

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Halle a. S.
Direktor: Professor Dr. *Walcher*.)

Eine Mikromethode zur quantitativen Auswertung kleinster Serummengen.

**(Die Bestimmung des Agglutiningehaltes
und der Receptorempfindlichkeit mittels Capillarröhrchen.)**

Von

Dr. A. Ponsold,

Assistent am Institut.

Mit 1 Textabbildung.

Einleitung.

Die Capillarmethode ist nicht nur zu qualitativen Untersuchungen, wie zum Bestimmen der Blutgruppenzugehörigkeit, geeignet, sondern auch zu quantitativen, wie zum Auswerten von Seren.

Neben der Titerbestimmung an Seren von frischem Blut kann eine solche auch an Seren vorgenommen werden, denen durch Bindung Agglutinine entzogen worden sind. Im ersten Fall wird 1 Tropfen frisches Blut (etwa 50 mg Vollblut) in einem U-förmig gebogenen Neisserschen Capillarröhrchen aufgefangen und das Serum von den Blutkörperchen durch Zentrifugieren im U-Röhrchen getrennt. Im zweiten Falle, in der Blutfleckendiagnose, wird nach der Adsorption die Auswertung des Serums in der Capillare vorgenommen. Hierzu sind nicht mehr als 10—20 mg Serum erforderlich, während bei der Anwendung der bisher üblichen Methoden 100 (*Lauer*) bis 200 mg (*Holzer*) benötigt wurden. Die Auswertung mittels der Capillarmethode kann also bei einer 10fach geringeren Menge Serum als bei Anwendung der gebräuchlichen Methoden durchgeführt werden, d. h. es kann die Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit an Trockenblut bei einer Menge von nur einem Milligramm durchgeführt werden.

A. Technik.

a) Das Anlegen der Verdünnungsreihe in Capillarröhrchen.

Die zur Verfügung stehende Serummenge wird in ein Glascapillarröhrchen (1 mm weit, 10 cm lang) aufgezogen und die Länge der in das Röhrchen eingedrungenen Flüssigkeit an einem Zentimetermaß bestimmt, wobei das eine Ende der Flüssigkeitssäule mit einer der Öffnungen des Capillarröhrchens abschneiden muß, während das andere Ende und die halbe Länge der Flüssigkeitssäule am Röhrchen markiert werden.

1. Das Verteilen des Ausgangsmaterials auf die Verdünnungsstufen.

Darauf folgt das Übertragen einer Hälfte des eingedrungenen Ausgangsmaterials in ein anderes Capillarröhrchen, ein zweites, so daß nun diese zwei ersten Capillarröhrchen die gleiche Menge Ausgangsmaterial enthalten.

Dieses Verteilen der ursprünglichen Serummenge auf zwei Capillaren gelingt ohne weiteres, wenn die Flüssigkeitssäule ursprünglich eine Länge von mindestens 2 cm hat, d. h. eine Höhe, die erreicht wird, wenn so viel Ausgangsmaterial vorhanden ist, daß es bei der angegebenen lichten Weite eines Röhrchens von 1 mm mittels der Capillarattraktion hochgezogen werden kann; das sind etwa 10 bis 20 mg. Wenn vorausszusehen ist, daß das aufzuziehende Ausgangsmaterial eine nicht 2 cm lange Flüssigkeitssäule abgeben wird, ist von vornherein mit einem Röhrchen engerer Lichtung zu arbeiten. Das Röhrchen ist also entsprechend der zur Verfügung stehenden Serummenge seinem Kaliber nach auszuwählen.

Bei einer Länge der Flüssigkeitssäule von 2 cm entfällt nach der Teilung des Ausgangsmaterials auf jede der beiden ersten Capillaren eine Flüssigkeitssäule von 1 cm Länge. Das Arbeiten mit einer Flüssigkeitssäule von geringerer Länge als 1 cm ist nicht zu empfehlen, denn je kürzer die Flüssigkeitssäule ist, desto mehr stellt sich die Oberflächenspannung der Menisken in den Weg, und das Übertragen aus der einen in die nächste Capillare und somit das Halbieren der Flüssigkeitssäulen wird erschwert. Zudem kann nach dem Zusatz der Verdünnungsflüssigkeit keine ausreichende Durchmischung erzielt werden, weil Flüssigkeitssäulen, die kürzer als 2 cm sind, nicht leicht genug im Röhrchen hin- und herbewegt werden können.

Beim Überfüllen aus einer Capillare in eine andere nimmt man die Capillare (*a*), aus der überfüllt werden soll, in die linke Hand (bei Rechtshändern), hält sie in einem Winkel von 45° geneigt und bringt nun die andere Capillare (*b*), die man in der rechten Hand hält, an die untere Öffnung der ersten Capillare heran, wobei das Capillarröhrchen (*b*) zunächst horizontal gehalten wird.

