dem Verdünnungsgrad multipliziert werden. Wenn also mit einer Standardlösung, die 59,7 mg-% Hämiglobincyanid enthält, z.B. ein Eppendorf-Photometer kontrolliert werden soll, so wird am Apparat eine Anzeige, die 15,0 g-% entspricht, erwartet, weil

$$59,7 \text{ mg-\%} \cdot 251 = 14984,7 \text{ mg-\%} \approx 15,0 \text{ g-\%}.$$

Wenn aber mit derselben Ampulle ein Farbscheibenhämometer überprüft wird, so sollte man 6,0 g-% ablesen, da

$$59,7 \text{ mg-\%} \cdot 101 = 6029,7 \text{ mg-\%} \approx 6,0 \text{ g-\%}.$$

Entsprechend den Empfehlungen des ICSH soll für die Hämoglobinbestimmung grundsätzlich immer eine Eichkurve aufgestellt und diese in regelmäßigen Abständen kontrolliert werden. Da bei Hämiglobincyanidlösungen das Lambert-

Beersche Gesetz im Konzentrationsbereich von nahezu 0—300 mg-% erfüllt ist (Abb. 33), ist die Aufstellung der Eichkurve denkbar einfach:

Standardlösungen werden in Sätzen zu mindestens drei verschiedenen Konzentrationen sowohl für die Verdünnungsstufe 1:251 wie auch für die Verdünnungsstufe 1:101 hergestellt. Man mißt den Inhalt dieser Ampullen so, wie man fertig verdünntes Blut messen würde, und notiert das Ergebnis. Wenn bei Apparaten, die eine g-%-Skala haben, die abgelesenen Werte mit den Sollwerten (mg-%-Angabe auf der Apulle \times Verdünnung) übereinstimmen, so ist der Apparat richtig geeicht. Man kann ohne weiteres damit Hämoglobinbestimmungen durchführen, muß nur die Eichung in regelmäßigen Zeitabständen überprüfen. Wenn die ab-

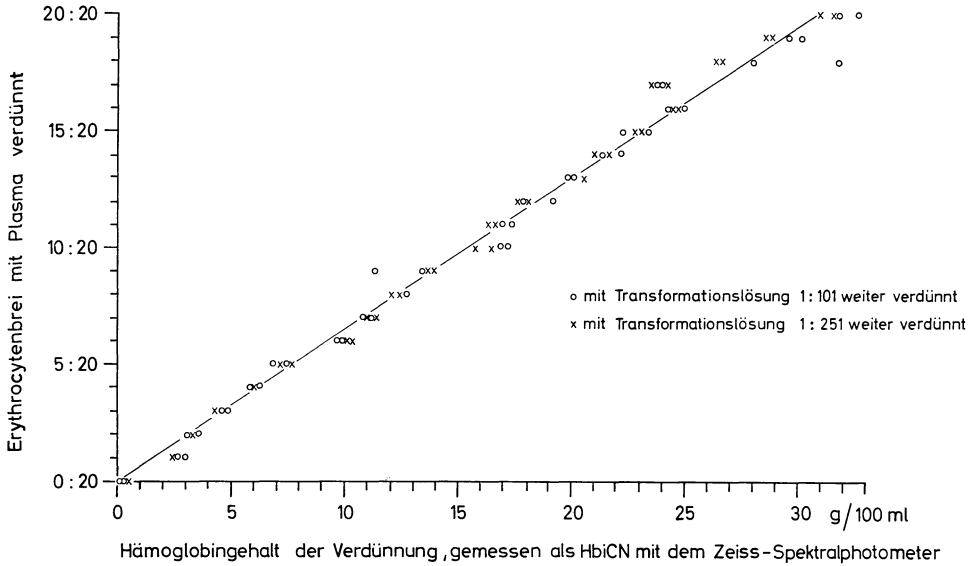


Abb. 33. Die Hämiglobincyanidlösung erfüllt das Lambert-Beersche Gesetz bei 540 nm im Bereich von nahezu 0—300 mg-%

gelesenen Werte nicht den Sollwerten entsprechen oder wenn die Ableseskala anders geteilt ist (z. B. Zentimeter-Skala des Autenrieth-Colorimeters oder Extinktionsskala vieler Photometer), so zeichnet man sich auf ein Millimeterpapier ein Koordinatensystem auf, trägt auf die Ordinate die Apparatanzeige und auf die Abszisse die Konzentration der Standardlösungen ein, verbindet die Meß- und Ablesepunkte miteinander und erhält so drei Punkte, die wieder miteinander verbunden die Eichkurve ergeben (Abb. 34 a). Diese Eichkurve ist bei der Hämiglobincyanidmethode in den allermeisten Fällen eine Gerade. (Bei Apparaten, deren Skala in Absorptionsprozente eingeteilt ist, empfiehlt es sich, ein logarithmisch eingeteiltes Papier zur Erstellung der Eichkurve zu verwenden.) Man kann sich noch eine Doppelleiter zeichnen, indem die Teilung der Ordinate und der Abszisse auf die Eichkurve projiziert wird (Abb. 34 b); von dieser Doppelleiter kann dann nach jeder Messung das Ergebnis sofort abgelesen werden.

Die Eichkurve sollte in regelmäßigen Zeitabständen, am besten wöchentlich, kontrolliert werden; jedenfalls muß kontrolliert werden, wenn irgendetwas in der Methode verändert wird (neu angesetzte Reaktionslösung, neue Cuvette oder neues Lämpchen am Hämometer usw.).

Die Hämiglobincyanidmethode ist auch vom Deutschen Normenausschuß als Standardmethode empfohlen und im Normblatt DIN 58931/1—4 eingehend beschrieben worden.

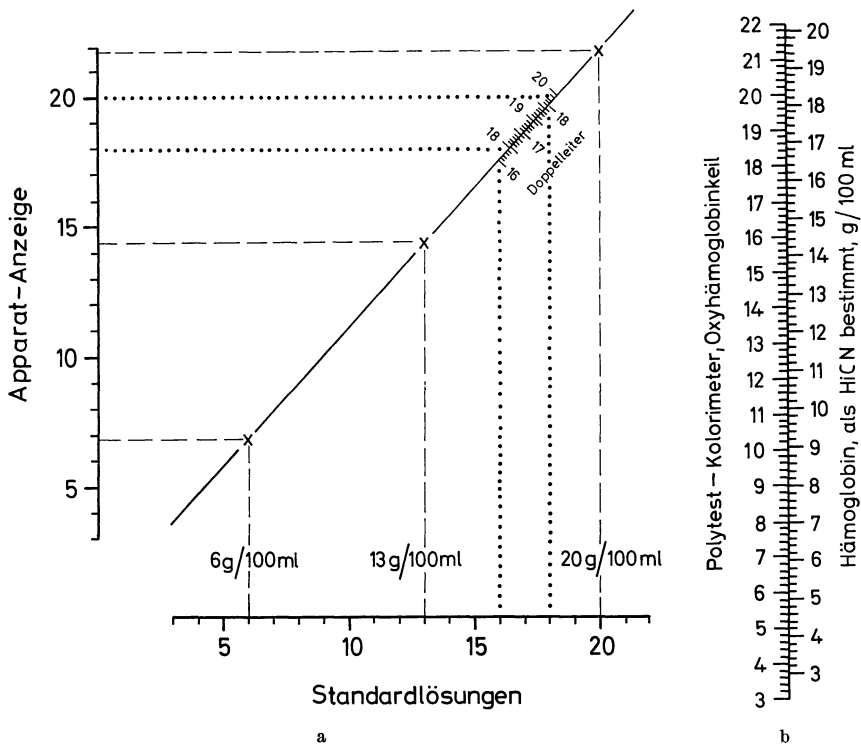


Abb. 34. a Beispiel einer Eichkurve für die Hämiglobincyanid-Methode. b Doppelleiter für den Oxy-Hämoglobinkeil des Polytest-Colorimeter (Zeiss Ikon) für die Hämoglobinbestimmung als Hämiglobincyanid

Oxyhämoglobinmethode

Wird das Blut in einer schwach alkalischen Lösung 1:100 oder stärker verdünnt, so erhalten wir eine klare rote Lösung und der Sauerstoffgehalt des Wassers reicht aus, um das vorhandene reduzierte Hämoglobin in Oxyhämoglobin überzuführen. Die Verdünnungslösung muß etwas alkalisch sein, da sonst leichte Trübungen (durch Erythrocytenstromata und Globine) entstehen. Meist wird eine 0,04%ige Ammoniaklösung verwendet (1 Liter destilliertes Wasser wird mit 1,6 ml konzentrierter Ammoniaklösung versetzt). Das Absorptionsspektrum des Oxyhämoglobins (Abb. 35) ist seit etwa 100 Jahren bekannt und vielfach untersucht worden. Zur photometrischen Messung wird meistens eines der beiden scharf bebrenzten Absorptionsmaxima bei 576 und 540 nm verwendet. Die Oxyhämoglobinmethode ist sehr verbreitet. Sie ist einfach und es gibt viele einfache Colorimeter und Photometer für die Praxis, in denen das Oxyhämoglobin bestimmt werden kann. Auch für die gangbaren größeren Filterphotometer sind Oxyhämoglobin-Bestimmungsmethoden ausgearbeitet (Arbeitsvorschriften werden mit den Geräten geliefert). Das Maximum bei 540 nm (gelbgrün) eignet sich auch gut für die visuelle Photometrie. Man kann schon einige Sekunden nachdem die Verdünnung angesetzt wurde photometrieren und die Lösung ändert ihre Farbe viele Stunden lang nicht. Das Kohlenoxyhämoglobin hat bei 540 nm fast genau die gleiche Extinktion wie das Oxyhämoglobin, so daß es ohne wesentlichen Faktor mitbestimmt wird. Ein Nachteil der Methode ist, daß das Hämoglobin bei 540 nm eine wesentlich geringere Extinktion aufweist als das Oxyhämoglobin, was beim Vorhandensein von Hämoglobin im Blut zu Fehlbestimmungen führt. Dazu

kommt noch der Umstand, daß auch Oxyhämoglobin in Anwesenheit von Kupferspuren zu Hämiglobin weiteroxydiert wird, so daß die benutzte Lösung und die Geräte streng kupferfrei sein müssen. Ein weiterer Nachteil ist der, daß die Methode bei Benutzung einfacherer Geräte nur schwer kontrolliert werden kann. Auch über den genauen Wert des Extinktionskoeffizienten bei 540 nm herrscht noch eine gewisse Unklarheit (REMMER, 1956). Alle diese Gründe haben dazu

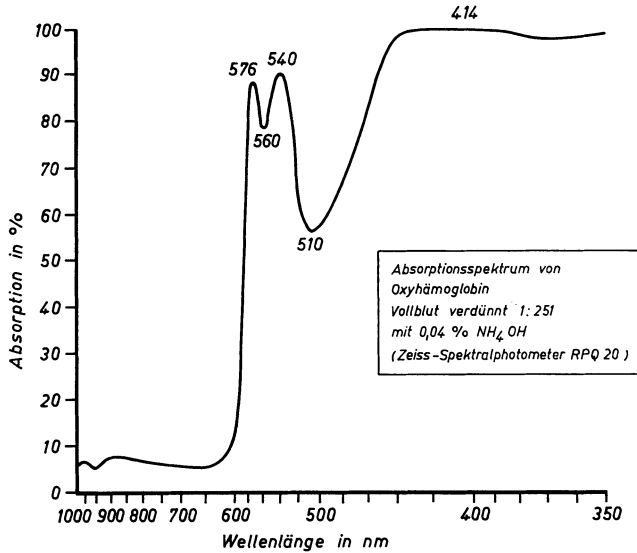


Abb. 35. Absorptionsspektrum des Oxy-Hämoglobins

geführt, daß die Oxyhämoglobinmethode, die lange Zeit die deutsche Standardmethode war, zur Zeit immermehr zugunsten der beschriebenen Cyanhämglobinmethode verlassen wird. Die gebräuchlichste Oxyhämoglobin-Bestimmungsmethode stammt von HEILMEYER und SUNDERMANN (HEILMEYER, SUNDERMAN, 1936).

Reduziertes Hämoglobin

Gibt man zum wie bei der Oxyhämoglobinbestimmung mit 0,04%iger Ammoniaklösung verdünnten und hämolysierten Blut einige Körnchen Dithionit (Natrium-Hydrosulfit: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), so erfolgt ein Farbumschlag ins bläulich-rote. Oxyhämoglobin und auch Hämiglobin werden in reduziertes Hämoglobin übergeführt (s. Abb. 28). Das reduzierte Hämoglobin hat ein steiles, scharf begrenztes Absorptionsmaximum bei 556 nm (Abb. 36), welches sich zur Messung mit visuellen Filterphotometern gut eignet. Die Dithionitmethode wurde von BÜRKER eingeführt, von HEILMEYER und von MUTIUS (1938) u. a. den praktischen Bedürfnissen entsprechend modifiziert. Nach erfolgtem Farbumschlag muß gleich photometriert werden, da bald Trübungen auftreten.

Ein großer Vorteil dieser Methode gegenüber der Oxyhämoglobinmethode ist der, daß durch Zugabe des Dithionits auch das Hämiglobin (Methämoglobin) wieder reduziert, also mitbestimmt wird. Man muß also nicht darauf achten, daß streng kupferfreie Reagentien und Glasmaterial verwendet werden. Die Methode eignet sich sehr gut für die tägliche Praxis, da die Hämoglobinbestimmung nach der Abnahme sofort (ohne jegliches Zuwarten) oder auch später nach mehreren Stunden durchgeführt werden kann. Ein großer Nachteil auch dieser Methode ist aber, daß es für kleine Laboratorien keine Eichmöglichkeiten gibt.

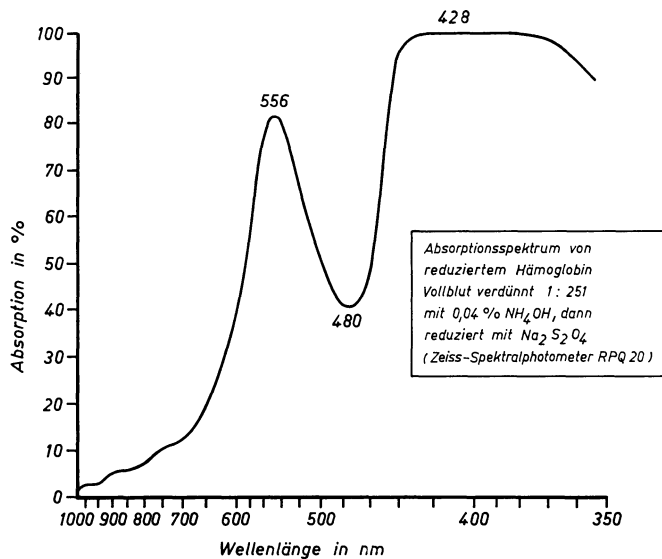


Abb. 36. Absorptionsspektrum des reduzierten Hämoglobins

Säurehämatin

Die Hämoglobinbestimmung über Salzsäurehämatin (richtiger: Hämin-Cl) wurde von SAHLI noch im vorigen Jahrhundert (1899) eingeführt und fand eine sehr weite Verbreitung. Das „Sahli-Hämometer“ ist jedem Arzt bekannt und muß

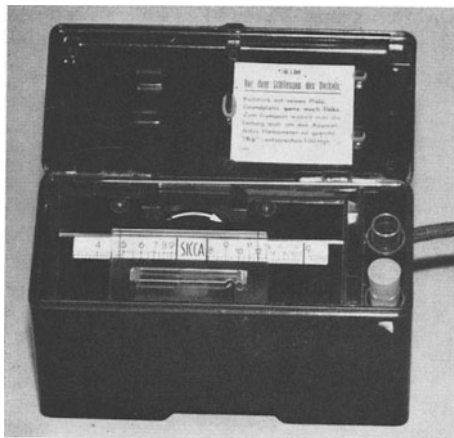


Abb. 37. Das „Sicca“-Hämometer für unverdünntes Blut, welches in reduziertes Hämoglobin überführt wird

nicht näher beschrieben werden. Es ist aber leider nicht genügend bekannt, wie außerordentlich unzuverlässig die mit dem Sahli-Hämometer bestimmten Werte sind. Als erstes soll auf Tabelle 5 verwiesen werden. Bei der Zusammenstellung dieser Tabelle wurde aus einer größten Menge Heparinblut mit verschiedenen Methoden jeweils zehn Bestimmungen durchgeführt, die Mittelwerte und die Standardabweichungen berechnet. Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, ergaben sich bereits bei einer sorgfältig durchgeführten Zehnfachbestimmung einer einzigen Blutprobe durch einen Untersucher Abweichungen von 13,8—18,9 g-%. Die große

Tabelle 5. Aus einer größeren Menge Heparinblut wurde die Hämoglobinbestimmung mittels verschiedener Methoden jeweils zehnmals sorgfältig durchgeführt

	Methode						
	Säurehämatin		Oxyhämoglobin		Reduziertes Hämoglobin	Hämiglobincyanid	
	Ablesung						
	subjektiver Farbvergleich			Photoelektrische Anzeige			
	Instrument						
	Sahli-Hämometer	Zeiss-Hämometer	Hellige-Spektral-Hämometer	Hellige-Erymat	Leitz-Filter-photometer	Ljungberg-Hämometer	Zeiss-Spektral-photometer
	13,8	18,0	15,2	15,7	16,1	14,8	14,9
	15,5	17,0	16,6	14,7	16,9	14,8	14,7
	18,3	16,4	15,8	15,6	16,9	14,8	14,7
	15,8	16,6	17,0	15,0	16,1	15,0	14,8
	16,0	16,2	16,2	14,8	17,2	14,4	14,5
	16,2	15,8	16,5	15,3	16,4	14,8	15,2
	15,6	16,1	16,2	15,4	16,1	15,0	14,9
	18,0	17,8	17,0	15,2	16,1	15,3	15,1
	16,2	16,4	16,0	14,7	16,6	14,8	15,1
	18,8	16,0	16,0	15,8	16,6	14,8	14,8
Mittelwert	16,42	16,63	16,25	15,22	16,40	14,85	14,88
Variationskoeffizient	± 9,4 %	± 4,5 %	± 3,4 %	± 2,7 %	± 2,5 %	± 1,5 %	± 1,3 %

Streuung hat mehrere Ursachen: Erstens kann bei jeder Bestimmung nur eine einzige Ablesung vorgenommen werden, wenn der Eindruck der Farbgleichheit entsteht. Eine zweite sehr wesentliche Fehlerquelle ist der Zeitfaktor, da bekanntlich die Umwandlung des Hämoglobins in Salzsäurehämatin anfangs schnell, dann langsamer vor sich geht, ein echter Endwert aber nicht erreicht wird. Durch das tropfenweise Zusetzen von Salzsäure, das wiederholte Durchmischen und Ablesen kann aber ein exakter Zeitpunkt für das Ablesen niemals eingehalten werden. Wenn nicht, wie es bei unserer Tabelle der Fall war, das Blut eines einzelnen Patienten untersucht wird, so treten noch weitere Fehlerquellen in Erscheinung: Die Geschwindigkeit der Hämatinbildung ist keineswegs konstant, sondern hängt vom Proteingehalt und der Beschaffenheit des Plasmas sowie der Blutkörperchen ab (Eiweißfehler); dazu kommen noch der Bilirubinfehler und andere mehr. Endlich muß erwähnt werden, daß die Hämometer, wenn überhaupt, so meist nach der alten deutschen Vorschrift geeicht sind und auch dadurch um einige Prozent zu hohe Werte angeben. Wie die übereinstimmenden Befunde zahlreicher Untersucher ergeben (ALBERS, 1959; HELMEYER u. v. MUTIUS, 1938; MACFARLANE, KING, WOOTTON u. GILCHRIST, 1948; REMMER, 1960; usw.) findet man bei der Hämoglobinbestimmung mit dem Sahli-Hämometer Fehler bis $\pm 30\%$ und mehr.

Ein anderes weit verbreitetes Gerät, das zur Hämoglobinbestimmung immer noch sehr viel benutzt wird, ist das Hämometer der Firma Zeiss-Ikon. Es ist ein sehr handliches, kleines Gerät, bei dem mittels einer beigefertigten Mischpipette mit Salzsäure verdünntes Blut in eine Cuvette gefüllt wird. Genau nach 5 min wird visuell mit einem Farbkeil verglichen, wonach das Ergebnis in g-% abgelesen werden kann. LEGOVSKI und BOROVICZÉNY haben bei mehreren hundert Patienten Vergleichsuntersuchungen durchgeführt; bei der Abnahme aus der Fingerbeere wurde gleichzeitig Blut für die Bestimmung mit dem Zeiss-Hämometer und für eine Bestimmung als Cyanhämoglobin gewonnen. Nach genau 5 min wurde

erst der Hämoglobinwert im Zeiss-Hämometer bestimmt, dann später die Cyanhämoglobinbestimmung mit einem Spektralphotometer durchgeführt und das Ergebnis in ein Koordinatensystem eingetragen. Wie auf Abb. 38 ersichtlich, werden auch mit dem Zeiss-Hämometer im Durchschnitt zu hohe Werte abgelesen. Man sieht aber auch die enorme Streuung der von uns ermittelten Werte. Die Versuchsreihe, die auf Tabelle 4 wiedergegeben ist, zeigt, daß die Ablesegenauigkeit beim Zeiss-Hämometer wesentlich besser ist als beim Sahli-Hämometer. Dies erklärt sich aus der guten Konstruktion des Gerätes. Die enorme Streubreite der

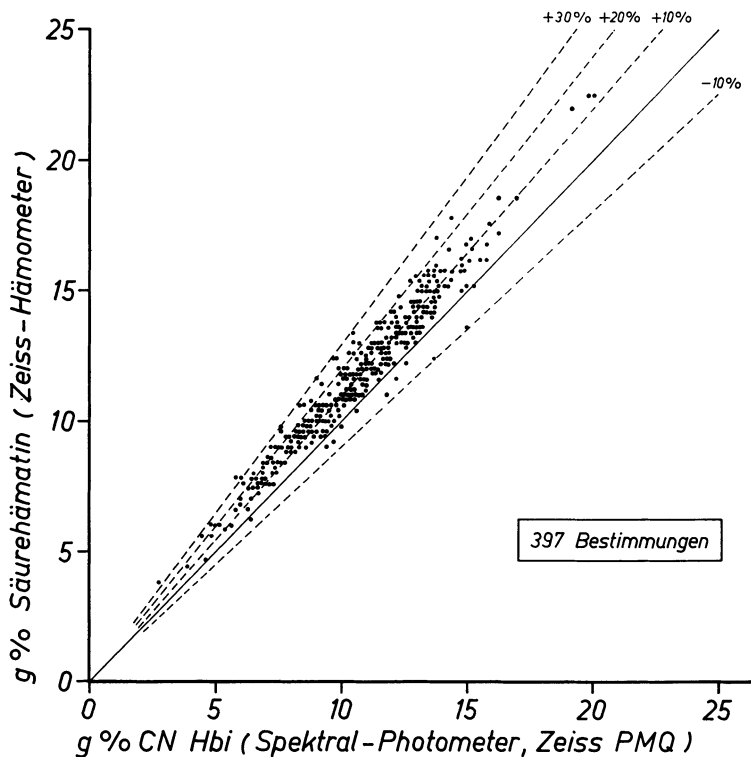


Abb. 38. Kontrolle eines alten Zeiss-Hämometers für die Säurehämatin-Methode

Befunde, die in Übereinstimmung mit anderen Untersuchern (MACFARLANE, KING, WOOTTON, GILCHRIST, 1948) gefunden wurde, ist durch die Insuffizienz der Salzsäure-Hämatin-Methode bedingt.

Die Salzsäure-Hämatin-Methode ist eine unzulängliche, veraltete Methode, vor der nicht genug gewarnt werden kann, da auch mit einem großen (und überflüssigen) technischen Aufwand keine verlässliche Hämoglobinbestimmung als Säurehämatin durchführbar ist. Aus diesem Grunde wird auch diese Methode in allen neueren deutschen wie internationalen Standardisierungsvorschriften ausdrücklich abgelehnt.

Hämoglobinskalen

Die von WELKER (1854) beschriebene und von TALLQVIST (1900) weiterentwickelte Methode ist die einfachste orientierende Hämoglobinbestimmung. Ein Blutropfen aus der Fingerbeere wird auf ein geeignetes Filterpapier gebracht und nachdem der Blutfleck seinen feuchten Glanz verloren hat, wird seine Farbe mit einer Farbskala verglichen. Die Farbskala besteht aus zehn kleinen Farbtäfelchen, die mit 10%, 20%, 30% . . . 100% bezeichnet sind. Die Ablesung soll nur bei

Tageslicht vorgenommen werden. Tallqvist-Skalen werden von verschiedenen Filterpapierfirmen auch heute noch hergestellt, sie sollen eine rasche Orientierung über den Hämoglobingehalt des Blutes am Krankenbett ermöglichen. Vorteile der Methode sind die außerordentliche Einfachheit und Schnelligkeit sowie der Umstand, daß der Untersucher genau weiß, daß nur Orientierungswerte ermittelt werden. Als nachteilig zu nennen ist, daß die Untersuchung nur bei ausreichendem Tageslicht vorgenommen werden kann, daß der Farbton der Farbtäfelchen in vielen Fällen vom Farbton des Blutfleckes abweicht, was die Ablesung sehr erschwert, endlich, daß die Prozentangaben der Tallqvist-Skalen verschiedener Firmen gar nicht miteinander übereinstimmen. WESTPHALEN und BOROVICZÉNY haben Untersuchungen mit Tallqvist-Skalen der Firmen: Clay Adams, Down-Mayer-Phelps, Ederol, Glaxo und Selecta angestellt. Sie fanden, daß die 100%-Werte der einzelnen Skalen sehr verschieden waren und tatsächlich Hb-Werten von etwa 15—25 g-% entsprachen! Übereinstimmend mit anderen bekamen sie die besten Resultate mit der alten Originalskala, die noch TALLQVIST selbst herausgegeben hatte.

Die Tallqvist-Skala ist ein sehr einfaches Colorimeter. Bei der Colorimetrie wird ein visueller Farbvergleich vorgenommen. Optimale Ergebnisse lassen sich bei der Colorimetrie nur dann erzielen, wenn unter anderem die zu untersuchende Farbe und die Vergleichsfarbe die gleiche spektrale Zusammensetzung haben. Dies ist nun bei der Tallqvist-Skala keineswegs der Fall und die Eigenschaften der Vergleichsfarbe wechseln noch dazu von Auflage zu Auflage, von Druckerei zu Druckerei beträchtlich. Deshalb kann auch die Tallqvist-Skala bei Lampenlicht überhaupt nicht verwendet werden, was ein großer Nachteil ist.

Bei der Photometrie wird die Farbintensität in bestimmten Teilen des Spektrums mit einer veränderlichen Lichtschwächungseinrichtung gemessen. Während bei der Colorimetrie die Vergleichsfarbe aus demselben Stoff wie die zu untersuchende Farbe bestehen sollte, kommt es bei der Photometrie nur auf die Lichtschwächung an, so daß auch ein fremder Stoff unter Einschaltung eines Spektralfilters als Vergleich dienen kann. Da der Blutfarbstoff seine Farbe schon beim Eintrocknen verändert, mußte die Vergleichsfarbe bei der Tallqvist-Skala immer aus fremden Pigmenten hergestellt werden — der Erfolg war einmal besser, manchmal schlechter, konnte aber niemals einwandfrei sein. Es liegt auf der Hand, daß eine wesentliche Verbesserung der Tallqvist-Skala nicht möglich ist, es sei denn, es gelingt, eine ebenso einfache photometrische Methode auszuarbeiten.

Die Hämoglobinskala nach BOROVICZÉNY der Firma Schleicher & Schüll ist ein sehr einfaches Photometer. Mit einer grünen Acetatfolie wird die Farbintensität des Hämoglobin im Bereich seines Absorptionsmaximums bestimmt. Als Lichtschwächungseinrichtung dient ein stufenloser, gedruckter Graukeil.

Die Skala besteht aus einem 95×175 mm großen Heftchen, welches eine kurze Gebrauchsanweisung (englisch, französisch, deutsch), den Graukeil mit Grünfilter und 120 Filterpapierstückchen zur Hämoglobinbestimmung enthält. Nach Hautdesinfektion wird die Fingerkuppe des Patienten — oder das Ohrläppchen, oder beim Säugling die Ferse — wie üblich mit einer Lanzette angestochen, der erste spontan austretende Blutstropfen wird abgewischt, der nächste kann zur Bestimmung verwendet werden. Man reißt ein Stückchen Filterpapier aus dem Heft und durchtränkt es mit dem frisch hervorquellenden Capillarblut. Nach 1—2 sec, wenn der Blutfleck seinen feuchten Glanz verloren hat, soll er durch das Grünfilter mit dem Graukeil verglichen werden. Der Blutfleck wird hinter dem Schlitz, der im Graukeil eingeschnitten ist, auf- und abbewegt (Abb. 39), bis seine Tontiefe der des Graukeiles entspricht. Bei dieser

Gelegenheit sieht man erst, wie fein die Tonabstufung des Graukeiles gehalten ist, der dem oberflächlichen Betrachter erst allzu eintönig erscheint. Die richtige Einstellung bietet auch dem Ungeübten nach ein bis zwei Versuchen keine Schwierigkeit mehr.

Wenn man die richtige Einstellung gefunden hat, kann an den seitlichen Skalen der Hämoglobingehalt des Blutes in g-% (oder in mval) abgelesen werden. Zahlreiche Vergleichsmessungen mit der neuen Hämoglobinskala haben gezeigt, daß diese im Normalbereich und bei Anämien am genauesten ist. Der gewählte Ausschnitt des Graukeiles entspricht den Werten 3—16 g-% bzw. 2,0—10,0 mval (oder 20—100%). Der mittlere Fehler beträgt über die ganze Skala $\pm 14,6\%$, wenn man die seltenen Extremwerte unter 3,0 mval (5 g-%) wegläßt, sogar nur

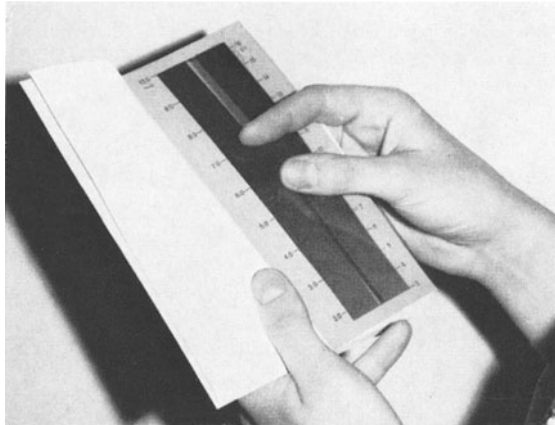


Abb. 39. Die Hämoglobin-Skala nach BOROVICZÉNY (Hersteller Fa. Schleicher & Schüll)

$\pm 10,9\%$. Dies ist für eine so einfache Methode ein gutes Ergebnis. Die neue Hämoglobinskala ist damit etwa so genau wie das alte Sahli-Hämometer. Da es sich aber um eine photometrische Bestimmung handelt und nicht um eine colorimetrische, kann die Bestimmung bei Tageslicht wie auch bei Lampenlicht durchgeführt werden, was einen weiteren wesentlichen Vorteil bedeutet.

Nichtcolorimetrische Methoden

Eisenbestimmung

Vor der Einführung der Hämiglobincyanidmethode als internationale Standardmethode wurde die Eisenbestimmung oft als Eichmethode verwendet. Infolge der Standardisierung hat sie ihre Bedeutung eingebüßt, unter anderem auch deshalb, weil sie wegen des im Erythrocyten oft vorhandenen „Nicht-hämoglobineisens“ zu hohe Werte ergibt.

Gasometrische Methoden

Das Hämoglobinmolekül dient dem Gasstoffwechsel. Es kann pro Atom Eisen 1 Molekül O_2 oder CO binden, d. h. 400,0 ml O_2 pro 1 g Eisen. Auf dieser Erkenntnis beruhen die zahlreichen gasanalytischen Hämoglobinbestimmungsmethoden. Die Methode von MEYER und andere alte Methoden sind nurmehr von historischem Interesse: heute wird die Methode von VAN SLYKE benützt, welche aber nur in geübten Händen exakte Ergebnisse liefert. Das vorhandene Hämoglobin wird mit Natriumhyposulfit reduziert, dann das gesamte Hämoglobin mit CO

gesättigt; anschließend wird das CO durch Kaliumferricyanid in saurem Milieu wieder freigesetzt und manometrisch gemessen.

Die gasanalytisch gewonnenen Hb-Werte liegen etwa 2—3% unter den mit der Eisenbestimmungsmethode gewonnenen.

Andere Methoden

Erwähnenswert sind noch die titrimetrischen Methoden, die genauer sind, aber das Hämoglobin nicht mit erfassen. Die quantitative Benzidinreaktion, die Bestimmung anhand der optischen Aktivität und die refraktometrische Hämoglobinbestimmung mittels der Bestimmung des spezifischen Gewichtes stammt von WELKER und HAMMERSCHLAG. Vor einigen Jahren haben PHILIPP, VAN SLYKE u. Mitarb. eine Methode auf dieser Basis ausgearbeitet. Es werden 30 Kupfersulfatlösungen benötigt, mit genau eingestelltem spezifischen Gewicht von 1,016—1,074. Wenn man einen Tropfen Plasma oder Blut in diese Lösungen fallen läßt, so bildet sich eine Kupferproteinatschicht, welche den Flüssigkeitsaustausch zwischen dem Tropfen und der Lösung für 10—20 sec verhindert. Man ermittelt jene Lösung, in der der Tropfen gerade schwebt; das spezifische Gewicht des Tropfens ist dann mit dem der Lösung gleich. Es muß erst das spezifische Gewicht des Plasmas (oder Serums) und dann des Vollblutes bestimmt werden, wonach auf einem Nomogramm der Hämoglobingehalt des Blutes abgelesen werden kann. Diese Methode ist viel umständlicher als die photometrische Oxy-Hb- oder Cyanhämoglobinbestimmung und ihre Ergebnisse sind ungenauer.

Hämoglobinderivate

Auf die Bestimmung der Hämoglobinderivate kann hier nur kurz eingegangen werden. Bezüglich der einzelnen Arbeitsmethoden, deren Vor- und Nachteile sowie die sehr ausführliche Literatur, wird auf die Monographie von SCHWERD (1962) verwiesen.

Vor allem muß an dieser Stelle kurz der forensische Hämoglobinnachweis Erwähnung finden: Als Vorprobe nimmt man die recht unspezifische, aber sehr empfindliche Benzidinreaktion. Eine andere Vorprobe ist die sog. Leuchtprobe, bei der das frisch hergestellte Reagens (0,1 Teil o-Aminophthalsäurehydrazid, 5 Teile Natriumcarbonat und 15 Teile Wasserstoffsperoxyd auf 100 Teile Wasser) versprüht wird und mit Blutfarbstoff eine violette Chemilumineszenz ergibt und gleichzeitig eine mittels Lupe feststellbare Bläschenbildung durch Wasserstoffsperoxyd. Als beweisend wird der Nachweis der Teichmannschen Kristalle sowie des typischen Spektrums angesehen.

Hämoglobin-Nachweis

Das Hämoglobin kommt auch physiologischerweise vor. Die Normalwerte liegen unter 1%. Bei Vergiftungen steigt der Hämoglobinwert an und wird am einfachsten mit dem Spektroskop bzw. quantitativ mit der Zweiwellenlängenmethode nach HÜFNER und HELMEYER nachgewiesen. Dabei wird einfach die Extinktion bei zwei Wellenlängen gemessen, ein Quotient gebildet und das Ergebnis aus der in Abb. 40a wiedergegebenen Eichkurve abgelesen.

Kohlenoxydhämoglobin-Nachweis

Auch das CO-Hämoglobin kommt normalerweise im Blut vor. Bei Nichtrauchern beträgt der Gehalt an CO-Hämoglobin meistens weniger als 2%, bei Rauchern 2—4%. Noch höhere Werte (bis zu 10% und mehr) wurden bei Kraftfahrern gefunden. Es erscheint daher wünschenswert, den bei Unfällen üblichen

Blutalkoholnachweis durch die Bestimmung des Kohlenoxydhämoglobinwertes zu ergänzen. Bei Kohlenoxydhämoglobinwerten von 20—60% treten leichtere bis sehr schwere Vergiftungserscheinungen auf, während die Tödlichkeitsgrenze bei etwa 65% liegt.

Ähnlich wie beim Hämoglobinnachweis wird auch der Kohlenoxydhämoglobinnachweis qualitativ mit dem Spektroskop, quantitativ mit der Zweiwellenlängenmethode durchgeführt (s. Abb. 40 b).

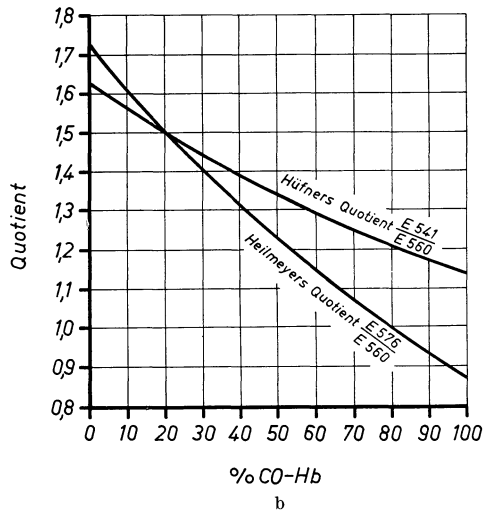
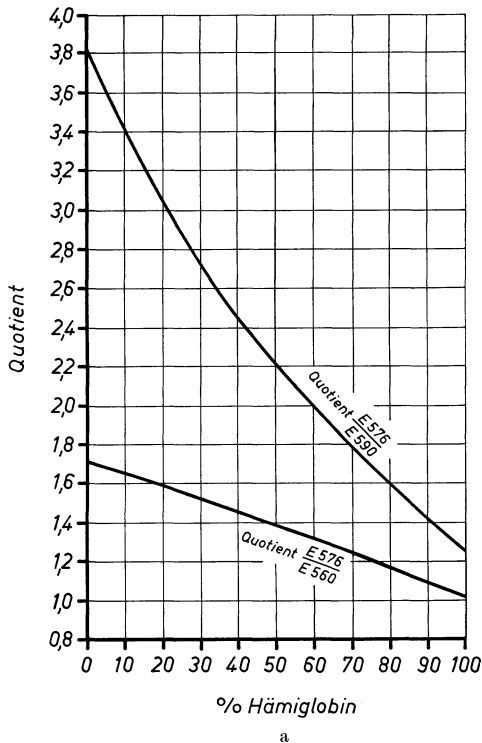


Abb. 40. a Quotienten zur Bestimmung von Hämoglobin (Methämoglobin) im Blut. b Quotienten zur Bestimmung des CO-Hämoglobins im Blut (HEILMEYER, 1933)

Verdoglobin-Nachweis

Die Verdoglobine (und Verdiglobine) sind grüne Hämoglobinderivate mit nativer Eiweißkomponente, bei denen am Farbstoffanteil eine Oxydation des Tetrapyrrolrings (nicht des Eisens wie beim Hämoglobin!) stattgefunden hat. Normalerweise findet sich im Blut ein Verdoglobingehalt von 0,4%. Bei verschiedenen, vor allem chronischen Vergiftungen finden sich wesentlich höhere Konzentrationen. Besonders häufig wird es bei lang dauerndem Arzneimittelgebrauch (z. B. Phenacetin) beobachtet. Auch bei gleichzeitiger Verabreichung von Sulfonamiden und anderer schwefelhaltiger Mittel sowie bei Darmstörungen kann eine Verdoglobinvergiftung auftreten. Das Verdoglobin wird spektroskopisch (vor und nach Zufügung verschiedener Reagentien) nachgewiesen.

Hämatin

Das Hämatin ist, wie bereits erwähnt, ein Spaltprodukt des Blutfarbstoffes (s. Abb. 28). Im strömenden Blut tritt Hämatin nur nach einer Hämolyse auf, wenn auch eine Nierenschädigung vorliegt. Zum hämatologischen Nachweis eignet sich eine von SCHWERTD ausgearbeitete und an der erwähnten Stelle (SCHWERTD, 1962) beschriebene colorimetrische Methode.

Normalwerte

Betreffend der Normalwerte sei auch hier auf das bei den Erythrocyten Gesagte (s. S. 433) verwiesen. GREENDYKE u. Mitarb. (1962) fanden bei 950 ge-

sunden amerikanischen Soldaten 14,9 (13,0—17,0) g/100 ml Hämoglobin, KAVAKITA bei 575 japanischen Soldaten 16,8 (14,6—19,2) g-%, BOROVICZÉNY und CORDES bei 1296 *kranken* Menschen, bei Männern 12,2 (6,6—20,6) g/100 ml, bei Frauen 11,0 (5,5—18,7) g/100 ml (s. auch Abb. 41).

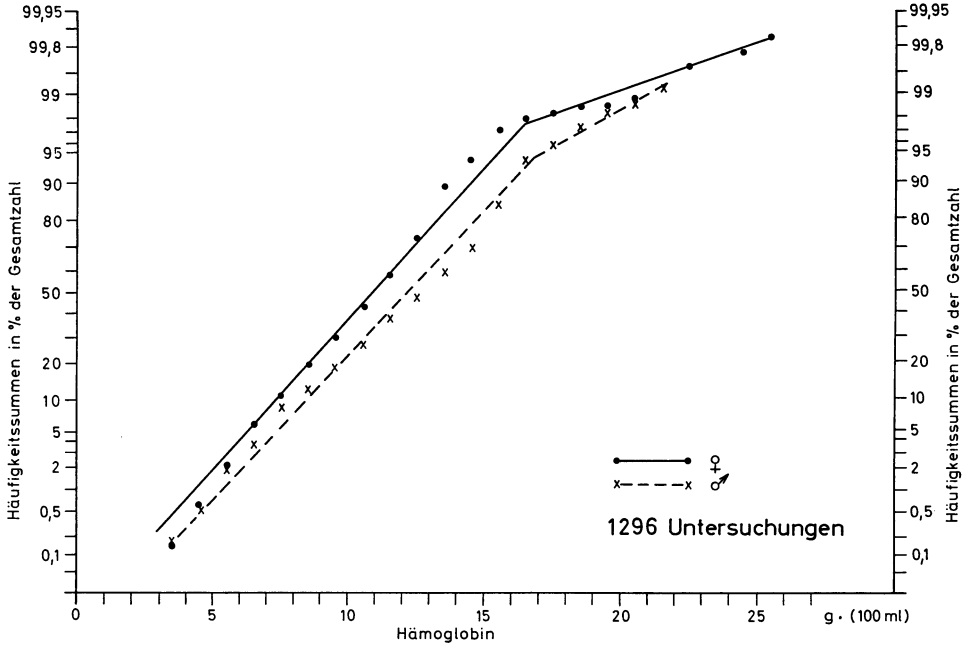


Abb. 41. Die Verteilung von Hämoglobinwerten bei kranken Menschen

Zellpackungsvolumen

Allgemeines

Das Zellpackungsvolumen (englisch „PCV“ = Packed Cell Volume) ist das Maß für die Relation zwischen dem Erythrocyten- und dem Plasmavolumen. Die gebräuchlichste Methode ist die Zentrifugen-„Hämatokrit-Methode“, prinzipiell verschieden davon ist die chemische sowie die elektrische Methode.

