



# Verbesserungen zum Optischen Erythrozytentest nach Linke

## Erleichterungen für die Testdurchführung

von Dr. med. Martin Tonn

veröffentlicht in SANUM-Post Nr. 26/1994, Seite 24 - 25

Die bekannten Blutuntersuchungsmethoden im mikroskopischen Dunkelfeld haben sich als Krebsfrühanzeige vielfach bewährt. Die Nativblutuntersuchungen haben besonders den Vorteil der schnellen Beurteilungsmöglichkeit und eignen sich daher als screening. Die phasenkontrastmikroskopische Methode des Optischen Erythrozytentests nach Professor A. Linke (OET) ist in Vorbereitung, Durchführung und Auswertung mit Viertagesdauer langwieriger und komplizierter. Seine Vorteile liegen in der Aussagekraft zweidimensionaler Meßwertpaare, dem Phasenkontrastwert und dem Erythrozytenveränderungsindex, sowie in verschiedenen Anwendungsbereichen.

Zum praktischen Einsatz kam der OET beispielsweise zunächst in der Fischwirtschaft wegen der zunehmenden anthropologischen Belastung unserer Gewässer. So werden Störungen des physiologischen Status der Fische frühzeitig erfaßt. Bei Arbeitern eines Kernkraftwerkes wurde der OET als empfindlichster Nachweis übermäßiger Strahlenbelastung bereits erprobt. Denkbar wäre die Anwendung auch bei der Nachsorge ehemaliger Arbeiter des Uranbergbaues. Unter Zugrundelegung der Anamnese des Probanden lassen sich wertvolle Schlüsse ziehen hinsichtlich Immunitätslage, Entzündungen, Allergien, Intoxikationen aus der Umwelt oder Einwirkungen ionisierender Strahlen.

### **Anfangsprobleme zum OET in der Arztpraxis**

In Vorträgen und Seminaren zum OET wurde auf die Präzision der Testdurchführung einerseits, wie auf die einfache Ausrüstung andererseits hingewiesen (s. auch SANUM-Post Nr. 22, Beitrag von Dr. Frick). Die Einrichtung eines Speziallabors ist nicht unbedingt erforderlich. Grundbedingung ist das Vorhandensein eines Arbeitsmikroskopes mit Einrichtung für strengen Phasenkontrast, eine auf 37 Grad Celsius einstellbare Wärmebox, ein Heißluftsterilisator, auf 100 Grad einstellbar, Blutentnahmelanzetten, Objektträger, eine Pipette, die Farblösung nach Wollmann und Linke von der Firma SANUM-Kehlbeck, Immersionsöl, eine Färbekbank, Spülflüssigkeit von aqua dest. und physiologischer Kochsalzlösung aa, ein metallisches Tragegestell für Objektträger, eine Cuvette für histologische Zwecke und Xylol.

### **Xylol ist giftig - Ersatz ist möglich**

Xylol wird nach der Auswertung der gefärbten Blutausstrichpräparate zum Entfernen des Immersionsöls gebraucht, um die Präparate zu wiederholten Nachprüfungen und Vergleichen aufbewahren zu können. Das unwillkürliche Inhalieren von Xyloldämpfen ist mit der Zeit nicht ungefährlich, wenn Vorsichtsmaßnahmen nicht genügend beachtet werden. Zur Vorsicht gehört die sichere Aufbewahrung, das Arbeiten unter dem Abzug oder im Freien dem Winde abgewandt, wenn die mit Immer-

sionsöl beschickten Präparate in die xylolgefüllte Cuvette eingestellt, nach einiger Zeit entnommen und zum Trocknen aufgestellt werden. Verbrauchtes Xylol wird in eine andere Flasche gegeben, fest verschlossen und später entsorgt. Wegen der Giftigkeit des Xylols wird daran gearbeitet, dieses in Vervollkommnung des Verfahrens durch ungiftige Lösungen zu ersetzen.