Die Öffnungen beider Röhrchen werden gegeneinander in querer Richtung hin und her verschoben, wodurch zunächst eine Benetzung der Innenwandung an der Öffnung der Capillare (*b*), in die übergefüllt werden soll, erreicht wird.

Das Benetzen läßt sich besonders leicht dadurch erreichen, daß mit dem Ende der Capillare (*a*) gegen das Ende der Capillare (*b*) Bewegungen ausgeführt werden, als wollte man die Flüssigkeitssäule hineinstopfen, wie einen Faden beim Einfädeln in ein Nadelöhr.

Nach der Benetzung der Öffnung des Röhrchens (*b*) wird das weitere Hinüberfließen dadurch in Gang gebracht, daß man die Öffnungen der Capillaren um den Bruchteil von 1 mm voneinander entfernt, ohne dabei jedoch die Flüssigkeitssäule abreißen zu lassen. Bringt man dann die Öffnungen wieder zusammen, und zwar ruckartig, als wollte man die Flüssigkeitssäule stauchen, so gelingt es, sie in die Capillare (*b*) vorzuschieben und in Bewegung zu bringen.

Ist das nun eingetreten, so werden die Capillaren, die zunächst zueinander in einem nach oben zu offenen Winkel von etwa 130° standen, in eine Gerade gebracht, so daß nun die Capillare (*b*) in eine Linie mit der Capillare (*a*) zu liegen kommt, wobei beide Capillaren die ursprüngliche Lage der Capillare (*a*) (im Winkel von 45° zur Horizontalen) einnehmen.

Gerät bei dieser Stellung die Flüssigkeit in ein zu schnelles Fließen, so müssen beide Capillaren weniger senkrecht gehalten werden, wobei sie aber zueinander in einer Linie liegenbleiben sollen. Geht das Fließen zu langsam vor sich oder gerät es ins Stocken, so muß die Capillare (*b*) in eine fast senkrechte Lage gebracht werden, um durch das Gewicht der bereits hinübergetretenen Flüssigkeit

eine Saugwirkung zu erzeugen, die den noch herüberzunehmenden Teil der Flüssigkeit aus der Capillare (a) herüberzieht.

Beim Überfüllen muß darauf geachtet werden, daß die Flüssigkeitssäule beim Fließen keine Unterbrechung erfährt. Das Röhrchen (b) darf nicht zu schnell zur Senkrechten geneigt werden, denn, sobald eine Unterbrechung eintritt, entsteht an den Enden der Capillaren durch die Konkavität der Menisken ein Hohlraum, der, wenn die Kontinuität wieder hergestellt wird, eine Luftblase beherbergt. Dazwischengeratene Luftblasen können aber, wenn die Flüssigkeitssäule wiederholt unterbrochen wird, das Überfüllen unmöglich machen.

Ist die Kontinuität der Flüssigkeitssäule unterbrochen und ist die Flüssigkeitssäule von dem oberen Ende des Capillarröhrchens abgesunken, so bringt man den abgerissenen Teil der Flüssigkeitssäule dadurch wieder an das Ende des Capillarröhrchens zurück, daß man mit diesem Ende das Röhrchen gegen eine Unterlage, z. B. gegen den Arbeitstisch, aufstößt. Hat die Flüssigkeitssäule das Ende des Röhrchens wieder erreicht, was daran zu erkennen ist, daß die Stelle an der Unterlage, auf die man mit dem Röhrchen aufgestoßen hat, benetzt erscheint, so kann das Überfüllen fortgesetzt werden.

Müssen beim Vorhandensein von geringen Serumengen Capillarröhrchen mit ganz enger Lichtung verwendet werden, so macht sich beim Überfüllen die Capillarattraktion störend bemerkbar; sie wirkt sich allerdings nie so weit aus, daß durch sie ein Übertragen von Capillare zu Capillare unmöglich wird. Wenn also infolge der Capillarität der Inhalt einer Capillare durch Senkrechtstellen des Röhrchens (zum Überfüllen in die Capillare der nächsten Verdünnungsstufe) nicht in Bewegung zu bringen ist, so muß der Inhalt der Capillare aus dem Röhrchen herausgeblasen werden. Hierbei muß allerdings mit einer gewissen Vorsicht zu Werke gegangen werden, denn es darf nur so stark durch Einblasen auf die Flüssigkeitssäule gedrückt werden, daß am anderen Ende der Capillare (unteres Ende bei senkrechter Stellung) die Flüssigkeit kuppenförmig herauszutreten beginnt. Ist das erfolgt, so wird an die Kuppe der heraustretenden Flüssigkeit die andere Capillare herangebracht, und auf diese Weise das Übertragen vorgenommen.