Chemische Methode

Wenn man defibriniertes Blut mit physiologischer NaCl-Lösung mischt und dann in der Mischung die Blutkörperchen sich absetzen läßt, so wird der Prozentgehalt der überstehenden Flüssigkeit an Stickstoff bzw. an Eiweiß von der Menge der gesetzten Verdünnungsflüssigkeit abhängig sein. Bezeichnet man die zur Mischung benutzte Blutmenge mit b , das zugesetzte Volumen der NaCl-Lösung mit s , den prozentualen Plasmaanteil am Blutvolumen mit x , so beträgt die Menge der verdünnten Plasmaflüssigkeit $b \cdot x + s$. Verwendet man ein bestimmtes Volumen der Salzlösung-Plasmamischung zur Analyse, so ist dieses Volumen mit $\frac{bx}{bx+s}$ zu multiplizieren, um das darin enthaltene Plasmavolumen zu ermitteln. In n ml der Mischung sind also $n \cdot \frac{bx}{bx+s}$ ml Plasma enthalten. In dieser Plasmamenge wird nun der Eiweißgehalt nach der Kjeldahl-Methode bestimmt. Er betrage e g, dann gilt die Gleichung $n \cdot \frac{bx}{bx+s} = e$; werden nun zwei Salzlösungs-Plasmamischungen mit verschiedenem Mischungsverhältnis (am besten 1:1 und

1:2) hergestellt, so erhält man folgende zwei Gleichungen, worin mit 1 die Werte der ersten, mit dem Index 2 die Werte der zweiten Mischung bezeichnet sind:

$$1. \quad n \cdot \frac{b_1 \cdot x}{b_1 x + s_1} = e_1; \quad n = \frac{b_1 x + s_1}{b_1 \cdot x} \cdot e_1;$$

$$2. \quad n \cdot \frac{b_2 x + s_2}{b_2 \cdot x} = e_2; \quad n = \frac{b_2 x + s_2}{b_2 \cdot x} \cdot e_2;$$

woraus folgt: $e_1 \frac{b_1 x + s_1}{b_1} = e_2 \frac{b_2 x + s_2}{b_2}$; oder $x \cdot (e_1 - e_2) = e_2 \frac{b_2}{s_2} - e_1 \frac{b_1}{s_1}$.

Mit Hilfe dieser Gleichungen kann man aus dem Ergebnis der Eiweißbestimmung je zweier Mischungen das Plasmavolumen x und damit auch das ErythrocytENVolumen berechnen. Macht man statt zwei drei Mischungen, so hat man eine exakte Kontrolle, da man einmal x sowohl aus Mischung 1 und 2 als auch aus Mischung 2 und 3 sowie aus 1 und 3 berechnen kann.

Ferner kann man noch das unvermischte Serum mit zur Bestimmung heranziehen. In diesem Falle ist $s=0$ und die Gleichung vereinfacht sich wie folgt:

$$(e_0 - e_1) \cdot x = e_1 \cdot \frac{s_1}{b_1}, \text{ worin } e_0 \text{ den Eiweißgehalt des unvermischten Serums bedeutet.}$$

Die Methode ist natürlich unvergleichlich aufwendiger als die Hämatokritmethode und deshalb auch längst verlassen worden. Wir finden es aber wichtig, hier nochmals darauf zurückzukommen, da man damit die Hämatokritmethode in objektiver Weise überprüfen kann. Die Methode der Gebrüder BLEIBTREV ist vielfach modifiziert worden, indem anstelle der Eiweißbestimmung nach KJELDAHL viscosimetrische, refraktometrische und andere Methoden verwendet worden sind. Heute würde man wohl eher eine photometrische Eiweißbestimmung im UV-Bereich anwenden.

Elektrische Methode

Die um die Jahrhundertwende vielfach verwendete Methode der Bestimmung des Hämatokritwertes durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Vollblutes ist jahrzehntelang nicht mehr angewendet worden, bis sie in den fünfziger Jahren wieder aufgegriffen wurde. In der letzten Zeit sind dann Geräte auf den Markt gekommen, mit denen man den Hämatokritwert auf eine sehr einfache Weise bestimmen kann. AVENARIUS und BOROVICZÉNY untersuchten das Gerät „YSI Model 30“ der Firma Yellow Springs Instrument & Co., Ohio (Abb. 42).

Die Bedienung des Gerätes ist sehr einfach. Eine Spezialcapillare mit elektrischen Kontaktstellen, die sich sehr leicht mit Blut füllen läßt, wird mit Blut gefüllt, auf den Apparat gesteckt. Man drückt auf einen Knopf und nach 15 sec kann der Hämatokritwert auf der Skala direkt abgelesen werden. Es ist lediglich darauf zu achten, daß beim Füllen der Capillare keine Luftblasen in diese eintreten, da das Ergebnis sonst stark verfälscht wird. AVENARIUS und BOROVICZÉNY haben in verschiedenen Untersuchungsreihen die Geräteanzeige mit der üblichen Hämatokritmethode (hochtourige Zentrifuge, zugeschmolzene heparinisierte Capillaren) verglichen. Die Ergebnisse sind in Abb. 43 zusammengestellt. Die Übereinstimmung besonders der zweiten und dritten Untersuchungsreihe mit dem Hämatokrit sind sehr gut.

Anders verhält es sich natürlich, wenn das Serumeiweiß pathologisch verändert ist. Es finden sich dann zum Teil grobe Abweichungen von der Hämatokritmethode (vereinzelt Fehler in der Größenordnung ± 20 —30%). Aus diesem Grunde und auch aus preislichen Gründen (das Gerät ist mehr als doppelt so teuer wie eine Hämatokritzentrifuge) dürfte bei der Routinearbeit die Hämatokritmethode immer

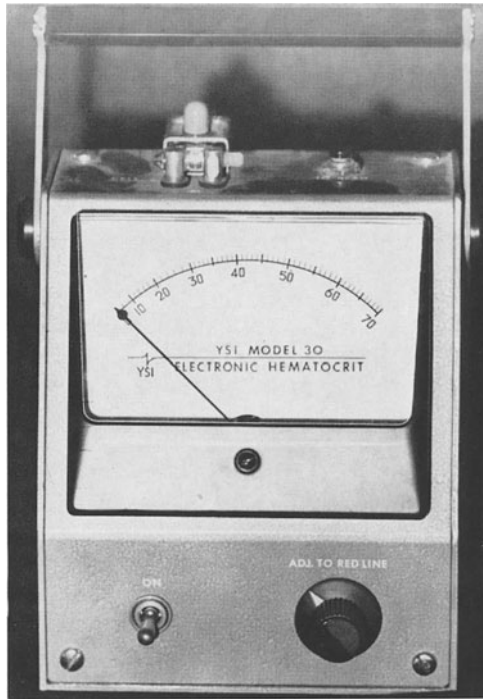


Abb. 42. Das Gerät der Fa. „Yellow Spring Instruments“ zur Bestimmung des Zellpackungsvolumens mittels elektrischer Widerstandsmessung

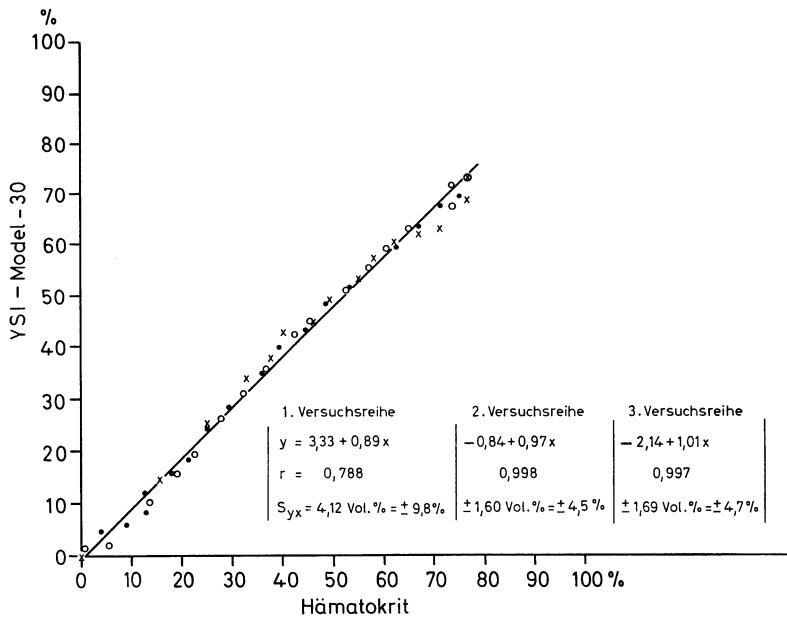


Abb. 43. Vergleichsuntersuchungen mit dem YSI-Model 30 und der Hämatokrit-Methode

vorzuziehen sein. In besonderen Fällen, bei denen es besonders auf Beweglichkeit oder Geschwindigkeit ankommt, also bei Expeditionen, in Unfallwagen oder auch im Operationssaal ist die elektrische Methode aber durchaus empfehlenswert.

Eine weitere besondere Bedeutung erhielt die Messung der elektrischen Leitfähigkeit durch die neuerdings durch KLEINE (1963) mitgeteilten Befunde. KLEINE mißt den elektrischen Widerstand der Erythrocytensäule im Hämatokritröhrchen, um damit festzustellen, wie komplett die Packung der Erythrocyten ist.

Hämatokritmethode

Wie aus dem bisher Gesagten hervorgeht, wird für die Bestimmung des Zellpackungsvolumens heute allgemein die Hämatokritmethode vorgezogen. Die Untersuchung des Minimal sedimentes eines ungerinnbar gemachten Blutes nach 1—2 Tagen wird heute nicht mehr geübt. Eigentlich ist die Hämatokritmethode aber daraus hervorgegangen. Bei der einfachen Sedimentierung wirkt auf die Erythrocyten die Anziehungskraft der Erde (Erdbeschleunigung = g). In der Zentrifuge wird ein wesentlich größeres Schwerfeld erzeugt, dadurch sondern sich die Erythrocyten viel schneller vom Plasma ab. Ist das Schwerfeld genügend groß, so werden die Erythrocyten zusätzlich deformiert und immer enger aneinandergedrückt, bis sich praktisch kein Plasma mehr zwischen ihnen befindet. Wieweit dabei die haloartig an die Erythrocyten angelagerten Eiweißkörper abgedrückt werden, ist noch nicht genau bekannt.

Zur Bestimmung des Hämatokritwertes wird entweder Capillar- oder venöses Blut verwendet. Es ist wichtig darauf hinzuweisen, daß der Hämatokritwert von capillarem und venösem Blut verschieden ist. Wie HEILMEYER in seiner zitierten Arbeit nachgewiesen hat, ändert sich das Volumen des Einzelerthrocyten je nach dem pH-Wert der umgebenden Flüssigkeit in dem Sinne, daß bei niedrigem pH die Erythrocyten größer werden und zwar offensichtlich im Zusammenhang mit der CO_2 -Aufnahme des Hämoglobins. Dies erklärt den Unterschied zwischen dem venösen und capillaren Hämatokritwert und macht gleichzeitig deutlich, daß sich der pH-Wert des Blutes im Laufe der Bestimmung des Hämatokritwertes auf keinen Fall ändern darf. Bekanntlich wird das Blut zur Hämatokritbestimmung meistens mit einem Anticoagulans versetzt; Art und Konzentration dieses Mittels sind so zu wählen, daß der pH-Wert des Blutes unbeeinflusst bleibt. Oxalate, Citrate usw. lehnen wir daher ab und verwenden stattdessen Hämatokritröhrchen, die mit den geringsten Mengen Heparin präpariert sind. Bekanntlich sind zahlreiche verschiedene Röhrchen für die Hämatokritbestimmung empfohlen worden (Abb. 44). Es ist auch seit vielen Jahren bekannt (HEILMEYER, 1933), daß der innere Röhrchendurchmesser das Ergebnis beeinflusst: Die in einer Capillare bestimmten Hämatokritwerte sind niedriger als die in einem weiteren Röhrchen bestimmten. Der Grund dafür ist bis heute unbekannt. Es wurden verschiedene Theorien aufgestellt, bisher konnte aber keine bewiesen werden. Nach unseren Untersuchungen lassen sich die engeren Röhrchen besser verschließen und die Ablesegenauigkeit ist besser. Wir fanden sogar Unterschiede zwischen verschiedenen weiten Capillaren und erhielten die besten Ergebnisse mit solchen, die einen inneren Durchmesser von 0,6 mm aufwiesen. Wir empfehlen daher die Anwendung dieser Capillaren. Die Länge der Capillaren ist auch verschieden, die meisten Firmen bieten solche an, die 75 mm lang sind. Es wäre wohl empfehlenswert, dieses Maß allgemein zu verwenden. Ein wichtiger Umstand, dem bisher viel zu wenig Beachtung geschenkt wurde, ist die Gleichmäßigkeit der Capillaren. Es ist ganz klar, daß, wenn man für die Hämatokritbestimmung statt einer gleichmäßigen Röhre eine mit einem stark konischen Fehler verwendete, fehlerhafte Werte abgelesen werden. Das Material der Röhrchen ist heute ausschließlich Glas, man kann sich aber vorstellen, daß sich für diesen Zweck mit der Zeit geeignete Kunststoffe finden werden. Zwischen den heute verwendeten Glassorten bestehen

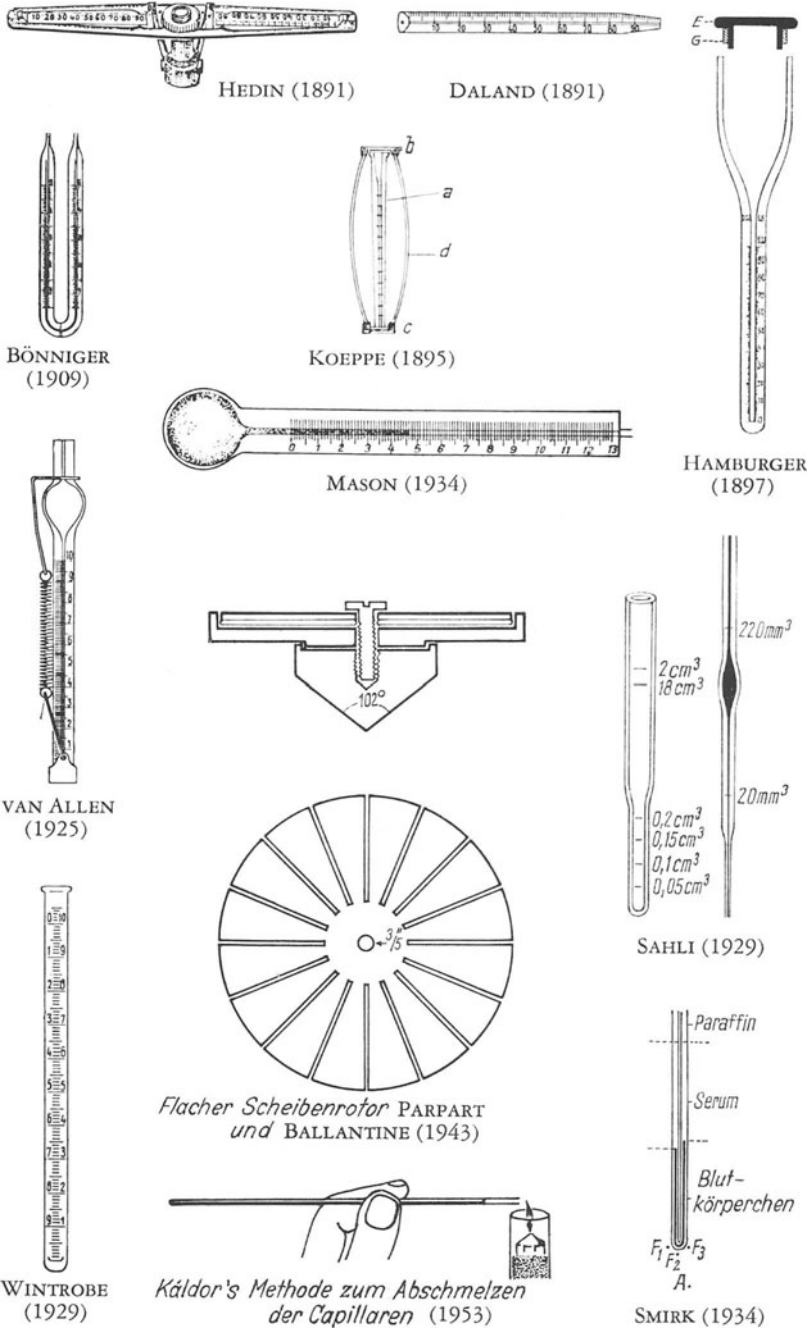


Abb. 44. Verschiedene Hämatokrit-Röhrchen

erhebliche Unterschiede betreffend der Abschmelzbarkeit. Vor dem Zentrifugieren muß ja mindestens das eine Ende der Röhrchen gut verschlossen werden. Man kann die Röhrchen zuschmelzen oder mit einer Kittmasse verstopfen. In ver-

einzelnen Fällen wurde aber festgestellt, daß Erythrocyten zwischen Kitt und Glaswand eindringen. Das Zuschmelzen der Röhrchen hat den Vorteil, daß die Röhrchen entweder völlig verschlossen sind und dann überhaupt keine Blutkörperchen austreten können, oder wenn nicht richtig zugeschmolzen ist, das gesamte Blut aus der Capillare geschleudert wird. Bei genauer Untersuchung findet man aber, daß sich keineswegs alle Glassorten so zuschmelzen lassen, daß ein flacher Boden entsteht, sondern daß das Ende des zugeschmolzenen Röhrchens bei einzelnen Glassorten eine kegelförmige Gestalt aufweist, was natürlich wieder zu Ablesefehlern führt. Die Hersteller von Hämatokritcapillaren sollten daher die Wahl der Glassorte auch nach diesen Gesichtspunkten vornehmen. Eine weitere Fehlerquelle beim Zuschmelzen tritt dann auf, wenn das durch die Flamme er-

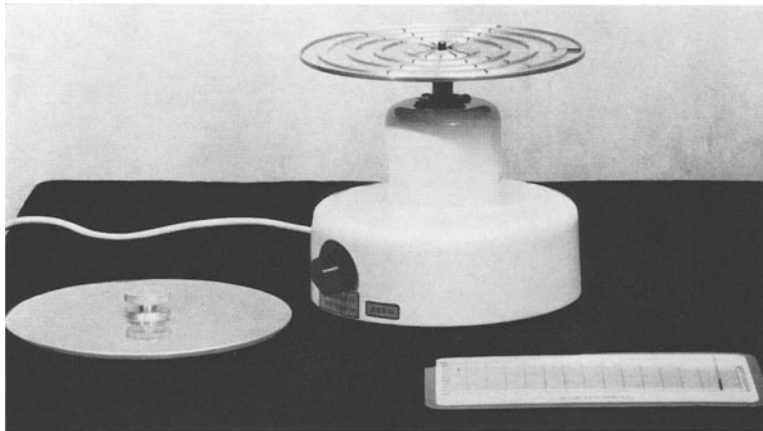


Abb. 45. Mikro-Hämatokrit-Zentrifuge

hitzte Ende der Capillare Plasmaspuren aufweist, die durch die Hitze coagulieren oder gar verkohlen. Man darf deshalb das Blut nur bis 1 cm von jenem Ende entfernt aufziehen, das zugeschmolzen werden soll. Zum Zuschmelzen verwendet man eine heiße spitze Flamme (am besten Mikrobunsenbrenner oder auch die Sparflamme eines normalen Bunsenbrenners). Trotz der dabei möglichen Fehler wird das Zuschmelzen der Röhrchen bevorzugt, da man auf diese Weise genauere Ergebnisse erhält (Variationskoeffizient $\pm 0,4$ bis $\pm 2,1\%$) als beim Verschließen mit Kitt (Variationskoeffizient $\pm 2,3\%$). Die Unterschiede sind allerdings so gering, daß sie nur bei wissenschaftlichen Untersuchungen ins Gewicht fallen, bei Routinearbeiten aber vernachlässigt werden können.

Das wichtigste Gerät bei der Hämatokritbestimmung ist natürlich die Zentrifuge (Abb. 45). Leider ist es seitens der Hersteller vielfach üblich, nur allgemeine Angaben über die Umdrehungszahl/min und nicht die exakten Werte der Zentrifugalbeschleunigung anzugeben. Bedauerlicherweise stimmen selbst bei neuen Zentrifugen nicht einmal die Angaben über die Umdrehungszahlen immer. Endlich muß bedacht werden, daß sich der Motor der Zentrifuge im Laufe der Zeit abnützt, wodurch die Zentrifuge langsamer wird. Es ist deshalb wichtig, daß die tatsächliche Umdrehungszahl kontrolliert und außerdem die Zentrifugalkraft in g ausgerechnet (Abb. 46) wird (WEYER, 1966).

Zu diesem Punkt möchten wir noch folgendes hervorheben: Wenn die Zentrifugalkraft in g ausgerechnet und angegeben wird, so bezieht man sie fast immer auf den Boden des Zentrifugenröhrchens. Dabei ist dieser Wert eigentlich gar nicht von Bedeutung. Bedeutsam ist vielmehr die Zentrifugalkraft, die von innen

auf die Erythrocytensäule drückt. Nun ist es aber so, daß die Erythrocytensäule bei einer Anämie ganz klein ist, bei einer Polycythämie hingegen groß. Wie weiter unten gezeigt wird, findet man auch bei Kranken mit verschiedenen Diagnosen in 98% der Fälle Hämatokritwerte, die kleiner als 60 Vol.-% sind. Aus praktischen Gründen kann man daher dies als Maximalwert ansetzen. Weiter oben wurde gesagt, daß man das Blut nur bis 1 cm vor dem Ende der Capillare auf-

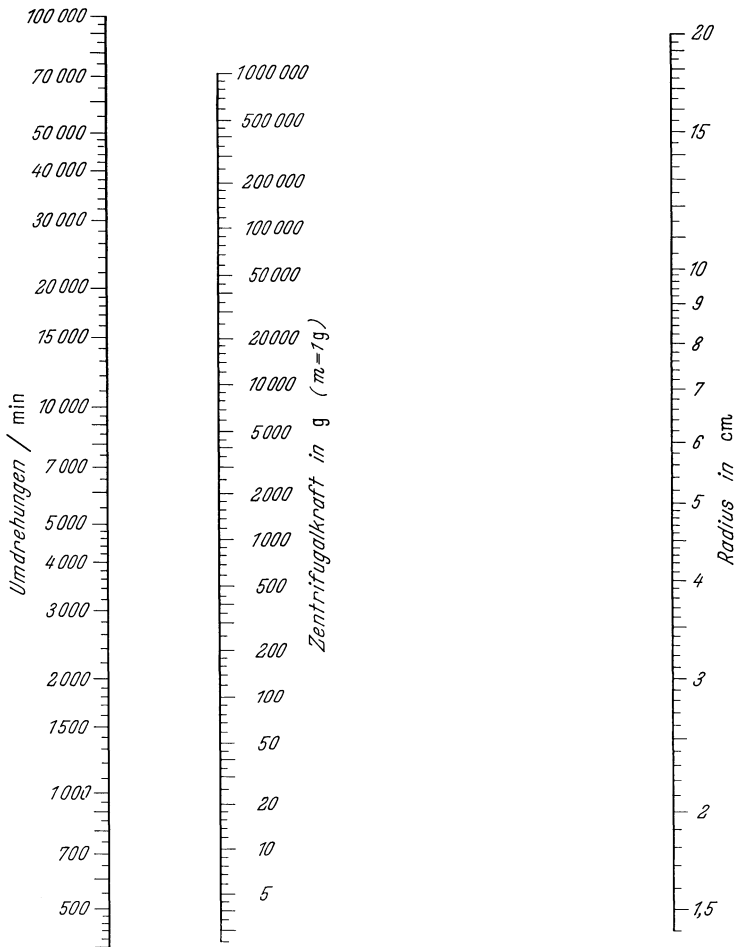


Abb. 46. Nomogramm zur Errechnung der Zentrifugalkraft

ziehen soll, das sind bei einer 75-Capillare 65 mm. 60% von 65 mm sind 39 mm, wenn man dazu für das abgeschmolzene Ende oder für die Kittmasse noch 2 mm nimmt, so kommt man auf 41 mm. Der Radius des Zentrifugentellers (von der Achsenmitte bis zum Auflagepunkt der Röhrechen gemessen minus 41 mm) ist also jener Punkt, der praktisch nicht unterschritten wird. Aufgrund seiner Untersuchungen ist BOROVICZÉNY der Meinung, daß man für diesen Punkt eine Zentrifugalkraft von mindestens 5000 g fordern sollte (Abb. 47).

Der so erreichbare Wert ist zwar, wie die Untersuchungen von KLEINE (1966) zeigen, noch keinesfalls der echte Endwert, dürfte aber für die praktischen Anforderungen ausreichen. In diesem Zusammenhang, aber auch im Zusammenhang mit der immer noch vereinzelt geäußerten Meinung, die Erythrocyten würden

beim hochtourigen Zentrifugieren leicht beschädigt, haben SCHLIMBACH und BOROVICZÉNY auch Versuche mit der Ultrazentrifuge durchgeführt und konnten dabei die früher von anderen Untersuchern erhobenen Befunde voll bestätigen. Sie haben zuerst 24 min bei rund 17000 *g* zentrifugiert und dann nochmals 24 min bei 200000 *g*. Am Ende des Versuches waren die Erythrocyten intakt, eine Hämolyse konnte nicht nachgewiesen werden.

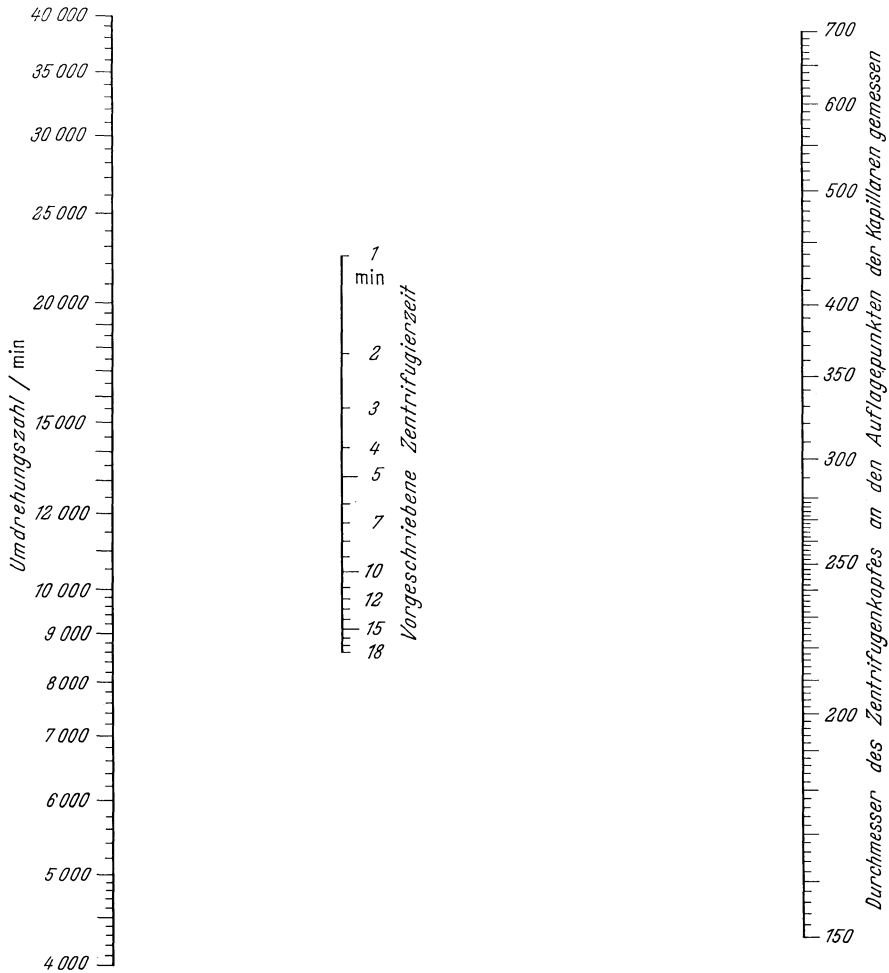


Abb. 47. Nomogramm zur Errechnung der Zentrifugierzeit beim Hämatokritverfahren

Bekanntlich muß man je nach der angewendeten Zentrifugalkraft verschieden lang zentrifugieren. Zu diesem Punkt sei noch gesagt, daß die Anlaufzeit, also die Zeit vom Anschalten der Zentrifuge bis die gewünschte Tourenzahl erreicht wird, und die Bremszeit mit 0,3 multipliziert werden müssen und die Zeit des vollen Laufes zugerechnet werden.

Nachdem zentrifugiert worden ist, sollte man das Ergebnis sofort ablesen. Ist dies nicht möglich, so soll man die Röhren aus der Zentrifuge nehmen, senkrecht aufstellen und allerspätestens innerhalb 1 Std ablesen.

Von der Industrie werden zahlreiche Ablesegeräte angeboten; vorzuziehen sind solche mit einer starken Lupe. Für Routinezwecke genügt es, das Ergebnis in ganzen Volumenprozenten anzugeben. Bei exakteren Untersuchungen ist aber das

Ablesen und Angeben einer Dezimalstelle durchaus vertretbar. Abgelesen wird am Ende der roten Säule. Die weißen Blutkörperchen und die Blutplättchen sind den roten Blutkörperchen aufgelagert und können gesondert abgelesen werden (Leukokrit bzw. Plättchenkrit). Das oberste Ende der Erythrocytensäule ist infolge der Enzymwirkung der Leukocyten oft fast schwarz verfärbt, was das Ablesen erleichtert. Die Bestimmung des Zellpackungsvolumens ist unter DIN 58933 genormt.

Normalwerte

Ausführliche Untersuchungen über die Normalwerte bei der Hämatokritbestimmung haben in letzter Zeit GREENDYKE u. Mitarb. (1962) mitgeteilt. Sie

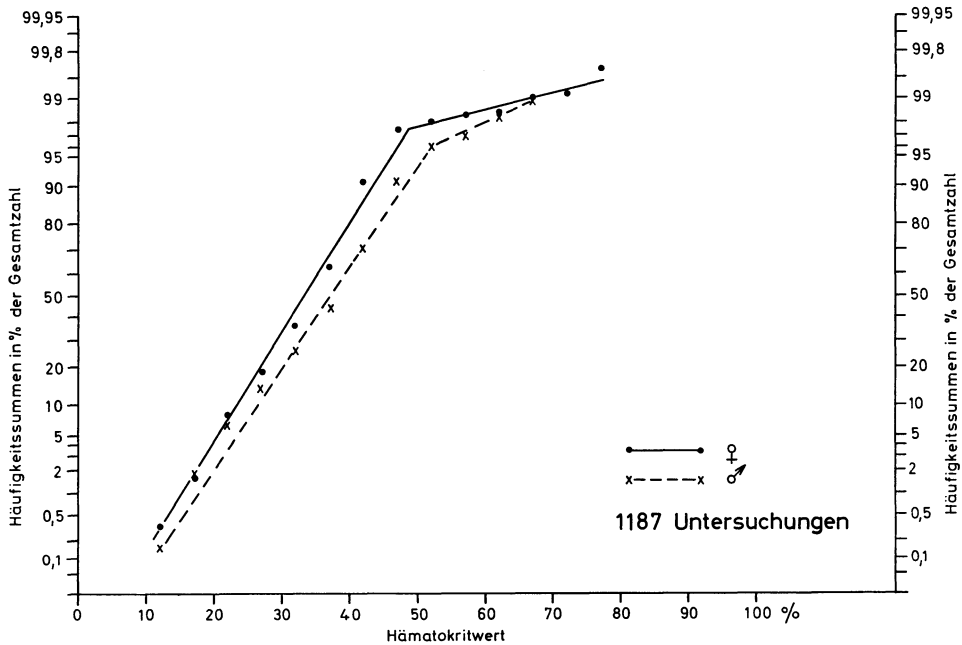


Abb. 48. Die Verteilung der Hämatokritwerte bei kranken Menschen

fanden bei 950 gesunden amerikanischen Soldaten einen Mittelwert von 46 Vol.-% mit einer Streubreite ($\pm 2\sigma$) 41—51 Vol.-%. HOSHINO (1965) fand bei 3000 Männern in Hiroshima $43,45 \pm 3,89$ Vol.-%, bei 5500 Frauen $38,06 \pm 3,32$ Vol.-%. COORDES und BOROVICZÉNY haben die Werte von nahezu 1200 Kranken untersucht und fanden (Abb. 48) bei Frauen 33 (18—49) Vol.-%, bei Männern 37 (21—54) Vol.-%. Die pathologischen Werte liegen also im Durchschnitt niedriger und zeigen eine wesentlich größere Streuung. Interessanterweise findet man aber auch hier, daß die Mehrzahl der Fälle im Wahrscheinlichkeitsnetz eine annähernde Normalverteilung zeigt, während bei den polycythämischen Werten ein deutlicher Knick entsteht.

Es wird heute noch immer wieder behauptet, daß man aus dem Hämatokritwert Rückschlüsse auf die Erythrocytenzahl oder auf den Hämoglobingehalt ziehen könne. Diese Auffassung ist völlig unhaltbar, wie dies aus den in Tabelle 6 aufgezeichneten Werten klar hervorgeht. Andererseits ist manchmal der Hämatokrit als Suchmethode angewendet worden in der Annahme, wenn der Hämatokritwert normal sei, seien auch die übrigen erythrocytometrischen Werte normal.

Tabelle 6

I-Zahl	Diagnose	Datum	Krit (Vol.-%)	Ery ($10^6 \cdot \mu\text{l}^{-1}$)	Hämoglobin (g [100 ml] $^{-1}$)
21 12 00 26	Hypertonie	6. 7. 62	35	4,29	11,1
24 10 21 43	Werlhof	20. 5. 64	35	2,39	11,9
12 02 01 98	Lymphadenose	13. 5. 63	35	3,25	7,4
19 05 32 60	Diabetes mellitus	29. 5. 62	35	3,81	15,6
02 03 06 80	Metastasen	10. 6. 64	35	3,84	12,2
08 12 00 95	Thrombocythämie	30. 3. 62	42	5,46	12,2
06 03 13 94	Pleuritis	24. 6. 63	39	3,42	12,2
16 07 08 92	Laennec-Cirrhose	20. 6. 63	27	3,48	13,2
29 05 01 56	Plasmocytom	13. 5. 63	32	3,40	9,5
18 05 15 23	Myelose	24. 6. 63	37	3,48	11,8
30 01 46 09	Intestinalblutung	25. 2. 63	29	3,42	9,8

Auch diese Anschauung ist unhaltbar. Wie aus den in Abb. 49 wiedergegebenen Befunden hervorgeht, findet man bei kranken Menschen auch bei normalen Hämatokritwerten in mindestens 40% der Fälle pathologische Befunde der anderen erythrocytometrischen Meßwerte.

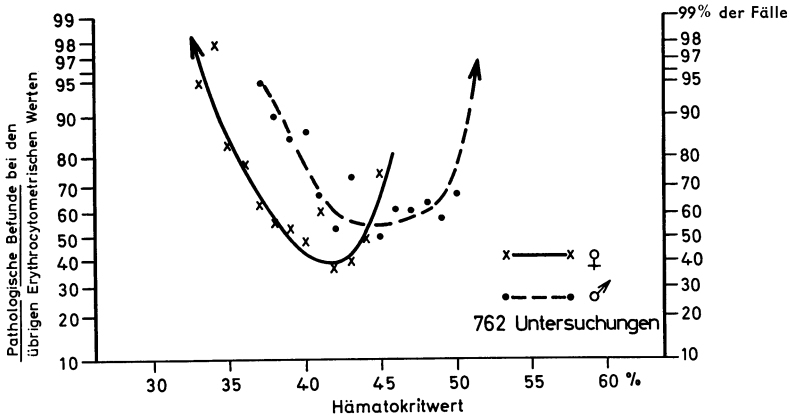


Abb. 49. Pathologische erythrocytometrische Befunde bei normalen Hämatokritwerten

Erythrocytendurchmesser

Den Erythrocytendurchmesser (englisch MCD = mean corpuscular diameter) kann man entweder im Mikroskop direkt messen oder man kann ihn halometrisch bestimmen.

Der Erythrocytendurchmesser kann feucht oder trocken gemessen werden. Feucht, d.h. im eigenen Serum suspendiert gemessen, erhalten wir den wahren Durchmesser, der etwa 7,7—8,5 μm beträgt. Beim Trocknen und eventuellen Fixieren des Ausstrichpräparates schrumpfen die Erythrocyten ungleichmäßig, deswegen sollte die feuchte Durchmesserbestimmung bevorzugt werden. Aus Bequemlichkeitsgründen wird dennoch der Durchmesser meist im trockenen, ja oft auch im fixierten und gefärbten Präparat bestimmt. Wird der Durchmesser im feuchten Präparat bestimmt, so ist noch darauf zu achten, daß nur in der Mitte des Präparates gemessen wird, da sonst Fehler auftreten.

Mikroskopische Messung

Der Durchmesser kann im feuchten oder trockenen Präparat mit Hilfe eines Ocularmikrometers direkt gemessen werden. Dazu muß das Ocularmikrometer erst einmal geeicht werden.

Zum Messen eignen sich am besten Mikroskope, die einen Tubus mit Auszug haben. Das Ocularmikrometer wird in das Ocular getan, ein Objektmikrometer (mit Einteilung in $\frac{1}{100}$ mm) wird mit dem Immersionsobjektiv eingestellt und dann der Tubus so weit herausgezogen, daß zehn Einteilungen des Ocularmikrometers einer Einteilung des Objektmikrometers entsprechen. Man vermerkt die Länge des Tubusauszuges und das Ocularmikrometer ist somit geeicht. Beim vermerkten Tubusauszug und bei Einschaltung desselben Immersionsobjektives und Oculares, wie es zur Eichung verwendet wurde, entspricht einer Einteilung des Ocularmikrometers genau $1 \mu\text{m}$. Man kann nun im Ausstrichpräparat (oder besser im feuchten Deckgläschenpräparat) die einzelnen Erythrocyten direkt messen, wobei der Durchmesser auf $\frac{1}{2} \mu\text{m}$ genau bestimmt werden kann. Es ist leicht verständlich, daß man unbewußt öfters zu ganzen als zu $0,5 \mu\text{m}$ -Werten auf- oder abrunden wird, wodurch dann auf der Price-Jones-Kurve (s. unten) bei den $\frac{1}{2} \mu\text{m}$ -Werten Einknickungen entstehen.

Genauere Messungen können mittels eines Ocularschraubenmikrometers durchgeführt werden. Im Gesichtsfeld dieses Spezialoculares ist eine feste Skala sichtbar, in welcher sich ein senkrecht zur Skala stehender Strich bewegen läßt. Dieser Strich kann durch eine seitlich angebrachte, drehbare Trommel bewegt werden und eine volle Umdrehung dieser Trommel bewirkt eine Verschiebung des Striches um ein Intervall der festen Skala. Die Trommel trägt an ihrem Umfang eine Skala mit 100 Teilstrichen. Das Ocularschraubenmikrometer wird am besten so geeicht (wie oben beschrieben), daß ein Intervall der festen Skala $0,01 \text{ mm}$ entspricht. Ein Skalenteil der Trommel wird dann $0,1 \mu$ entsprechen. Man kann auch photographisch oder durch Verwendung eines Projektionsaufsatzes ein stark vergrößertes Bild der Erythrocyten herstellen und dann dieses ausmessen.

Es sollen an mindestens 200 Erythrocyten jeweils der größte (D) und der kleinste (d) Durchmesser bestimmt werden, dann ermittelt man die mittleren Einzeldurchmesser $\frac{D+d}{2}$.

Der Fehler der Durchmesserbestimmung hängt weitgehend vom angewandten Verfahren ab. Wird der Durchmesser im trockenen Präparat gemessen, so nimmt man dadurch schon von vornherein einen Schrumpfungsfehler von 8—16% in Kauf. Wird mit einem einfachen Ocularmikrometer gemessen, so beträgt der Meßfehler mindestens $0,3\text{—}0,5 \mu\text{m}$, beim Ocularschraubenmikrometer $0,1\text{—}0,2 \mu\text{m}$.

Price-Jones-Kurve

Bei der mikroskopischen Messung des Erythrocytendurchmessers wird meistens nicht nur der Mittelwert errechnet, sondern die Werte werden auch in Gruppen von jeweils $0,5 \mu\text{m}$ Größenunterschiede eingeteilt und das Ergebnis in Form einer Erythrocytendurchmesserverteilungs-Kurve nach PRICE-JONES dargestellt (Abb. 50).

Dem Verlauf und der Form der Price-Jones-Kurve als differentialdiagnostischem Kriterium wird ein großer Wert beigemessen, der aber bei der heute allgemein üblichen Technik zumindest als fraglich bezeichnet werden muß (BOROVICZÉNY u. SAFFAR, 1962). Die Ausmessung einer Price-Jones-Kurve ist auch mit einem beträchtlichen Arbeitsaufwand verbunden. Man benötigt zum Messen von nur 200 Zellen mit Hilfe des Zeichenspiegels, des Ocularmikrometers, des Projektionsaufsatzes oder auf einer Mikrophotographie und zur Konstruktion der Kurve mindestens 1 Std, bei Verwendung des Ocularschraubenmikrometers sogar 2—3 Std. Dabei genügen 200 Zellen zu populationsanalytischen Studien keineswegs (BOCK u. JOMBRES, 1939; BOROVICZÉNY u. SAFFAR, 1962), es müssen viel-

mehr 1500—2000 Zellen gemessen werden, was einen heutzutage unvertretbaren Arbeitsaufwand bedeuten würde. Da vollautomatische Apparate zu diesem Zwecke einen zu großen materiellen Aufwand erfordern würden, führten BEHNKEN

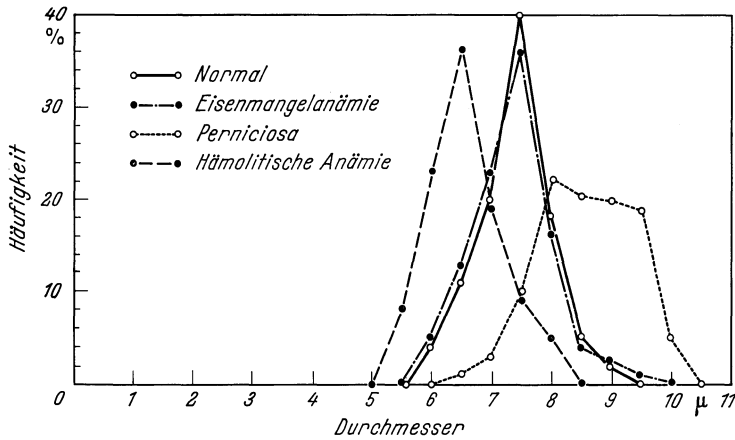


Abb. 50. Price-Jones-Kurve bei verschiedenen Krankheiten

und BOROVICZÉNY Versuche mit dem halbautomatischen „Teilchengrößenanalysator“ nach ENDTER durch (STÖBER; WITT u. ARNOLD, 1962) (Abb. 51).