Anstelle des Xylolbades wurde schon Seifenlösung verwendet, das Präparat mit dem Öl darin eingetaucht und der Öltropfen mit einem Wattebausch fünf mal leicht wischend abgewaschen, und zwar leicht, nicht aufdrückend, denn der Wattebausch darf keinen Farbstoff annehmen. Danach folgt ein Abspülen mit Leitungswasser, Abtrocknen der Rückseite und Aufstellen zum Trocknen. Als fettlösende Seifenlösung eignet sich das Spülmittel FAIRY ULTRA PLUS, ein Tropfen auf 150 ml Leitungswasser. Ein Tropfen wird in einen Becher gegeben und mit Wasser aufgefüllt.

Auf diese Weise konnte ein Präparat 20 mal und mehr behandelt und getrocknet werden, ohne daß wesentliche Farbverluste auftraten oder die Kennzeichnung mit Bleistift abgewaschen worden wäre. Nach jeder Prozedur wurden die Präparate phasenkontrastmikroskopisch nachuntersucht mit der Feststellung, daß die Veränderungen an der blauen Erythrozytenrandzone, im Pallorbereich, wie im extrazellulären Raum konstant geblieben waren.



Das Säubern und Entfetten vor dem Blutausstrich kann praktisch statt mit Alkohol-Äther auch mit dieser Seifenlösung vorgenommen werden. Das Abwaschen muß nur intensiver sein und das Trocknen geschieht mit sauberem Leinentuch. Nicht mehr benötigte Präparate können mit AJAX-Scheuerpulver entfärbt werden und zu Übungszwecken wieder Verwendung finden.

### **Erleichterungen zur Beurteilung der Erythrozyten**

Zur Beurteilung der Erythrozytenrandzone und des Innenraumes (vgl. Ausführungen im Buch von Linke, S. 96-98, 1-11) sollen 300 bis 400 Erythrozyten betrachtet werden. In dem präparierten und gefärbten Blutausstrich wird in der Regel kurz vor Ausstrichende eine Stelle eingestellt, wo die Erythrozyten nicht zu dicht beieinander liegen, sondern mit kleinen

Zwischenräumen, und wo ihre Innenfläche, der Pallorbereich, nicht zu dunkel angefärbt ist. In den Erythrozyten mit aufgehelltem, mehr blassem Pallor sind die als Veränderungen bezeichneten amorphen Strukturen eindeutig lesbar. Die Färbedauer mit der neuen Farblösung von SANUM-Kehlbeck darf nur 5 Minuten betragen. 25 Minuten gelten für die alte Greifswalder Farblösung. Bei lockerer Anordnung kann von 100 bis 150 Erythrozyten pro Gesichtsfeld ausgegangen werden.

Diese Summe ist gut überschaubar und läßt sich mit einiger Übung bald schätzen. Leichteres Zählen ermöglicht ein Okularzählnetz oder in ein Okular selbst eingebautes Fadenzkreuz, z. B. aus Besenhaar, welches das Gesichtsfeld in 4 Quadranten teilt. Zur schnellen Ermittlung des EVI (Erythrozytenveränderungs-

index) - verändert, nicht verändert - werden zunächst die Erythrozyten gezählt, die offensichtlich in der Mindestzahl sind. Daraus ergibt sich schon die Restzahl der anderen bis zu 100 bzw. 150. Dann wird ein neues Gesichtsfeld eingestellt, bis die zu beurteilende Zahl von 300 bis 400 erreicht ist.

Der Phasenkontrastwert PW läßt sich mit der Bildreihentafel (15 PW-Stufen) auf einen Blick ermitteln, siehe S. 84 im Buch von Linke. Das sind die Veränderungen an der Erythrozyten-Randzone und im extrazellulären Raum, die eine verstärkte Aktivität des Immunsystems signalisieren. Die genaue Wertung nach der Klassifikationstabelle (s. Buch S. 78/79) bereitet dem Geübten später keine Schwierigkeiten.