Bei Capillaren mit enger Lichtung ist es deshalb von Vorteil, sie dickwandig anfertigen zu lassen. Derartige Capillaren sind an ihren Enden so breitbasig, daß sich die zu übertragende Flüssigkeit beim Heraustreten aus der Capillare ansammelt und somit leichter aufgenommen werden kann, als bei dünnwandigen Capillaren, bei denen die heraustretende Flüssigkeit sogleich an der Außenwandung hochschnellt bzw. sich als Tropfen ablösen kann.

2. Das Zusetzen der Verdünnungsflüssigkeit.

An der zweiten Capillare wird nun der Punkt markiert, bis zu welchem die eingedrungene Serummenge reicht.

Außerdem wird die doppelte Länge dieser Serumsäule ausgemessen und gleichfalls markiert; denn bis zu diesem Punkt wird nun Verdünnungsflüssigkeit (physiologische Kochsalzlösung) aufgezogen, d. h. der Inhalt der zweiten Capillare wird durch Zusatz einer Verdünnungsflüssigkeit auf das doppelte Volumen ($1 + 1$) gebracht, bzw. das Serum auf die Hälfte verdünnt (1:2), während der Inhalt der ersten Capillare zunächst noch unverdünnt (1:1) gelassen wird.

Nach dem Zufügen der Verdünnungsflüssigkeit werden Serum und Verdünnungsflüssigkeit miteinander gemischt. Das geschieht durch ein mehrmaliges Hin- und Herführen der Flüssigkeitssäule in der Capillare. Ist das gründlich durchgeführt, so wird nun der Inhalt dieser zweiten Capillare in derselben Weise wie zuvor der Inhalt der ersten Capillare geteilt und die Hälfte auf eine andere,

eine dritte Capillare übertragen, wobei die Hälfte durch den Punkt markiert war, den die Serummenge in der zweiten Capillare nach dem Übertragen aus der ersten erreicht hatte, bevor sie verdünnt wurde. Hierdurch war auch der Punkt markiert worden, bis zu dem die zweite Capillare nun entleert werden soll.

Das Markieren des Halbierungspunktes muß stets an der gefüllten Capillare vorgenommen werden, nicht an der Capillare, in die übergefüllt werden soll; denn sind die Capillaren von ungleicher lichten Weite, so wird mit dem Markieren des Halbierungspunktes an der zu füllenden Capillare nicht mit den der gefüllten Capillare entsprechenden Maßen gemessen. Beträgt die halbe Länge des Inhaltes der ersten Capillare an dieser gemessen z. B. 1 cm, so nimmt diese Flüssigkeitssäule in der zweiten Capillare, wenn diese beispielsweise enger ist, eine Länge von mehr als 1 cm ein. Markierte man sich nun an der zweiten Capillare den Halbierungspunkt der Flüssigkeitssäule, um einen Anhalt zu haben, bis zu welchem Punkt in die zweite Capillare aufgezogen werden soll, so überträgt man bei dieser Art des Markierens nicht die Hälfte der Menge der vorhergehenden Stufe, sondern einen kleineren Teil. Es muß also stets an der Capillare der Halbierungspunkt markiert werden, deren Inhalt geteilt werden soll. Bei Capillaren mit absolut gleichweiter Lichtung ist diese Vorsichtsmaßnahme nicht erforderlich, wohl aber bei den im Handel erhältlichen Glascapillarröhrchen, bei den sogenannten Schmelzpunktbestimmungsröhrchen.

Bei dem Zusetzen von Verdünnungsflüssigkeit kommt diese Berücksichtigung der Weite der Lichtung nicht in Betracht, denn das Verdünnen wird ja in derselben Capillare vorgenommen, in der sich das zu verdünnende Serum befindet, also bei gleichbleibender lichten Weite.

Ist nun der Inhalt der ersten Capillare (a) halbiert und in die zweite Capillare (b) übertragen und ist dann der Inhalt der zweiten Capillare verdünnt worden, so wird nun der Inhalt dieser Capillare, der auf das doppelte Volumen gebracht worden war, zur Hälfte auf die dritte Capillare übertragen. An dieser wird wiederum der Punkt, bis zu dem die Flüssigkeit eingedrungen und bis zu dem die Verdünnungsflüssigkeit aufzuziehen ist (= doppelte Länge), markiert.

Während in der ersten Capillare die Verdünnung 1:1 beträgt, in der zweiten eine solche von 1:2 erzielt wurde, beträgt nun die Verdünnung in der dritten Capillare 1:4. Wird in der beschriebenen Weise mit dem Halbieren-Übertragen-Verdünnen-Halbieren fortgefahren, so ergeben sich in den folgenden Stufen die Verdünnungen von 1:8, 1:16, 1:32 usw.