Es müssen Mikrophotographien des zu untersuchenden Blutausstriches in etwa 800facher Vergrößerung angefertigt werden, am einfachsten mit Hilfe einer



Abb. 51. Der Teilchengrößen-Analysator der Fa. Zeiss

Polaroid-Aufsetzkamera. Das Bild wird auf den Tisch des Apparates gelegt, ein Leuchtfleck wird durch Drehung des auf der Abbildung gut sichtbaren Handrades der Größe des Erythrocyten angepaßt und ein Fußhebel betätigt, worauf der eingestellte Erythrocyt von einer Nadel durchstoßen (markiert) wird und das dem

eingestellten Durchmesser zugeordnete Zählwerk um eine Zahl weiterspringt. Der Apparat hat 48 Zählwerke und ein Summenzählwerk. Auf diese Art werden die

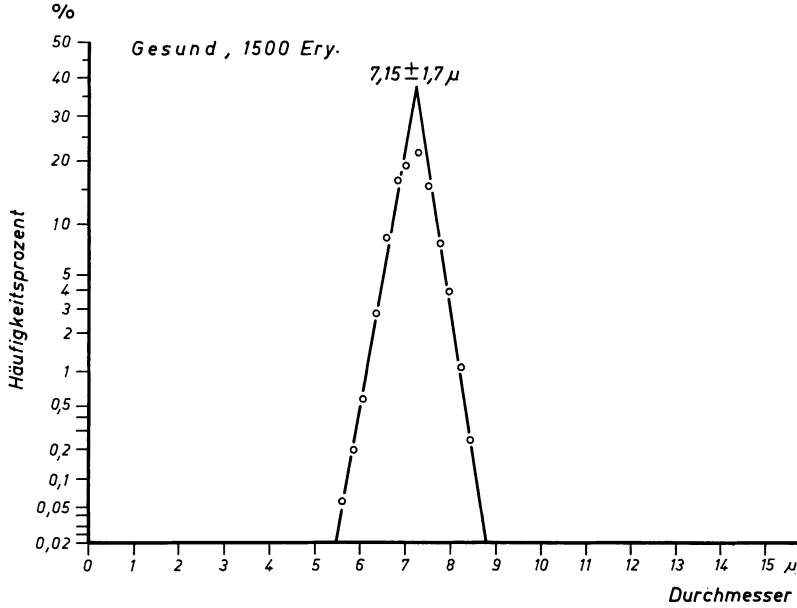


Abb. 52. Normale Price-Jones-Kurve am Häufigkeitspapier

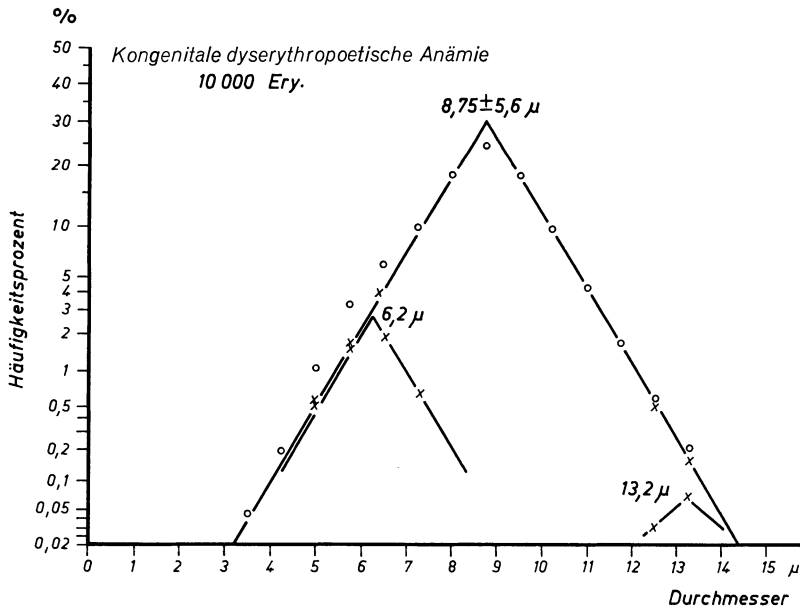


Abb. 53. Price-Jones-Kurve einer kongenitalen dyserythropoetischen Anämie ins Häufigkeitspapier eingetragen

Erythrocyten einer nach dem anderen ausgemessen; wenn man Übung hat, kann man in 1 Std mehr als 2000 Erythrocyten messen.

Das Meßergebnis wird, der Empfehlung von BUGYI (1957) und WUNDERLICH (1961) entsprechend, in das Häufigkeitsnetz eingetragen und mit Hilfe der Groß-

zählmethode von DAEVES und BECKEL (1958) analysiert. Auf diese Art erhält man symmetrische Kurven mit der annähernden Form eines Zweiges einer Hyperbel. BEHNKEN und BOROVICZÉNY haben die Asymptoten der Hyperbel eingezeichnet und verlängert, so daß sie einen Winkel bilden, dessen Scheitel den mittleren Durchmesser der Erythrocyten anzeigt, während die beiden Asymptoten auf der Abszisse jenen Bereich abgrenzen, innerhalb dessen 99,96% aller Erythrocyten des betreffenden Patienten fallen (Abb. 52). Wenn einzelne Meßpunkte außerhalb der Hyperbel liegen, so deutet dies eine Mischverteilung an, deren einzelne Populationen mit Hilfe der Großzahlmethode ohne besonderen rechnerischen Aufwand auf graphischem Wege leicht voneinander getrennt werden können (Abb. 53): Man subtrahiert vom Prozentwert des Meßpunktes (o) den Prozentwert des darunterliegenden Punktes der Asymptote (x) und erhält als Ergebnis den Prozentwert der Nebenpopulation im selben Größenbereich. Um eine reproduzierbare Populationsanalyse durchführen zu können, müssen 1500—2000 Erythrocyten gemessen werden.

Die Ordinate des verwendeten Häufigkeitspapiers (Selekta Nr. 299^{1/2}) ist nach dem Gaußschen Integral, die Abszisse numerisch geteilt. Wie GEBELEIN und HEITE (1950) nachgewiesen haben, sind in der Biologie Normalverteilungen zweiter Art vorherrschend, was auch für die Erythrocytengröße zuträfe, wenn man dem Vorschlag LIEBERHERRS (1937) entsprechend anstelle des Durchmessers die Fläche des Erythrocyten in die Abszisse eintragen würde.

Halometrie

Eine wesentlich einfachere Methode zur Bestimmung des mittleren Durchmessers ist die Halometrie. Wenn man einen normalen, dünnen Blutausschrieb direkt vor das Auge hält und durch den Blutausschrieb eine etwas entfernter stehende Lampe betrachtet, so sieht man um die Lampe runde, regenbogenfarbige Ringe. Diese farbigen Ringe, auch Halo genannt, entstehen durch Lichtbeugung an den Erythrocyten des Blutausschriebes, und der Durchmesser (bzw. Ablenkungswinkel) dieser Beugungsringe ist umgekehrt proportional zum mittleren Durchmesser der Einzelerthrocyten. Auf diese Weise kann also der Erythrocytendurchmesser einfach und rasch bestimmt werden.

Diese Bestimmungsmethode wurde zuerst am Anfang des vorigen Jahrhunderts von T. YOUNG (1823) entdeckt und beschrieben, geriet aber dann bald in Vergessenheit und wurde mehr als 100 Jahre später von PIJPER (1924—1947) wiederentdeckt. In den zwanziger und dreißiger Jahren fand diese Methode durch die Arbeiten von BOCK (1933—1961) u. a. (EMMONS, 1927; HADEN, 1940; SCHALM, 1939; usw.) eine gewisse Verbreitung, konnte sich aber eigentlich nie wirklich durchsetzen. Die halometrische Erythrocytendurchmesserbestimmung ist heute noch fast genau so umstritten, wie es wenige Jahrzehnte früher die Hämatokritmethode war. Im folgenden sollen die physikalischen Grundlagen der Methode und die Gründe, die für und wider die Halometrie sprechen, kurz geschildert werden. Es wird außerdem eine sehr einfache Apparatur beschrieben, die sich jeder mit geringen Mitteln selbst leicht einrichten kann.

Physikalische Grundlagen der Halometrie: Am Rande kleiner Öffnungen oder Hindernisse wird der Lichtstrahl gebeugt. Das Ausmaß dieser Beugung hängt von der Größe der Öffnung bzw. des Hindernisses und von der Wellenlänge des Lichtes ab. Je kleiner die Öffnung oder das Hindernis und je größer die Wellenlänge des Lichtes, um so ausgeprägter ist die Beugung. Dementsprechend sieht man bei der Beugung von weißem Licht ein Beugungsspektrum. Durch Interferenzerscheinungen treten mehrere Beugungsspektren (I., II., III. usw. Grades) auf. Ist die Öffnung oder das Hindernis kreisrund, so bilden sich aus Symmetriegründen Beugungsringe. Da bei der Beugung an einem Scheibchen der Radius der Beugungsringe nur vom Durchmesser des Hindernisses (und von der Wellenlänge) abhängt, tritt beim Durchgang von Licht durch eine Schicht mit vielen gleich-

großen, im übrigen aber beliebig verteilten Teilchen eine erhebliche Verstärkung der Beugungsringe auf.

Ein ungefärbter Blutausschlag ist im wesentlichen ein Phasenpräparat. Jene Stellen des Ausschlages, auf dem die Erythrocyten gleichmäßig ausgeschlagen nebeneinanderliegen, können als optisches Gitter betrachtet werden (BERGANSIUS, 1921), dessen Gitterkonstante der mittlere Durchmesser der Erythrocyten ist. Betrachtet man durch einen solchen Blutausschlag eine (möglichst) punktförmige Lichtquelle, so sieht man die Beugungsringe um die Lampe. Der Durchmesser dieser Farbhöfe ist um so größer, je kleiner der Durchmesser der Erythrocyten ist. Er kann nach folgender Formel berechnet werden:

$$\sin \Theta = \frac{n \cdot \lambda}{2r}$$

Θ ist der Ablenkungswinkel, n die Ordnungszahl des Beugungsringes, λ die Wellenlänge der betreffenden Farbe und $2r$ der mittlere Durchmesser der Erythrocyten (BOCK, 1961).

Der mittlere Erythrocytendurchmesser kann bestimmt werden, indem die Entfernung vom nullten Maximum (weißer Punkt der Lampe in der Mitte) bis zum ersten Beugungsmaximum einer bestimmten Farbe gemessen wird.

Bei den bisher gebräuchlichen Apparaten wurde entweder die Entfernung bis zum gelben (PLJPER) oder bis zum roten (BOCK, 1961) Farbring ausgemessen. Die Feststellung, wo das Licht der Beugungsringe rein gelb oder rein rot ist, ist eine subjektive und verursacht all jenen, die nicht einen überdurchschnittlich guten Farbsinn besitzen, große Schwierigkeiten, wodurch die Messungen unsicher, ungenau und fehlerhaft werden. Wir denken, daß dies ein wesentlicher Grund war, der die Verbreitung dieser ausgezeichneten Methode hinderte. Eine exakte Ausmessung des Bezugsringes kann bei Verwendung monochromatischen Lichtes jeder (auch Farbblinde) leicht durchführen. Vor dem Kriege war die Verwendung von monochromatischem Licht wegen des damals noch nötigen großen technischen Aufwandes nicht möglich. Heute stehen uns gute Interferenzfilter zur Verfügung, deren Verwendung in der Halometrie einen wesentlichen Fortschritt brachte. Ein gutes Interferenzfilter läßt genügend Licht durch, um eine halometrische Bestimmung auch im unverdunkelten Raum durchführen zu können, und ist dabei doch genügend streng monochromatisch [Halbwertbreite 8 nm (= Nanometer = $m \cdot 10^{-9}$)], was wichtig ist, da ja die Wellenlänge des Lichtes in die oben beschriebene Formel mit eingeht.

Der von BOROVICZÉNY und SAFFAR aufgebaute und empfohlene Apparat (Abb. 54, 55) wurde in ähnlicher Form von PRYCE (1929) beschrieben. Es werden zwei punktförmige Lichtquellen verwendet, man entfernt sich mit dem Ausschlag vor dem Auge gerade so weit von den beiden Lichtquellen, bis die Beugungsringe I. Grades sich eben berühren (Abb. 56 b). Bei dieser Versuchsanordnung muß dann nur der Abstand c zwischen Lichtquelle und Objektträger gemessen werden, um den Erythrocytendurchmesser zu bestimmen. Bei entsprechender Umwandlung der oben angegebenen Formel ist nämlich

$$c = \frac{2r \cdot a}{n \cdot \lambda}.$$

Wir messen immer den Beugungswinkel I. Grades, so daß $n=1$ ist. Wir verwenden zur Messung (s. weiter unten) ein Interferenzfilter mit einem Durchlässigkeitsmaximum von 550 nm (oder $0,55 \cdot 10^{-3}$ mm) und montieren unsere beiden punktförmigen Lichtquellen in einem Abstand von 220 mm. Wenn wir annehmen,

wir hätten ein Präparat mit lauter Erythrocyten, die einen Durchmesser von $10\ \mu$ haben, dann wäre

$$c = \frac{10 \cdot 10^{-3} \cdot 110}{1 \cdot 0,55 \cdot 10^{-3}} = \frac{1100}{0,55} = 2000\text{ mm} = 2\text{ m}.$$

Wir müßten uns also genau 2 Meter von den Lampen entfernen, um den Punkt zu finden, wo sich die Beugungsringe I. Grades gerade berühren ($110 = \text{halber}$

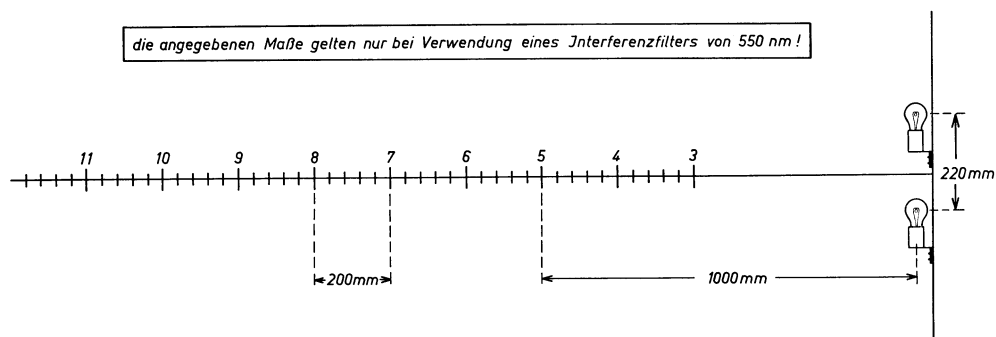


Abb. 54. Schema des Halometers

Lampenabstand $[a]$). Da es lästig wäre, immer den Abstand c auszumessen, kann man, ohne einen wesentlichen Fehler zu begehen, $\sin \Theta = \text{tg } \Theta$ setzen, da bereits bei einem mittleren Erythrocytendurchmesser von $5\ \mu\text{m}$, $\Theta = 5^{\circ}16'$ ist. Aber selbst bei kleineren Erythrocytendurchmessern würde der Fehler durch Messung von tg

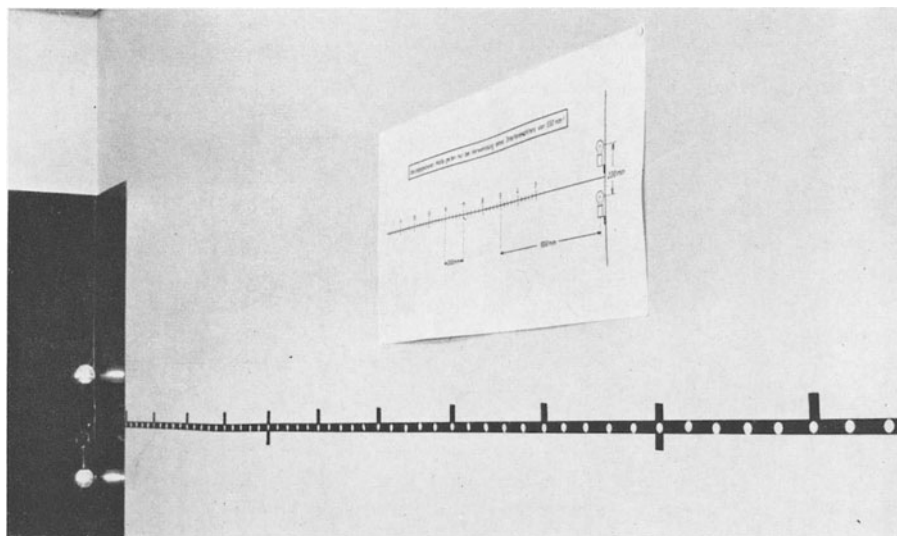


Abb. 55. Halometer

statt \sin nie mehr als $0,1\ \mu\text{m}$ betragen. Nach Berücksichtigung des Gesagten kann auf der Geraden b eine ständige Einteilung aufgetragen werden, welche die direkte Ablesung des Erythrocytendurchmessers im μm gestattet. Die genauen Maße der Apparatur sind in Abb. 54 wiedergegeben.

Bestimmung des mittleren Durchmessers: Bei der eigentlichen Bestimmung geht man wie folgt vor: Man nimmt einen tadellos angefertigten dünnen Blutauss-

strich (ungefärbt oder gefärbt) und hält diesen Ausstrich zusammen mit dem Interferenzfilter dicht vor das Auge (Brille stört nicht). Man stellt sich etwa zur Marke $4\ \mu\text{m}$ auf und sieht die beiden Lichtpunkte von einem hellen, scharf begrenzten, grünen Hof umgeben. Man bewegt den Ausstrich etwas vor den Augen, bis man jene Stelle findet, wo die Lichthöfe am klarsten begrenzt sind und den größten Durchmesser haben (an etwas dickeren Ausstrichstellen werden die Höfe kleiner). Nun bewegt man sich entlang der Einteilung langsam nach rückwärts von den Lampen weg, bis der Punkt erreicht ist, wo sich die beiden Höfe gerade berühren. Wenn man mit dem Präparat um die optische Achse kleine Drehbewegungen ausführt, drehen sich die Höfe wie Räder mit, und man kann den Berührungspunkt sehr leicht erkennen. Dort, wo sich der Objektträger jetzt gerade be-

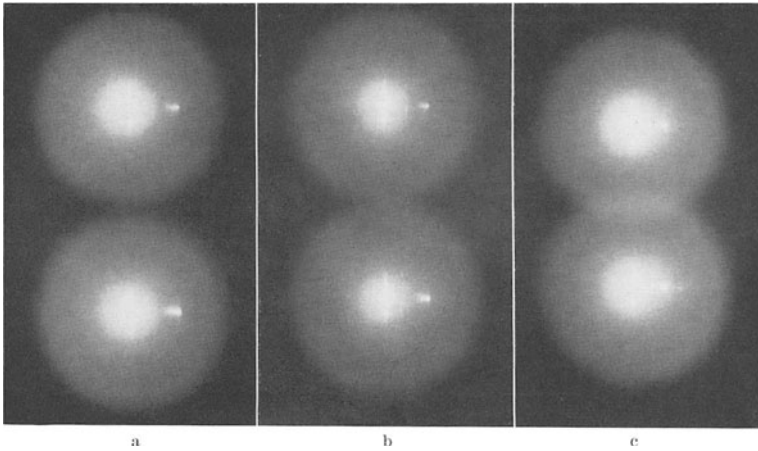


Abb. 56. a Die Beugungsringe berühren sich noch nicht. b Die Beugungsringe berühren sich eben. c Die Beugungsringe überlappen sich

findet, wird an der Einteilung der Erythrocytendurchmesser in μm abgelesen. Dieser Vorgang ist in Abb. 56a—c wiedergegeben. Bei *a* (Marke $7,2\ \mu\text{m}$) berühren sich die beiden Höfe noch nicht, bei *b* (Marke $7,4\ \mu\text{m}$) berühren sie sich eben, und bei *c* (Marke $7,6\ \mu\text{m}$) gehen sie schon ineinander über. In diesem Präparat beträgt der mittlere Erythrocytendurchmesser also $7,4\ \mu\text{m}$, was auch durch die Ausmessung einer Price-Jones-Kurve bestätigt werden konnte. Besteht eine pathologische Anisocytose, so sind die Lichthöfe unscharf begrenzt, aber die Durchmesserbestimmung ist noch möglich. Ist der Ausstrich zu dick, so daß die Erythrocyten nicht nebeneinander, sondern übereinander liegen, so findet man keine klar begrenzten Lichthöfe mehr, und die halometrische Durchmesserbestimmung wird unmöglich.

Der mittlere Fehler der Einzelbestimmung beträgt bei geübten Personen und bei *tadellos angefertigten Ausstrichen!* nur $0,1\ \mu\text{m}$, bei schlechteren Präparaten $0,2$ — $0,3\ \mu\text{m}$. Vollkommen ungeübte Personen bestimmen den mittleren Durchmesser halometrisch an guten Präparaten mit einem mittleren Fehler von nur $0,2\ \mu\text{m}$, bei schlechteren Präparaten mit einem mittleren Fehler von $0,5$ — $0,75\ \mu\text{m}$. In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß nach sehr eingehenden Untersuchungen von BIGGS und MACMILLAN der mittlere Fehler der Durchmesserbestimmung mittels der Price-Jones-Methode $0,25\ \mu\text{m}$ beträgt. Anfänger neigen oft dazu, $\frac{1}{2}$ — $1\ \mu\text{m}$ zu große Durchmesser zu bestimmen, weswegen geraten wird, zu Beginn einige tadellose Präparate halometrisch und mikroskopisch auszumessen, um die Methode einüben zu können.

Abschließend sei noch kurz vermerkt, daß die halometrische Erythrocyten-durchmesserbestimmung auch mit jedem Mikroskop durchgeführt werden kann. Durch die Versuche mit dem Diffraktionsapparat nach ABBE ist es bekannt, daß in der hinteren Brennebene des Objektivs ein Haupt- und mehrere Nebenbilder der Lichtquelle erscheinen. Wird ein optisches Gitter oder ein Blutausstrich vor das Objektiv gebracht, so entstehen in der Austrittspupille Beugungsspektren, welche man durch ein Hilfsmikroskop betrachten und mittels eines Ocularmikrometers ausmessen kann. In der Praxis wird wie folgt vorgegangen:

Man entfernt den Kondensator aus dem Mikroskop und stellt mit der kleinen Trockenvergrößerung (10:1) eine geeignete Stelle des Blutausstriches, wo die Erythrocyten gleichmäßig nebeneinander liegen, scharf ein. Nun wird das Interferenzfilter vor die Lichtquelle gebracht und die Leuchtfeldblende ganz verengt

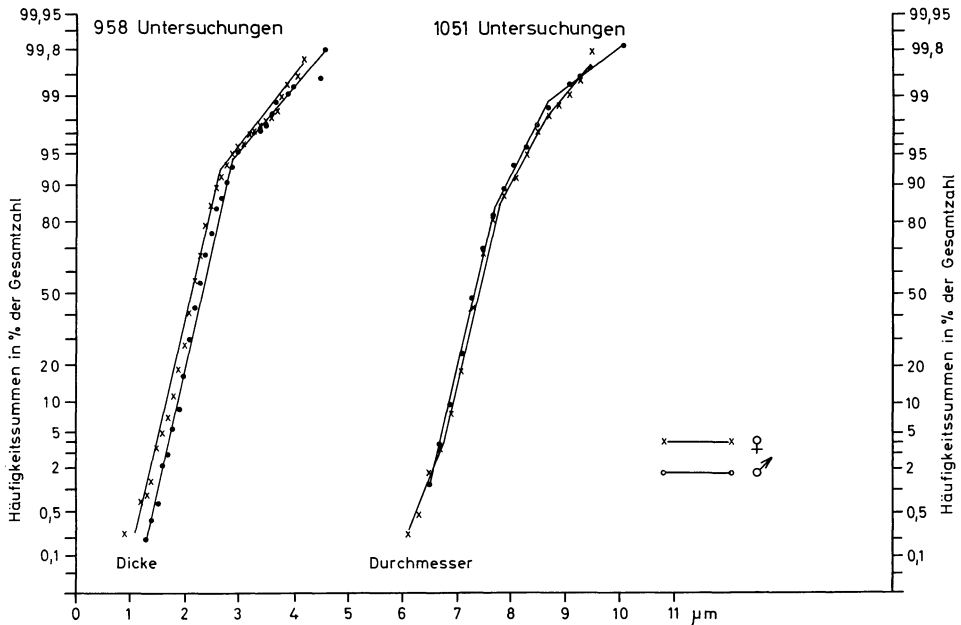


Abb. 57. Die Verteilung der Erythrocytendicke- und Durchmesserwerte bei Kranken

und ein Hilfsmikroskop eingeschaltet. Man sieht die eingengte Leuchtfeldblende als scharf begrenzten, hellen Fleck in der Mitte des Gesichtsfeldes umgeben von einem ebenfalls genügend scharf begrenzten lichten Hof, der mit Hilfe eines Ocularmikrometers genau ausgemessen werden kann. Die Mikrohalometrie hat den Vorteil, daß man die zur Messung geeigneten Gesichtsfelder im Mikroskop auswählen und einstellen kann.

Normalwerte

Im Gegensatz zu den anderen erythrocytometrischen Meßwerten liegen über die Erythrocytendurchmesser keine statistisch untermauerten, neuere Untersuchungen vor. Als Normalwert wird allgemein 7,5 (6,9—8,1) μm angenommen. Diese Werte beziehen sich aber auf die getrockneten und fixierten Erythrocyten im Ausstrichpräparat. Werden die Erythrocyten im eigenen Plasma suspendiert gemessen, ergeben sich deutlich höhere Werte. CORDES und BOROVICZÉNY fanden bei 1051 kranken Menschen 7,3 (6,5—8,7) μm . Die Verteilung dieser Werte ist in der Abb. 57 wiedergegeben.

Färbekoeffizient (Hb-Gehalt der Einzerythrocyten)

Der Färbekoeffizient gibt den mittleren Hämoglobingehalt des Einzerythrocyten in pg (Picogramm = g^{-12} ; früher fälschlicherweise auch als $\mu\mu g$ oder $\gamma\gamma$ geschrieben) an. Er wird wie folgt ausgerechnet

$$\text{Färbekoeffizient} = \frac{10 \times \text{Hb in g-\%}}{\text{Ery (in } 10^6) \text{ pro } \mu\text{l}}$$

Der Färbekoeffizient ist also eine Hämoglobingewichtsangabe, die nichts über die Relation des Hämoglobingehaltes zur Erythrocytengröße aussagt. Sie kann am einfachsten von einem Nomogramm (Abb. 63a) abgelesen werden.

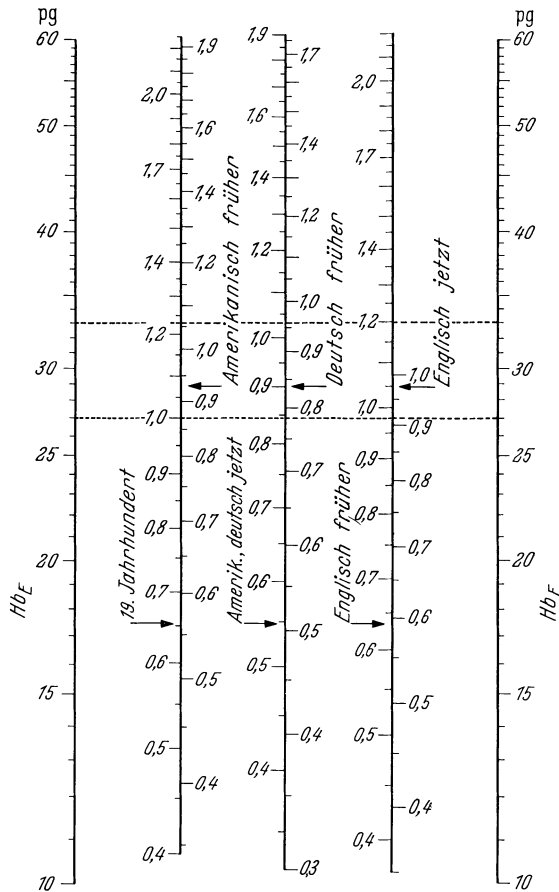


Abb. 58. Der Färbekoeffizient und die verschiedenen Farbe-Indices

Für den Färbekoeffizienten sind als Synonyma vorgeschlagen worden: Mittlerer Hämoglobingehalt des Einzerythrocyten; Hämoglobinkoeffizient. Als Kurzzeichen wird meist Hb_E verwendet. Englisch: Mean Corpuscular Haemoglobin = MCH.

Anstelle des Färbekoeffizienten wurde früher häufig der „Färbeindex“ (Synonyma: Relativer Blutkörperchenwert; Blutkörperchenquotient, Hämoglobinwert, Hämoglobinkoeffizient; englisch: Colorindex; französisch: Valeur globulaire) angegeben. Der Färbeindex ist eine Relativzahl, gebildet aus den Quotienten des Hämoglobingehaltes in Prozent der Norm und der Blutkörperchen-

zahl in Prozent der Norm. Es war meist üblich, als „Norm“ (=100%) den Hämoglobingehalt von 16 g-% und die Erythrocytenzahl von 0,5 Mio. zu nehmen (Abb. 58).

Wenn der Färbekoeffizient vermindert ist, spricht man von einer *Hypochromie*, wenn er erhöht ist, von einer *Hyperchromie*. Die differentialdiagnostische Bedeutung des Färbekoeffizienten ist seit 100 Jahren bekannt. Auch heute wird der Färbekoeffizient bei der Einteilung der verschiedenen Anämieformen benützt. Es soll hier darauf hingewiesen werden, daß der Fehler des Färbekoeffizienten sich aus dem Fehlerfortpflanzungsgesetz wie folgt errechnet:

$$\text{Fehler des Hb}_E = \sqrt{(\text{Fehler der Ery-Bestimmung})^2 + (\text{Fehler der Hb-Bestimmung})^2}.$$

Dementsprechend kann der Färbekoeffizient differentialdiagnostisch nur dann verwendet werden, wenn die Erythrocytenzahl und die Hämoglobinbestimmung mit einer genügenden Genauigkeit durchgeführt worden sind.

Mittleres Erythrocytenvolumen

Das Einzelvolumen der Erythrocyten wird in fl (Femtoliter = $1 \times 10^{-15} \approx \mu\text{m}^3$) angegeben. Es wird meist aus der Erythrocytenzahl und aus dem Hämatokritwert ausgerechnet:

$$\text{Einzelvolumen in fl} = \frac{10 \times \text{Hämatokritwert in \%}}{\text{Eryzahl (in } 10^6) \text{ pro } \mu\text{l}^{-1}}.$$

Das mittlere Einzelvolumen kann aber auch aus den Volumenverteilungskurven berechnet werden, welche man mit verschiedenen elektronischen Zählapparaten registrieren kann (s. S. 425).

Anstelle des mittleren Einzelvolumens wurde früher der „Volumenindex“ (Synonyma: Volumenwert, Farbeindexvolumen) als Koeffizient des Hämatokritwertes in Prozent der Norm und der Erythrocytenzahl in Prozent der Norm berechnet (Abb. 59).

Beim verminderten mittleren Erythrocyteneinzelvolumen sprechen wir von einer Mikrovolumie, beim erhöhten von einer Makrovolumie.

Hämoglobinkonzentration

Die mittlere Hämoglobinkonzentration des Einzelerythrocyten zeigt wieviel Prozent des Erythrocyten das Hämoglobin ausmacht (und zwar in Gewicht pro Volumen). Sie wird berechnet aus dem Hämoglobingehalt des Blutes und aus dem relativen Blutkörperchenvolumen (Hämatokrit) oder, was gleichbedeutend ist, aus dem Färbekoeffizienten (Hb_E) und dem mittleren Einzelvolumen der Erythrocyten:

$$\text{Hb-Konzentration} = \frac{(\text{Hb in g-\%}) \times 100}{\text{Hämatokritwert in \%}} = \frac{(\text{Hb}_E \text{ in pg}) \times 100}{\text{Einzelvolumen in fl}}.$$

Will man die Hämoglobinkonzentration nicht in Gewichtsprozenten, sondern in Volumenprozenten erhalten, so berechnet man den Hämoglobinanteil wie folgt:

$$\text{Hämoglobinanteil (v/v)} = \frac{(\text{Hb in g-\%}) \times 126}{\text{Hämatokritwert in \%}}.$$

Wenn man andererseits mit dem Reziprokwert des spezifischen Gewichts der Erythrocyten multipliziert, so erhält man den gewichtsmäßigen Hämoglobinanteil:

$$\text{Hämoglobinanteil (g/g)} = \frac{(\text{Hb in g-\%}) \times 91}{\text{Hämatokritwert in \%}}.$$

Früher wurde anstelle der Hämoglobinkonzentration der „Sättigungsindex“ (spezifischer Hämoglobingehalt, Blutkörperchenkonzentration, Hämoglobinindex, relativer Färbekoeffizient, Saturationsindex; englisch: Volume colour index) berechnet. Als Quotient des Hämoglobingehaltes in Prozent der Norm durch Hämatokritwert in Prozent der Norm (Abb. 60).

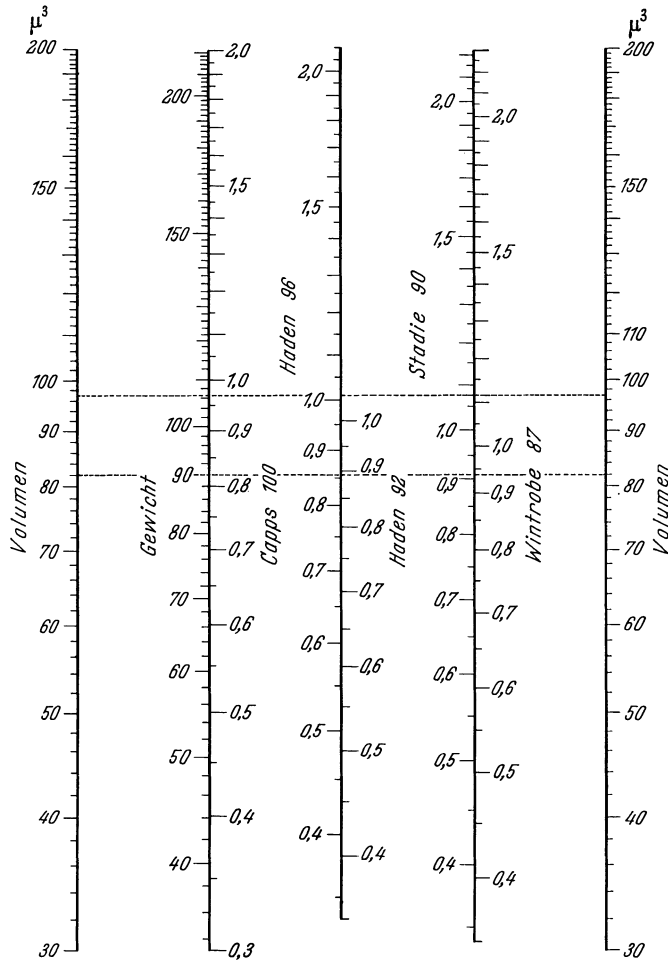


Abb. 59. Das Erythrocyteneinzelvolumen, Einzelgewicht und Volumenindex

Im angloamerikanischen Schrifttum wird die Hämoglobinkonzentration: Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC) genannt. Französisch: richesse globulaire.

Leider verwechseln gelegentlich sogar Hämatologen den Färbekoeffizienten mit der Hämoglobinkonzentration, deswegen sei hier nochmals auf den Unterschied hingewiesen: Der Färbekoeffizient gibt an, wieviel Hämoglobin der Einzelerythrocyt enthält, unabhängig von der Größe des Erythrocyten, während die Hämoglobinkonzentration den Hämoglobingehalt als Relation des mittleren Erythrocyteneinzelvolumens angibt. Praktisch bedeutet das, daß bei einer Hydrämie (z.B. durch Trinken einer großen Menge Wasser erzeugt) oder bei einer Verschiebung des Blut-pH (z.B. Acidose), wenn sich der Hämatokritwert verändert, auch eine Änderung der Hämoglobinkonzentration auftritt, während der Färbekoeff-

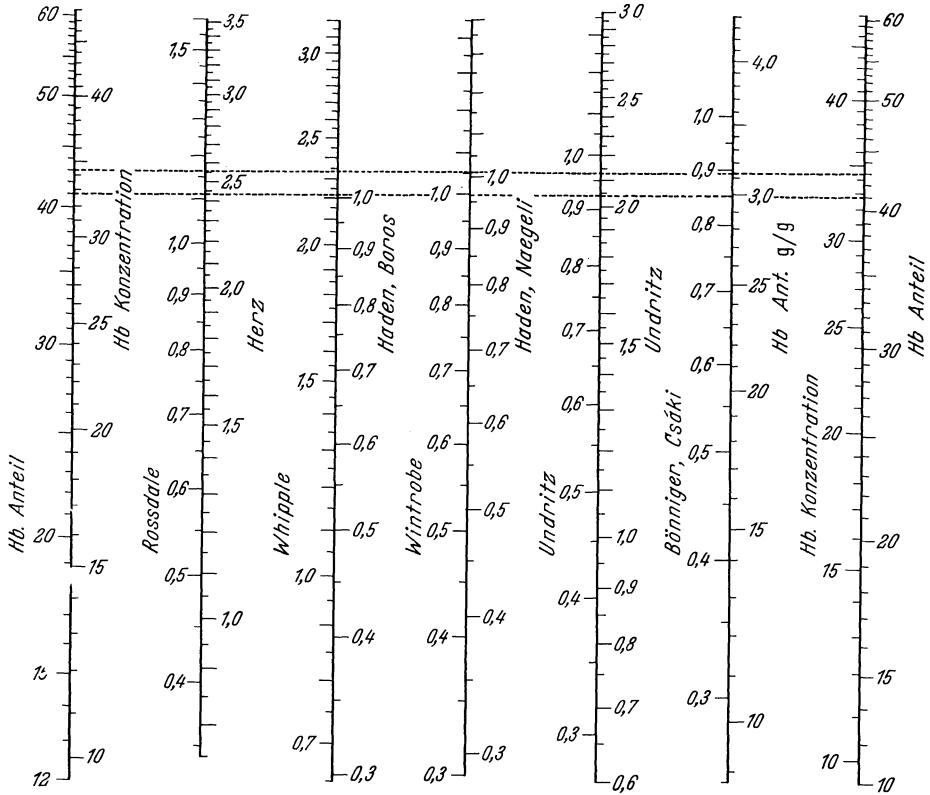


Abb. 60. Hämoglobinanteil, Hämoglobinkonzentration und Sättigungsindex

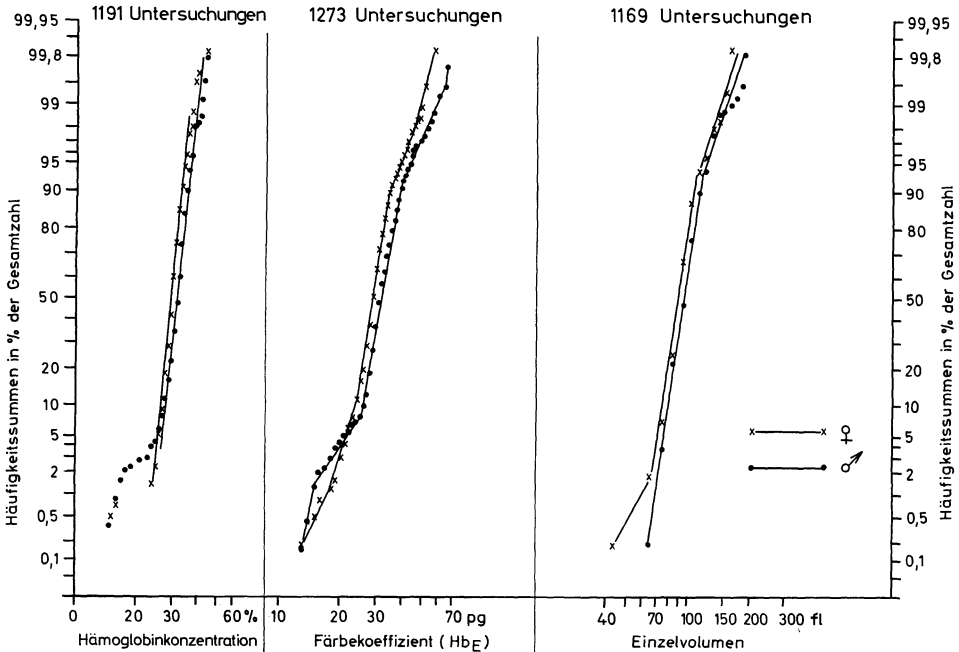


Abb. 61. Die Verteilung der Hämoglobinkonzentration des Färbekoeffizienten und des Erythrocyteinzelvolumens bei Kranken

fizient unverändert bleibt. Das Verhältnis des Färbekoeffizienten und der Hämoglobinkonzentration ist auch gut aus dem auf S. 479 wiedergegebenen Nomogramm resichtlich (Abb. 63 b). Der Zusammenhang zwischen Hämoglobinkonzentration, Hämoglobinanteil und Sättigungsindex ist aus dem hier wiedergegebenen Nomogramm ersichtlich (Abb. 60). Die Hämoglobinkonzentration ist ein recht konstanter Wert, der im Mittel mit 33% angegeben wird. Bei verminderter Hämoglobinkonzentration sprechen wir von einer Oligochromie, bei erhöhter von einer Plutochromie.

Mittlere Erythrocytendicke

Man muß die absolute „Randwulstdicke“ von der „mittleren Dicke“ der Erythrocyten unterscheiden, wobei letztere die durchschnittliche Dicke des Erythrocyten (Mittelwert zwischen Randwulst und Delle) ist (Abb. 62). Während die

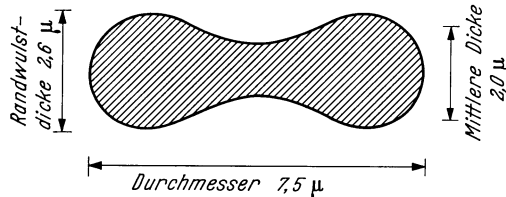


Abb. 62. Die Maße der Erythrocyten

Randwulstdicke bei Geldrollenbildung mikroskopisch direkt gemessen werden kann, wird die mittlere Erythrocytendicke aus dem mittleren Erythrocyteneinzelvolumen und dem mittleren Erythrocytendurchmesser wie folgt berechnet:

Mittlere Erythrocytendicke in μm

$$= \frac{4 \times (\text{mittleres Einzolvolumen in fl})}{(\text{Durchmesser in } \mu\text{m})^2 \times \pi} = 1,274 \frac{\text{Einzelvolumen in fl}}{(\text{Durchmesser in } \mu\text{m})^2}.$$

Die Erythrocyteneinzeldicke kann auch im Interferenzmikroskop gemessen werden oder nach Schrägbedampfung (mit Schwermetall im Hochvakuum) im normalen Mikroskop mit dem Ocularschraubenmikrometer. Auf diese Art können Verteilungskurven der Erythrocytendicke aufgenommen werden, die aber wegen des großen Aufwandes bisher keine Verbreitung gefunden haben (THOENES, 1958—1961).

Wird die Erythrocytendicke aus dem Volumen und dem Durchmesser berechnet, so muß berücksichtigt werden, ob der Durchmesser am Trockenpräparat oder „feucht“ gemessen wurde. Das Einzolvolumen wird fast immer aus Erythrocytenzahl und Hämatokritwert (bei der hochtourigen Standardmethode am nativen Erythrocyten bestimmt) berechnet, während der Durchmesser sehr oft am Ausstrich, also am trockenen Erythrocyten gemessen wird. Beim Eintrocknen schrumpft der Erythrocyt, worauf bereits hingewiesen wurde. Man mißt einen geschrumpften, also einen kleineren Durchmesser. Wenn dieser „geschrumpfte“ Durchmesser mit dem „ungeschrumpften“ Volumen in Zusammenhang gebracht wird, d. h. aus diesen beiden Werten die Dicke ausgerechnet wird, so erhält man eine scheinbar gesteigerte Dicke. Im weiter unten (Abb. 63 b, s. S. 479) wiedergegebenen Nomogramm ist diese Möglichkeit berücksichtigt. Bei erhöhter Dicke spricht man von Pachocyten, bei dünnen Erythrocyten von Leptocyten.

Erythrocytennomogramm

Die bisher besprochenen Meßwerte (Erythrocytenzahl, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert, Durchmesser) und die daraus ausgerechneten weiteren Werte (Hb-Konzentration, Färbekoeffizient, mittleres Einzolvolumen und mittlere Dicke) stehen in einer engen wechselseitigen Beziehung zueinander, weil die

letzteren aus den ersteren berechnet werden können. Dieser Zusammenhang kann auch mit Hilfe eines entsprechend konstruierten Nomogramms gut demonstriert werden. Ein Nomogramm ist eine graphische Rechenhilfe, es löst jene Rechenaufgaben, für die es konstruiert wurde. Beim Erythrocytennomogramm werden die Meßwerte (Erythrocytenzahl, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert und Durchmesser) eingetragen, mit dem Lineal einige Striche gezogen, wonach man die Rechenwerte (Färbekoeffizient, Hämoglobinanteil, Einzelvolumen und Dicke) ablesen kann. Das in der Abb. 63 b gezeigte Nomogramm wurde so konstruiert, daß die erythrocytometrischen Werte miteinander verbunden eine Linie oder Kurve ergeben. Die Normalwerte liegen annähernd auf einer Geraden (schraffiert), die pathologischen Werte hingegen ergeben für die einzelnen Krankheitsbilder typische Kurvenformen.

Das Nomogramm wird wie folgt angewendet:

1. Die Meßwerte werden exakt bestimmt und im Nomogramm eingetragen.
2. Bestimmung des Färbekoeffizienten. Die Erythrocytenzahl (Leiter 4) und das Hb (Leiter 3) werden mit einem Lineal eingestellt, mit einer Geraden verbunden, welche dann bis zur Leiter 2 verlängert wird. Der Färbekoeffizient (Hb_E) kann links im pg (picogramm = $g \times 10^{-12}$) und rechts in fval (femtoval = Äquivalentgewicht $\times 10^{-15}$) abgelesen werden.

3. Bestimmung des mittleren Erythrocyten-einzelvolumens: Die Erythrocytenzahl wird nun mit dem Hämatokritwert auf Leiter 5 verbunden und die Gerade bis Leiter 6 verlängert.

4. Bestimmung der Hämoglobinkonzentration. Das Einzelvolumen (Leiter 6) und der Färbekoeffizient (Leiter 2) werden mit dem Lineal eingestellt, aber nur die Verlängerung dieser Geraden bis zur Leiter 1 in das Nomogramm eingezeichnet. Auf Leiter 1 kann rechts die Hämoglobinkonzentration, links der Hämoglobinanteil des Einzelerythrocyten abgelesen werden.

5. Bestimmung der mittleren Erythrocytendicke. Das Einzelvolumen (Leiter 6) wird mit dem Durchmesser (Leiter 7) verbunden und diese Gerade bis zur Leiter 8 verlängert.

Aus den bisher besprochenen und im Nomogramm vorkommenden erythrocytometrischen Werten gibt es noch einige weitere Werte und Indices, die aber nur relativ selten bestimmt werden.

Das mittlere Gewicht des Einzelerythrocyten

Das mittlere Gewicht des Einzelerythrocyten (im anglosächsischen Schrifttum MCW = mean corpuscular weight) kann aus dem mittleren Einzelvolumen und aus dem spezifischen Gewicht berechnet werden. Das spezifische Gewicht des normalen Erythrocyten beträgt 1,0983.

CHIN-CHEN-TING (1947) beschreibt eine Methode zur Bestimmung des mittleren Gewichtes der Erythrocyten. Er fand bei 81 gesunden Personen einen Wert von $96,8 \pm 7$ pg (Schwankungsbreite 88—112 pg). Über das mittlere Gewicht des Einzelerythrocyten in pathologischen Fällen konnte in der Literatur nichts gefunden werden.

Mittlere Erythrocytenoberfläche

Zur Berechnung der Erythrocytenoberfläche (englisch MCSA = mean corpuscular surface area) sind verschiedene Formeln angegeben worden. Die einfachste und vielleicht auch zutreffendste Formel ist die von PONDER:

$$\text{Mittlere Erythrocytenoberfläche} = 2 \times D^2,$$

wo D den mittleren Durchmesser des Erythrocyten bedeutet.

An dieser Stelle sei kurz an das „Oberflächengesetz“ von BÜRCKER erinnert, laut welchem der Hämoglobingehalt des Einzelerthrocyten zur Oberfläche im geraden Verhältnis steht und dieses Verhältnis für einzelne Tierarten spezifisch

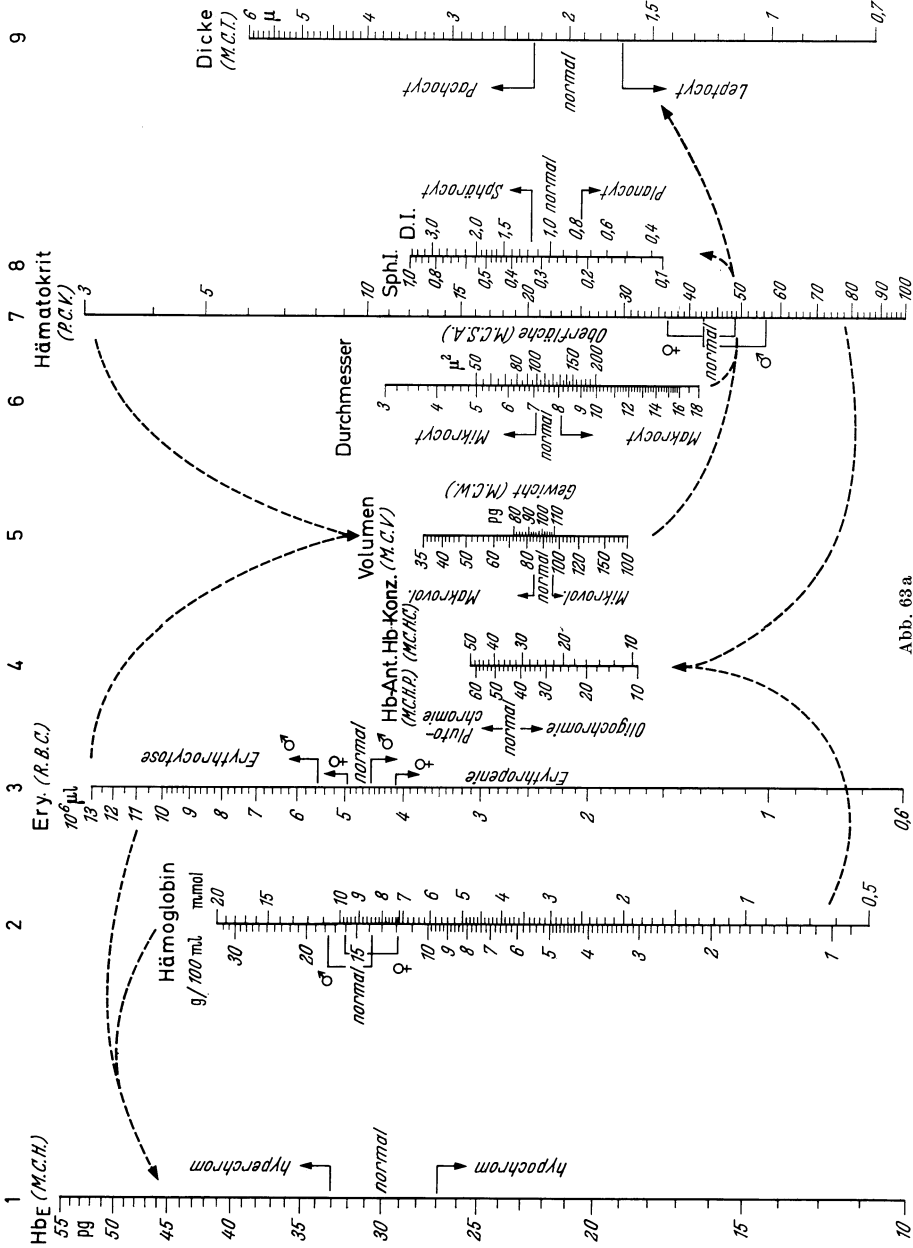


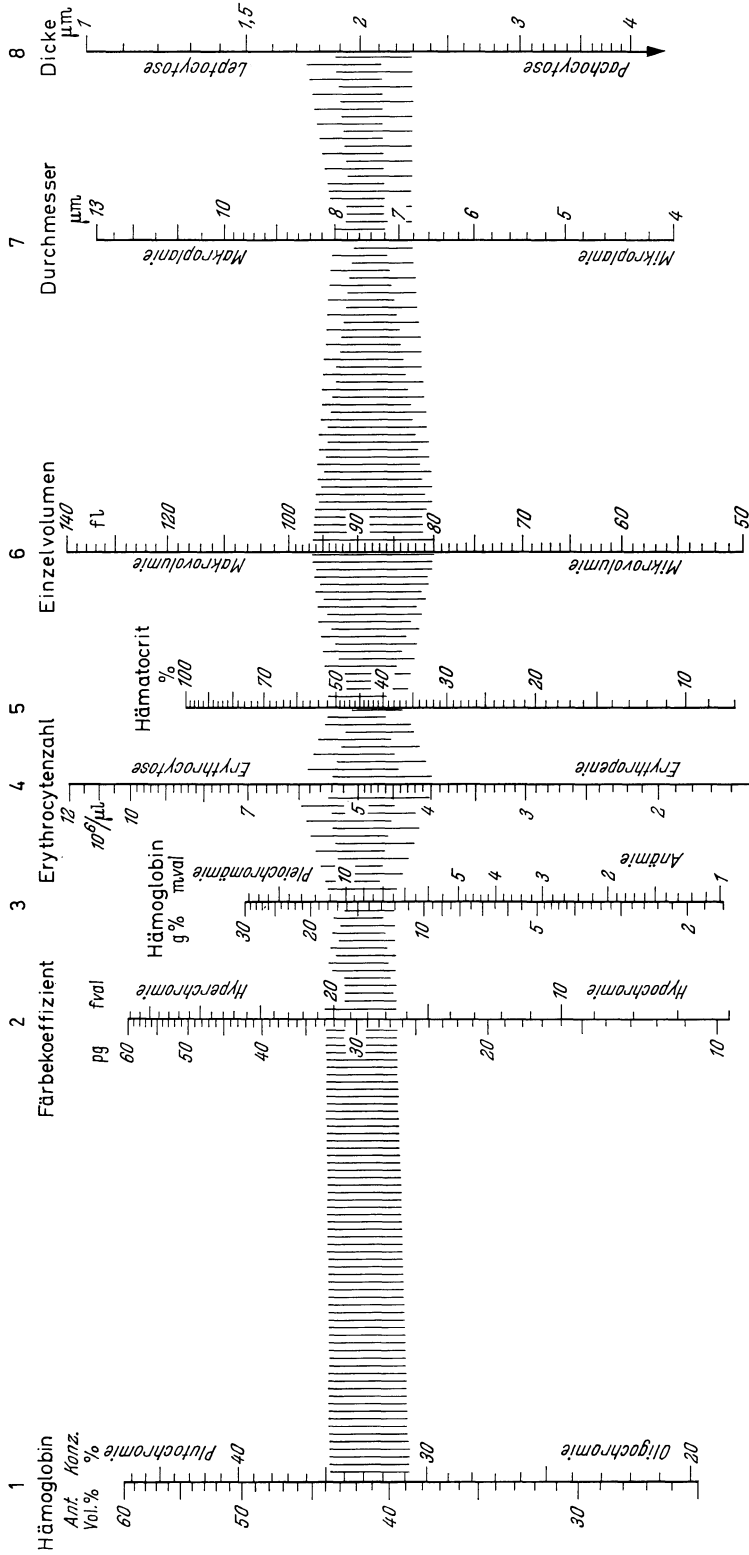
Abb. 63a

ist. Neuere Untersuchungen haben das Bürkersche „Oberflächengesetz“ jedoch nicht bestätigt.

Sphärischer Index und Dickeindex

Der sphärische Index bzw. der Dickeindex gibt das Verhältnis der mittleren Erythrocytendicke zum mittleren Erythrocytendurchmesser desselben Blutes an.

Sphärischer Index und Dিকেindex



Name..... Station..... Nr..... Datum (.....) Leukocyten

Abb. 63 a und b. Erythrocyten-Nomogramme

Diagnose.....

Der Begriff „sphärischer Index“ ist von HEILMEYER eingeführt worden und wird wie folgt ausgerechnet:

$$\begin{aligned} \text{Sphärischer Index} &= (\text{Erythrocytendicke}) \times (\text{Erythrocytendurchmesser})^{-1} = \\ &= 1,274 \times (\text{Einzelvolumen}) \times (\text{Durchmesser})^{-3}. \end{aligned}$$

BOROS und LÁSZLO führten den Begriff „Dickeindex“ ein, welcher das Verhältnis der tatsächlichen Erythrocytendicke zu jener Erythrocytendicke ausdrückt, welche beim tatsächlichen Erythrocytendurchmesser „normalerweise“ vorkommen sollte. Dieser Index wird wie folgt berechnet:

$$\begin{aligned} \text{Dickeindex} &= (\text{Dicke Istwert}) \times (\text{Dicke Sollwert})^{-1} \\ &= 4,608 \times (\text{Einzelvolumen}) \times (\text{Durchmesser})^{-3}. \end{aligned}$$

Zwischen dem sphärischen Index und dem Dickeindex besteht also das Verhältnis 1:3,617.

BUGYI (1957) konnte nachweisen, daß die „optimale“, d.h. widerstandsfähigste Erythrocytenform jene ist, die den sphärischen Index von 1,0 aufweist. Bei einem pathologisch erhöhten sphärischen Index (bzw. Dickeindex) sprechen wir von einer Sphärocytose, bei einem erniedrigten von einer Planocyotose.

Das Erythrocyteneinzelgewicht, die Erythrocytenoberfläche, der Dickeindex und der Sättigungsindex können (neben den anderen erythrocytometrischen Werten) dem Nomogramm entnommen werden (Abb. 63a).

Entrundungskoeffizienten

In jedem Blutauszug findet man einige mehr oder weniger ovale Erythrocyten. Bei bestimmten Krankheiten (z.B. hereditäre Elliptocytose) sind alle Erythrocyten erheblich entrundet. Zur objektiven Messung dieses Phänomens hat GÜNTER den Begriff der „numerischen Exzentrizität“ eingeführt, die wie folgt berechnet wird:

$$\text{Numerische Exzentrizität} = \sqrt{1 - (b/a)^2}.$$

LIEBERHERR gab den einfacher zu berechnenden „Achsenkoeffizienten“ an:

$$\text{Achsenkoeffizient} = 1 - (b/a)^2.$$

In beiden Formeln ist a die Hauptachse (großer Durchmesser), b die Nebenachse (kleiner Durchmesser). Nach GÜNTER wie auch nach LIEBERHERR soll man an einer möglichst großen Zahl von Erythrocyten die Haupt- und die Nebenachse messen, die numerische Exzentrizität bzw. den Achsenkoeffizienten ausrechnen und deren Verteilung überprüfen. Am einfachsten kann dies mit Hilfe des hier mitgeteilten Nomogramms (Abb. 64) gemacht werden.

HERNBERG nennt einfach den Unterschied zwischen Haupt- und Nebenachse (in μm ausgedrückt) den „Poikilocytengrad“. Die Koeffizienten von GÜNTER, LIEBERHERR bzw. HERNBERG kann man auch in Größenklassen einteilen, prozentual aufschlüsseln und als Entrundungskurve zeichnen.

REIMANN und STRANCALI messen die Hauptachsen und die Nebenachsen der Einzelerthrocyten voneinander getrennt, zeichnen eine Price-Jones-Kurve der Hauptachsen und eine der Nebenachsen, bestimmen die Mittelwerte der Haupt- und Nebenachsen und nennen die Differenz dieser Mittelwerte „Entrundungsgröße“.

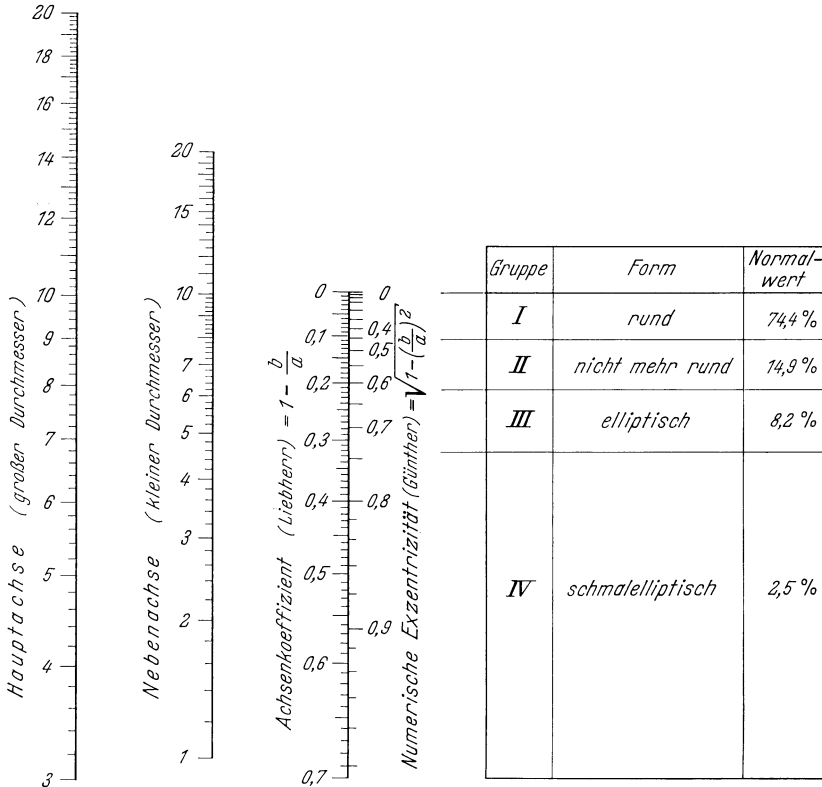


Abb. 64. Nomogramm zum Ausrechnen des Achsenkoeffizienten und der numerischen Exzentrizität

Erythrocytenresistenz

Neben den erythrocytometrischen Messungen sind die verschiedenartigen Bestimmungen der Erythrocytenresistenz für die Praxis von großer Bedeutung. Unter Erythrocytenresistenz wird die Widerstandsfähigkeit der Erythrocyten gegen äußere Einflüsse verstanden. Im angelsächsischen Schrifttum wird im allgemeinen der Begriff Erythrocytenfragilität angewandt, der umgekehrt die Anfälligkeit der Erythrocyten gegen verschiedene Einflüsse ausdrückt. Bekanntlich sind die Erythrocyten von einer Zellmembran umgeben, die normalerweise verhindert, daß das im Erythrocyten vorhandene Hämoglobin aus diesem austritt. Unter verschiedenartigsten äußeren Einwirkungen tritt eine Hämolyse ein, d. h. das Hämoglobin tritt aus den Erythrocyten aus. Zur Deutung dieses Vorganges nahm man früher an, daß die Erythrocytenmembran bei der Hämolyse zerreißt. Neuere (elektronenoptische und andere) Untersuchungen haben aber gezeigt, daß die Erythrocytenmembran bei der Hämolyse nicht zerreißt, sondern lediglich ihre Durchlässigkeit verändert. Dies kann am einfachsten nachgewiesen werden, indem man die Erythrocyten im destillierten Wasser zur Hämolyse bringt, anschließend die praktisch hämoglobinfreien Membranen in eine konzentrierte Hämoglobininlösung bringt und danach durch Einstellung einer physiologischen Salzkonzentration die Permeabilität der Membranen wieder auf normale Werte herabsetzt. Mikroskopisch findet man dann wieder normal wirkende rote Blutkörperchen.

Da die Hämolyse auf verschiedene Weise entstehen kann, unterscheiden wir osmotische, mechanische, chemische, toxische und thermische Resistenz, ferner noch die Elektrohämolyse, die Strahlenhämolyse und die serologische Hämolyse.

Die größte praktische Bedeutung hat die Untersuchung der osmotischen Resistenz, eine in allen Laboratorien eingeführte Routinemethode, ferner die Untersuchung der mechanischen Resistenz, während die anderen aufgezählten Methoden nur bei ganz bestimmten Untersuchungen eine Rolle spielen, so daß diesbezüglich auf das Kapitel der hämolytischen Erkrankungen, ferner auf eine umfassende Zusammenstellung von MATTHES (1960) verwiesen wird. Wie in einem früheren Abschnitt dieses Kapitels bereits besprochen, spielt die Elektrohämolyse bei der Erythrocytenzählung mittels der Coulterschen Methode eine gewisse Rolle, da hier die Erythrocytensuspension im elektrischen Feld gezählt wird, wobei eine Hämolyse auftreten kann. Bei der Blutkörperchenzählung spielt auch die chemische Hämolyse durch Saponin oder andere Chemikalien eine Rolle, da bei allen besprochenen Blutkörperchenzählautomaten die Leukocyten nur nach Hämolyse der Erythrocyten gezählt werden können.

Bestimmung der osmotischen Resistenz

Werden die Erythrocyten in eine hypotone Salzlösung gebracht, so tritt eine Hämolyse auf. Die Bestimmung der osmotischen Resistenz wird so durchgeführt, daß Erythrocyten in Salzlösungen gebracht werden, deren Konzentration genau bekannt ist und man beobachtet, ob eine Hämolyse auftritt oder nicht. Es gibt unzählige Modifikationen dieser Bestimmungsmethode. Am weitesten verbreitet sind jene Methoden, die mit Kochsalzlösungen arbeiten. Auch hier gibt es zahlreiche Varianten betreffend Einhaltung bestimmter pH-Verhältnisse, betreffend Temperatur und Ableseart. Im folgenden soll eine einfache Suchmethode und eine etwas aufwendigere Methode angeführt werden.

Als einfachen Suchtest schlägt WINTROBE (1961) folgendes Vorgehen vor: 180 g Kochsalz, 27,31 g sekundäres Natriumphosphat und 4,86 g primäres Natriumphosphat werden in 2 Liter Wasser gelöst. Diese Stammlösung ist im Kühlschrank monatelang haltbar und entspricht in der Salzkonzentration einer 10%igen Kochsalzlösung. Aus dieser Stammlösung werden zur Untersuchung durch Verdünnung mit destilliertem Wasser 0,85; 0,50 und 0,25%ige Lösungen hergestellt. Je 0,1 ml Venenblut wird in drei Teströhrchen pipettiert und je 1,0 ml zwe drei Salzlösungen zugegeben. Normalerweise darf nur im Röhrchen mit der 0,25%igen Salzlösung eine Hämolyse auftreten (hier sollte die komplett sein); wenn auch im Röhrchen mit der 0,5%igen Kochsalzlösung eine Hämolyse zu beobachten ist, so muß eine herabgesetzte Erythrocytenresistenz angenommen werden. Wenn in allen drei Röhrchen eine Hämolyse zu beobachten ist, so ist die Salzlösung falsch angesetzt worden.

Als genauere Methode, die zur quantitativen Auswertung der osmotischen Resistenz immer angewendet werden sollte, wenn Verdacht auf eine pathologische Veränderung besteht, gibt MATTHES (1960) die folgende Vorschrift:

Aus wasserfreiem, chemisch reinem NaCl wird eine 20%ige Stammlösung angesetzt. Mit dieser Stammlösung wird in Glasschliffflaschen eine Konzentrationsreihe von 0,1—0,72% NaCl mit Intervallen von 0,02% hergestellt und diese Flaschen im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Testung werden Kahn-Röhrchen verwendet, die einen möglichst gleichmäßigen Durchmesser haben sollen. Mit der gleichen Pipette, die nach jeder benutzten Lösung gereinigt und getrocknet werden muß, wird 1 ml Lösung in die Röhrchen pipettiert. Ferner kommen in vier Röhrchen je 2 ml destilliertes Wasser. Alle Röhrchen müssen gut verkorkt werden, um Verdunstung zu verhindern, und werden bis zum Gebrauch bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt. 2—3 ml venöses Heparinblut werden in einen etwa 150 ml großen Scheidetrichter gebracht, der mit O₂, notfalls auch nur mit Luft gefüllt ist. Durch 10 min lange Rotation, bei der das Blut als dünner Film an der

Glasoberfläche verteilt sein muß, erfolgt eine Oxygenisierung. Von dem oxygenierten oder aerisierten Blut wird jeweils 1 Tropfen in die Röhren der Verdünnungsreihe und 2 Tropfen in die Röhren mit aqua dest. getan. Durch Kippen wird der Inhalt der Röhren gut gemischt und die Gestelle werden sofort wieder

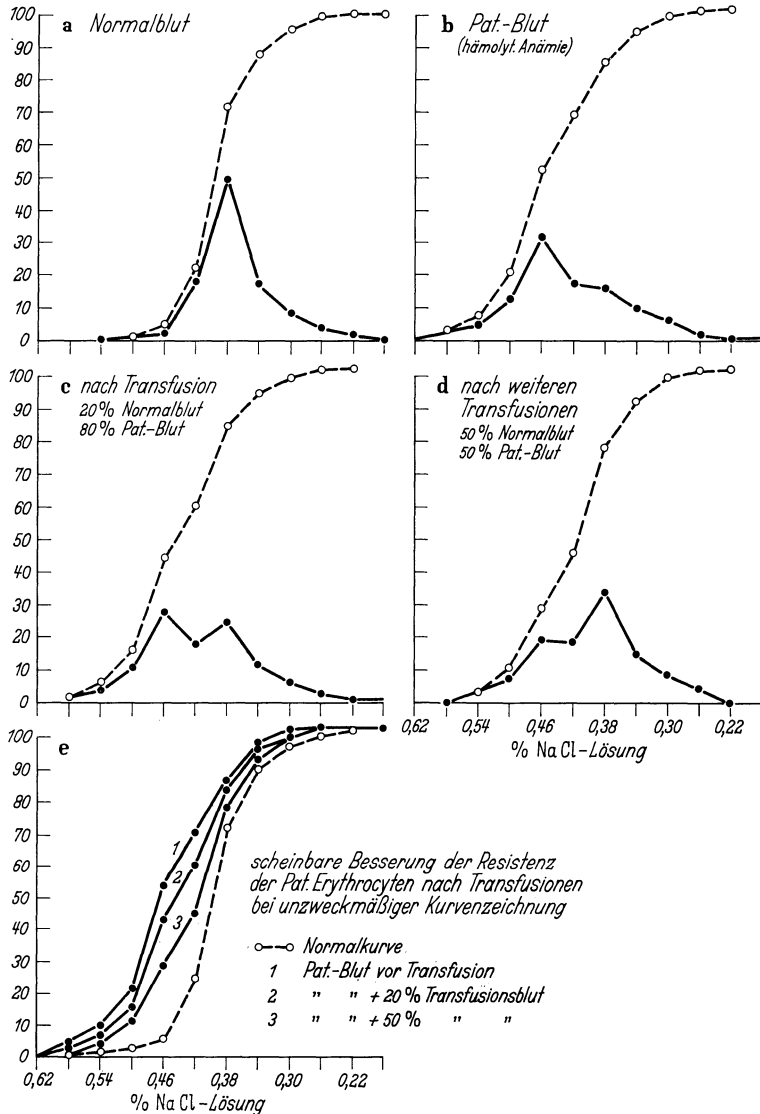


Abb. 65. Hämolysekurven (MATTHES, 1960)

in den Kühlschrank gestellt. Es resultiert bei diesem Vorgehen eine Verdünnung des Blutes von etwa 1:23. Haben die Röhren etwa 30 min im Kühlschrank gestanden, werden sie 5 min bei annähernd 1000—2000 Touren mit den üblichen Laborzentrifugen ($r = \text{etwa } 15 \text{ cm}$) zentrifugiert. Für die Ablesung werden von den Röhren mit dem komplett in aqua dest. hämolysierten Blut Verdünnungen hergestellt, so daß sich ein Vergleichsstandard mit Abstufungen von 10%, beginnend bei 100% bis 0% Hämolysen ergibt.

Das Ergebnis dieser Untersuchung sollte in eine Hämolysekurve eingetragen werden.

Für die Konstruktion der Hämolysekurve trägt man die einzelnen NaCl-Konzentrationen auf der *X*-Achse ein und kann auf der *Y*-Achse entweder die Prozentwerte der in den einzelnen Stufen erhaltenen Hämolyse (Abb. 65, gestrichelte Kurve) oder den jeweiligen Zuwachs an Prozent Hämolyse (Abb. 65, ausgezogene Kurve) einzeichnen. Letzteres Verfahren gibt einen klareren Überblick, worauf BOLTEN (1949) hingewiesen hat. Er macht besonders darauf aufmerksam, daß bei einfacher Betrachtung der Hämolyse eine verminderte Resistenz durch eine gleichzeitig bestehende Aktivität des Knochenmarkes überdeckt sein kann, da die Reticulocyten eine wesentlich größere Resistenz besitzen als die Normocyten.

Die Überlagerung zweier Zellpopulationen und die dadurch scheinbare Besserung der osmotischen Resistenz im Verlaufe einer Transfusionstherapie gibt die Abb. 65 wieder. Die Abb. 65 zeigt dabei die Möglichkeit der Fehldeutung bei Auftragung der Prozentwerte der einzelnen Konzentrationsstufen, während in den Abb. 65 b—d die erhaltenen Resistenzkurven vergleichsweise in beiden Auftragsarten gegenübergestellt sind. Es ist deutlich zu sehen, daß die 50% -Hämolyse des Patientenblutes bei Auftragung des jeweiligen Zuwachses an Prozent Hämolyse unverändert bei einer bestimmten Konzentration bleibt, also keine Besserung in den Resistenzverhältnissen des Patientenblutes eintreten.

Bei Abweichungen von der Integralkurve einer normalen Verteilung der hämolierten Blutkörperchen muß man immer an die Superposition zweier Verteilungskurven denken, wie es in den obenstehenden Beispielen (Abb. 65) dargestellt ist. Bei klar herauskommenden superponierten Integralkurven kann man durch Planimetrieren die ungefähre Prozentverteilung der verschiedenen Zellpopulationen ermitteln. WILBRANDT (1955) trägt die Resistenzkurven so auf, daß er aus der Konzentration *c* und dem Hämolysegrad *H* den Differentialquotienten dH/dc bzw. die leichter zugängliche Näherung H/c für endliche Intervalle *H* und *c* berechnet. Diese glockenförmige Differentialkurve gleicht einer Gaußschen Verteilungskurve, wobei der Scheitelpunkt die 50% -Hämolyse angibt.

Bei der ersten Auftragsart erhält man die Summationskurve Gaußscher Integrale, während die zweite eine Gaußsche Integralkurve zeigt.

Bestimmung der mechanischen Resistenz

Neben der Bestimmung der osmotischen Resistenz hat besonders in den letzten Jahren die Bestimmung der mechanischen Resistenz eine zunehmende Bedeutung gefunden. In Deutschland am meisten verbreitet ist die von MATTHES (1950) angegebene Methode, die dieser Autor 1960 wie folgt beschreibt:

Auf einer vertikal rotierenden Scheibe werden Erlenmeyerkolben von 100 ml Inhalt befestigt. Die Entfernung vom Mittelpunkt muß so gewählt sein, daß keine wesentlichen Fliehkraftwirkungen auftreten. Die Scheibe wird durch einen Motor mittels einer entsprechenden Übersetzung mit 40 Umdrehungen je Minute angetrieben. In dem Erlenmeyerkolben befinden sich zehn Glasperlen von 4 mm Durchmesser. In den Kolben kommt 2 ml durch einen 20%igen Zusatz von Natriumcitrat ungerinnbar gemachtes Blut. Bei der Drehung führen die Glasperlen durch ihre mahlende Bewegung am Boden des Kolbens eine genau dosierte mechanische Belastung auf die Erythrocyten aus. Während einer Drehzeit von 2 Std tritt unter dieser Beanspruchung eine der Resistenz in ihrer Stärke umgekehrt proportionale Hämolyse auf, die photoelektrisch gemessen wird. Selbstverständlich besteht auch die Möglichkeit, Erlenmeyerkolben anderer Größe zu verwenden,

nur muß dann durch Änderung der Glasperlenzahl oder -größe bzw. der Umdrehungsgeschwindigkeit oder -zeit dem veränderten Umfang des Bodens des benutzten Kolbens im Verhältnis zu dem in der Originalmethode verwendeten 100 ml-Kolben Rechnung getragen werden. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, ist es ferner erforderlich, daß man das zu untersuchende Blut durch Fortnahme oder Hinzufügen von Plasma bzw. einer entsprechenden Verdünnungsflüssigkeit auf einen einheitlichen Hämatokritwert bringt. Diese relativ zeitraubende und ungenaue Einstellung kann man dadurch umgehen, daß man sich eine Eichkurve für den Hämolysegrad des Normalblutes bei verschiedenen Hämatokrit- bzw. Hämoglobinwerten anfertigt.

Anhand dieser Kurve kann man den gefundenen Wert in Prozent Hämolyse für das Blut bei Normalhämatokrit umrechnen. Erlaubt das für die Hämolysebestimmung benutzte Photometer nicht die Verwendung einer Vergleichscuvette, die hier mit dem Plasma vor der Belastung anstelle des sonst üblichen aqua dest. beschickt wird, so muß man die vor Beginn der Untersuchung erfolgte Hämolyse, wie sie in den geringen Spuren fast immer nachzuweisen ist, gesondert bestimmen. Um die gefundene Hämolyse in Prozent angeben zu können, ist ferner die Bestimmung des Gesamthämoglobingehaltes des zu prüfenden Blutes erforderlich. Die mechanische Resistenz ergibt sich dann aus der Formel:

$$\text{M.R.} = \frac{V-P}{H-P} \cdot 100$$

oder bei Messung mit Plasma in der Vergleichscuvette

$$\text{M.R.} = \frac{V}{P} \cdot 100,$$

wobei V die Menge des gelösten Hämoglobins in Grammprozent im Plasma des Versuchsblutes nach der mechanischen Belastung bedeutet. P gibt das Plasma-hämoglobin vor der Untersuchung und H das Gesamthämoglobin in Grammprozent an. Durch die Multiplikation mit 100 erhält man den durch Hämolyse freigewordenen Anteil des Gesamthämoglobins der Erythrocyten in Prozent. Die Normalwerte für die Hämolyse liegen bei dieser Methode zwischen 10 und 15%.

Lichtmikroskopische Untersuchungsmethoden

Hellfeld-Durchlichtmikroskopie

Seit altersher ist die traditionellste und am meisten angewandte mikroskopische Methode zur Untersuchung der Erythrocyten die Hellfeldmethode, wobei im allgemeinen das panoptisch gefärbte Ausstrichpräparat beobachtet wird. Die Technik ist im Kapitel „Färbemethoden“ im einzelnen beschrieben. Bei der Durchmusterung hämatologischer Präparate muß auf die Beurteilung roter Blutkörperchen ganz besonders Gewicht gelegt werden. Im gefärbten Präparat finden wir oft verschiedene morphologische Veränderungen der Erythrocyten, die dem geübten Hämatologen bereits wichtige differentialdiagnostische Hinweise geben. Die normalen Erythrocyten stellen sich im gefärbten Ausstrich als annähernd gleichgroße, runde, rote, in der Mitte meist schwächer gefärbte Scheiben von 7–8 μm Durchmesser dar. Wichtig bei der Beurteilung abweichender Befunde ist die Feststellung, ob es sich um pathologische Veränderungen oder um durch Ausstrichtechnik und Färbung bedingte Artefakte handelt. Artefakte sind z. B. die sog. Stechapfelformen, die durch eine etwas verlangsamte Trocknung hervorgerufen werden, ferner eine längliche Verformung, soweit sie bei allen oder den

meisten Erythrocyten eines Blickfeldes in die gleiche Richtung auftritt, und schließlich feinste Farbniederschläge in der Mitte der Erythrocyten. Auch können Erythrocyten im Ausstrichpräparat wie Mikrosphärocyten aussehen, wenn der Objektträger mit einem oberflächenaktiven Mittel gereinigt und anschließend nicht genügend abgespült worden war.

Eine pathologische Veränderung ist die *Anisocytose*, bei der die Blutkörperchen deutlich ungleich groß sind. Über die Veränderungen des Durchmessers sowie über die Entrundung wurde in diesem Kapitel bereits bei der Durchmesserbestimmung des Erythrocyten ausführlich gesprochen. Als *Polychromasie* wird das Phänomen bezeichnet, daß einzelne Erythrocyten bei der panoptischen Färbung mehr blauen Farbstoff aufnehmen. Anisocytose und Polychromasie sind Anzeichen einer verstärkten Erythropoese. Unter *Poikilocytose* versteht man das Vorkommen stark verformter Erythrocyten, die meist Birnen-, Keulen- oder Halbmondformen aufweisen. Wenn die Poikilocyten einen oder mehrere spitze Fortsätze aufweisen, so haben sie eine entfernte Ähnlichkeit mit den Köpfchen von Kletten und werden *Klettenzellen* (Burr-cells) genannt. Eine besondere Abart dieser Veränderung ist die *Sichelzellbildung* (Drepanocytose), die bei der Sichelzellanämie vorkommt und auf Auskristallisation von Hämoglobin-S beruht. Die Sichelzellbildung kommt beim Menschen nur in sauerstoffarmem Milieu vor, kann also im normalen Ausstrich oft nicht gesehen werden. UNDRITZ schlägt vor, das zu untersuchende Blut mit Kohlensäure durchperlen zu lassen, danach mit Hayemscher Lösung zu verdünnen; später werden die Erythrocyten abzentrifugiert, wieder etwas mit Plasma vermischt und erst dann der Ausstrich angefertigt. Bei Eisenmangelanämien werden die sog. *Anulocyten* (Ringformen, Pessarformen) beobachtet. Wie der Name besagt, haben diese Zellen einen schmalen, ringförmigen Rand und eine sehr große Delle.

Die *Targetzelle* (Schießscheibenzelle, Kokardenzelle, mexikanischer Hut) unterscheiden sich von den Anulocyten dadurch, daß das Zentrum der Zelle wieder stärker angefärbt ist, wodurch ein schießscheibenähnliches Bild entsteht. Sehr vereinzelt kommen diese Zellen bei den verschiedensten Anämieformen vor, eine auffallende Häufung dieser Zellen sieht man bei der Mittelmeeranämie.

Bei Polycythämien findet man an dünnen Ausstrichstellen überall ein *mosaikförmiges* Zusammenliegen vieleckiger Erythrocyten. Gelegentlich können bei schweren Paraproteinosen Geldrollenbildungen auch im Ausstrichpräparat beobachtet werden.

In Größe und Form deutlich zu unterscheiden sind die *Megalocyten*, die bei Perniciosa und bei perniciosoähnlichen Anämien vorkommen.

Färberisch ist der Erythrocyt normalerweise völlig strukturlos, die auch im peripheren Blutbild vorkommenden Pronormocyten (Reticulocyten) können nur mittels Supravitalfärbung nachgewiesen werden, wie dies im Kapitel über Färbemethoden bereits abgehandelt worden ist. Als pathologische Innenstrukturen müssen die *basophile Tüpfelung*, die *Heinzschen Innenkörper* (beides bei toxischen Schädigungen), die *Howell-Jolly-Körperchen* (nach Splenektomie) und die *Cabotschen Ringe* aufgezählt werden. Eine besondere Art der basophilen Punktierung ist die von SCHÜFFNER beschriebene *Tüpfelung*, die aber eine mehr rötliche Färbung aufweist und bei den mit Malariaplasmodien befallenen Erythrocyten vorkommt.

Abschließend müssen noch die sog. *Halbmondkörper* erwähnt werden. Das sind ganz blasse, kaum sichtbare Gebilde, etwas größer als Erythrocyten, es handelt sich dabei um die Stromata der beim Ausstreichen mechanisch zerstörten Erythrocyten.

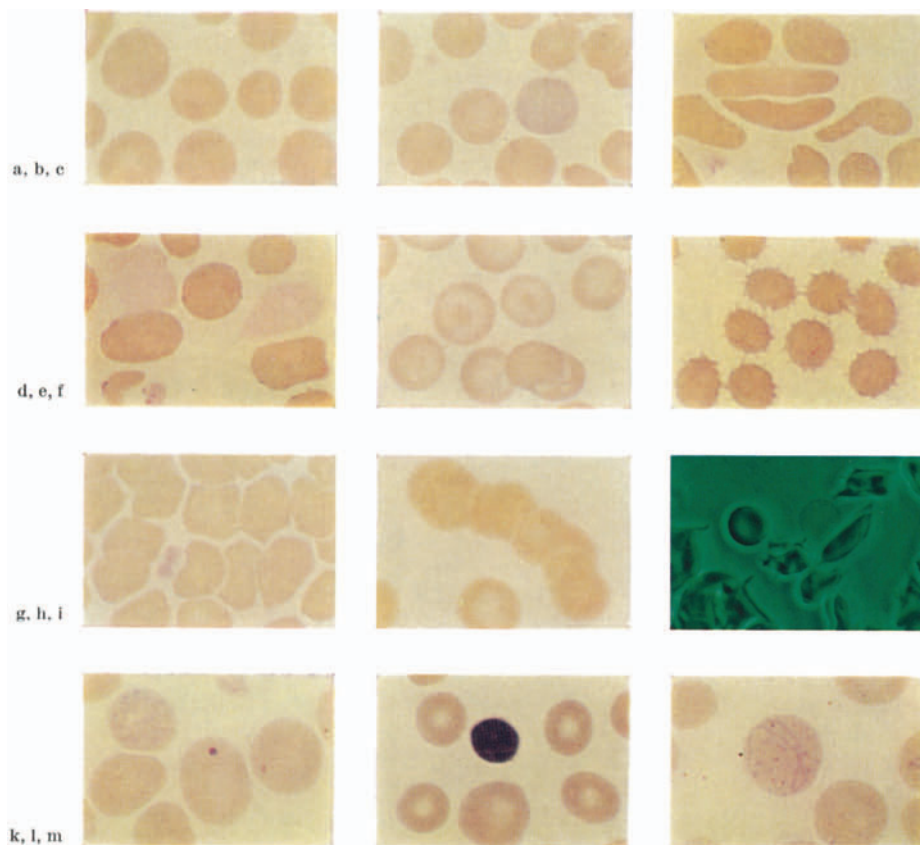


Abb. 66 a—m. Pathologische Erythrocytenformen im Blutausschlag. a Anisocytose, b Polychromasie, c Poikilocytose, d Megalocyt und Erythrocytenschatten, e Targetzellen, f Stechapfelformen, g mosaikförmige Anordnung bei der Polycythämie, h spontane Geldrollenbildung, i Sichelzellen (Phasenkontrastbild eines Nativpräparates), k Jollykörper und basophile Punktierung, l Erythroblastenkern, m Cabotsche Ringe in basophil punktierten Erythrocyten. (Vergr. 1000 ×)

Andere Untersuchungsformen

Die Untersuchung der Erythrocyten im Dunkelfeld, im Auflichtmikroskop (Reflexmikroskopie), im Polarisationsmikroskop sowie mit dem Phasenkontrastverfahren bringt gegenüber der üblichen Hellfeld-Durchlichtmikroskopie keinerlei wesentliche Vorteile, so daß diese Betrachtungsformen für die Untersuchung der Erythrocytenmorphologie zur Zeit keine wesentliche Bedeutung haben. Die Fluoreszenzmikroskopie hat nur sofern eine Bedeutung, daß bei geeigneter Konzentration der Fluoreszenzfarbstoffe die Leukocyten gut fluorescieren, die Erythrocyten aber überhaupt nicht. Dieser Umstand ist neuerdings dazu ausgenützt worden, in Blutkörperchenzählautomaten die Leukocyten zu zählen, ohne vorher die Erythrocyten durch Hämolyse zerstören zu müssen. Die interferenzmikroskopische Untersuchung der Erythrocyten kann zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes (Trockensubstanzgehalt) der Erythrocyten verwendet werden, aber diesbezüglich konnten in der Literatur keine wesentlichen Ergebnisse aufgefunden werden.

Elektronenmikroskopische Untersuchungsmethoden

Während die lichtmikroskopische Untersuchung in letzter Zeit mit keinen wesentlichen neueren Befunden zur Erforschung der Erythrocytenstruktur beitragen konnte, sind die elektronenoptischen Untersuchungen, wie dies ja auch zu erwarten war, viel erfolgreicher gewesen. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen ist heute die Struktur der äußeren Erythrocytenmembran weitgehend bekannt. Die Erythrocytenmembran scheint danach etwa 60 Å dick zu sein. Zur Untersuchung der Erythrocytenmembran wird entweder so vorgegangen, daß man ausgewaschene Erythrocytenstromata direkt oder bedampft im Elektronenmikroskop untersucht oder auch nach einer Einbettung im Dünnschnitt. Es werden dabei oft fingerabdruckähnliche, etwas verwaschene Strukturen gefunden, die aber aller Wahrscheinlichkeit nach auf unausgewaschene Hämoglobinreste zurückzuführen sind. Die wichtigsten Ergebnisse oder elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Erythrocytenmembran sind jene, die Veränderungen während der Hämolyse betrafen. Bekanntlich wurde früher immer angenommen, daß die Erythrocytenmembran bei der Hämolyse infolge des sich steigernden osmotischen Druckes mechanisch zerreißt und der Inhalt der Erythrocyten austritt. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen haben jedoch bewiesen, daß zumindest bei der osmotischen Hämolyse die Erythrocytenmembran nicht zerrissen wird, sondern nur eine Dehnung erleidet und bei dieser Dehnung, die durchaus reversibel ist, porenähnliche Lücken in der Erythrocytenmembran entstehen, welche genügend groß sind, um Eiweißmoleküle (insbesondere auch Hämoglobinmoleküle) durchtreten zu lassen. LEWIS u. Mitarb. empfehlen, für die Untersuchung die Erythrocyten in gepufferter (pH 7,4) isotonischer Kochsalzlösung mehrfach zu waschen und danach in ebenso gepufferte hypotonische Kochsalzlösung zu bringen, bis der gewünschte Hämolysegrad erreicht wird. Danach werden die Erythrocytenstromata abzentrifugiert, wieder mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen und in Osmiumsäure fixiert. Anschließend waschen die Autoren die Osmiumsäure mit destilliertem Wasser aus, zentrifugieren und tropfen das Zentrifugat direkt auf befilmte Trägernetze.

Eingehende Untersuchungen der Erythrocytenmembran bzw. der äußeren Erythrocytenoberfläche sind besonders durch die Abdrucktechnik möglich geworden. Diesbezügliche Befunde werden von BESSIS (1960) wie folgt zusammengefaßt: „Man hat, um die Oberfläche der Erythrocyten zu untersuchen, die Abdruckmethode (BESSIS und BRICKA, 1950) angewendet, die es gestattet, die Oberfläche so zu sehen, wie sie sich auf einem Abdruckfilm darstellt. Die Präparate sind nicht fixiert, die Zellen werden lediglich dehydriert. Dadurch wird ihre Morphologie nur wenig verändert. Die durch chemische Stoffe verursachten Artefakte werden so ausgeschlossen (Abb. 67).

Die Elektronenmikroskopie läßt erkennen, daß die Oberfläche der roten Blutkörperchen oft Unregelmäßigkeiten aufweist, welche die mehr oder weniger runde Form von Krateröffnungen haben und deren Inneres wesentlich mehr modelliert ist als die übrige Zelloberfläche. Der mittlere Durchmesser dieser Gebilde scheint in der Größenordnung von etwa 500—1000 Å zu liegen. Man kann sie bei allen Erythrocyten erkennen, Zahl und Durchmesser sind jedoch bei den einzelnen verschieden. Manchmal sind es drei oder vier mit einem Durchmesser von 0,5—1 µm dann wieder sind sie kleiner (0,05—0,2 µm) und dafür zahlreicher, so etwa bis zu 50 Stück. Zahl und Ausmaß scheinen im umgekehrten Verhältnis zu stehen so daß bei normalem Blut die resultierende Oberfläche ungefähr in derselben Größenordnung liegt.

Unter bestimmten experimentellen Bedingungen (Lagerung des Blutes 3 oder 4 Tage lang, Erwärmung auf etwa 55° C, Suspendierung in physiologischer Koch-

salzlösung über einige Stunden) nehmen Ausmaß und Zahl der Krater deutlich zu. Man kann bei Präparaten mit veränderten roten Blutkörperchen Myelinfiguren beobachten, die man auch Hömatexodien nennt. Zwischen den Kraterbildungen und den Myelinstrukturen bestehen enge Zusammenhänge (BESSIS et al., 1951, 1952, 1952):

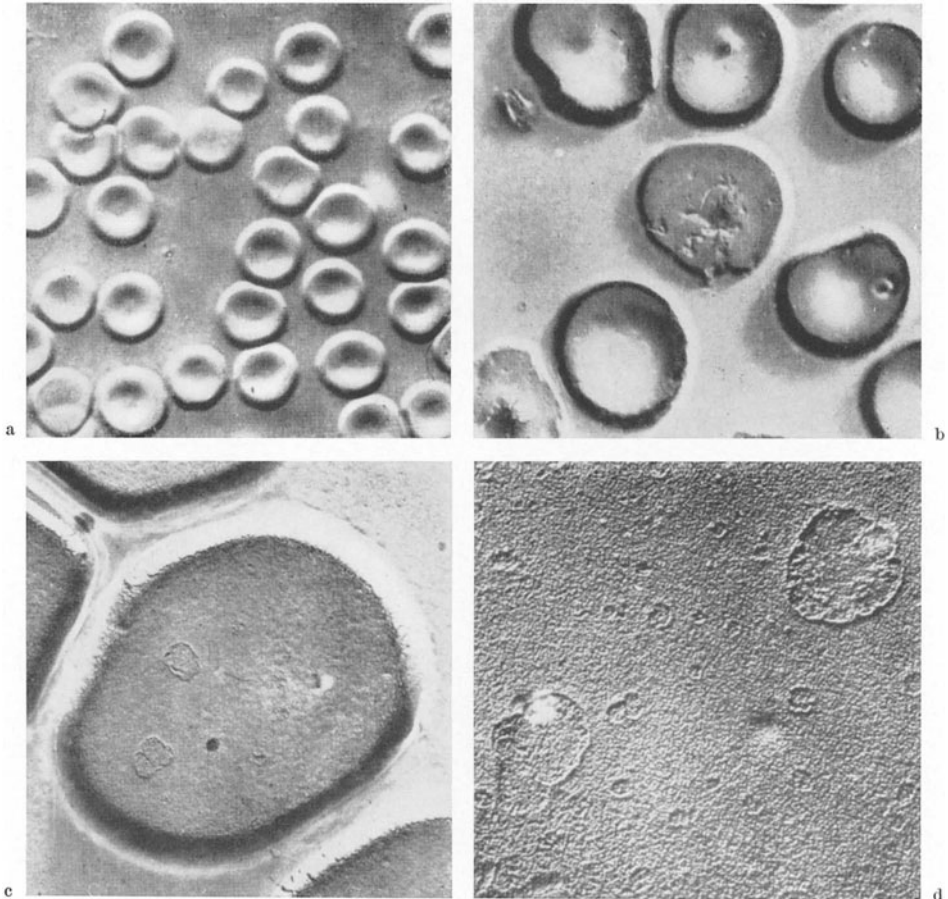


Abb. 67 a—d. Oberflächenabdrücke von Erythrocyten. a Im Lichtmikroskop, b im Elektronenmikroskop 5 000fach vergrößert, c 8000fach vergrößert. Man unterscheidet kraterförmige Gebilde. d 50 000fach vergrößert (nach BESSIS 1960)

1. Die experimentellen Bedingungen und insbesondere die hämolytischen Substanzen, welche zu einer stärkeren Ausprägung der Krater führen, sind dieselben, die das Entstehen der Myelinfiguren begünstigen.

2. Die Kontrasttechnik zeigt, daß die Myelinstrukturen und die Krater Hohlförmigkeiten sind. In beiden Fällen ist dieses Phänomen auf eine Dehydratation von Lipoidkomplexen zurückzuführen, die stark wasserhaltig sind.

3. Die gewöhnliche Form der Myelinfiguren ist die eines an den Enden verdickten Filaments. Die noch an den Blutkörperchen hängenden Myelinfilamente zeigen im allgemeinen an dem Ende, welches am Blutkörperchen hängt, eine stärkere Auftreibung. Dieser entsprechen nach Form und Größe die angrenzenden Krater.

4. Auch zwischen agglutinierten Blutkörperchen bilden sich derartige Fäden aus. Während der Agglutination sind diese Fäden von der gleichen Beschaffenheit wie die Myelingegebilde und stammen wie diese von den Kratern ab (BESSIS et al., 1951).“

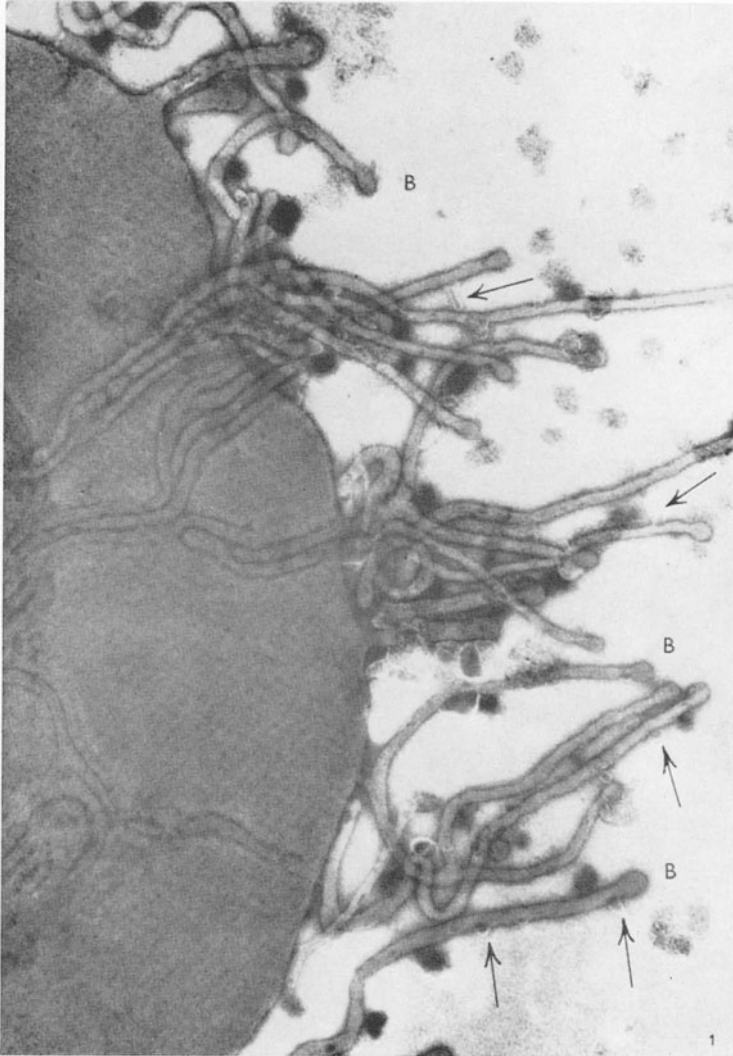


Abb. 68. Stromatolytische Gebilde auf der Erythrocytenoberfläche (BAKER 1964)

Eine andere interessante Oberflächenstruktur der Erythrocyten ist von BAKER (1964) eingehend untersucht und beschrieben worden. Es handelt sich dabei um bizarre, wurmförmige, lange Ausstülpungen an der Erythrocytenoberfläche, die im Laufe der osmotischen Hämolyse auftreten. Diese sog. stromatolytischen Formen werden von einer 40—60 Å dicken Membran umschlossen, die Ausstülpungen selbst sind 0,2—1 µm dick und können mehrere µm lang sein. Eine Erklärung über die Entstehung und Funktion dieser Formen kann zur Zeit noch nicht gegeben werden (Abb. 68).

Während wir heute bei der Erythrocytenmembran — deren Existenz seit 1½ Jahrhunderten nachgewiesen ist und dennoch bis zur letzten Zeit immer wieder bezweifelt wurde — über gesicherte Kenntnisse verfügen, ist die Frage der Innenstruktur immer noch nicht geklärt. Es ist bis heute nicht gelungen, im reifen, kernlosen menschlichen Erythrocyten eine Innenstruktur nachzuweisen. Eindeutige

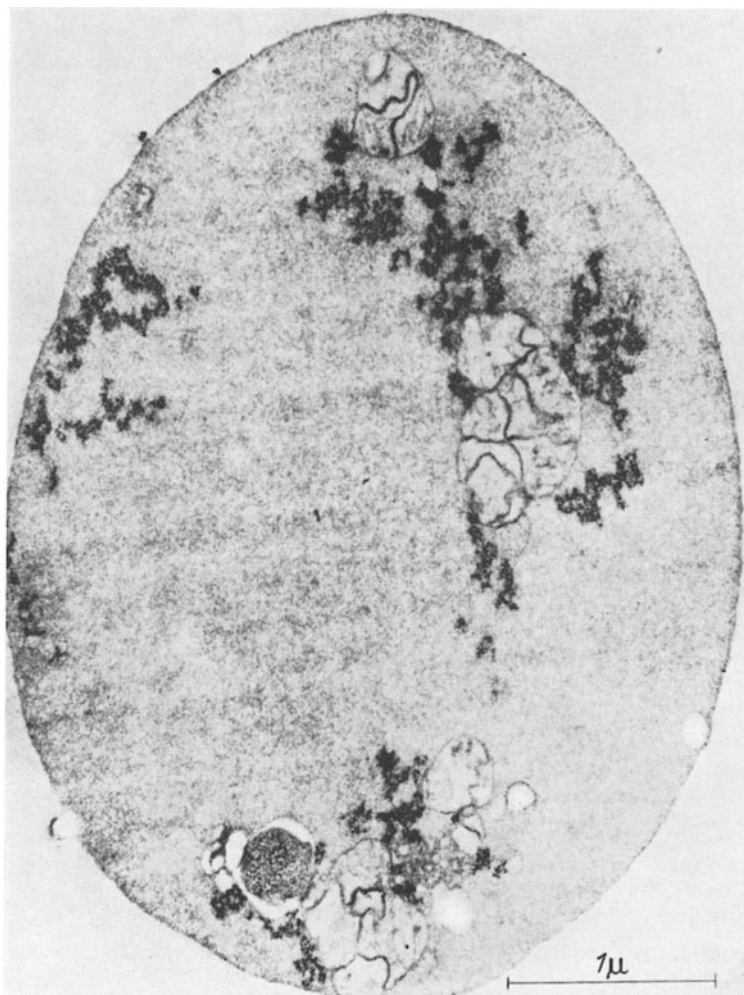


Abb. 69. Dünnschnittaufnahme eines Reticulocyten (STAUBESAND, 1965)

Ergebnisse liegen aber über den Feinbau der Pronormocyten (Reticulocyten) vor. Diese enthalten Mitochondrien unterschiedlichen Erhaltungsgrades und Vacuolen, die wahrscheinlich Reste des endoplasmatischen Reticulums bzw. des Golgiapparates sind (Abb. 69). Außerdem findet man Ferritinpartikel (zum Teil auch in kleinen Vacuolen gelegen) sowie zahlreiche Polyribosomen. Die lichtmikroskopisch durch Supravitalfärbung mit Brillantkresylblau angefärbten „Substantia granulofilamentosa“ sind sicherlich ein Kunstprodukt, das nicht aus Filamenten, sondern aus einzelnen Granula besteht, die sich aufreihen können und dadurch ein Netz bilden. Das elektronenmikroskopische Bild läßt keinen Zweifel daran, daß die ent-

scheidenden Bausteine der Substantia granulo-filamentosa in der elektronenoptischen Größenordnung die Polyribosomen sind. Welche Kräfte sie zur Zusammenballung bringen, ist zur Zeit noch unklar. Die erwähnten Mitochondrien und Vacuolen könnten im lichtmikroskopischen Präparat als Anteile der Substantia granulo-filamentosa in Erscheinung treten, lassen sich im elektronenmikroskopischen Bild aber eindeutig von den Niederschlägen der eigentlichen Substanz abgrenzen (STAUBESAND, WITTEKIND und RENTSCH, Z. Zellforsch. 1966).

Neuere Untersuchungen von JENSEN u. Mitarb. (BLOOD, 1965) konnten auch die unter pathologischen Umständen auftretende basophile Tüpfelung klären. Es handelt sich dabei wahrscheinlich immer um Ribosomen.

Literatur

- Adair, G. S.:** Osmotic pressure. In: Alexander and Block's, Analytical methods of protein chemistry, vol. 3, pp. 24—56. Oxford: Pergamon 1961. — **Adams, C. D.:** Electron microscopic and X-ray diffraction observations on centrifuged human red cell ghosts. (Abstract.) J. appl. Phys. **31**, 1845 (1960). ~ The ultrastructure of the human red cell ghost. (Abstract.) Anat. Rec. **136**, 151—152 (1960). — **Adams, G. C.:** A technique for the measurement of erythrocyte diameters. J. clin. Path. **7**, 76—78 (1954). — **Agranoff, B. W., B. L. Vallee, and D. F. Waugh:** Centrifugal subfractionation of polymorphonuclear leucocytes, lymphocytes and erythrocytes. Blood **9**, 804—809 (1954). — **Akeroyd, J. H., M. B. Gibbs, S. Vivano, and R. W. Robinette:** On counting leucocytes by electronic means. Amer. J. clin. Path. **31**, 188—192 (1959). — **Albers, D.:** Standardisierung der Hämoglobinbestimmung. Ärztl. Lab. **5**, 172—176 (1959). — **Aleksandrowicz, J.:** Elektronenmikroskopie in der Hämatologie. Acta med. Acad. Sci. hung. **6** (Suppl. 1), 135—141 (1954). — **Aleksandrowicz, J., J. Bliokarski, and A. Feltynowski:** Contribution à la morphologie des granulocytes examinés au moyen du microscope électronique. Acta haematol. (Basel) **9**, 307—310 (1953). ~ Les états fonctionnels des plaquettes sanguines, au microscope électronique. Sang **25** (1), 67—70 (1954). — **Alexander, P., and Z. B. Mikulski:** Differences in the response of leukaemic cells in tissue. Biochem. Pharmacol. **5**, 275—282 (FA) (1961). — **Allen, D. W., and J. H. Jandl:** Oxidative hemolysis and precipitation of hemoglobin. II. Role of thiols in oxidant drug action. J. clin. Invest. **40**, 454—475 (1961). — **Allen, D. W., W. A. Schroeder, and J. Balog:** Observations on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin. A study of the effects of crystallisation and chromatography on the heterogeneity and isoleucine content. J. Amer. chem. Soc. **80**, 1628—1634 (1958). — **Allen, J. D., and A. V. Gudaitis:** Diluting fluids for electronic counting leucocytes. Amer. clin. Path. **33**, 553—556 (1959). — **Allinson, A. C.:** Recent developments in the study of inherited anemias. Eugen. Quart. **6**, 155ff. (1959). — **Ambs, E.:** Die Hämoglobin-Verteilungskurve bei experimentellen Anämien. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Reticulocyten. Acta haemat. (Basel) **18**, 336—345 (1957). ~ Durchmesser und Hämoglobingehalt der Erythrocyten. Acta haemat. (Basel) **15**, 302—313 (1956). — **Anders, G.:** Untersuchungen zur Beeinflussung der osmotischen Resistenz der Erythrocyten und der Urethanhämolyse durch Rutin. Z. ges. inn. Med. **10**, 1081 (1956). — **Anderson, E. P.:** An electronic red and white blood cell counter. Canad. J. med. Technol. **7** (1961). — **Anderson, H. M., and J. C. Turner:** Relation of hemoglobin to the red cell membrane. J. clin. Invest. **39**, 1—7 (1960). — **Antonini, E., J. Wyman jr., A. Rossi-Fanelli, and A. Caputo:** Studies on the relations between molecular and functional properties of haemoglobin. J. biol. Chem. **237**, 2773—2777 (1962). — **Ardy, R., et J. Storek:** Microdosage colorimétrique de l'hémoglobine. Ann. pharm. franç. **9**, 171 (1951). — **Arends, T.:** El uso del microhematocrito como procedimiento para seleccionar donantes de sangre. Proc. VII. Congr. int. Soc. Blood Transfus., p. 360—365, Rome 1958. — **Arthurton, M.:** Haemoglobin levels in premature infants. Arch. Dis. Childh. **29**, 38 (1954). — **Aschkenasy, A., L. Delmonte et A. Eyquem:** Mise en évidence d'une hémolyse anormale dans la carence expérimentale en protéines. C.R. Soc. Biol. (Paris) **150**, 474—476 (1956). — **Avdeev, G. I.:** Ultrastructure of human erythrocytes. [In Russian.] Bjull. èksp. Biol. Med. **48**, 125—126 (1959). — **Avi-Dor, Y., E. Condrea et A. de Vries:** Production enzymatique dans le plasma humain d'un facteur provoquant la sphéricité des hématies, par le venin de Vipera palestinae. Rev. franç. Étud. chir. biol. **5**, 819—821 (1960).
- Baker, R. F.:** The fine structure of stromalytic forms produced by osmotic hemolysis of red blood cells. J. Ultrastruct. Res. **11**, 494—507 (1964). — **Bakos, Gy.:** Praktische Probleme der Erythrocytenzählung, der Hämoglobin- und Hämatokritbestimmungen. Orv. Hetil. **104**, 2474—2476 (1963). ~ Light absorption of haemoglobin derivatives. Haemat. hung. **4**, No 2 (1964). ~ Vergleichende Untersuchungen mit dem ersten ungarischen Cyanhaemiglobin Standard. Orv. Hetil. **105**, 1131 (1964). — **Bancroft, H.:** Introduction à la biostatistica.

Eudeba, Buenos Aires 1961. — **Barbinov, V. A.:** Simplified method for the determination of the relations between erythrocytes and plasma in the blood. *Lab. Delo* 8, 16—17 (1962). — **Barbosa, N. de:** Emergency hematocrit. *Rev. bras. Med.* 9, 514 (1952). ~ Contribution of the differential counting of leucocytes. *J. Rev. bras. Med.* 67, 702—704 (1962). — **Bariety, M.,** et **R. Bonniot:** *Seméiologie*, p. 19—22. Paris: Masson & Cie. 1963. — **Baufeld, H.:** Erfahrungen mit der elektronischen Erythrozytenzählung. *Z. ges. inn. Med.* 19, 501—504 (1964). — **Baumgarten, E.:** Zählung von Blutkörperchen im Blut, Knochenmarkbröckel und Harnsediment mit einem elektronischen Gerät. Diss. Freiburg 1963. — **Baumgarten, K.:** Hämoglobin-Grenzwertbestimmung in Gynäkologie und Geburtshilfe. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* 21, 993—1000 (1961). — **Bayer, M.:** KMnO_4 -Fixierung von Blutelementen. In 4th Int. Conf. on Electron Micros., Berlin, 9/58. *Proc.* 2, 29—32. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960. ~ Lipoide des Erythrocyten im elektronenoptischen Bild. In: European Regional Conf. on Electron Micros., Delft, 1960. *Proc.* 2, 726—729. Delft: De Nederlandse Vereniging voor Electronenmicroscopie 1961. — **Bayer, M. E.:** Elektronenoptische Untersuchungen an der Membran des Erythrocyten. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 270, 323—331 (1960). — **Beams, H. W.,** and **E. Anderson:** Fine structure of the so-called segregation apparatus in erythrocytes of *Necturus*. *Exp. Cell Res.* 20, 604—607 (1960). — **Beck, Ch., H.-Ch. Mäurer** u. **G. Warnecke:** Blutzellzählung mit automatischen Geräten (Coulter Counter). *Acta Medico-techn.* (Sonderdruck) 11, 237—239; 294—298 (1963). — **Begemann, H.:** Blutkörperchenzählung und Hämoglobinbestimmung mit Zitratblut. *Dtsch. med. Wschr.* 87, 462 (1962). — **Behnken, L.,** u. **K. G. v. Boroviczény:** Eine halbautomatische Methode zur Bestimmung der Price-Jones-Kurven. *Schweiz. med. Wschr.* 93, 1509—1511 (1963). — **Bell, W. N.,** and **C. Slater:** Low particle saline diluent for use in cell counters. *Amer. J. clin. Path.* 38, 171—172 (1962). — **Benedek, E.:** The determination of haemoglobin and the standardization of measurements in the form of haemiglobincyanide. *Haemat. hung.* 3, 177—194 (1963). ~ Über die Standardisierung der Hämoglobinbestimmungsmethode. Vortrag auf der II. Ungar. Hämatologentag in Pécs 1963. ~ Die Kritik der Hämoglobinbestimmungen und die Erfolge der Standardisation. Vortrag auf dem Laboratorischen Kongr. in Budapest 1963. ~ The transformation of haemoglobin to cyanhaemoglobin. *Haemat. hung.* 4, No 2 (1964). — **Bensons, E. S., B. W. Brown jr.,** and **L. M. Gonyea:** Quality control methods in blood cell enumerations: white blood cell count. *Postgrad. Med.* 32, 17—27 (1962). — **Benzadrón, J.,** and **J. J. Morri:** Simplified method for determination of blood proteins, hematocrit and hemoglobin. *Bol. Soc. cirurg. Rosario* 17, 85—96 (1950). — **Berg, R. H.:** Three dimensional electric sizing of sub-sieve particles at 6000 per second. *Amer. Soc. Test. Mater., Boston*, 27. 6. 1958. — **Berger, H., C. Zuber,** and **P. Miescher:** The reduction of methaemoglobin to haemoglobin in the ageing red cell. *Gerontologia (Basel)* 4, 220—227 (1960). — **Bergmann, W.,** u. **A. Knoop:** Über das Granulum des Eosinophilen. *Z. Zellforsch.* 48, 130—136 (1958). — **Berndt, H.:** Einfluß von Herz- und Lungenerkrankungen auf das Volumen und die Farbstoffkonzentration der Erythrocyten. *Acta med. scand.* 165, 41—47 (1959). ~ Die Bedeutung der Erythrocytengröße für die Klinik. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* 14, 1188—1192 (1959). — **Bernhard, W.:** Electron microscope studies on thin sections of human erythrocytes. *Nature (Lond.)* 170, 359—360 (1952). — **Bernhard, W., F. Haguenu** et **R. Lepius:** Coupes ultrafines d'éléments sanguins et de ganglions lymphatiques étudiées au microscope électronique. *Rev. Hémat.* 10, 267—282 (1955). — **Bernhard, W., R. Leplus** et **P. E. Elbers:** Étude de coupes ultrafines de globules rouges humains au microscope électronique. *Acta haematol. (Basel)* 11 (5), 265—279 (1954). — **Bessis, M.:** Studies in electron microscopy of blood cells. *Blood* 5, 1083—1098 (1950). ~ Microscopie de phase et microscopie électronique des cellules du sang humain. In: 3rd Congr. Soc. Int. Europ. Hematol. Rome. *Proc.* 1, 236—239 (1951). ~ Applications à l'hématologie des techniques de cytologie générale (Ombrage, contraste de phase, microscopie électronique, cytochimie, ultra-centrifugation). *Sang* 3, 1—4 (1952). ~ Microscopie électronique des cellules du sang. In: *Encycl. Méd. Chir. Sang.* 3, 13000 C 70, 1—9 (1952). ~ Microscopie électronique des cellules du sang. *Gaz. Sanit.* 24 (9), 451—454 (1953). ~ Phase contrast microscopy and electron microscopy applied to the blood cells. *Blood* 10 (3), 272—286 (1955). ~ La moelle osseuse humaine examinées au microscope électronique par la technique des coupes. *Sem. Hôp. Paris* 32 (7), 1—17 (1956). ~ Sidérocytes, sidérobastes et microscopie électronique. *Rev. Hémat.* 11, 474—476 (1956). ~ L'apport de la microscopie électronique à l'étude des anémies. *Brux.-méd.* 37, 1321—1336 (1957). ~ Microscopie de phase et microscopie électronique des cellules du sang. *Biol. méd. (Paris)* 46, 239—288 (1957). ~ Electron microscopic study of the iron cycle at the normal state and in hypochromic, hypersideremic anemias. In: 7th Congr. Int. Soc. Hematol. Rome. *Proc.* 1, 438—445 (1958). ~ Étude au microscope électronique de la destinée d'une molécule de la ferritine et le cycle hémoglobinique du fer. *Bull. Acad. nat. méd. (Paris)* 142, 429—442 (1958). ~ Le cycle du fer vu au microscope électronique à l'état normal et dans certaines anémies. *Rev. Prat. (Paris)* 9, 1543—1548 (1959). — Étude au microscope électronique du cycle du fer à l'état normal et dans les anémies hypochromes hypersiderémiques. In: 7th Int. Congr. Int. Soc. Hematol.,

Rome 9/7-13/58. Proc. 1, 348—445. Rome: Il Pensiero Scientifico 1959. ~ Elektronenmikroskopie der Blutzellen. In: L. Heilmeyer u. A. Hittmair, Handbuch der gesamten Hämatologie, Bd. 2, S. 31—65. München: Urban & Schwarzenberg 1960. — **Bessis, M., D. Alagille et J. Breton-Gorius:** Particularités des érythroblastes et des érythrocytes dans la maladie de Cooley. Etude au microscope électronique. Rev. Hémat. 13, 538—551 (1958). — **Bessis, M., et J. Breton-Gorius:** Sur la strie bordante des érythrocytes des Amphibiens et sur de prétendus "anneaux de Cabot". C. R. Soc. Biol. (Paris) 147, 1134—1136 (1953). ~ Disposition particulière du réticulum endoplasmique des érythroblastes. Etude au microscope électronique. C. R. Acad. Sci. (Paris) 243, 1356—1357 (1956). ~ Incorporation de granules ferrugineux par les érythroblastes, observée au microscope électronique. C. R. Soc. Biol. (Paris) 150, 1903 (1956). ~ Accumulation de granules ferrugineux dans les mitochondries des érythroblastes. C. R. Acad. Sci. (Paris) 244, 2846—2847 (1957). ~ Le cycle du fer dans l'organisme révélé par le microscope électronique. Path. et Biol. Sem. Hôp. 5, 2173—2194 (1957). ~ Étude au microscope électronique du sang et des organes hémapoïétiques dans le saturnisme expérimental. (Cycle du fer figuré). Path. et Biol. Sem. Hôp. 4, 411—428 (1957). ~ Granules ferrugineux les cellules macrophages et les érythrocytes au cours du saturnisme expérimental. Examen du microscope électronique. C. R. Soc. Biol. (Paris) 151, 275 (1957). ~ Étude au microscope électronique des granulations ferrugineuses des érythrocytes normaux et pathologiques. Anémies hémolytiques, hémoglobinoopathies. Saturnisme. Rev. Hémat. 12 (1), 43—63 (1957). ~ Iron particles in normal erythroblasts and normal and pathological erythrocytes. J. biophys. biochem. Cytol. 3, 503—504 (1957). ~ Trois aspects du fer dans des coupes d'organes examinées au microscope électronique (ferritine et dérivé dans les cellules intestinales, les érythroblastes et les cellules réticulaires). C. R. Acad. Sci. (Paris) 245, 1271—1272 (1957). ~ Aspect au microscope électronique des corps de Jolly des mégalo-blastes. Bull. micr. appl. 9 (5/6), 99—100 (1959). ~ Différents aspects du fer dans l'organisme. I. Ferritine et micelles ferrugineuses. II. Différentes formes de l'hémosiderine. J. biophys. biochem. Cytol. 6, 231—236, 237—240 (1959). ~ Ferritin and ferruginous micelles in normal erythroblasts and hypochromic hypersideremic anemias. Blood 14, 423—432 (1959). ~ Aspects de la molécule de ferritine et de ferritine et l'apoferritine au microscope électronique. C. R. Acad. Sci. (Paris) 250, 1360—1362 (1960). ~ Diapédèse des réticulocytes et des érythroblastes. C. R. Acad. Sci. (Paris) 251, 465—467 (1960). — **Bessis, M., J. Breton-Gorius et N. Barat-Savart:** Nouvelles observations sur l'ilot érythroblastique et la rhophécocytose de la ferritine. Rev. Hémat. 14, 165—197 (1959). — **Bessis, M., J. Breton-Gorius, J.-C. Dreyfus et G. Schapira:** Aspect au microscope électronique de l'apoferritine plus ou moins chargée en fer; comparaison des images observées dans les cellules avec celles des substances préparées par voie chimique. Rev. franç. Étud. clin. biol. 3, 981—983 (1958). — **Bessis, M., J. Breton-Gorius et J.-P. Thiery:** Centriole, corps de golgi et aster des leucocytes. Étude au microscope électronique. Rev. Hémat. 13, 363—386 (1958). — **Bessis, M., et M. Brieka:** Études au microscope électronique sur l'hémolyse, l'agglutination, la forme et la structure des globules rouges. Rev. Hémat. 5, 396—427 (1950). — **Bessis, M., M. Brieka et J. Breton-Gorius:** Examen de la surface des érythrocytes falciformes au microscope électronique. C. R. Acad. Sci. (Paris) 235, 1433—1434 (1952). ~ Étude sur la transformation disque-sphère des globules rouges humains. 1st Int. Congr. Electron Micros., Paris, 9/50. Proc. 2, 650—655. Paris: Ed. Rev. Opique 1953. ~ Différents aspects de la surface des érythrocytes falciformes observés au microscope électronique. Rev. Hémat. 8, 222—229 (1953). — **Bessis, M., M. Brieka, J. Breton-Gorius, and J. Tabuis:** New observations on sickle cells with special reference to their agglutinability. Blood 9 (1), 39—45 (1954). — **Bessis, M., M. Brieka et A. Dupuy:** Examen au microscope électronique de la surface des globules rouges. Origine des hématexodies. C. R. Soc. Biol. (Paris) 145, 1509 (1951). — **Bessis, M., G. Nomarski, J. P. Thiery et J. Breton-Gorius:** Étude sur la calcification des globules rouges au microscope polarisant et du microscope électronique. II. L'intérieur du globule. Comparaison avec les cristaux intra-globulaires. Rev. Hémat. 13, 249—270 (1958). — **Bessis, M., et J. P. Thiery:** Les cellules du sang vues au microscope à interférences (système Nomarski). Rev. Hémat. 12, 518—528 (1957). — **Betke, K.:** Der menschliche rote Blutfarbstoff. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954. — **Betke, K., A. Baltz, E. Kleihauer u. P. Scholz:** Methämoglobingehalt, Methämoglobinreduktion und Sauerstoffverbrauch in jungen und alten Erythrozyten. Blut 6, 203—212 (1960). — **Betke, K., J. Greinacher u. E. Leber:** Über die Bindung von Hämatin an Plasmaeiweiß. Biochem. Z. 326, 1—8 (1954). — **Betke, K., u. I. Rodig:** Zur Frage des Volumens der vitalgranulierten Erythrocyten (Reticulozyten). Klin. Wschr. 1955, 911. ~ Erfahrungen mit dem Elektro-Hämoskop. Ärztl. Lab. 2, 95—101 (1956). — **Betke, K., u. W. Savelsberg:** Stufenphotometrische Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämiglobin. Biochem. Z. 320, 431—439 (1950). — **Bentler, E.:** The red cell indices in the diagnosis of iron-deficiency anemia. Ann. intern. Med. 50, 313—322 (1959). — **Bianchini, P.:** La forma degli eritrociti. Studio per una descrizione matematica. Haematologica 43, 135—147 (1958). — **Bingham, J. R.:** The macrocytosis of hepatic disease, thin, thick and target macrocytosis. Canad. med. Ass. J. 85,

178—185 (1961). — **Bingold, K.**, u. **W. Stich**: Fortschritte auf dem Gebiet des Blutfarbstoffes. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.*, N.F. **5**, 707—775 (1954) (Lit.). — **Blades, A. N.**, and **H. C. Flavell**: Observations on the use of the Coulter model D electronic cell counter in clinical haematology. *J. clin. Path.* **16**, 158—163 (1963). — **Blades, A. N.**, et al.: Absolute red cell values and indices. *J. med. Lab. Technol.* **21**, 230—235 (1964). — **Bloch, E. H.**, and **A. Powell**: Electron microscopy of human erythrocytes from health and disease. (Abstract of demonstration No. 011, Am. Assoc. of Anatomists, 65th meeting, March 1952). *Anat. Rec.* **112**, 442 (1952). ~ Electron microscopy of human erythrocytes from healthy and sludged blood. *Science* **115**, 46—47 (1952). — **Bloch, E. H.**, **A. Powell**, **H. T. Meryman**, **L. Warner**, and **E. Kafig**: A comparison of the surfaces of human erythrocytes from health and disease by in vivo light microscopy and in vitro electron microscopy. *Angiology* **7**, 479—494 (1956). — **Boardman, N. K.**, and **S. M. Partridge**: Separation of neutral proteins on ion exchange resins. *Biochem. J.* **59**, 543—552 (1955). — **Bock, H. E.**: Die halometrische Erythrozytendurchmesserbestimmung nach Bock. *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 691f. (1961). — **Boerema, I.**, **N. G. Meyne**, **W. H. Brummelkamp**, **S. Bouma**, **M. H. Mensch**, **F. Kamermans**, **N. Hanf**, **M. Stern**, and **W. van Aalderen**: Life without blood. *Arch. chir. neerl.* **11**, 70—84 (1959). — **Booth, K.**, and **P. E. Thompson Hancock**: A study of the total and differential leucocyte counts and haemoglobin levels in a group of normal adults over a period of two years. *Brit. J. Haemat.* **7**, 9—20 (1961). — **Boros, J. v.**, **B. v. Boros** u. **E. Fabian**: Ein Fall von spontaner Heinzkörperchenbildung. *Die H. K. im Phasenkontrastbild. Medizinische* **1954**, 1208—1209. — **Boroviczény, Ch. G. de** (ed.): Erythrocytometric methods and their standardization. *Bibl. haemat.* **18** (1964). ~ Standardization, documentation and normal values in haematology. *Bibl. Haemat. (Basel)* **21** (1965). ~ Standardization in haematology. III. *Bibl. Haemat. (Basel)* **24** (1966). — **Boroviczény, K. G. v.**: Der durchschnittliche Hämoglobinanteil des Erythrocyten. *Proc. VII., Congr. Europ. Soc. Haemat., London 1959*, II, S. 159—163. *Basel u. New York: S. Karger 1959*. ~ Hämoglobinbestimmung und Bewertung der Resultate. *Dtsch. med. Wschr.* **85**, 1943f. (1960). ~ Erfahrungen mit Blutkörperchenzählgeräten. *Ärztl. Lab.* **8**, 161 (1962). ~ Technische Aspekte der Standardhämoglobinbestimmung. *Acta med. techn.* **10**, 496f. (1962). ~ Über das Differentialblutbild des Neugeborenen. *Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haemat. Wien 1961*. *Basel u. New York: S. Karger 1962*. ~ Elliptozytennomogramm. *Schweiz. med. Wschr.* **93**, 1499f. (1963). ~ Zur Standardisierung der Blutkörperchenzählung. *Nucl.-Med. (Stuttg.)* **2**, Suppl. 1, 408 (1963). ~ Bestimmung der Erythrozytenzahl durch Messung der Extinction. *Med. Klin.* **58**, 855 (1963). ~ Die Bestimmung der Erythrocytenzahl und des Hämoglobingehaltes mit dem neuen „Erymat“ nach Kleine. *Acta med. techn.* **11**, 486—488 (1963). ~ Europäische Standardisierung der Hämoglobinbestimmung. *Mat. Med. Nordmark* **15**, 152—156 (1964). ~ General remarks on erythrocytometric methods. *Bibl. haemat. (Basel)* **18**, 1—14 (1964). ~ Neue Zähl- und Meßmethoden in der Hämatologie. In *Keiderling's Betr. inn. Med.*, 283—291 (1964). ~ Über die Hämoglobincyanidmethode. *Schweiz. med. Wschr.* **94**, 1397—1401 (1964). ~ Erythrocytennomogramm. *Pädiat. Prax.* **3**, 537f. (1964). ~ On the standardization in haematology. *Acta haemat. (Basel)* **35**, 193—199 (1966). ~ On the standardization of the blood cell counts. *Bibl. haemat. (Basel)* **24**, 2—30 (1966). ~ On the standardization of packed cell volume standardization. *Bibl. haemat. (Basel)* **24**, 83—100 (1966). ~ Über die Hämoglobinbestimmung. *Méd. et Hyg. (Genève)* **24**, 1276f. (1966). ~ Bestimmung von Erythrocytenzahl, Hämoglobin und Hämatokrit. *Dtsch. med. Wschr.* **92**, 445f. (1967). ~ Basic requirements of automation equipment. *Brit. J. Haemat.* **13**, Suppl. 8—10 (1967). ~ On the documentation of laboratory findings. *Haemat. Lat.* **9**, 261—265 (1967). — **Boroviczény, K. G. v.**, u. **E. Baumgarten**: Leukozytenzählung mit einem elektronischen Apparat. *Wien. Z. inn. Med.* **43**, 423—432 (1962). — **Boroviczény, K. G. v.**, u. **E. Coordes**: Die Maschinenlochkarte im Routine-labor. *Ärztl. Laborat.* **11**, 363—373 (1965). — **Boroviczény, K. G. v.**, **R. Gienke** u. **E. Baumgarten**: Erythrozytenzählung mit einem elektronischen Apparat. *Wien. Z. inn. Med.* **42**, 267—278 (1961). — **Boroviczény, K. G. v.**, u. **H. Saffar**: Halometrische Erythrocytendurchmesserbestimmung. *Schweiz. med. Wschr.* **92**, 1327—1329 (1962). ~ Über den Hämoglobincyanidstandard. *Diskussionsbemerkung. Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **70**, 371 (1964). ~ Ergebnisse der erythrocytometrischen Mittelwertanalyse. *Klin. Wschr.* **42**, 1078—1087 (1964). — **Borun, E. R.**, **W. B. Figueroa**, and **S. M. Perry**: Distribution of Fe⁵⁹ tagged human erythrocytes in centrifuged specimens as a function of cell age. *J. clin. Invest.* **36**, 676—679 (1957). — **Boscovic, S.**: Our experience with the effect of mechanical factors on the resistance of erythrocytes in preserved blood. *Med. Ark.* **15**, 69—73 (1961). — **Boutroy, R.**: *Ann. Biol. clin.* **19**, 457—458 (1961). — **Bowdler, A. J.**, et al.: Electronic particle counting applied to the quantitative study of red cell agglutination. *Transfusion (Philad.)* **4**, 153—168 (1964). — **Boyden, S. V.**: The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. exp. Med.* **93**, 107 (1951). — **Braunitzer, G.**: Vergleichende Untersuchungen zur Primärstruktur der Proteinkomponente einiger Hämoglobine. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **312**, 72—84 (1958). ~ Molekulare Struktur der

- Hämoglobine. *Nova Acta Leopoldina* (Lpz.), N.F. **26**, 113—123 (1963). ~ The molecular weight of human haemoglobin. *Bibl. haemat.* **18**, 59—60 (1964). — **Braunitzer, G., R. Gehring-Müller, N. Hilschmann, K. Hilse, G. Hobom, V. Rudloff, and B. Wittmann-Liebold**: Die Konstitution des normalen adulten Humanhämoglobins. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **325**, 283—288 (1961). ~ Das normale, adulte Humanhämoglobin. In: *Lehmann-Betke, Haemoglobin-Colloquium*, Wien 31. 8. 1961, pp. 15—20. Stuttgart: Georg Thieme 1962. — **Braunitzer, G., u. K. Hilse**: Zur Phylogenie des Hämoglobinmoleküls. Die Konstitution des Karpfenhämoglobins. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **330**, 234—236 (1963). — **Braunitzer, G., u. V. Rudloff**: Die Hämoglobine. *Dtsch. med. Wschr.* **87**, 959—968 (1962). — **Braunitzer, G., V. Rudloff u. N. Hilschmann**: Die Analyse der α - und β -Ketten des adulten normalen Humanhämoglobins aus seinen tryptischen Spaltprodukten. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **331**, 1—32 (1963). — **Braunsteiner, H.**: Hämatologische Forschung im Elektronenmikroskop. *Wien. Z. inn. Med.* **31**, 450—456 (1950). ~ Some clinical applications of the electron microscope. (Abstract, Paper No. 59, Electron Microsc. Soc. of America Meeting, Pocono Manor, Pa., 11/5-7/53). *J. appl. Phys.* **24**, 1422 (1953). ~ Elektronenmikroskopische Befunde an Zellen. In: *Int. Symposion klin. Cytodiagnostik*, Erlangen, 1957, S. 1—10 (1958). ~ Quelques application de la microscopie electronique en pratique de cytologie clinique. *Pathol. et Biol. Sem. Hôp.* **34**, 665—676 (1958). — **Braunsteiner, H., u. W. Bernhard**: Reticuloeyten und Innenkörper im Elektronenmikroskop. *Acta haematol.* (Basel) **3**, 167—170 (1950). — **Braunsteiner, H., K. Fellingner u. F. Pakesch**: Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Knochenmarkes. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **200**, 541—549 (1953). ~ Über die Struktur der Retikulozyten. *Acta haemat.* (Basel) **16**, 322—328 (1956). — **Braunsteiner, H., E. Gisinger, and F. Pakesch**: Confirmation of a structural abnormality in the stroma of erythrocytes from paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) after hemolysis in distilled water. *Blood* **11**, 753—756 (1956). — **Braunsteiner, H., u. F. Pakesch**: Über die Anwendung der Elektronenmikroskopie in der klinischen Hämatologie. *Blut* **5**, 225—231 (1959). — **Brecher, G., E. F. Jakobek, M. A. Schneiderman, G. Z. Williams, and P. I. Schmidt**: Size distribution of erythrocytes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **99**, 242—246 (1962). — **Brecher, G., M. A. Schneiderman, and G. Z. Williams**: Evaluation of an electronic blood cell counter. *Amer. J. clin. Path.* **12**, 1439—1449 (1956). — **Brecher, G., and F. Stohlman jr.**: The macrocytic response to erythropoietin stimulation. In: *Erythropoiesis* (L. O. Jacobson, and M. Doyle, ed.). New York: Grune & Stratton 1962. — **Brichta, G.**: Zur Hämoglobinbestimmung im Routinebetrieb. Eine kritische Betrachtung der gebräuchlichen Hämoglobinbestimmungsmethoden. *Wien. klin. Wschr.* **75**, 768—771 (1963). — **Brinsfield, D. E., M. A. Hopf, R. B. Gerring, and P. M. Galetti**: Hematological changes in long-term perfusion. *J. appl. Physiol.* **17**, 531—534 (1962). — **Brown, C. J., P. L. Frommer, T. J. Hayes, and J. F. Quinn**: Blood cell 'Counter' utilizing the direct measurement of particle concentration. *J. med. Electr.* (1961). — **Brown, I. W., and N. C. Durham**: Photographic method for enumeration of red cell count. *J. Lab. clin. Med.* **41**, 796—801 (1953). — **Bruchhans, L.**: Experiences in the photometric determination of the erythrocyte count. *Med. Lab.* (Stuttg.) **16**, 117—120 (1963). — **Brückner, J., and F. B. Desmond**: A spectrophotometrical method for the estimation of carbon monoxide haemoglobin in blood. *Clin. chim. Acta* **3**, 173—178 (1958). — **Brugsch, J.**: Hämoglobin, 2. Aufl. Leipzig: Georg Thieme 1955. — **Brunner jr., A., and A. Vallejo-Freire**: Electron microscopic observations on granules and filaments (reticulosomes) of reticuloeytes. *Exp. Cell Res.* **10**, 55—62 (1956). — **Brunner jr., A., A. Vallejo-Freire, and P. de Souza Santos**: Electron microscopy of thin sections of reticuloeytes. *Experientia* (Basel) **12**, 255 (1956). — **Bubnoff, M. v., u. G. Riecker**: Über die intracelluläre Wasserstoffionenkonzentration und das intra-extracelluläre Reaktionsgefälle. Untersuchungen an Erythrocyten. *Klin. Wschr.* **39**, 23—28 (1961). — **Bucher-Zimmermann, R.**: Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Erythrocyten unter spezieller Berücksichtigung der Kälteagglutination. *Helv. med. Acta* **21**, 259—291 (1954). — **Bückert, H., u. I. Raffaele**: Die photometrische Meßgenauigkeit der Spektralphotometer. *Chem. Rdsh.* **16**, 11 (1963). — **Büttner, H.**: Quantitative Methämoglobinbestimmung in der Praxis? *Dtsch. med. Wschr.* **88**, 1254—1255 (1963). — **Bugyi, B.**: Über den zeitlichen Ablauf der Umwandlung von Hämoglobin in Säurehämatin. *Folia haemat.* (Lpz.) **74**, 172—175 (1957). ~ Beiträge zur Cytomorphologie der Erythrocyten. I—VI. *Folia haemat.* (Lpz.) **74**, 158—190 (1957). ~ Ovalität oder numerische Excentrität? Normogramm zur gegenseitigen Umrechnung beider Größen. *Folia haemat.* (Lpz.) **74**, 168—171 (1957). ~ Über Häufigkeitsverteilung der roten Blutkörperchen nach der Größe des Durchmessers, zugleich kritischer Beitrag zur Häufigkeitskurve von Carr-Price. *Folia haemat.* (Lpz.) **74**, 184—180 (1957).
- Candia, G. de**: Indirect measurement of blood volume and of cells as basis of plasma volume and hematocrit; correction of hematocrit obtained by centrifugation. *Chir. Pat. sper.* **2**, 470—476 (1954). — **Cannan, R. K.**: Proposal for the distribution of a certified standard for use in hemoglobinometry. *Amer. J. clin. Path.* **25**, 376—380 (1955). ~ *Amer. J. med. Technol.* **21**, 150—155 (1955). ~ *Blood* **10**, 562—565 (1955). ~ *Canad. J. med. Technol.* **17**, 79—83

- (1955). ~ *Canad. med. Ass. J.* **72**, 455—457 (1955). ~ *Canad. Serv. med. J.* **11**, 115—120 (1955). ~ *Clin. Chem.* **1**, 151—156 (1955). ~ *J. Lab. clin. Med.* **46**, 135—140 (1955). ~ *Science* **122**, 59—60 (1955). ~ Proposal for a certified standard for use in hemoglobinometry. *J. Lab. clin. Med.* **52**, 471—476 (1958). ~ Proposal for a certified standard for use in hemoglobinometry. Second and final report. *Amer. J. med. Technol.* **24**, 247—251 (1958). ~ *Blood* **13**, 1101—1106 (1958). ~ *Clin. Chem.* **4**, 246—251 (1958). ~ *U.S. armed Forces med. J.* **9**, 683—689 (1958). ~ *Science* **127**, 1376—1378 (1958). ~ *Amer. J. clin. Path.* **30**, 211—214 (1958). — **Casley-Smith, J. R.**: The haematology of the central Australian aborigine. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **36**, 23—38 (1958). — **Causley, D.**, and **J. Z. Young**: Flying spot microscope use in particle analysis. *Research* **8**, 430—434 (1955). — **Chaplin jr., H.**, **M. Cassell**, and **G. E. Hanks**: The stability of the plasma hemoglobin level in the normal human subject. *J. Lab. clin. Med.* **57**, 612—619 (1961). — **Chaplin jr., H.**, and **P. L. Mollison**: Correction for plasma trapped in the red cell column of the hematocrit. *Blood* **7**, 1227—1238 (1952). — **Chaplin jr., H.**, **P. L. Mollison**, and **H. Vetter**: The body/venous hematocrit ratio: its constancy over a wide hematocrit range. *J. clin. Invest.* **32**, 1309—1316 (1953). — **Chirico, M.**: Sull'interpretazione matematico-statistica della variabilità morfologica eritrocitaria. La "resistenza alla deformazione" e l'"eterocitosi". *Haematologica (Pavia)* **41**, 405—424 (1956). — **Chirico, M.**, e **T. Bertolotti**: Azione della milza sulla "resistenza alla deformazione" eritrocitaria. *Osped. maggiore* **46**, 403—406 (1958). — **Christensen, J.**, og **E. J. Warburg**: Om fremstillingen af en med blodserum isoton opløsning, pp. 1207—1224. København: J. Jørgensen 1928. — **Ciznisky, B.**: Ultrarapid centrifuge. *Cas. Lék. ces.* **93**, 10—13 (1954). — **Clark, P.**, and **R. J. Walsh**: The amount of plasma trapped by red cells in centrifuged and sedimented blood. *Aus. J. exp. Biol. med. Sci.* **38**, 451—459 (1960). — **Conestabile, E.**, **V. Baccarini** e **E. Cecchi**: I globuli rossi della malattia di Marchiafava-Micheli osservati al microscopio elettronico. *R. C. Ist. sup. Sanità* **21**, 724—733 (1958). — **Connerty, H. V.**, and **A. R. Briggs**: New method for the determination of whole-blood iron and hemoglobin. *Clin. Chem.* **8**, 151—157 (1962). — *Contribution*. No. 3026 from the Division of Chemistry and Chemical Engineering. California Institute of Technology Pasadena, Calif., 91, 109. — **Cooke-Yarborough, E. H.**, and **R. E. Whyard**: The automatic counting of red blood cells. *Brit. J. appl. Phys., Suppl.* **3** 149—156 (1954). — **Coordes, E.**: Zwei Methoden der erythrozytometrischen Mittelwertanalyse. *Diss. Freiburg 1967*. — **Costa, G.**, and **L. A. Ratto**: Valores normales de globulos rojos y hemoglobina en la ciudad de Cordoba. *Rev. Fac. Med., Cordoba* (in press). — **Coster, J. F.**: Results of international haematological trials. In: *Erythrocytometric methods and their standardization*. Proc. Symposium XVIII, 9th Congr. Eur. Soc. Haemat., Lisbon (1963). ~ *Untersuchungen von Arbeitern, die ionisierender Strahlung ausgesetzt waren*. *Nucl.-Med. (Stuttg.)* **28**, Suppl. I, 9—407 (1963). ~ *International comparative trials of haemoglobinometry*. 10th Congr. Int. Soc. Haemat., Stockholm (1964). ~ *Results of international haematological trials*. *Bibl. haemat.* **18**, 92ff. (1964). — **Cotter, H.**, **H. O. Lancaster**, and **R. J. Walsh**: Day-to-day variation of hemoglobin value, hematocrit reading and erythrocyte sedimentation rate in healthy subjects. *Aust. Ann. Med.* **8**, 109—112 (1959). — **Coulter, W. H.**: High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer. *Nat. Electron. Conf. Chicaao* (1956). — **Coulthard, A. J.**: The annual cycle of blood haemoglobin levels. *Clin. chim. Acta* **3**, 226—233 (1958). — **Cowles, J.**, **J. Saikkonen**, and **Bo Thorell**: On the presence of hemoglobin in erythroleukemia cells. *Blood* **13**, 1176—1184 (1958). — **Cox, C. D.**: Preservation of sheep erythrocytes and their use in a rapid plate titration of heterophilic antibodies in infectious mononucleosis. *J. Lab. clin. Med.* **48**, 298—303 (1956). — **Crane, G. A.**, and **R. M. Sandercroft**: Observations on the EEL blood cell counter. *J. med. Lab. Technol.* (1959). — **Crosby, W. H.**, and **D. N. Houchin**: Preparing standard solution of cyanmethemoglobin. *Blood* **12**, 1132—1136 (1957). — **Crosby, W. H.**, **J. I. Munn**, and **F. W. Furth**: Standardizing a method for clinical hemoglobinometry. *U.S. armed Forces med. J.* **5**, 693—703 (1954). — **Crossland-Taylor, P. J.**: A device for counting small particles suspended in a fluid through a tube. *Nature (Lond.)* **171**, 37 (1953). — **Crossland-Taylor, P. J.**, **J. W. Stewart**, and **G. Haggis**: An electronic blood-cell counting machine. *Blood* **13**, 398—409 (1958). — **Csizmas, L.**: Preparation of formalized erythrocytes. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **103**, 157—160 (1960). — **Cuadra, M.**: Mechanism of formation of selenoid bodies. *Acta haemat. (Basel)* **22**, 103—111 (1959).
- Dacie, J. V.**: *Practical haematology*, 2nd ed. London: Churchill 1956. ~ *The haemolytic anaemias, congenital and aquired*, Part I: The congenital anaemias, 2nd ed. London: 1960. — **Dacie, J. V.**, and **S. M. Lewis**: *Practical haematology*, 3rd ed., p. 40. London: Churchill 1963. — **Daevs, K.**, u. **A. Beckel**: *Großzahl-Methodik und Häufigkeits-Analyse*, 2. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1958. — **Damminger, K.**, u. **E. H. Graul**: *Schnellanalyse geformter Blutelemente mit einem neuen automatischen Zählgerät*. *Atomprax.* **4**, 375—381 (1958). ~ *Über den Einfluß inkorporierter Radioisotope auf das periphere Blutbild und deren diagnostische Bedeutung*. *Atomprax.* **5**, 421—425 (1959). ~ *Zur hämatologischen Diagnostik des latenten Strahlenschadens*. *Nucl.-Med. (Stuttg.)* **2**, Suppl. 1, 409—416 (1963). — **D'Angelo, G.**: The electronic blood cells counter in routine hematology. *Canad. J. med. Technol.* **26**,

120—123 (1964). — **D'Angelo, G.**, and **M. Lacombe**: A practical diluent for electronic white cell counts. *Techn. Bull. Reg. med. Technol.* **32**, 196—200 (1962). — **Danielsson, H.**, and **F. Lundmark**: The spiral centrifuge, a new laboratory apparatus. *Svenska Läk.-Tidn.* **54**, 2370—2373 (1957). — **Dannenberg, E.**: Einfache Herstellung von Cyan-Methämoglobinslösungen zur Benutzung als nationaler Standard. *Ärztl. Lab.* **3**, 205—207 (1957). ~ Korrekte Hämoglobinbestimmung. *Ärztl. Lab.* **5**, 182f. (1959). ~ Vergleiche von Hämatokritbestimmung und Erythrocytenzählung. Eine Empfehlung zur allgemeinen Standardisierung. *Ärztl. Lab.* **5**, 342—344 (1959). — **Danon, D.**, **A. Nevo**, and **Y. Marikovsky**: Preparation of erythrocyte ghosts by gradual haemolysis in hypotonic aqueous solution. *Bull. Res. Coun. Israel* **6** (1), 36—39 (1956). — **Darmady, E. M.**, and **S. G. D. Daenport**: Haemological technique, 2nd ed. London: Churchill 1958. — **Davidsohn, I.**: Hemoglobinometry, Guest editorial. *J. Amer. med. Ass.* **55**, 926—927 (1955). — **Davidson, E.**: The redistribution of the red cells on centrifugation. *Acta haemat. (Basel)* **23**, 92—95 (1960). — **Davies, H. G.**: Structure in nucleated erythrocytes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 671—687 (1961). — **Davies, H. G.**, and **M. Spencer**: The variation in the structure of erythrocyte nuclei with fixation. *J. roy. micr. Soc.* **81**, Pts. 3/4, 239—240 (1963). — **Davis, J. E.**, **H. N. Green**, and **P. W. Tymms**: A relation between the reactivity of human red cells to antiglobulin tests and their surface structure. *Nature (Lond.)* **191**, 923—924 (1961). — **Davis, R. E.**: A new system for rapid haemoglobin estimations and leucocyte counts. *J. clin. Path.* **16**, 467—468 (1964). — *Decision of the Standardizing Committee of the European Society of Haematology concerning Haemoglobinometry.* *Bibl. haemat.*, Fasc. 18, 110—111 (1964). — *Decision of the Standardizing Committee of the European Society of Haematology.* Lisbon, 31st August 1963. *Haemat. hung.* **4**, No 1 (1964). — **Dell, H. A.**, **D. S. Hobbs** u. **M. S. Richards**: Ein Gerät zur Zählung mikroskopischer Teilchen und zur Bestimmung ihrer Größenordnung. *Philips tech. Rdsch.* **12**, 1—17 (1960). — **Dénes, Zs.**: Die Bedeutung des geschrumpften Erythrozyten. *Orv. Hetil.* **9**, 1134f. (1956). — **DeMarsh, Q. B.**, and **J. Kautz**: Electron microscope observations on several major cell types in bone marrow from the human and the rat. (Abstract.) *Anat. Rec.* **124**, 454—455 (1956). ~ The submicroscopic morphology of Gaucher cells. *Blood* **12**, 324—335 (1957). — **DeRobertis, E.**: Electron microscope studies of circulating blood cells. 4th Int. Cong. Int. Soc. Hematol. Proc. **67**—85 (1952). — **Dingman, J. F.**, **D. H. P. Streeten**, and **G. Thorn**: Effect of cortisone on the abnormal distribution of intravascular water in adrenal cortical insufficiency in man. *J. Lab. clin. Med.* **49**, 8—18 (1957). — **Discombe, G.**, u. **H. Meyer**: Kritische Mitteilung über die Zuverlässigkeit der Erythrozytenzählung. *Blut* **3**, 262—269 (1957). — **Dittrich, H.**: On the technique and importance of the hematocrit value in relation to other important diagnostic methods in surgery. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **302**, 118—127 (1963). ~ Hämoglobingehalt und Hämatokritwert. *Med. Klin.* **58**, 251—253 (1963). — **Don, R. L.**, **D. Orłowski**, and **J. B. Alsever**: Preliminary screening of blood donors with the microhematocrit test for red cell volume and the plasma-crit test for syphilis (HCT-PCT method). *Transfusion (Philad.)* **2**, 36—43 (1962). — **Donaldson, R.**, **R. B. Sisson**, **E. J. King**, **I. D. P. Wotton**, and **R. G. MacFalane**: Determination of haemoglobin VII. Standardised optical data for absolute estimations. *Lancet* **1951 I**, 874—881. — **Douglas, J. R. S.**, and **M. E. Atkinson**: Enumeration and sizing of blood cells by means of electrical gating. *Med. J. Aust.* **47**, II, 130—135 (1960). — **Drabkin, D. L.**: Spectroscopy: photometry and spectrophotometry. *Medical physics* (ed. by O. Glasser), vol. 1, pp. 967—1008 (1944); vol. 2, pp. 1039—1089. Chicago: Year Book Publ., Inc. 1950. ~ Spectrophotometric studies XV. Hydration of macro sized crystals of human hemoglobin and osmotic concentrations in red cells. *J. biol. Chem.* **185**, 231—245 (1950). ~ Introduction: Heredity and environment in structure of hemoglobin. *Fed. Proc.* **16**, 740—747 (1957) (in: Symposium on Molecular Heterogeneity of Haemoglobin). ~ Analysis and interpretation of absorption spectra of haemin chromoproteins. *Haematin Enzymes* **1**, 142—170 (1961) (Symposium, ed. by J. E. Falk, R. Lemberg, and R. Morton). London: Pergamon Press. — **Drabkin, D. L.**, and **R. Barcelo**: Hemoglobin-binding by haptoglobins and hemoglobinuria. *Fed. Proc.* **22**, 597 (1963). — **Drastish, L.**: Zur Stellung des heutigen Kliniklers zu dem Begriff des Färbeindex. *Z. ges. inn. Med.* **11**, 909—911 (1956). — **Dreyfus, J. C.**, **G. Schapira**, and **J. Kruh**: Fractionation of red blood cells according to their age. Centrifugation of blood cells labelled with radioactive iron. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **144**, 792—794 (1950).

Faber, M., and **I. Falbe-Hansen**: Nonhaem iron in erythrocytes as a precursor for haemoglobin. *Nature (Lond.)* **184**, 1043—1044 (1959). — **Fähræus, R.**, and **H. G. Boman**: The effect of different temperatures upon the erythrocytes, with special regard to their volume, phosphorus compounds and amount of potassium and the effect of their stay in the spleen. *Upsala Läk.-Fören. Förh.* **39**, 317—348 (1954). — **Falk, J. E.**, and **D. D. Perrin**: Spectra and redox potentials of metalloporphyrins and hemoproteins, pp. 56—70, discussion, pp. 71—79; in: *Intern. Biochem. Symp.* 1959, Canberra "Hematin Enzymes" (publ. 1961). *Ref. Chem. Abstr.* **58**, 11613c (1963). — **Fawcett, D. W.**: Electron microscopic observations on the marginal band of nucleated erythrocytes. (Abstract.) *Anat. Rec.* **133**, 379 (1959). — **Fawcett,**

- J. K.**, and **V. Wynn**: Effects of posture on plasma volume and some blood constituents. *J. clin. Path.* **13**, 304—310 (1960). — **Febvre, H. L.**, et **R. Klein**: Étude au microscope électronique des cellules de la moelle osseuse. 1st Int. Cong. Electron Microsc., Paris, 9/50. Proc. 692—696. Paris: Ed. Rev. Optique 1953. — **Feichtmeir, Th. V.**, **K. Nicon**, **M. A. Hannan**, **D. B. Bird**, and **L. B. Carr**: Electronic counting of erythrocytes and leucocytes. *Amer. J. Path.* **35**, 373 (1961). — **Feltynowski, A.**, **E. Sikorska** u. **S. Krauze**: The electron microscope examination of erythrocytes under the action of some amines. *Bull. Acad. pol. Sci.* **3**, 309—312 (1955), and [in Polish] *Roczn. Państ. Zakł. Hig.* **4**, 323—328 (1955). — **Fichsel, H.**, **K. Gellissen**, **H.-W. Walther** u. **H. Weicker**: Der Hämoglobingehalt des Retikulozyten. *Folia haemat.* (Frankfurt), *N.F.* **4**, 77—91 (1959). — **Field, E. O.**, and **J. R. P. O'Brien**: Dissociation of human haemoglobin at low pH. *Biochem. J.* **60**, 656—661 (1955). — **Fischl, J.**: Routine microestimation of iron in hemoglobin. *Clin. chim. Acta* **4**, 686—690 (1959). — **Fleisch, A. O.**: Klinische Resultate einer neuen Methode (Hämoresistometer) zur Bestimmung der mechanischen Resistenz der Erythrocyten. *Schweiz. med. Wschr.* **90**, 663—666 (1960). — **Fleisch, H.**: Détermination quantitative de la méthémoglobine et de la méthémalbumine dans le sang. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **17**, 318—328 (1959). — **Fleisch, H.**, u. **A.**: Der Hämoresistometer. Ein Gerät zur Bestimmung der mechanischen Resistenz der Erythrocyten. *Schweiz. med. Wschr.* **90**, 186—190 (1960). — **Flood, F. T.**, **E. E. Mandel**, **R. H. Owing**, and **Ch. F. Federspiel**: Newer standards in hemoglobinometry. *J. Lab. clin. Med.* **43**, 897—904 (1954). — **Florjanovich, N. M.**, **O. Borisova**, and **V. P. Gundarov**: The Sel-2, new model of the automatic erythrocyte counting apparatus. *Nov. Med. Techn.* **2**, 20—24 (1962). — **Fly, M. N.**, and **E. R. Powsner**: Electroning counting of cells from the bone marrow. *Amer. J. clin. Path.* **36**, 224—226 (1961). — **Fodor, L.**, u. **K. G. v. Boroviczény**: Neue Hämometer für die Praxis. *II. Med. Welt* **1965**, 537—539. — **Fok, F. Po-Tun**, and **H. Schubothe**: Studies on various factors influencing mechanical haemolysis of human erythrocytes. *Brit. J. Haemat.* **6**, 355—361 (1960). — **Foss, O. P.**, **B. Rosenlund**, and **O. Vik**: *Nord. Med.* **64**, 1350—1353 (1960). ~ *Foundation of the Standardizing Committee of the European Society of Haematology*, Lisbon, 31st August 1963. *Bibl. haemat.* (Basel) **18**, 108f., 114f. (1964). — **Frommer, P. L.**: An automatic "counter" for blood cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **99**, 233—241 (1962). — **Fudenberg, H.**, **M. Baldini**, and **J. P. Mahoney**: The body hematocrit/venous hematocrit ratio and the "splenic reservoir". *Blood* **17**, 71—82 (1961). — **Frank, M.**: The numerical and dimensional evaluation of corpuscles suspended in a conducting medium. *R.C. Ist. sup. Sanità* **26**, 700—726 (1963). — **Freeman, J. A.**: The ultrastructure and genesis of Auer bodies. *Blood* **15**, 449—465 (1960). — **Fretwurst, F.**, u. **K. H. Meinecke**: Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Kohlenoxydhämoglobins im Blut. *Arch. Toxicol.* **17**, 273—283 (1959). — **Freundlich, M. H.**, and **H. W. Gerarde**: A new, automatic, disposable system for blood counts and hemoglobin. *Blood* **21**, 648—655 (1963). — **Furth, F. W.**: Effect of spherocytosis on volume of trapped plasma in the red cell column of capillary and Wintrobe hematocrits. *J. Lab. clin. Med.* **48**, 421—430 (1956).
- Gabrielli, E. R.**, and **M. Wertheimer**: Standardisation of the electronic counter of blood cells. *Amer. J. clin. Path.* **36**, 277—280 (1961). — **Gachet, J.**, et **J.-P. Thiery**: Application de la méthode de tirage photographique avec rotations ou translations à l'étude de macromolécules (hémocyanine, hémoglobine, ferritine) et de structures biologiques (centrioles, fibres de flagelle, nucléocapsides viraux). *J. Microscopie* **3**, 253—286 (1964). — **Gäbert, H.**: Die Beziehungen der Erythrocytengröße zur osmotischen und mechanischen Resistenz. *Folia haemat.* (Lpz.) **75**, 481—500 (1958). — **Gajdos-Török, M.**: Contribution à l'étude de la biosynthèse de l'hème. *J. Physiol.* (Paris) **51**, Suppl. 1, 1—76 (1959). — **Gallo, V.**: Fehler und Wahrscheinlichkeitsrechnung in der Hämatologie. In: Heilmeyer-Hittmair, *Handbuch der gesamten Hämatologie*, Bd. II/2, S. 115—121. Wien: Urban & Schwarzenberg 1959. — **Garby, L.**, and **J. C. Vuille**: The amount of trapped plasma in a high-speed microcapillary hematocrit centrifuge. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **13**, 642 (1961). — **Gasparini, G.**, e **L. Cantoni**: Metodo volumetrico per lo studio della resistenza globale all'ipotonía salina. *Poli-clinico, Sez. prat.* 693—696 (1957). — **Gebelein, H.**, u. **H. J. Heite**: Über die Unsymmetrie biologischer Häufigkeitsverteilungen. *Klin. Wschr.* **28**, 41—44 (1950). — **Gerbstädt, H.**: Zur Frage des Überschüßhämoglobins. (2. Symposium über Fragen der Struktur und Funktion der roten Blutkörperchen, Berlin 24.—26. I. 1957). *Folia haemat.* (Lpz.) **77**, 124—131 (1960). — **Gerdes, U.**: Über das Auftreten und die Auswirkung eines systematischen Fehlers bei der Erythrocytenzählung in normalem und pathologischem Erwachsenen- und Neugeborenenblut. *Diss. Freiburg i. Br.* (1963). — **Geubelle, F.**, et **J. Carlier**: Précision d'un nouvel oxymètre à lecture directe. *Cardiologia* (Basel) **32**, 295—301 (1958). — **Gibson, K. S.**, and **N. A. Belknop**: Permanence of glass standard of spectral transmittance. *J. Res. Nat. Bur. Stds.* **44**, 463—473 (1950). — **Gienke, R. B.**: Zählung und Volumenbestimmung von Erythrozyten am vollautomatischen Blutkörperchenzählapparat „Celloscope“. *Diss. Freiburg i. Br.* (1910). — **Gold, E. R.**, **W. J. Lockyer**, and **G. H. Tovey**: Use of lyophilized formal treated red cells in blood group serology. *Nature* (Lond.) **182**, 951 (1958). — **Goldin, L. S.**: Electron

microscopy of human erythrocytes. [In Russian.] Dokl. Akad. Nauk SSSR 117 (4), 701 (1957). — **Goldschmidt, L., R. L. Rosenthal, and S. Lippert:** Observations on the thermal fragility of erythrocytes. Acta haemat. (Basel) 12, 384—392 (1954). — **Gomez-Mavtilla, J. M.:** The significance of current micro and ultramicro methods. Acta pediát. esp. 21, 61—70 (1963). — **Gonser, U., R. W. Grant, and J. Kregzde:** Determination of the chemical structure of hemoglobin using the Mössbauer effect. Appl. Phys. Lett. 3, 189—191 (1963). ~ Mössbauer effect in hemoglobin with different ligands. Science 143, 680f. (1964). — **Goodman, J. R., Emmet B. Reilly, and R. E. Moore:** Electron microscopy of formed elements of normal human blood. Blood 12, 428—442 (1957). — **Gosset, W. S.:** see Student. — **Grant, J. L., M. C. Britton jr., and Th. E. Kurtz:** Measurement of red blood cell volume with the electronic cell counter. Amer. J. clin. Path. 33, 138—143 (1960). — **Grassini, V., and P. P. Pintor:** The technical error of counting methods in haematology. Acta haemat. (Basel) 21, 311—315 (1959). — **Graul, E. H., u. K. Damminger:** Früh- und Schnellidiagnose sogenannter Strahlenschäden durch Bestimmung der Zahl und Resistenz von zellulären Blutelementen, insbesondere von Thrombozyten mittels eines automatischen Zählgerätes. Med. Klin. 54, 1367—1375 (1959). ~ Über den Einfluß der Radiophosphorthherapie auf das periphere Blut bei Polycythämie und eine frühzeitige Erfassung der Blutbildveränderungen. Atomprax. 7, 261—267 (1961). — **Green, P., and C. F. J. Teal:** Modification of the cyanmethemoglobin reagent for analysis of hemoglobin in order to avoid precipitation of globulins. Amer. J. clin. Path. 32, 216f. (1959). — **Greendyke, R. M., W. A. Meriwether, E. T. Thomas, J. D. Flintjer, and M. W. Bayliss:** A suggested revision of normal values for hemoglobin, hematocrit and erythrocyte count in healthy adult man. Amer. J. clin. Path. 37, 429—436 (1962). — **Grégoire, Ch.:** Recordings of clotted hemolymph of insects by electron microscopy. Arch. int. physiol. et biochem. 67, 329—332 (1959). — **Gross, S., M. D. Schoenberg, and V. R. Mumaw:** Electron microscopy of the red cells in erythropoietic porphyrin. Blood 25, 163—179 (1965). — **Gründel, W.:** Über das Auftreten eines systematischen Fehlers bei der Erythrozytenzählung. Klin. Wschr. 37, 98—100 (1959). — **Günther, H.:** Abhängigkeit des Erythrozytenbestandes und seines Geschlechtsunterschiedes von Umwelteinflüssen. Z. ges. inn. Med. 10, 252—256 (1955). — **Gutmann, J.:** Entwurf und Bau eines Gerätes zur Bestimmung der statistischen Verteilung von Impulshöhen zur Anwendung in der Zellforschung. Diplomarbeit Techn. Hochschule München (1963). ~ Elektronische Verfahren zur Ermittlung statistischer Maßzahlen einiger medizinischer wichtiger Daten. Diss. (Dr.-Ing.) Techn. Hochschule München (1965). — **Gutter, F. J., H. A. Sober, and E. A. Peterson:** The effect of mercaptoethanol and urea on the molecular weight of hemoglobin. Arch. Biochem. 62, 427—433 (1956).

Habermann, E.: Über die Wirkung tierischer Gifte auf Erythrocyten. Z. exp. Med. 129, 436—464 (1958). — **Habermann, E., u. E. Möllert:** Zur morphologischen Differenzierung der Hämolyse durch Bienengift, Schlangengift, Lysoecithin und Digitonin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 223, 203 (1954). — **Habermann, E., u. G. Pohlmann:** Morphologische Erythrocytenveränderungen durch α - und β -Hämolyse aus Gasbrandgift. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 237, 487—494 (1959). — **Häberle, G.:** Das postoperative Mangelsyndrom. Diss. Freiburg 1966. — **Haggis, G. H.:** Electron microscope replicas from the surface of a fracture through frozen cells. J. biophys. biochem. Cytol. 9, 841—852 (1961). — **Hale, T., R. Weisman jr., and C. F. Hinz jr.:** Mechanisms of destruction of red cells in certain hemolytic conditions. Arch. intern. Med. 96, 574—592 (1956). — **Halloran, M. J., W. J. Harrington, V. Minnich, and G. K. Arimura:** Electronic demonstration of blood cell agglutinins. Amer. J. clin. Path. 35, 105—108 (1961). — **Hampel, K. E.:** Persönliche Mitteilung (1962). — **Handelé, M. L., and W. G. Zijlstra:** Spectrophotometric determination of methemoglobin in human blood. Proc. kon. ned. Akad. Wet., Ser. C 58, 652—658 (1955). — **Hanks, G. E., M. Cassell, R. N. Ray, and H. Chaplin jr.:** Further modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma. Definition of a new range of normal values. J. Lab. clin. Med. 56, 486—498 (1960). — **Harboe, A., and A. Schrumpf:** A new approach to the evaluation of the size and thickness of the erythrocytes in hereditary spherocytosis. Acta med. scand. 152, 335—351 (1955). — **Harwerth, H. G.:** Die Technik des Blutbildes und Fehler bei der Herstellung. Landarzt 35, 1275—1282 (1959). — **Hasserodt, U., and J. Vinograd:** Dissociation of human carbomonoxyhemoglobin at high pH. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 45, 12—15 (1959). — **Hatch, A., and T. Balázs:** The use of cetavlon in a diluent for counting leucocytes in the Coulter electronic counter. Amer. J. clin. Path. 36, 220—223 (1961). — **Haut, A., G. R. Tudhope, G. E. Cartwright, and M. M. Wintrobe:** The nonhemoglobin erythrocytic proteins, studied by electrophoresis on strach gel. J. clin. Invest. 41, 579—587 (1962). — **Hawkins, W. W.:** Hemoglobin levels in old age. Amer. Geriatr. Soc. 4, 24—35 (1956). — **Hawkins, W. W., E. Speck, and V. G. Leonard:** Variation of the hemoglobin level with age and sex. Blood 9, 999—1007 (1954). — **Hawksley, P. G. W.:** Automatic particle-sizing by successive counting. Nature (Lond.) 170, 984f. (1952). — **Hawksley, P. G. W., J. H. Blackett, E. W. Meyer, and A. E. Fitzsimmons:** The design and construction of a photoelectronic scanning machine for sizing microscopic particles. Brit. J. appl. Phys.,

- Suppl. 3, 165—173 (1954). — **Haynes, R. H.:** The viscosity of erythrocyte suspension. A review of theory. *Biophys. J.* 2, 95—103 (1962). — **Head jr., C. J., and J. H. Holmes:** Factors affecting hematocrit determination: trapped plasma, its amount and distribution. *J. appl. Physiol.* 5, 457—470 (1953). — **Hegdüs, A.:** Vérképvizsgálatok technikai módosítása. *Kisér. Orvostud.* 1, 1—3 (1950). — **Heilmeyer, L.:** Hämoglobingehalt des einzelerythrocyten statt Färbeindex. *Dtsch. med. Wschr.* 77, 377 (1952). ~ Die Pathologie der Hämsynthese. *Schweiz. med. Wschr.* 92, 1285—1294 (1962). ~ Landschaftlich gebundene Unterschiede des Hämoglobingehaltes. *Dtsch. med. Wschr.* 87, 1440 (1962). — **Heilmeyer, L., u. H. Kilchling:** Zur Frage der Hämometereichung. *Dtsch. med. Wschr.* 76, 1074—1076 (1951). — **Heilmeyer, L., H. Merker, E. Mölbert u. M. Neidhardt:** Zur Mikromorphologie der hereditären hypochromen sideroachrestischen Anämie. *Acta haemat. (Basel)* 27, 78—95 (1962). — **Heilmeyer, L., u. K. Plötner:** Zur Standardisierung der Hämoglobinbestimmung. *Klin. Wschr.* 35, 49 (1957). — *Hemoglobin standard.* This is the second and final report on a proposal to establish a certified standard for general use. *Science* 127, 1376—1378 (1958). — **Hennemann, G., u. B. Hofmann:** Das Verhalten des reduzierten Glutathion in Abhängigkeit vom Zeitfaktor bei experimenteller Hämolyse. *Ärztl. Wschr.* 1957, 822—823. — **Hennemann, H. H., F. Kubowitz, H. Kragen, I. Buttig u. Ch. Scheibe:** Untersuchungen über die mechanische Resistenz der Erythrozyten. *Z. ges. inn. Med.* 10, 946—954 (1955). — **Herz, A.:** Über die Vergrößerung des kritischen Hämolysevolumens durch Netzmittel und Emulgatoren. Versuche zur Frage der Dehnbarkeit der Erythrocytenmembran. *Folia haemat. (Lpz.)* 77, 181—184 (1960). — **Hesketh, A.:** Elimination of a possible error in hematocrit reading. *Canad. J. med. Technol.* 17, 165 (1955). — **Hetland, L. B.:** A simple microhematocrit tube rack. *Amer. med. Technol.* 28, 87 (1962). — **Hill, R. J., and W. Konigsberger:** The partial structural formula of the α -chain of human hemoglobin. *J. biol. Chem.* 236, PC. 7f. (1961). — **Hilshmann, N., u. G. Braunitzer:** Über die Konstitution der Proteinkomponente des menschlichen Hämoglobins. *Blut* 5, 329—334 (1959). — **Hilshmann, N., u. G. Braunitzer:** Die Sequenzanalyse des Humanhämoglobins. Die Analyse des β -Coro-Peptids und des Peptids a Tp 6. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 335, 21—37 (1963). — **Hilse, K., u. G. Braunitzer:** Über Hämoglobine. IX. Isolierung und Charakterisierung der tryptischen Splatprodukte des normalen adulten Humanhämoglobins. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 329, 113—129 (1962). — **Hino, S.:** Simple hematocrit equipment. *Clin. all-round Osaka* 13, 1045—1047 (1964). — **Hino, S., and N. Furusawa:** On increasing the speed of hematological tests with special references to the hematocrit method with capillaries using a high-speed centrifuge. *Clin. all-round Osaka* 12, 856—862 (1963). — **Hino, S., and others:** Microhematocrit method. *Jap. J. clin. Path.* 11, 419—423 (1963). — **Hinkel, G. K., W. Rose u. P. Wunderlich:** Über die elektronische Blutzellzählung mit dem „TuR“ ZG 1. 1. Mitt. Das Prinzip des Gerätes und allgemeine Richtlinien für seinen Einsatz. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* 20 (im Druck) (1965); ~ 2. Mitt. Zur Erythrozytenzählung, und 3. Mitt. Zur Bestimmung des Erythrozytenvolumens (in Vorbereitung). — **Hinsberg, K., u. K. Lang:** Medizinische Chemie, 3. Aufl., S. 1023—1050. München: Urban & Schwarzenberg 1957. — **Hinz jr., C. F., J. Abraham, and L. Pillemer:** Requirement for properdin in hemolysis of human erythrocytes treated with tannic acid. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 94, 230—232 (1957). — **Hitsch, F. G., E. C. Tenter, L. A. Wood, W. C. Ballard, F. E. Horan, and I. S. Wright:** The electrical conductivity of blood. I. Relationship to erythrocyte concentration. *Blood* 5, 1017—1035 (1950). — **Hobom, G., u. G. Braunitzer:** Die Sequenzanalyse des Humanhämoglobins. Die Analyse des a Core-Peptids. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 335, 1—20 (1963). — **Hodgetts, E.:** The influence of centrifugal treatment upon hematocrit values and the trapped plasma correction factor of sheep blood. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* 37, 97 (1959). — **Höfert, H.-J.:** Meßtechnische Fragen bei der photometrischen Analyse. *Ärztl. Lab.* 10, 101—112 (1964). — **Hoff, F., J. Jacobi, H. v. Kress, L. Heilmeyer, B. Schlegel u. K. G. v. Boroviczény:** Beschluß der Dtsch. Ges. inn. Med. betreffend Standardisierung der Hämoglobinbestimmung. *Folia haemat. (Frankfurt), N.F.* 8, 1—4 (1963). — **Hoffman, J. F.:** On the reproducibility in the observed ultrastructure of the normal mammalian red cell plasma membrane. *J. cell. comp. Physiol.* 47, 261—288 (1956). — **Hoffman, J. F., J. Hillier, I. E. Wolman, and A. K. Parpart:** New high density particles in certain normal and abnormal erythrocytes. *J. cell. comp. Physiol.* 47, 245—259 (1956). — **Hoffmann, R. G.:** Statistics in the practice of medicine. *J. amer. med. Ass.* 185, 864 (1963). — **Hofmann, E. C. G., u. S. Rapoport:** Der Einfluß der Hämolyse auf die Atmung von Reticulocyten. *Biochem. Z.* 326, 499 (1955). — **Hoitink, A. W. J. H.:** L'utilisation de l'hématocrite pour l'appréciation de la capacité physique et de la résistance à la fatigue. *Presse méd.* 66, 1616 (1958). — **Holthusen, G. G.:** Electronic enumeration of erythrocytes. *Amer. J. clin. Path.* 42, 118—120 (1964). ~ Electronic enumeration of erythrocytes. *Techn. Bull. Reg. med. Technol.* 34, 108—110 (1964). — **Holthusen, G. G., F. J. Wenzel, and M. A. Kipp:** Evaluation of the Sanborn-Frommer particle counter for counting leucocytes. *Amer. J. clin. Path.* 39, 541—543 (1963). — **Holtz, A. H.:** Klinisch-chemisch enquête-onderzoek in Nederland. II. Hemoglobin. *Ned. T. Geneesk.* 106, 2108—2114 (1962). ~ Results of hematological trials in the Netherlands;

- in: *Bibl. haemat.* Fasc. 18, 86—92 (1964). — **Hopper, Smith, Belt, and Whipple:** Blood volume studies. *Amer. J. Physiol.* **51**, 205—220. — **Hořejší, J., and A. Komárková:** The influence of some factors of the red blood cells on the oxygen-binding capacity of haemoglobin. *Clin. chem. Acta* **5**, 392—395 (1960). ~ The effect of SH-groups on the affinity of haemoglobin to oxygen. *Clin. chim. Acta* **3**, 131—136 (1958). — **Horváth, J.:** Erythrocyte count. *Orv. Hetil.* **104**, 2471—2473 (1963). — **Houchin, D. N., and R. W. Robinette:** Preparation of haemoglobin solutions for electrophoretic study and foetal-haemoglobin essay. *Lancet* **1959 I**, 155. — **Hoveid, P.:** Elliptocytosis hereditaria, 3 cases in one family. (*Elliptocytosis hereditaria.*) *T. norske Lageforen.* **78**, 844—845 mit engl. Zus.fass. (1958) [Norwegisch]. — **Hrazdira, I.:** Contribution to the problem of ultrasonic haemolysis. *Scripta med. (Brno)* **28**, 145—153 mit engl. Zus.fass. (1955) [Tschechisch]. — **Huehns, E. R., N. Dance, G. H. Beaven, J. V. Keil, F. Hecht, and A. G. Motulsky:** Human embryonic haemoglobins. *Nature (Lond.)* **201**, 1095—1097 (1964). — **Hug, O., W. Lippert u. P. Moser:** Morphologische Veränderungen der roten Blutzellen bei der Hypotoniehaemolyse. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **57**. Kongr. 262—264 (1951). ~ Morphologische Veränderungen der Erythrocyten bei der Hypotoniehaemolyse. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **214**, 308—315 (1952). — **Hummel, K.:** A standard suspension for electronic cell counters. *Bibl. haemat. (Basel)* **18**, 21—28 (1964). — **Hummel, K., u. R. Zöllner:** Über den Einfluß unterschiedlicher Zentrifugierbedingungen auf die Größe des Porenvolumens bei Sedimenten menschlicher Erythrocyten. *Z. ges. exp. Med.* **129**, 250—263 (1957). — **Humperdinck, K.:** Praktische Erfahrungen mit dem Oxypanhaemometer (Zeiß-Ikon). *Med. Klin.* **45**, 369f. (1950). — **Hutardo, A., A. Melino, and E. Delgado:** Influence of anoxemia on the hemopoietic activity. *Arch. intern. Med.* **75**, 284—324 (1954). — **Hutchinson, H. E.:** On determining the packed cell volume. *J. clin. Path.* **13**, 529 (1960). — **Hutchinson, H. E., and M. A. Ferguson-Smith:** The significance of Howell-Jolly bodies in red cell precursors. *J. clin. Path.* **12**, 451—453 (1959). — **Hyde, R. D., and N. F. Jones:** Red-cell volume and total body water. *Brit. J. Haemat.* **8**, 283—289 (1962).
- Iagnow, S., O. Dimitru et M. Dumitresco:** L'indice de la surface de l'unité d'hémoglobine. Contributions à l'étude du profil de l'hématie. *Sem. Hôp. Paris* **1957**, 144—147. — **Ilin, V. G.:** Determination of volume of erythrocytes in Panchenkov's capillaries. *Klin. med.* **31**, 86—87 (1953). — **Ingersoll, L. O.:** Standardization of a new automatic blood cell counter. *Amer. J. med. Technol.* (1962). — **Ingram, V. M.:** The hemoglobins in genetics and evolution, pp. 80—96. New York and London: Columbia University Press 1963. — **Inoue, N.:** Clinical and experimental study on physicochemical nature of erythrocyte. *J. Kyoto Prefect. med. Univ.* **58** (Abstr.), p. 35—36 (1955) [Japanisch]. — **Inoue, T.:** Physiological values of the blood of Japanese industrial workers. *Jap. J. Ind. Health* **6**, 381—422 (1964). — **Izak, G., T. Wilner, J. Mager, and A. Karshai:** Amino acid activating enzymes in red blood cells of normal anemic and polycythemic subjects. *J. clin. Invest.* **39**, 1763—1770 (1960).
- Jackson, J. F.:** Supravital blood studies, using acridine orange fluorescence. *Blood* **17**, 643—649 (1961). — **Jackson, M. D., and M. E. Nutt:** The accuracy of Meyerstein hematocrit. *J. Physiol. (Lond.)* **111**, 150—159 (1950). ~ Intercellular plasma and its effect on absolute red cell volume determination. *J. Physiol. (Lond.)* **115**, 196—205 (1951). — **Johnson, T. R.:** An improvement of the method for determination of plasma and urine hemoglobin. *J. Lab. clin. Med.* **53**, 495—498 (1959). — **Johnston, P. M.:** Hematocrit values for the thick embryo at various ages. *Amer. J. Physiol.* **180**, 361—362 (1955). — **Jones, A. R.:** A device for rapidly deriving the hematocrit of blood centrifuged in ungraduated tubes. *New Engl. J. Med.* **254**, 172—174 (1965). — **Jones, O. P.:** Formation of erythroblasts in the fetal liver and their destruction by macrophages and hepatic cells. *Anat. Rec.* **133**, 294—295 (1959). ~ Electron microscope studies of fetal erythropoiesis. In: 7th Congr. European Soc. Haematol., London, 1959. Proc. **2**, 79—81. Basel: S. Karger 1960. ~ Electron microscope studies of primitive erythrocytes. 9th Congr. European Soc. Haematol., Lisbon 1963. — **Jones, R. F.:** Determination of packed cell volume by centrifugation. *J. clin. Path.* **14**, 198—199 (1961). — **Jung, F.:** Strukturprobleme am roten Blutkörperchen. III. Der Blutkörperchenschatten. *Naturwissenschaften* **37**, 254—260 (1950). ~ Strukturprobleme am roten Blutkörperchen. I. Methodische Fragestellungen. *Naturwissenschaften* **37**, 229—233 (1950). ~ Echte und unechte Retikulocyten bei Anämien. *Folia haemat. (Lpz.)* **74**, 258—259 (1956). ~ Eine einfache Schrägbedampfanlage zur elektronenoptischen und lichtoptischen Untersuchung. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* **11**, 358 (1956). ~ Zur Feinstruktur der roten Blutzelle. *Folia haemat. (Lpz.)* **73**, 401—404 (1956). ~ Elektronenoptische Untersuchungen roter Blutkörperchen unter verschiedenen Milieueinflüssen. *Klin. Wschr.* **35**, 943—944 (1957). ~ Elliptocyten. *Klin. Wschr.* **35**, 44—46 (1957). ~ Das Schicksal toxisch veränderter roter Blutzellen in der Milz. *Klin. Wschr.* **36**, 63—66 (1958). — **Jung, F., H. Mattheis, I. Uerlings u. W. Rauterberg:** Funktionelle und morphologische Beobachtungen an Elliptocyten. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* **9**, 1085—1087 (1954). — **Jung, F., H. Ring u. H. Stobbe:** Reticulocyten im Elektronen- und Phasenkontrastmikroskop. 5th Kongr. Europ. Ges. Hämatol. Freiburg, S. 774—775 (1955). ~ Über Retikulocyten. *Folia haemat. (Lpz.)* **75**, 295—316 (1958).

Kaiwa, H.: Studies on fragility of blood cells in alkaline medium. I. Technique for quantitative determination of resistance of blood cells to alkali. *Jap. J. exp. Med.* **27**, 93—98 (1957). — **Káldor, J.:** A microtechnique for measuring the hematocrit value. *Med. J. Aust.* **13**, 476—478 (1953). — **Kampen, E. J. v., J. J. F. Hasselman, and C. A. Graafland:** The pH-resistance of erythrocytes. II. The influence of electrolytes. *Clin. chim. Acta* **3**, 578—585 (1958). — **Kampen, E. J. v., and W. G. Zijlstra:** Standardization of hemoglobinometry. II. The hemoglobin cyanide method. *Clin. chim. Acta* **6**, 538—544 (1961). ~ Standardisatie van de hemoglobinomietrie. *Ned. T. Geneesk.* **106**, 2101—2107 (1962). ~ A simple hemoglobin photometer to be used in standardized hemoglobinometry. *Clin. chim. Acta* **7**, 147f. (1962). — **Karakachoff, A. W., E. P. Viteheff, and D. A. Sepetlieff:** The ultramicro method for the determination of the hematocrit. *Sem. Hôp. Paris* **35**, SE 92—96 (1959). — **Katchalsky, A., D. Danon, A. Nevo, and A. de Vries:** Interactions of basic polyelectrolytes with the red blood cell. II. Agglutination of the red blood cells by polymeric bases. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **33**, 120—128 (1959). — **Kaufmann-Truninger, E.:** Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Erythrozytenresistenz. *Röntgen- u. Lab.-Prax.* **12**, L 57—L 58 (1959). — **Kaulla, K. N. v., u. W. Henkel:** Heparinadsorption durch Erythrocyten. *Schweiz. med. Wschr.* **43**, 1128—1130 (1952). — **Kautz, J., and Q. B. DeMarsh:** An electron microscope study of sectioned cells of peripheral blood and bone marrow. *Blood* **9**, 24—38 (1954). ~ Electron microscopy of sectioned blood and bone marrow elements. *Rev. Hématol.* **10**, 314—344 (1955). — **Kendrew, J. C.:** Side-chain interactions in myoglobin. *Enzyme models and enzyme structure. No. 15. Brookhaven Symposia in Biology*, pp. 216—228 (1962). — **Keohane, K. W., and W. K. Metcalf:** An experimental study of the use of Romanowsky stains for estimating the hemoglobin content of red cells. *J. Lab. clin. Med.* **55**, 486—490 (1960). ~ An investigation of the differing sensitivity of juvenile and adult erythrocytes to methaemoglobinization. *Phys. in Med. Biol.* **5**, 27—35 (1960). — **Kernen, A. J., H. Wurzel, and R. Okada:** A new electronic method for measuring hematocrit, a clinical evaluation. *J. Lab. clin. Med.* **49**, 635—641 (1961). — **Kilchling, H.:** Zur Technik der Hämoglobinbestimmung. *Ärztl. Lab.* **2**, 67—71, 91—95 (1956). — **Kilpatrick, G. S., and R. M. Hardisty:** *Brit. med. J.* **1961 I**, 778. — **King, E. J., R. J. Bartholomew, M. Geiser, S. Ventura, I. D. P. Wootton, R. G. MacFarlane, R. Donaldson, and R. B. Sisson:** Determination of haemoglobin. VIII. Accuracy of methods applied to abnormal bloods. *Lancet* **1951 I**, 1044f. — **King, E., and others:** Determination of haemoglobin. *Lancet* **1947 II**, 201—205, 789—792; **1948 I**, 282—286, 478—483; **1948 II**, 563—566, 971—974; **1951 I**, 874—881, 1044f. — **Kirschner, A. G., and C. Tanford:** The dissociation of hemoglobin by inorganic salts. *Biochemistry* **3**, 291—296 (1964). — **Kisch, B.:** Some electron microscopic observations on erythrocytes. *Exp. Med. Surg.* **15** (1), 83—88 (1957). ~ Elektronenmikroskopie des Blutes. *Ann. Univ. sarav.* **6**, 327 (1958). — **Klare, K.-H.:** Erfahrungen mit der Cyanhämitoglobinbestimmung. *Verh. Ges. exp. Med. DDR Dresden* **1961 I**, 224—227 (1962). — **Klein, H. G., u. F. Zell:** Kohlenoxydhämoglobinbestimmung für die Praxis. *Wien. med. Wschr.* **1957**, 297f. — **Kleine, N.:** Die Streuung des Lichtes an suspendierten roten Blutkörperchen. *Diss. Freiburg i.Br.* (1954). ~ Mitteilungen über Genauigkeitsuntersuchungen am Elektro-Haemoskop. *Hellige-Nachr., Freiburg Nr 16* (1956). ~ Über das Auftreten eines systematischen Fehlers bei der Erythrozytenzählung. *Klin. Wschr.* **37**, 523 (1959). ~ Ein neues Verfahren zur Zählung der roten Blutkörperchen. *Ärztl. Lab.* **7**, 133—139 (1961). — **Kleine, N., u. K. Plötner:** Zählmethoden und Hämoglobinbestimmung. In: Heilmeyer-Hittmair, *Handbuch der gesamten Hämatologie*, Bd. II/2, S. 121—129. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1959. — **Kleinschmidt, A.:** Morphologische Untersuchungen über die Erythrocytenmembran. Die elektronenmikroskopische Darstellung durch Oberflächenspreitung. *Acta haemat. (Basel)* **13**, 337—351 (1955). — **Klipstein, F. A., and H. M. Ranney:** Electrophoretic components of the hemoglobin of red cell membranes. *J. clin. Invest.* **39**, 1894—1899 (1960). — **Knights, E. M., R. P. MacDonald, and I. Ploompuu:** An improved ultramicro pipet. *Amer. J. clin. Path.* **30**, 91f. (1958). — **Kobayashi, Y.:** On blood count with the EEL blood cell counter. *Jap. J. clin. Path.* **9**, 453—457 (1961). — **Komán, A., L. Czabafy és O. Tözsér:** Automata sejtyszámoló készülékkel szerzett tapasztalataink. *Kisér. Orvostud.* **13**, 667—670 (1961). — **Komiya, E. (ed.):** Normal values of blood in Japan. Tokyo, Japan: Nanzando 1962. — **Konigsberg, W., G. Guidotti, and R. J. Hill:** The amino acid sequence of the α chain of human hemoglobin. *J. biol. Chem.* **236**, PC 55—PC 56 (1961). — **Konigsberg, W., and R. J. Hill:** The structure of human hemoglobin. *J. biol. Chem.* **237**, 3157—3162 (1962). — **Kortüm, J.:** Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie, IV. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962. — **Kosek, M., and V. Utinek:** Antihemolytic components of human serum. *Čas. Lék. čes.* **99**, 459—466 mit engl. u. franz. Zus.fass. (1960) [Tschechisch]. — **Kosenow, W.:** Lebende Blutzellen im Fluoreszenz- und Phasenkontrastmikroskop. Experimentelle Prüfungen und vergleichende cytomorphologische Untersuchungen zur Anwendung der supravitalen Fluorochromierung und des Phasenkontrastverfahrens auf Strukturprobleme der Hämatologie. Mit einem Geleitwort von H. Mai. Basel u. New York: S. Karger 1956. — **Kosenow, W., u.**

E. Schellong: Gleichzeitige Kammerzählung und Differenzierung der Leukozyten im Fluoreszenzmikroskop. *Blut* 4, 66—77 (1958). — **Kubitschek, H. E.:** Electronic counting and sizing of bacteria. *Nature (Lond.)* 182, 234 (1958). — **Küster, F. W., A. Thiel u. K. Fischbech:** Logarithmische Rechentafeln, 74.—83. Aufl. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1958. — **Kumlien, A., K. G. Paul, and S. Ljungberg:** A comparison for three methods for the assay hemoglobin. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 12, 381—383 (1960). — **Kunkel, H. G., and G. Wallenius:** New hemoglobin in normal adult blood. *Science* 122, 288 (1955). — **Kupke, D. W.:** Osmotic pressure. *Advanc. Protein Chem.* 15, 57—130 (1960). — **Kuroda, K., et M. Komatsu:** Détermination de la sphéricité des globules rouges. *Sang* 28, 875—892 (1957). — **Kutter, D.:** Zur Verlässlichkeit photometrischer Erythrozytenzählung. *Ärztl. Lab.* 6, 313—316 (1960). — **Kyle, J. W., and S. G. Richmond:** Use of Wintrobe hematocrit tube in office laboratory. *J. Tenn. med. Ass.* 44, 51—54 (1951).

Lachapelle, Blanquet, Meunier et Capot: Image au microscope électronique de stromas de globules rouges obtenus avec divers agents hémolytiques. *J. méd. Bordeaux* 129, 1138—1144 (1952). — **Lagergren, J.:** The white blood cell count and the erythrocyte sedimentation rate in pertussis. *Acta paediat. (Stockh.)* 52, 405—409 (1963). — **Lang, H. R.:** The physics of particle size analysis. *Brit. J. appl. Phys., Suppl.* 3, 1—218 (1954). — **Lalli, G., e F. R. Vecce:** Tecnica di determinazione spettrofotometrica della COHb in presenza di Hb ed HbO, in euvette da 0,01 cm. *Riv. Med. aeronaut.* 19, 359—374 (1956). — **Lark, K. G., and G. Lark:** Changes during the division cycle in bacterial cell wall-synthesis, volume and ability to concentrate free amino acids. *Biochem. biophys. Acta (Amst.)* 43, 520—530 (1960). — **Larsen, G.:** Red cell thickness in pernicious anemia. *Blood* 7, 874—881 (1952). ~ Red blood cell diameters in wet and dry preparations. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 7, 62—68 (1955). — **Latta, H.:** The surface of the mammalian erythrocyte. An electron microscope study of the effect of lipid solvents, fixatives, hypotonicity, and hemolysin (amboceptro) and complement. *Blood* 7, 508—521 (1952). — **Laurell, C. B., and M. Nyman:** Studies on the serum haptoglobin level in hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin. *Blood* 12, 493—506 (1957). — **Leahy, T., and R. Smith:** Notes on methemoglobin determination. *Clin. Chem.* 6, 148—152 (1960). — **LeBouffant, L., and J. L. Soule:** The automatic size analysis of dust deposits by means of an illuminated slit. *Brit. J. appl. Phys., Suppl.* 3, 143—147 (1954). — **Lee, R. E., and J. D. Feldman:** Visualization of antigenic sites of human erythrocytes with ferritin-antibody conjugates. *J. Cell Biol.* 23, 396—401 (1964). — **Leeson, D., and E. B. Reeve:** The plasma in packed cell column of the hematocrit. *J. Physiol. (Lond.)* 115, 129—142 (1951). — **Legowski, St., u. K. G. v. Boroviczény:** Exakte Hämoglobinbestimmung in der täglichen Praxis. *Dtsch. med. Wschr.* 87, 1953—1960 (1962). — **Lehmann, H.:** Hämoglobinoopathien. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* 64, 651—668 (1958). ~ Variations in human haemoglobin synthesis. *Brit. med. Bull.* 15, 40—46 (1959). ~ Die Pathologie der Globinsynthese. *Schweiz. med. Wschr.* 92, 1294f. (1962). — **Leibetseder, F.:** Vergleich der Erythrocytendurchmesser in Milz und peripherem Blut bei Splenomegalien. 5. Kongr. Europ. Ges. Hämatol., S. 324—329 (1956). — **Letts, H. W.:** An evaluation of the Sanborn cell counter. *Techn. Bull. Reg. med. Technol.* 32, 201—207 (1962). — **Lévy, M., et M. Sapir:** Présentation d'un microhématoците utilisant le sang capillaire. *Arch. Mal. Appar. dig.* 39, 884 (1950). — **Lewi, S.:** Hématocrite et vitesse de sédimentation sanguine. *Sem. Hôp., Paris* 30, 3058—3061 (1954). — **Lewis, S. M., D. Danon, and Y. Marikovsky:** Electron-microscope studies of the red cell in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Brit. J. Haemat.* 11, 6 (1965). — **Ling, N. R.:** The attachment of proteins to aldehyde-tanned cells. *Brit. J. Haemat.* 7, 299—302 (1961). — **Linke, P. G.:** Zentralnervöse Regulierung der Retikuloctenzahl im peripheren Blut. *Folia haemat. (Lpz.)* 76, 342—352 (1959). — **Linman, W. J., and M. J. Long:** Erythrocyte osmotic fragility of rats receiving the thermostable plasma erythropoietic factor. *Blood* 13, 226—238 (1958). — **Loeschke, H. H., u. R. Wewer:** Eine Methode zum Zählen von roten Blutkörperchen und Schwebeteilchen in Suspensionen durch photometrische Ausmessung des gebeugten Lichtes. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 253, 533—544 (1951). — **Love, W. E., and N. M. Rummen:** Heme-heme interaction in lamprey hemoglobin—an explanation. *Biol. Bull.* 125, 353 (1963). — **Low, F. N., and J. A. Freeman:** Electron microscopic atlas of normal and leukemic human blood. New York: McGraw Hill Book Co. 1958. — **Lushbaugh, C. C., N. J. Basmann, and B. Glascock:** Electronic measurement of cellular volumes, II. Frequency distribution of erythrocyte volumes. *Blood* 20, 241 (1962). — **Lushbaugh, C. C., J. A. Maddy, and N. J. Bassmann:** Electronic measurement of cellular volumes. *Univ. Calif. Los Alamos Sci. Lab. LAMS* 2526, 372—399 (1961). — **Lushbaugh, C. C., J. A. Maddy, N. J. Bassmann, and B. Glascock:** Electronic measurement of cellular volumes; I. Calibration of the apparatus, II. Frequency, distribution of erythrocyte volumes. *Blood* 20, 233—248 (1962). — **Lutz, W.:** Über die Brauchbarkeit automatischer Zählapparate. In: *Fleischhackers Alm. f. Blutkrankh.*, S. 77—83. München: Lehmann 1962.

Macapinlac, M. P., S. F. Camara Besa, and A. M. Albino: Studies with the copper sulfate specific gravity method of blood analysis. III. Comparison of hematocrit values with Wintrobe's

method and a micromethod determination. *Acta med. philipp.* **13**, 91—95 (1956). — **Macfarlane, R. G., A. M. M. Payne, J. C. F. Poole, A. H. Tomilson, and H. S. Wolff**: An automatic apparatus for counting red blood cells. *Brit. J. Haemat.* **5**, 1—16 (1959). — **Magath, T. B., J. Berkson, and S. Rolland**: Electronic blood-cell counting. *Amer. J. clin. Path.* **34**, 203—213 (1960). — **Magda, H.**: Experiences with the use of the Coulter counter, model A. *Jap. J. clin. Path.* **12**, 294—300 (1964). — **Magos, L.**: Modification of Evelyn and Malley's method for the determination of methaemoglobin. *Science* **183**, 593 (1960). — **Magos, L., u. M. Szirtes**: Die Bedeutung der Verdoglobins-Bestimmung. *Zbl. Arbeitsmed.* **6**, 83—86 (1956). — **Maillard, J.-M.**: Résistance mécanique érythrocytaire. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **19**, 373—383 (1961). — **Mainland, D.**: Elementary medical statistics, 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1963. — **Maizels, S., and M. Remington**: Percentage of intracellular medium in human erythrocytes centrifuged from albumin and other media. *J. Physiol. (Lond.)* **145**, 658—666 (1959). — **Mäurer, H. C.**: Time-saving method for blood cell counting with the Coulter counter. *Bibl. haemat. (Basel)* **18**, 19—20 (1964). — **Man'I, M.**: Elektronen- und Phasenkontrastmikroskopisches Studium der Hämolyse. *Acta Sch. med. Univ. Kioto* **32**, 186—194 (1955). — **Mann, J. D., G. St. Woodson, R. G. Hoffmann, and R. G. Martinek**: The relation between reported values for hemoglobin and the transfusion rate in a General Hospital. *Amer. J. clin. Path.* **32**, 225—232 (1959). — **Marti, H. R.**: Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Blut. *Praxis* **51**, 1336—1339 (1962). — **Mason, E. C., and A. Adarraga-Elizaran**: Standardization of hemoglobin solutions by iron determination. *J. clin. Path.* **16**, 604—606 (1963). — **Massmann, W.**: Die Bestimmung des Hämoglobins als Cyanhämoglobin. *Ärztl. Lab.* **6**, 316—318 (1960). — **Matioli, G. T., G. F. Bahr, E. Zeitler, and R. F. Baker**: Total mass and iron content determination of hemosiderin granules by quantitative electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **13**, 85—91 (1965). — **Matoney, T. E., E. J. Donovan, and E. L. Robinson**: Determination of number and size of algae cells with an electronic particle counter. *Amer. Inst. biol. Sci.* (1962). — **Matsuda, G., R. Gehring-Müller u. G. Braunitzer**: Die vollständige Sequenz der α -Kette der langsamen Komponente des Pferdehäemoglobins. *Biochem. Z.* **338**, 669—673 (1963). — **Mattern, C. F., F. S. Brachett, and B. J. Olson**: Determination of number and size of particles by electronic gating: Blood cells. *J. appl. Physiol.* **10**, 56—70 (1957). — **Matthes, M.**: Die Abhängigkeit der Erythrozytenresistenz von operativen Eingriffen. *Dtsch. med. Wschr.* **1955**, 869. — **Matthes, M., u. H. Scharpf**: Klinische Untersuchungen mit einem neuartigen Gerät zur Bestimmung der Erythrozyten- und Leukozytenzahlen und des Hämoglobingehaltes auf photoelektrischer Grundlage. *Klin. Wschr.* **29**, 266f. (1951). — **Matthies, H. J.**: Die Wirkung von Formaldehyd auf die Methämoglobinrückbildung in roten Blutzellen. *Folia haemat. (Lpz.)* **74**, 299 (1956). ~ Methämoglobinrückbildung in Reticulocyten. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **229**, 331 (1956). ~ Über den Abbau zelleigener Substrate in roten Blutkörperchen. *Folia haemat. (Lpz.)* **74**, 243—245 (1956). ~ Zum Problem der Methämoglobinrückbildung in Erythrocyten. *Acta biol. med. germ.* **1**, 221—228 (1958). — **McAlpine, S. G., A. S. Douglas, and R. A. Robb**: Clinical assessment of haemoglobin concentration. *Brit. med. J.* **1957 I**, No 5051, 983—984. — **McGath, T. B., and J. Berkson**: Electronic blood cell counting. *Amer. J. clin. Path.* **34**, 203—213 (1960). — **McGovern, J. J., A. R. Jones, and A. G. Steinberg**: The hematocrit of capillary blood. *New Engl. J. Med.* **253**, 308—312 (1955). — **McInroy, R. A.**: Microhematocrit for determining packed cell volume and hemoglobin concentration on capillary blood. *J. clin. Path.* **7**, 32—36 (1954). — **McKenzie, J. M.**: Calibration of an electronic counter and pulse height analyser for plotting erythrocyte volume spectra. *US Civil Reformed. Res. Rep.* **63—68**, Inst. 1—8 (1963). — **McLain, P. L.**: Comparison of hematocrit methods. *Science* **106**, 275—276 (1954). — **Mehler, E.**: Ein elektronisches Blutkörperchenzählgerät nach der Methode von H. Coulter. *Verh. Ges. exper. Med. DDR, Dresden* **1961**, **1**, 92—96 (1962). — **Melo, J. M. de**: Cell or particle counting by an electronic method. A trial in the tropics. *Bibl. haemat. (Basel)* **18**, 15—18 (1964). — *Methodische Jury der Arbeitsgemeinschaft der Laboratoriumsärzte Deutschlands*: Hämoglobinbestimmung. *Ärztl. Lab.* **5**, 176—178 (1959). — **Metz, G.**: Blutkörperchen und Hämoglobinpipette. *Ärztl. Wschr.* **14**, 234—236 (1959). — **Meyer-Wilmes, J., u. H. Remmer**: Die Standardisierung des roten Blutfarbstoffes durch Hämoglobincyanid I. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **229**, 441—449 (1956). — **Mickelson, O., H. Woolard, and A. T. Ness**: Decolorization on freezing of ferricyanide-cyanide solution used for hemoglobin determinations. *Clin. Chem.* **10**, 611—618 (1964). — **Mills, G. C., and H. P. Randall**: Hemoglobin catabolism. II. The protection of hemoglobin from oxydative breakdown in the intact erythrocyte. *J. biol. Chem.* **232**, 589—598 (1958). — **Minkowski, A., and E. Swierczewski**: The oxygen capacity of the human foetal blood. In: *Oxygen supply to the human foetus*, pp. 237—253. Oxford: J. Walter and A. C. Turnbull 1959. — **Mölbart, E.**: Elektronenmikroskopische Untersuchungen roter Blutkörperchen unter verschiedenen Milieueinflüssen. *Klin. Wschr.* **33**, 114—119 (1955). — **Moore, S., and W. Stein**: A modified ninyhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related components. *J. biol. Chem.* **211**, 907—913 (1954). — **Moosberger,**

J. J.: Hematocrit interpolation. *Med. Arts. Sci.* **9**, 61—67 (1955). — **Moro, E.:** Über den Wert der Erythrozytengesamt volumensmessung bei der Erkennung von Anämien. *Wien. klin. Wschr.* **1954**, 767—768. — **Morris, F. K., V. E. Loy, K. M. Strutz, L. L. Schloesser, and R. F. Schilling:** Hemoglobin concentrations as determined by a methemoglobin method. *Studies on 1,000 college students. Amer. J. clin. Path.* **26**, 1450—1455 (1956). — **Moskowitz, M., and S. Carb:** Surface alteration and the agglutinability of red cells. *Nature Lond.* **180**, 1049—1050 (1957). — **Muir, A. R., and D. N. Kerr:** Erythropoiesis: an electron microscopical study. *Quart. J. exp. Physiol.* **43**, 106—114 (1958).

Nahas, G. G.: Dosage spectrophotométrique rapide de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine. *J. Physiol. (Paris)* **47**, 867—881 (1955). — **Nakayama, Y.:** Influence des ions de la solution de sel neutre sur la morphologie des globules rouges. *Yokohama med. Bull.* **9**, 90—100 (1958). — **Natelson, S.:** Routine use of ultramicro methods in the clinical laboratory. *Amer. J. clin. Path.* **21**, 1153—1172 (1951). — **Natelson, S., and B. Sheid:** X-ray spectroscopy in the clinical laboratory. IV. Phosphorus; total blood iron as a measure of hemoglobin content. *Clin. Chem.* **7**, 115—129 (1961). — **Natvig, H.:** Studies on hemoglobin values in Norway. I. Hemoglobin levels in adults. *Acta med. scand.* **173**, 423—434 (1963). — **Natvig, H., T. Bjerkedal, and O. Jonassen:** Studies on hemoglobin values in Norway. II. The effect of supplementary intake of ascorbic acid and iron on the hemoglobin level of school-children and men. *Acta med. scand.* **174**, 341—350 (1963). ~ Studies on hemoglobin values in Norway. III. Seasonal variations. *Acta med. scand.* **174**, 351—359 (1963). — **Nelson, M. G., and J. Carville:** Blood cell counting: a comparison of the E.E.L. and Coulter machines. *Irish. J. med. Sci.* **442**, 447—456 (1962). — **Newman, T. H.:** Adaptor for capillary cell volume tubes. *J. med. Lab. Technol.* **15**, 196—202 (1958). — **Ninni, M.:** Su alcune caratteristiche morfologiche della membrana dei globuli rossi normali e leucemici osservata al microscopio elettronico. *Haematologica* **36**, 671—683 (1952). — **Nöller, H. G.:** Das Vorkommen von Erythrocyteneinschlüssen bei Polyglobulien. *Klin. Wschr.* **32**, 807—809 (1954). — **Norberg, B., and S. Warvenius:** Hematocrit centrifuge. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **4**, 249—250 (1952).

O'Brien, B. R. A.: The partial cytolysis of the amphibian erythrocyte and liver parenchyma cell by a non-ionogenic surface active agent. *J. Cell Biol.* **20**, 521—525 (1964). — **Öhlin, E.:** Automatisk cellräkingsmetod — speciellt för blodkroppar. *Nord. Med.* **59**, 577 (1958). — **Ohnsteadt:** Efflux and influx of erythrocyte water. *J. gen. Physiol.* **44**, 227—233 (1960). — **Oliver, M. M., and M. E. Gilbert:** Microhematocrit capillary tube holder. *Med. Techn. Bull.* **10**, 201—202 (1959). — **Orlic, D., A. S. Gordon, and A. G. Rhodin:** An ultrastructural study of erythropoietin-induced red cell formation in mouse spleen. *J. Ultrastruct. Res.* **13**, 516—542 (1965). — **Orthey, G. F., and M. Ingram:** Changes in kinetics of erythropoiesis as reflected in frequency distribution of erythrocyte volume of actually bled dogs. *UR-662 (TID-5400, 31st Ed.)* (1965). — **Otis, R. D., and R. Tennant:** Hydrochloric acid for stromatolysis of erythrocytes in Coulter leucocyte counting. *Amer. J. clin. Path.* **35**, 383—386 (1961). — **Oudheusden, A. P. M. van, J. M. van de Heuvel, G. J. Stekelenburg, L. H. Siertsema, and S. K. Wadman:** De ijking van de hemoglobinebepaling op basis von ijzer. *Ned. T. Geneesk.* **108**, 265 (1964). — **Oulie, C.:** Telling av de röde blodlegemer ved deres elektriske motstand. *Nord. Med.* **62**, 1421—1425 (1959).

Paterson, R. W., and D. Karlen: Cetrinide als a lytic agent in the enumeration of white blood cells with the Coulter counter. *Amer. J. clin. Path.* **36** (1962). — **Paul, K. G.:** Die Darstellung von reinen Häminen. *Acta chem. scand.* **12**, 1611—1621 (1958). — **Paul, K. G., H. Theorell, and Å. Årkeson:** The molar light absorption of pyridine ferroprotoporphyrin. *Acta chem. scand.* **7**, 1284—1287 (1953). — **Pauly, H., and H. P. Schwan:** The electric conductance and dielectric constant of the interior of erythrocytes. *U.S. Office nav. Res. Techn. Rep.* **28**, 1—84 (1955). — **Peacock, A. C., G. Z. Williams, and H. F. Mengali:** Rapid electronic measurement of cell volume and distribution. *J. nat. Cancer Inst.* **25**, 63—74 (1960). — **Pease, D. C.:** Marrow cells seen with the electron microscope after ultrathin sectioning. *Rev. Hémat.* **10**, 300—313 (1955). ~ An electron microscopic study of red bone marrow. *Blood* **11**, 501—526 (1956). — **Pfeiffer, G.:** Methoden und Geräte zur elektronischen Zählung von Blutkörperchen und zur Bestimmung ihrer Größenverteilung. *Nachrichtentechnik* **12**, 47—50 (1962). ~ Elektronische Blutkörperchenzählung und Größenverteilungsbestimmung. *Z. med. Labortechnik* **3**, 57—87 (1962). — **Perutz, M. F.:** The hemoglobin molecule. *Sci. Amer.* **1964**, 64—76. — **Peterson, R. S., and D. Karlen:** Cetrinide as a lytic agent in the enumeration of white blood cells with the Coulter counter. *Amer. J. med. Technol.* **29**, 97—104 (1963). — **Philips, R. A., D. D. van Slyke, P. B. Hamilton, V. P. Dole, K. Emerson, and R. M. Archibald:** Measurement of specific gravities of whole blood and plasma by standard cupersulfate solutions. *J. biol. Chem.* **183**, 305—330 (1950). — **Pietrantonj, F. di:** Determination of "trapped plasma" in the red blood cells column of hematocrit with the use of hemoglobin labelled with radioactive chromium. *Haemat. lat. (Milano)* **3**, 57—67 (1960). — **Piette, M.:** Numération directe en cellule hématimétrique des réticulocytes du sang circulant. *Sang* **31**, 265—272 (1960). — **Pietz, C.:** Hemolysis reversion of the red blood cell according to

- the time and conditions of preservation. *Bull. Soc. Sci. Poznan, Sér. C, Nr 9*, 23—26 (1960). — **Piper, W.**, u. **G. Ruhensstroh-Bauer**: Untersuchungen über die Proteinadsorption an menschlichen Erythrocyten. *Klin. Wschr.* **1956**, 11—15. — **Pirofsky, B.**, and **H. M. Nelson**: The determination of hemoglobin in blood banks. *Transfusion (Philad.)* **4**, 45—49 (1964). — **Plum, C. M.**: Variatione i erythrocythernes haemoglobinmaetning og volumen. *Ugeskr. Læg.* **124**, 561—565 (1962). — **Pohlmann, D.**: Das Elektrohämoskop. (Kritische Betrachtung nach klinischer Prüfung.) *Ärztl. Lab.* **2**, 102—105 (1956). — **Pohlmann, G.**, u. **W. Lutzeyer**: Über den zeitlichen Ablauf der morphologischen Veränderungen an roten Blutkörperchen des Menschen aus Blutkonserven. *Naturwissenschaften* **46**, 673 (1959). — **Pokotinskii, I. S.**, and **T. IA. Luzianina**: The electron microscopy of influenza virus adsorbed on erythrocytes. [In Russian.] *Tr. Akad. med. Nauk SSSR.* **28**, 14—19 (1953). — **Pollicard, A.**, **M. Bessis** et **J. Breton-Gorius**: Structures myéliniques observées au microscope électronique sur des coupes de globules rouges en voie de lyse. *Exp. Cell Res.* **13**, 184—186 (1957). — **Pollicard, A.**, **M. Bessis** et **M. Bricka**: La fixation des cellules isolées observée au contraste de phase et au microscope électronique. I. Action des différents fixateurs. *Bull. Micr. appl.* **2**, 29—42 (1952). ~ La fixation des cellules isolées observée au contraste de phase et au microscope électronique. II. Étude sur la congélation-dessiccation (méthode d'Altmann-Gersh). *Bull. Micr. appl.* **3**, 102—109 (1953). — **Polivoda, A. I.**, and **Yu. P. Vinetskii**: A method of preparing quartz films for electron microscopy in studies of the fine structure of erythrocytes. *Biophysics U.S.S.R. Engl. Transl.* **4** (5), 100—103 (1959). ~ Electron microscopic study of erythrocytes on quartz and collodion films. *Biophysics U.S.S.R. Engl. Transl.* **6** (1), 140—141 (1961). — **Ponder, E.**, and **Barreto, D.**: Measurement of mean red cell thickness by the use of a probability function. *Nature (Lond.)* **178**, 265 (1956). — **Ponder, E.**, **M. Bessis** et **J. Breton-Gorius**: Observations au microscope électronique de l'action de différentes hémolysines sur la surface des globules rouges. *Rev. Hémat.* **8**, 276—281 (1953). — **Ponder, E.**, **M. Bessis**, **J. Breton-Gorius**, **A. Guinier**, **P. Antzenberger** et **D. G. Dervichian**: Modifications de la surface et de l'intérieur des érythrocytes. Durant leur conservation en solution A.C.D. *Rev. Hémat.* **9**, 123—126 (1954). — **Ponder, E.**, **M. Bessis**, **M. Bricka**, et **J. Breton-Gorius**: Modifications de la surface des érythrocytes par différentes agressions (et particulièrement durant l'agglutination) études par microscopie électronique. *Rev. Hémat.* **7**, 550—560 (1952). — **Ponder, E.**, **M. Bessis**, **M. Bricka** et **J. Gorius**: Nouvelles données sur le mécanisme d'agglutination des érythrocytes. (Examen au microscope à contraste de phase et au microscope électronique.) *C.R. Acad. Sci. (Paris)* **234**, 2645—2646 (1952). — **Ponder, E.**, et **R. V. Ponder**: Transformation disque-sphère des globules rouges humains entre deux surfaces de verre. *Rev. franç. Hémat.* **2**, 223—229 (1962). — **Prirden, E. I.**: Accuracy control of blood cell counts with the Coulter counter. *Amer. J. med. Technol.* **30**, 1—35 (1964). — **Pryce, J. D.**: Level of haemoglobin in whole blood and red blood-cells, and proposed convention for defining normality. *Lancet* **1960 II**, 333—336.
- Rabinovich, P. D.**: Method for separation of erythrocytes and plasma. *Klin. Med.* **32**, 70—71 (1954). — **Rackow, B.**: Über die Struktur des „grünen Hämins“. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **308**, 66—70 (1957). — **Rappaport, F.**, and **F. Eichhorn**: Simplified hematocrit. *Harefuah* **31**, 80—81 (1946). — **Rathert, H.**: Erfahrungen mit dem Blutkörperchen-zählapparat Sanborn-Frommer. *Ärztl. Lab.* **10**, 282—287 (1964). — **Reagan, R. L.**, and **A. L. Brueckner**: Electron micrographs of erythrocytes from Syrian hamsters infected with the Doll Kentucky-D strain of equine abortion virus. *Trans. Amer. micr. Soc.* **74**, 393—397 (1955). — **Reagan, R. L.**, **E. C. Delaha**, **S. R. Cook**, and **A. L. Brueckner**: Electron microscope study at various hourly intervals of erythrocytes from adult chickens infected with Newcastle disease virus (NDV). *Poultry Sci.* **33**, 1209—1216 (1954). — **Reagan, R. L.**, **E. C. Delaha**, **M. T. Stewart**, and **A. L. Brueckner**: Electron micrographs of erythrocytes from Swiss albino mice infected with the Aujeszky strain of pseudorabies virus. *Amer. J. vet. Res.* **15**, 166—170 (1954). — **Reagan, R. L.**, **M. Geumlek**, **S. Schang**, and **A. L. Brueckner**: Studies of erythrocytes by electron microscopy from cave bats (*Myotis lucifugus*) infected intraperitoneally with the California strain of Newcastle disease virus (11, 914). *Vet. Med.* **51** (2), 78—79 (1956). — **Reagan, R. L.**, **E. D. Palmer**, and **A. L. Brueckner**: Electron microscopy studies of erythrocytes from patient with infectious mononucleosis. *Amer. J. Path.* **29**, 1161—1163 (1953). — **Reagan, R. L.**, **Sing Chen Chang**, and **A. L. Brueckner**: Electron micrographs of erythrocytes from Swiss albino mice infected with Zika virus. *Tex. Rep. Biol. Med.* **13**, 934—938 (1955). ~ Electron micrographs of erythrocytes from Swiss albino mice with Uganda "S" virus. *Trans. Amer. micr. Soc.* **74**, 397—400 (1955). ~ Study by electron microscopy of erythrocytes from cave bats (*Myotis lucifugus*) infected intraperitoneally with yellow fever virus (17 D strain). *Tex. Rep. Biol. Med.* **13**, 470—474 (1955). — **Reagan, R. L.**, **Sing Chen Chang**, **F. S. Yancey**, and **A. L. Brueckner**: Electron microscope studies of erythrocytes from cynomolgus monkeys infected intraperitoneally with the Lederle strain of hog cholera virus. *Trans. Amer. micr. Soc.* **75**, 187—190 (1956). ~ Electron microscope studies of erythrocytes from suckling jamsters. Studies on cells from animals exposed to the Chang strain of the common cold virus. *Arch. Path.* **62**, 155—158 (1956). — **Reagan, R. L.**, **F. S. Yancey**, and **A. L. Brueckner**:

Electron microscopy of erythrocytes from young chickens experimentally infected with the Saukett type III and Mahoney type I strains of poliomyelitis. *Trans. Amer. micr. Soc.* **75**, 191—195 (1956). — **Rebuck, J. W.**: Erythrocytic antigenic loci in relation to erythrocytic structures with their electron micrography. (Abstract.) *Anat. Rec.* **112**, 379 (1952). ~ Structural changes in sensitized human erythrocytes observed with the electron microscope. *Anat. Rec.* **115**, 591—613 (1953). — **Rebuck, J. W.**, **R. W. Monto**, and **R. M. Sturrock**: The structural basis of sickling and its electron microscopy. *Fed. Proc.* **9**, 340 (1950); *Amer. J. Path.* **28**, 530 (1952). — **Rebuck, J. W.**, **R. M. Sturrock**, and **R. W. Monto**: Electron microscopy of the sickling process. *Henry Ford Hosp. med. Bull.* **1**, 29—32 (1953). — **Refsum, H. E.**, and **S. L. Sveinsson**: Spectrophotometric determination of hemoglobin oxygen saturation in hemolyzed whole blood. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **8**, 67—70 (1956). — **Reimann, F.**, u. **S. Strancali**: Kritische und methodische Bemerkungen zur Bestimmung der Größe und Form der Erythrozyten. *Blut* **6**, 151—172 (1960). — **Remmer, H.**: Die Standardisierung des roten Blutfarbstoffes durch Hämglobincyanid. II. Eisengehalt und O₂-Bindungsvermögen von menschlichem Blut. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmac.* **229**, 450—462 (1956). ~ Kritik an dem Verfahren zur Standardisierung von Hämoglobinbestimmungen. *Klin. Wschr.* **34**, 760f. (1956). ~ Die Reaktion zwischen Globin und Ferricyanid. *Biochem. Z.* **330**, 232—239 (1958). ~ Kritische Wertung der Hämoglobinbestimmungsmethode. *Internist (Berl.)* **1**, 232—236 (1960). — **Remmer, H.**, u. **J. Meyer-Wilmes**: Die Oxydation von Hämoglobin durch Ferricyanid. *Biochem. Z.* **330**, 218—231 (1958). — **Ressler, N.**, **N. A. Nelson**, and **I. M. Smith**: Use of an artificial standard for hemoglobin determination. *J. Lab. clin. Med.* **54**, 304—310 (1959). — **Reule, A.**: Die Prüfung der photometrischen Skala von Absorptionsmeßgeräten. *Zeiß-Mitt.* **1**, 283—299 (1959). — **Réveillière, H.**, et **M. Piette**: Détermination précise du diamètre érythrocytaire par planimétrie sur microphotographie. *Ann. Biol. clin.* **19**, 665—671 (1961). — **Rhian, M.**, **S. Evans A.**, and **J. L. Melnick**: The interaction of influenza virus and intact human erythrocytes observed by replica technique in the electron microscope. *J. Immunol.* **67**, 513—521 (1951). — **Richar, W. J.**, and **E. S. Breakell**: Evaluation of an electronic particle counter for the counting of white blood cells. *Amer. J. clin. Path.* **31**, 384 (1959). — **Rieher, G.**, and **M. v. Bubnoff**: The intracellular quantity of plasma in erythrocyte sediment. Studies on the problem of plasma defect in the chemical analysis of erythrocytes. *Z. ges. exp. Med.* **132**, 102—106 (1959). ~ Die intercellulare Plasmamenge im Erythrocytensediment. Untersuchungen zur Frage des Plasmafehlers bei der chemischen Analyse von Erythrocyten. *Z. ges. exp. Med.* **132**, 102—106 (1959). — **Rind, H.**: Kinetik der Erythroblastenkernung mit Mikrofilmdemonstration (Phasenkontrast). *Folia haemat. (Lpz.)* **74**, 262 (1956). — **Ringelhann, B.**: Über die Bestimmung von Hämoglobin. Vortrag am Laboratorischen Kongreß, Budapest (1963). — **Ringelhann, B.**, u. **E. Tóth**: Untersuchungen der ACTH-Wirkung auf die osmotische Resistenz der roten Blutkörperchen. *Acta med. (Budapest) Suppl.* **1**, 6, 105—109 (1954). — **Roberts, F.**, and **J. Z. Young**: A flying spot microscope. *Nature (Lond.)* **169**, 518 (1952). — **Roche, J.**, **M. Bessis** et **J.-P. Thiéry**: Étude au microscope électronique d'hémoglobines et de chlorocruorines d'Annélides. *C.R. Soc. Biol. (Paris)* **154**, 949—952 (1960). ~ Étude de l'hémoglobine d'*Arenicola marina* L. au microscope électronique. *C.R. Soc. Biol. (Paris)* **154**, 73—76 (1960). — **Roerber, H.**, u. **K. G. v. Boroviczény**: Neue Hämometer für die Praxis. *I. Med. Welt* **1964**, 487—485. — **Roechel, I. E.**: A new method for blood cell counting. *Bull. Georgetown Univ. med. Cent.* **12**, 60f. (1958). — **Römer, M. A.**: Erythrocyten, anders gesehen. (60. Kongr., München, 25.—29. 4. 1954.) *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **1954**, 941—943. — **Romana, F.**: Differentiation of anemias by comparison of the erythro sedimentation rate with the hematocrit. *Lab. Granada* **27**, 501—530 (1959). — **Romanowski, W.**, and **A. Feltyński**: Structural changes in human erythrocytes subjected to the influence of specific agglutinins, observed with the aid of an electron microscope. *Bull. Acad. pol. Sci.* **3** (2), 73—75 (1955) (in English). *Acta physiol. pol.* **2**, 171—176 (1955) [in Polish]. — **Romanowski, W.**, **A. Feltyński**, and **J. Litwin**: The mechanism of hemolysis caused by ultrasonic irradiation. I and II. In: *Stockholm Conf. on Electron Micros.* 9/56. Proc. 161. New York: Academic Press 1957. — **Romero**: (Beiträge zur Technik der Blutkörperchenzählung von Dr. Romero.) *Laboratorio (Granada)* **24**, 501—508 (1957). — **Rosa, J.**, **J.-C. Dreyfus**, and **G. Schapira**: Ageing of haemoglobin. *Nature (Lond.)* **188**, 753—754 (1960). — **Rosak, M.**: Über die Verwertbarkeit der Blutbildbestimmung nach Wintrobe (Fläschchenmethode) für den Routinebetrieb eines hämatologischen Laboratoriums. *Wien. klin. Wschr.* **71**, 261—265 (1959). — **Rosenberg, D. M.**: Elektronenoptische Studie der Erythrocytenoberfläche mit Hinsicht auf ihre Fähigkeit der Virusabsorption. *Folia haemat. (Lpz.)* **77**, 163—168 (1960). ~ **Rosenberg, M.**: Electron microscope study of the surface of fowl erythrocytes. *Folia Biol. (Praha)* **5**, 268—271 (1959). — **Rosenlund, B.**, and **O. P. Foss**: Automatisk telling av hvite blodlegemer. *Nord. Med.* **63**, 556—558 (1960). — **Rothberg, H.**, **L. A. Corallo**, and **W. H. Crosby**: Observations on Heinz bodies in normal and splenectomized rabbits. *Blood* **14**, 1180—1186 (1959). — **Rounds, D. E.**, **R. S. Olson**, and **F. M. Johnson**: The laser as a potential tool for cell research. *J. Cell Biol.* **27**, 191—197 (1965). — **Rowe, D. S.**,

- and **M. E. Abrams**: An electronic colloid osmometer and an assessment of its accuracy. The molecular weight of bovine plasma albumin. *Biochem. J.* **67**, 431—435 (1957). — **Rózsa, G.**, and **S. S. Spicer**: Nature of Heinz bodies. *Nature (Lond.)* **171**, 84—85 (1953). — **Ruckpaul, K.**: Standardisierung der Hämoglobinbestimmungsmethodik. *Z. ärztl. Fortbild.* **58**, 114—117 (1964). — **Ruckpaul, K.**, u. **G. Stopp**: Zur Bestimmung des Haemoglobingehaltes mittels der Haemoglobin-(3)-cyanid-Methode. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* **18**, 730—732 (1963). — **Rümke, C. L.**: Die Fehler beim Zählen von Blutzellen in einer Zählkammer. *Ned. T. Geneesk.* **54**, 3480—3485 (1954). ~ Die Zelldifferenzierung in Blutaussstrichen. *Triangel* **4**, 154—158 (1960). — **Rümke, Ch.**: The accuracy of the leucocyte count. *Ned. T. Geneesk.* **105**, 2016—2022 (1961). — **Ruhenstroth-Bauer, G.**: Die Struktur der Säugererythrozyten. In: Heilmeyer-Hittmair, *Handbuch der gesamten Hämatologie*, Bd. II/2, S. 210—228. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1960. ~ Die Biochemie der Hämolyse. In: Schubotho, *Hämolyse und hämolytische Erkrankungen*, S. 22—29. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961. — **Ruhenstroth-Bauer, G.**, **W. Dölle** u. **K. Zeininger**: Die Wirkung hochsensibler Plasmen auf das Erythrocytenvolumen. (2. Symposium über Fragen der Struktur und Funktion der roten Blutkörperchen, Berlin, 24.—26. 1. 1957.) *Folia haemat. (Lpz.)* **77**, 185—188 (1960). — **Ruhenstroth-Bauer, G.**, **J. Gutmann**, **D. Zang** u. **O. Zang**: Zur Volumenverteilung von Erythrozyten. *Folia haemat. (Lpz.)* **83**, 78—83 (1965). — **Ruhenstroth-Bauer, G.**, **K. Schmidt** u. **K. Zeininger**: Die Änderung des Erythrocytenvolumens bei der Einwirkung von Digitonin. *Blut* **2**, 287 (1956). — **Ruhenstroth-Bauer, G.**, u. **D. Zang**: Automatische Zählmethoden: Das Coulter'sche Partikelzählgerät. *Blut* **6**, 446—462 (1960). — **Rumen, N. M.**, and **W. E. Love**: The six hemoglobins of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *Arch. Biochem.* **103**, 24—35 (1963). — **Rustad, H.**: Correction for trapped plasma in microhematocrit determinations. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **16**, 677—679 (1964). — **Rusznayák, St.**, u. **E. B. Hatz**: Maßanalytische Bestimmung des Hämoglobins. *Biochem. Z.* **280**, 242—247 (1960).
- Sabine, J. C.**, and **D. J. Nickolai**: A microhematocrit method and its use with citrated blood. *Blood* **7**, 1128—1131 (1952). — **Saiger, G. L.**: Observations on the probability of error in medical diagnoses. *Ann. intern. Med.* **56**, 860 (1962). — **Sanchez, M.**, **C. Tejada**, and **M. A. Guzman**: The microhematocrit. *Rev. Med. Guatemala* **13**, 3—6 (1962). — **Santavy, F.**, u. **B. Lang**: Zur Frage des Hämoglobingehalts in den Erythrozyten. *Z. ges. inn. Med.* **14**, 579—582 (1959). — **Saraceni, R.**: Rapid control of the statistical validity of an erythrocyte count. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **38**, 934—936 (1962). — **Schaub, F.**, u. **C. Maier**: Zur klinischen Bedeutung der mechanischen Resistenz der roten Blutkörperchen. *Acta haemat. (Basel)* **15**, 90—105 (1956). — **Scheidt, H.**: Über Beziehungen zwischen der Dichte des Serums, des nativen Vollblutes und des Hämatokritwertes beim Menschen. *Z. ges. exp. Med.* **125**, 49—58 (1955). — **Scheidt, R. A.**, and **W. J. Blake**: Use of a suspension of latex particles of known concentration for monitoring the Coulter counter. *West. J. clin. Path.* **35**, 193f. (1961). — **Schilling, V.**: Über Morphologie der „Innenkörper“ der Erythrocyten (Heinz-Ehrlich-Körper) und über die Besonderheiten der „Innenkörperanämie“. *Folia haemat. (Lpz.)* **72**, 311 (1954). ~ Was ist ein Cabot-Ring licht- und elektronenmikroskopisch? *Medizinische* **17**, 620—622 (1954). ~ Die Morphologie der Erythrocyten. *Folia haemat. (Lpz.)* **73**, 349—389 (1956). — **Schlegel, B.**, **H. Bräun** u. **A. A. Müller**: Untersuchungen am Hämoglobin intravital gealterter Erythrocyten. *Klin. Wschr.* **37**, 586—588 (1959). — **Schlegel, B.**, u. **P. Kappest**: Untersuchungen zur intravitalen Erythrocytolyse. *Klin. Wschr.* **34**, 805—807 (1956). — **Schlenker, F. S.**, and **J. Noll**: Determination of packed cell volume. *J. Lab. clin. Med.* **39**, 582—594 (1952). — **Schlimbach, H. P.**: Untersuchungen zur Standardisierung des Mikrohämatokrit. *Diss. Freiburg* 1967. — **Schlomka, G.**, u. **E. Peschel**: Untersuchungen über die Einflüsse des Lebensalters auf die menschlichen Erythrozyten. II. Über das Verhalten der Price-Jones-Kurven in den verschiedenen Lebensaltern. *Z. Altersforsch.* **11**, 336—350 (1958). — **Schlomka, G.**, u. **W. Platen**: Zum Verhalten des roten Blutbildes bei chronischem O₂-Mangel. *Folia haemat. (Lpz.)* **75**, 576—602 (1958). — **Schluge, H.**: Der Teilchengrößenanalysator. *Optar-Ber.* **1960** (10), 13—19. — **Schmid, D. O.**: Der Hämatokrit und seine diagnostische Bedeutung. *Acta haemat. (Basel)* **4**, 22—32 (1950). — **Schmoer, J.**: Über die Bestimmung von Hämatokrit, Elektrolyten, Gesamteiweiß und Serum-Bilirubin auf Säuglingsstationen. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* **21**, 1000—1004 (1961). — **Schneider, I.**, u. **G. A. Ludwig**: Eine neue Zählmethode zur quantitativen Erfassung kleinster Mengen fetaler, in den mütterlichen Kreislauf eingeschwemmter Erythrozyten. *Klin. Wschr.* **41**, 563—565 (1963). — **Schoen, I.**, and **M. Salomon**: Control of blood haemoglobin determinations by a simple effective method. *J. clin. Path.* **15**, 44—46 (1962). — **Schroeder, W. A.**: The chemical structure of the normal human hemoglobins. *Fortschr. Chem. org. Naturstoff* **17**, 323—378 (1959). ~ The hemoglobins. *Ann. Rev. Biochem.* **32**, 301—320 (1963). — **Schroeder, W. A.**, **R. Shelton, J.** and **I. Cormick**: Further sequences in the γ chain of human fetal hemoglobin. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 284—287 (1962). — **Schubart, G.**, **E. Bauereisen**, **R. Berzon** u. **J. Conrad**: Spektralphotometrie von hämolysiertem Blut im nahen Infrarot. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **265**, 1—10 (1957). — **Schubotho, H.**: Studien zur thermischen Formveränderung und thermischen Hämolyse roter

Blutkörperchen. (2. Symposium über Fragen der Struktur und Funktion der roten Blutkörperchen, Berlin, 24.—26. 1. 1957.) *Folia haemat.* (Lpz.) **77**, 156—162 (1960). — **Schuboth, H.**, and **F. Po-Tun Fok**: The quantitative estimation of mechanical haemolysis for clinical application. *Brit. J. Haemat.* **6**, 350—354 (1960). — **Schudt, H. P.**: Elektronische Verfahren zur automatischen Zählung von Blutkörperchen. *Wiss. Z. Hochsch. Elektrotechn. Ilmenau* **7**, 269—278 (1961). — **Schudt, H. P.**, u. **H. Ch. Riessmann**: Die elektronische Zählung von Blutkörperchen und anderen Partikelarten nach dem Leitfähigkeitsprinzip. *Wiss. Z. Hochsch. Elektrotechn. Ilmenau* **8**, 247—256 (1962). — **Schütz, E.**, u. **W. Künzer**: Zur Lokalisierung und Morphologie von Heinzschen Körpern. (Elektronenoptische Untersuchungen an Erwachsenen- und Neugeborener erythrocyten.) *Folia haemat.* (Frankfurt), N.F. **5**, 41—69 (1961). — **Schwerd, W.**: Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate (Schmidt-Römschild, Lübeck 1962) (Lit.!). — *Secretarys Report*: Amer. Soc. clin. Pathologists Bull. No 4, 5 December (1962). — **Selvyn, J. G.**: Technical notes on performing leucocyte counts on the E.E.L. blood cell counter. *J. clin. Path.* **15**, 189—190 (1962). — **Seno, S.**: Is the reticulum of reticulocytes a preexistent structure or an artefact? *Folia haemat.* (Lpz.) **77**, 214—221 (1960). ~ Die Struktur der Retikulozyten (Okayama/Japan). In: Heilmeyer-Hittmair, Handbuch der gesamten Hämatologie, Bd. II/2, S. 229—234. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1960. — **Seno, S.**, **Koyo Yoshizawa**, **Takashi Nakamoto**, and **Saburo Kanda**: A morphologic study of reticulocytes with special reference to the substantia granulofilamentosa. *Folia haemat.* (Frankfurt) **2**, 269—279 (1958). — **Setnikar, J.**, and **O. Temelcon**: Advantages of the hematocrit method for testing isotonicity of injectable solutions. *J. pharm. Sci.* **52**, 1086—1089 (1963). — **Shils, M. E.**, **M. Sass**, and **L. J. Goldwater**: A microhematocrit method and its evaluation. *Amer. J. clin. Path.* **22**, 155—159 (1952). — **Simon, K. H.**: Chemie und Physiologie des roten Blutfarbstoffes. *Materia Medica Nordmark* **15**, 259—263 (1963). — **Simpson, Ch. F.**, **J. M. Kling**, and **F. C. Neal**: The nature of bands in parasitized bovine erythrocytes. *J. Cell Biol.* **27**, 225—235 (1965). — **Sipe, C. R.**, and **E. P. Cronkite**: Studies on the application of the Coulter electronic counter in enumeration of platelets. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **99**, 262 (1962). — **Smithies, O.**, and **G. E. Connell**: Biochemical aspects of the inherited variations in human haptoglobins and transferrins. *Biochemistry of human genetics*, p178—193 (G. E. W. Wolsteholme and C. M. O'Connor, Ciba Foundation Monograph). Boston: Little, Brown & Co. 1959. — **Skolov, N. P.**: Bestimmung des Erythrocytenvolumens im Apparat von Pančenkov. *Klin. Med.* **32**, 71—73 (1954). — **Sondhaus, C. A.**, and **Bo Thorell**: Microspectrophotometric determination of nonheme iron in maturing erythroblasts an dits relationship to the endocellular hemoglobin formation. *Blood* **16**, 1285—1297 (1960). — **Sorenson, G. D.**: An electron microscopic study of erythropoiesis in the yolk sac. (Abstract.) *Anat. Rec.* **133**, 338—339 (1959). ~ An electron microscopic study of hematopoiesis in fetal liver. (Abstract.) *Fed. Proc.* **18** (1, Pt. I) 507, (1959). ~ An electron microscopic study of hematopoiesis in the liver of the fetal rabbit. *Amer. J. Anat.* **106** (1), 27—40 (1960). ~ An electron microscopic study of hematopoiesis in the yolk sac. *Lab. Invest.* **10** (1), 178—193 (1961). — **Spaander, J.**: The value of bloodchecks. Symposium on the Med. Supervis. of Workers exposed to Ionizing Radiat. Euratom, Stresa-Ispra (1961). ~ Problems of bloodtransfusion in Europe (Counc. Europe, Strassbourg 1962). ~ Zur Standardisierung der Hämoglobinometrie. In: Strahlenschutz in Forschung und Praxis **4** (im Druck). Freiburg i.Br.: Rombach 1964. ~ Standardization of physical and chemical methods in haematology. In: *Bibl. haemat.* **18**, 102 (1964). — **Spaander, J.**, and **P. W. Hellemans**: Hemoglobin values of "normal" persons in the Netherlands. *Bibl. haemat.* **21**, 129—131 (1965). — **Spaander, J.**, u. **A. H. Holtz**: Zur Standardisierung wichtiger Laboratoriumsmethoden der Inneren Medizin. 70. Tagg der Dtsch. GIM, Wiesbaden 1964. — **Spriggs, A. I.**, and **R. A. Sladden**: The influence of age on red cell diameter. *J. clin. Path.* **11**, 53—55 (1958). — **Stavem, P.**: Method of estimating the diameter of erythrocytes. *Lancet* **1958 I**, 827—828. — **Steffen, J.**: Photometrische Bestimmung der Erythrozytenzahl. *Ärztl. Lab.* **5**, 76—78 (1959). — **Stengle, J. M.**, and **A. L. Schade**: Diurnal-nocturnal variations of certain blood constituents in normal human subjects. *Brit. J. Haemat.* **3**, 117—124 (1957). — **Stewart, J. W.**: Electronic blood cell counters. *Voordr. Acad. Ziekenhuis, Leyden* (1961). — **Stöber, W.**, **H. J. Witt** u. **M. Arnold**: Teilchengrößenmessungen an anorganischen und biologischen Partikeln. *Zeiß-Mitt.* **2**, 281—308 (1962). — **Strecker, B.**: Eine Methode der Nacheichung von Pipetten nach Sahli und Blutzucker-Pipetten nach Crecelius. *Ärztl. Lab.* **5**, 323—325 (1959). ~ Eine Methode zur Kontrolle von Blutmischpipetten. *Ärztl. Lab.* **5**, 325 (1959). — **Streeten, D. H. P.**, and **G. W. Thorn**: Use of changes in the mean corpuscular hemoglobin concentration as an index of erythrocyte hydration. *J. Lab. clin. Med.* **49**, 661—671 (1957). — **Strobbe, H.**: Methodik im hämatologischen Laboratorium. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* **14**, 1903—1906 (1959). — **Strumia, M. M.**, and **L. A. Principato**: The air turbine hematocrit for measurement of the relative volume of packed red cells. *Amer. J. clin. Path.* **20**, 419—428 (1950). — **Strumia, M. M.**, **A. B. Sample**, and **E. D. Hart**: An improved microhematocrit method. *Amer. J. clin. Path.* **24**, 1016—1024 (1954). ~ Improved microhematocrit method. *Correction. Amer. J. clin. Path.* **25**, 298 (1955). — **Suchet, A.**: La clinique en fonction des

progrès techniques. *Rev. Med.* **16**, 82—86 (Liège 1961). ~ Coordination et semi-automatisme au laboratoire. Le donneur de sang bénévole **229**, 5—15 (éd. Fed. Nat., 31, rue St-Georges, Paris 1963). — **Sugie, M., E. Ito, and Y. Takagaki**: Electron microscopic studies about erythrocytes. *Japan. J. Constit. Med.* **21**, 69—73 (1956). — **Sugjoka, Z.**: Electron microscopy of erythrocytes of various animals. *J. Osaka Univ. med. School* **5**, 229 (1953). — **Sundermann, F. W.** (ed.): *Clinical hemoglobinometry manual from the Naval Medical School at the National Naval Medical Center, Bethesda, Md.*, September 8, 1954. ~ Maintenance of a high standard of laboratory medical care in hospitals. *Canad. med. Ass. J.* **78**, 606—610 (1958). ~ Proficiency Test Service Report (1964). — **Sunderman, F. W., R. P. MacFate, D. A. MacFadyen, G. F. Stevenson, and B. E. Copeland**: Symposium on clinical hemoglobinometry. *Amer. J. clin. Path.* **23**, 519—598 (Lit.). — **Sunderman, F. W., F. W. Sunderman, B. E. Copeland, R. P. MacFate, V. E. Martens, H. N. Neumann, and G. F. Stevenson**: Hemoglobin standardizations: A commentary on procedures to insure reliable hemoglobinometry. *Amer. J. clin. Path.* **25**, 489—493 (1955a). ~ Manual of workshop in clinical hemoglobinometry of the American Society of Clinical Pathologists. *Amer. J. clin. Path.* **25**, 695—713 (1955b). — **Sunderman, F. W., and F. W. Sunderman jr.** (eds.): *Hemoglobin, its precursors and metabolites*. Philadelphia and Montreal: Lippincott 1964a. — **Sundharagiati, B., and C.-S. Wright**: A clinical and experimental study of the erythrocyte ultrastructure membrane with the electron microscope. *J. clin. Invest.* **32**, 979—990 (1953). — **Suprunov, F. F., and A. K. Babalva**: Gravimetric method for the determination of the specific gravity of blood, plasma proteins, hemoglobin content and hematocrit values. *Vopr. med. Klin.* **2**, 452—456 (1956). — **Sylvester, J.**: Comparison of 2 methods of erythrocyte count and hemoglobin determination in normal values using the Hellige Erymat instrument. *Med. Lab. (Stuttgart)* **16**, 138—141 (1963).

Terzioglu, M., and M. Bilge: A comparison of photoelectric hemoglobinometer with colorimetric and gas analytical methods in the determination of hemoglobin. *Bull. Fac. méd. Istanbul* **18**, 219—229 (1955). — **Texter, E. C., F. G. Hirsch, F. E. Hordan, L. A. Wood, W. C. Ballard, and I. S. Wright**: The electrical conductivity of blood. II. Relation to red cell count. *Blood* **5**, 1036—1048 (1950). — **Thiery, J.-P.**: Étude des réactions cytochimiques du fer au microscope électronique. *J. Microscopie* **1**, 127—136 (1962). — **Thoenes, W.**: Cellophanschnittmethode zur Dickenbestimmung ausgestrichener Blutzellen. *Folia haemat. (Frankfurt)*, N.F. **3**, 388—394 (1958). ~ Dickenmessung an normalen Erythrozyten. *Acta haemat. (Basel)* **22**, 265—277 (1959). ~ Pathologische Anisozytose und Erythrozytendicke. *Acta haemat. (Basel)* **25**, 244—260 (1961). ~ Zur Frage der „Anisopachocytose“ von Erythrocyten. *Klin. Wschr.* **39**, 101—106 (1961). — **Thomson, R. A.**: Evaluation of a disposable tube for determination of sedimentation rate and hematocrit value. *Amer. J. clin. Path.* **41**, 388—389 (1964). — **Toalson, L. D., and F. V. Lucas**: Heterogeneity of hemin. *Blood* **20**, 315—321 (1962). — **Tomesik, J., u. M. Scherrer-Gervai**: Einwirkung der Neutralsalze auf die Erythrocytenmembran. (20. Jahresverslg, Schweiz. Mikrobiol. Ges., Bern, 17.—18. 6. 1961.) *Path. et Microbiol. (Basel)* **24**, 945—953 (1961). — **Tompkins, E. H.**: Measurement of erythrocytic diameters with phase microscopy. *J. Lab. clin. Med.* **43**, 212—214 (1954). — **Tooze, J.**: An investigation by electron microscopy of the nucleoside phosphatase activity of amphibian and mammalian erythrocytes. *J. Cell Biol.* **26**, 209—217 (1965). — **Tooze, J., and H. G. Davies**: Cytolysosomes in amphibian erythrocytes. *J. Cell Biol.* **24**, 146—150 (1965). — **Tornita, S.**: Blood cell count of the same sample using various automatic counters. *Jap. J. clin. Path.* **12**, 301—302 (1964). — **Trinder, P., and F. E. Harper**: A colorimetric method for the determination of carboxyhaemoglobin over a wide range of concentrations. *J. clin. Path.* **15**, 82—84 (1962). — **Trupin, B. C.**: A comparison of erythrocyte counts by various methods. *Amer. J. med. Technol.* **29**, 45—51 (1963). — **Tsukamoto, H.**: Standard value of hematology in Japan. *Acta haemat. jap.* **21**, 38 (1958). ~ Haematological findings of healthy Japanese. *Acta haemat. jap.* **21**, 854—873 (1958). — **Turner, M. E., and G. S. Eadie**: The distribution of red blood cells in the hemacytometer. *Biometrics* **13**, 485—495 (1957). — **Tweeddale, D. N., and M. S. Levy**: Laboratory suggestion: a holder for microhematocrit tubes, for use in macrocentrifuges. *Techn. Bull. Reg. med. Technol.* **27**, 232—234 (1957). — **Tzanek, A., et M. Bessis**: Un nouvel hémo-diffractomètre. *Sang* **18**, 71—76 (1947).

Valtis, D. J., and A. G. Baikie: The influence of red-cell thickness on the oxygen dissociation curve of blood. *Brit. J. Haemat.* **1**, 146—154 (1955). — **Van Slyke, D. D., R. A. Philips, V. P. Doll, P. B. Hamilton, R. M. Archibald, and J. Plazin**: Calculation of hemoglobin from blood specific gravities. *J. biol. Chem.* **183**, 349—360 (1950). — **Vasadze, G. Sh.**: Method of determination of hematocrit count with the aid of polyethylene tubes. *Lab. Delo* **8**, 16—19 (1962). — **Vazquez, O. N., K. Neverly, R. S. Yalow, and S. A. Berson**: Estimation of trapped plasma with J^{131} albumin; critic of methods. *J. appl. Physiol.* **6**, 437—440 (1954). — **Verloop, M. C., E. W. M. Blokhuis, and C. C. Bos**: Causes of the differences in haemoglobin and serum-iron between men and women. *Acta haemat. (Basel)* **21**, 199—205 (1959). — **Vetter, H.**: Zum Problem des venösen Hämatokrits. *Wine. Z. inn. Med.* **32**, 493—497 (1951).

Wälsch, J. H., and Z. Sidák: The increase of packed red cell volume as a criterion of the effective pernicious anaemia treatment. *Folia haemat.* (Lpz.) **80**, 366—389 (1963). — **Wahler, B. E.:** Zum gegenwärtigen Stand der Vorarbeiten für eine Standardisierung der Hämoglobinbestimmung. *Verh. Ges. exp. Med. DDR Dresden* 1961 **1**, 215—220 (1962). ~ Zur Wahl der Methode einer standardisierten Bestimmung der roten Blutfarbstoffe für die medizinische Diagnostik. *Verh. Ges. exp. Med. DDR Dresden* 1961 **1**, 220—223 (1962). ~ Zur Standardisierung der Hämoglobinbestimmung. *Verh. Ges. exp. Med. DDR Dresden* 1961 **1**, 235—237 (1962). — **Wallensiek, H.-J.:** Zur submikroskopischen Morphologie von Plasmazellen mit Russelschen Körperchen und Eiweißkristallen. *Beitr. path. Anat.* **118**, 173—202 (1957). — **Waller, H. D., B. Schlegel, A. Müller u. G., W. Löhr:** Der Hämoglobingehalt in alternden Erythrocyten. *Klin. Wschr.* **37**, 898—900 (1959). — **Waller, H. D., u. W. Stahl:** Die Bedeutung der Gesamthämoglobin- (Hb_T)-Bestimmung für die Verlaufsbeurteilung hämatologischer Erkrankungen. *Dtsch. med. Wschr.* **88**, 3275—3286 (1963). ~ Der Gesamthämoglobin- (Hb_T)-Gehalt bei chronischen Nierenerkrankungen. *Med. Klin.* **58**, 2130—2135 (1963). — **Walsh, R. J., I. Káldor, and H. Cotter:** The effect of ambient temperature on haemoglobin concentration. *Austral. J. exp. Biol. med. Sci.* **34**, 59—64 (1956). — **Walter, A. R., and H. W. Gerarde:** The use of a self-filling, self-measuring disposable dilution micropipette with the Coulter counter. *Amer. J. med. Technol.* **28**, 327—336 (1962). — **Warner, J. w., A. wick, and C. E. Hall:** Electron microscope studies of ribosomal clusters synthesizing hemoglobin. *Science* **138**, 1399—1403 (1962). — **Wasastjerna, C., and W. Nyberg:** Microhematocrit method. *Nord. Med.* **55**, 58—60 (1956). — **Watanabe, G.-I.:** Climatic effect on the packed red-cell volume. *Brit. J. Haemat.* **4**, 108—112 (1958). — **Wattling, W.:** Office determination of plasma protein, hemoglobin and hematocrit. *J. Amer. Pediat.* **50**, 120—122 (1960). — **Weatherburn, M. W., and J. E. Logan:** The effect of freezing on the potassium ferricyanide-potassium cyanide reagent used in the cyanmethemoglobin procedure for hemoglobin determination. *Clin. chim. Acta* **9**, 581—584 (1964). — **Weber, G.:** Grundriß der biologischen Statistik, 3. Aufl. Jena: Gustav Fischer 1957. — **Weicker, H.:** Maß-, Mengen- und Zeitrelation zwischen Retikulocyten und Erythrocyten. *Folia haemat.* (Lpz.) **76**, 329—341 (1959). — **Weicker, H., H. Erbsen u. M. Wild:** Hämoglobingehalt und Hämoglobinkonzentration der Reticulocyten. *Klin. Wschr.* **33**, 962 (1955). — **Weicker, H., I. Wagner, A. B. Guttmann, F. Krieger, H. F. Lohrey u. H. v. Zimmermann:** Der Erythrocytendurchmesser des Kindes. *Acta haemat.* (Basel) **10**, 50—64 (1953). — **Weinrach, S.:** Estudio de los reticulocitos periféricos con el microscopio electrónico. *Anales Fac. Med. Montevideo* **44**, 488—492 (1959). — **Wels, A.:** Über den Einfluß der Trocknungszeit auf die Größe des Erythrozytendurchmessers im Blutausstrich. *Blut* **4**, 301—303 (1958). — **Wells, R. E. jr., and E. W. Merrill:** Influence of flow properties of blood viscosity-hematocrit relationship. *J. clin. Invest.* **41**, 1591—1598 (1962). — **Wennig, F.:** Elektronenoptische Untersuchungen an Erythrozyten. *Wien. klin. Wschr.* **68**, 803—805 (1956). — **Westerman, M. P., L. E. Pierce, W. N. Jensen, and E. Steele:** A direct method for the quantitative measurement of red cell dimensions. *J. Lab. clin. Med.* **57**, 819—824 (1961). — **Westphalen, H. v., u. K. G. v. Boroviczény:** Orientierende Hämoglobinbestimmung am Krankenbett. *Med. Klin.* **59**, 1057—1059 (1964). — **Wiechowski, W., u. K. Wiechowska:** Die Fehlermöglichkeiten bei der Blutkörperchenzählung. *Z. med. Lab. Techn.* **1**, 221—224 (1960). — **Willoughby, D.:** One pipetting for white blood cells and hemoglobin for use with a Coulter counter. *Amer. J. clin. Path.* **35**, 96 (1961). — **Wilton, A.:** On the relationship between the hemoglobin concentration and the volume of the erythrocytes. *Acta path. microbiol. scand.* **51**, 121f. (1961). — **Wilton, A., u. S. Brody:** Über die Beziehung von fötalem Hämoglobin zu der Größe der Erythrozyten. *Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haemat., Wien 1961.* Basel u. New York: S. Karger 1962. — **Winner, H. J.:** The hematocrit in the investigation of anaemia. *Clin. J.* **7g**, 214—216 (1950). — **Wintrobe, M. M.:** *Clinical hematology*, 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger 1961. — **Wipple, G. H.:** The dynamic equilibrium of body proteins. Hemoglobin, plasma proteins, organ and tissue proteins. Springfield (Ill.): Ch. C. Thomas 1956. — **Wisecup, W. G., and B. G. Crouch:** Evaluation and calibration of an electronic particle counter for multispecies blood cell enumeration. *US Nav. Radiol. Def. Lab. Techn. Rep.* **569**, 13p. (1962). — **Wolff, H. S.:** An apparatus for counting small particles in random distribution, with special reference to red blood-corpuscles. *Nature (Lond.)* **165**, 967 (1950). — **Wolpers, C.:** Reticulocytes. (Abstract, Paper No 36, Electron Microscope Society of America Meeting, Cleveland, Ohio, 11/6—8/52). *J. appl. Phys.* **24**, 116 (1953). ~ Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Innenstrukturen kernloser Erythrocyten. I. Reticulocyten und Pseudoreticulocyten. *Klin. Wschr.* **34**, 61—69 (1956). — **Wootton, I. D. P.:** Determination of iron in biological material by spectrophotometry of ferric perchlorate. *Biochem. J.* **68**, 197—199 (1958). — **Wunderlich, P.:** Analyse von Price-Jones-Kurven. *Folia haemat.* (Lpz.) **78**, 137—149 (1961). — **Wunderlich, P., u. G. K. Hinkel:** Ergebnisse der elektronischen Blutzellzählung bei Früh- und Neugeborenen. XIII. Congr. paediat. particip. int., Pragae (1965). — **Yamanika, T.:** Studies on the hematocrit values of healthy nursing and older infants. *Acta pediat. jap.* **66**, 618—631 (1962). — **Yasuda, H.:** Elektronenoptische Beobachtung der

mit hochfrequentem Schall behandelten fixierten Erythrocyten und Bestimmung ihrer Ultrastrukturdichte auf färberischem Wege. Arch. hist. japon. **7**, 351—368 (1954). — **Yasuzumi, G.**: Licht- und elektronenmikroskopische Studien an kernhaltigen Erythrocyten. Z. Zellforsch. **51**, 325—335 (1960). — **Yasuzumi, G.**, an **S. Higashizawa**: Submicroscopic structure of the carp erythrocyte as revealed by electron microscopy. Cytologia (Tokyo) **20**, 280—290 (1955). — **Yasuzumi, G.**, and **S. Okimoto**: On the ultrastructure of the carp erythrocyte. Experientia (Basel) **11** (1), 17 (1955). — **Yasuzumi, G.**, and **Y. Yamamoto**: Electron microscopy of the erythrocyte nuclei of *Sebastodes matsubarae*. Cytologia (Tokyo) **18**, 240—250 (1953). — **Young, L. E.**, **M. J. Izzo**, **K. I. Altman**, and **S. N. Swisher**: Studies on spontaneous in vitro autohemolysis in hemolytic disorders. Blood **11**, 977—997 (1956).

Zacek, J., and **J. Rosenberg**: A study of the effect of X-rays upon the ultrastructure of the erythrocyte membrane. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **5**, 315—326 (1950). — **Zang, K. D.**: Automatische Zählung und Volumenbestimmung von Zellen auf elektronischem Wege. Dtsch. med. Wschr. **36**, 110—116 (1964). — **Zielhuis, R. L.**: Basophil puntated erythrocyte and reticulocyte counts. Ned. T. Geneesk. **104**, 1409—1411 mit engl. Zus.fass. (1960) [Holländisch]. — **Zijlstra, W. G.**: Die quantitative Bestimmung von Hämoglobin, Oxyhämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin und Methämoglobin in kleinen Blutproben mittels Spektrophotometrie. Klin. Wschr. **34**, 384—389 (1956). — **Zijlstra, W. G.**, and **E. J. van Kampen**: Standardization of hemoglobinometry. I. The extinction coefficient of hemoglobinocyanide at $\lambda = 540 \text{ m}\mu$: $\epsilon_{\text{HbCN}}^{540}$. Clin. chim. Acta **5**, 719—726 (1960). ~ Standardization of hemoglobinometry. III. Preparation and use of a stable hemoglobinocyanide standard. Clin. chim. Acta **7**, 96—99 (1962). — **Zolotnitskara, R. P.**: Determination of erythrocytes and leucocytes in the blood with the aid of the celloscope. Lab. Delo **8**, 14—15 (1962). — **Zwet, J. L. van**: De techniek van het tellen van bloedcellen. T. med. Anal. **20**, 125 (1965).