Das Markieren der Halbierungs- bzw. Verdoppelungspunkte braucht nicht unbedingt durch ein Zentimetermaß zu erfolgen, es kann auch mit dem Auge abgeschätzt werden und zum Markieren das Capillarröhrchen z. B. an der Stelle gefaßt werden, bis zu der die Verdünnungsflüssigkeit aufzuziehen bzw. bei der Halbierung abzufüllen ist.

Nach dem Mischen, also nach dem Hin- und Herführen der Flüssigkeitssäule im Capillarröhrchen, reicht diese nicht mehr ganz bis an die ursprünglich markierte Stelle (die doppelte Länge der Flüssigkeitssäule), denn durch Benetzen des bis dahin unbenetzt gewesenen Teiles der Innenwandung bleibt ein kleiner Teil der Flüssigkeit daran haften. Trotzdem hat man sich beim Überfüllen an den Halbierungspunkt der ursprünglichen Länge, wie er vor dem Mischen bestand, zu halten, denn beim späteren Zusetzen von Blutkörperchen wird jenes an der Innenwandung haftende Serum wieder wirksam.

Ein Verlorengehen von Untersuchungsmaterial durch überflüssige Benetzung, was sich besonders störend beim Gebrauch von Pipetten — und mögen sie eine noch so enge Lichtung und geringe innere Oberfläche haben — bemerkbar macht,

fällt bei der Capillarmethode fort; zwar wird beim Herstellen einer Verdünnungsreihe durch Pipetten der Verlust dadurch verringert, daß durch Aufziehen von Flüssigkeit aus der nächstfolgenden Verdünnungsstufe der durch Benetzung der Innenwandung verbliebene Rest der vorangegangenen Verdünnungsstufe abgespült und wieder eingeschaltet wird, aber bei Anwendung des Glascapillarröhrchens wird in demselben Röhrchen die Reaktion angestellt, in dem überfüllt wurde. Jede noch so geringe in der Capillare verbliebene Serummenge geht der Reaktion nicht verloren, sondern wird wieder wirksam, sobald Probeblutkörperchen in dieselbe Capillare aufgezogen werden, an deren Innenwandung scheinbar verlorengegangenes Serum haften geblieben ist.

Außerdem wird beim Übertragen aus einer Verdünnungsstufe in die nächstfolgende die Berührung mit der Luft und das damit verbundene Abdunsten von Verdünnungsflüssigkeit aus dem Untersuchungsmaterial vermieden. Beim Titrieren mit Pipetten ist die Berührung mit der Luft, wie z. B. beim Titrieren auf

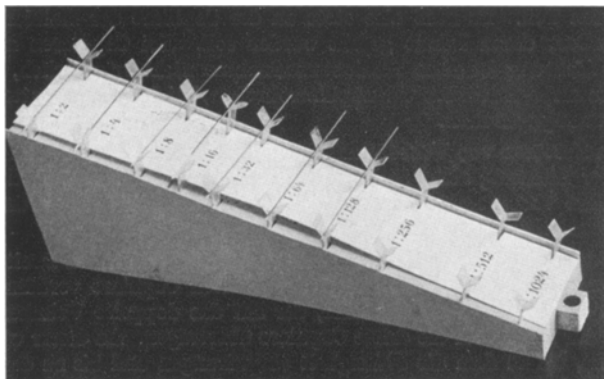


Abb. 1. Capillarröhrchenständer.

Objektträgern, nicht zu umgehen, so daß bei winzigen Tropfen Teile durch Antrocknen von Serum an den Randpartien verlorengehen. Sie gelangen beim Aufziehen nicht mit in die Pipette und damit auch nicht beim Übertragen in die nächste Verdünnungsstufe.

Wenn nach Herstellung einer Verdünnungsreihe eine zweite angelegt werden soll, um Probeblutkörperchen der Gruppe A und auch der Gruppe B zusetzen zu können, wird aus jedem Capillarröhrchen vom ersten bis zum letzten jeweils die Hälfte des Inhaltes in ein anderes Capillarröhrchen übertragen und diese Röhrchen in derselben Reihenfolge geordnet, wie die der ersten Reihe. Als Capillarröhrchenständer dient ein Gestell¹, wie es Abb. 1 zeigt.

3. Das Zusetzen von Probeblutkörperchen.

1. Das Übertragen aus der Stammaufschwemmung in die Capillaren.
2. Die Aufschwemmungsflüssigkeit als Verdünnungsmittel.
3. Die Dichte der Aufschwemmung.

Diese müssen bei der außerordentlich geringen Menge des zu titrierenden Serums gleichfalls in sehr kleinen Mengen zugesetzt werden. Sie werden hierzu

¹ Zu beziehen durch die Firma Kaempff & Co., Halle a. d. S., Gr. Steinstr. 58.

aus einem Vorratsgefäß in eine Capillare oder Pipette, z. B. Augentropfpipette, aufgezogen. Die angefüllte Pipette wird senkrecht gehalten, so daß unten an der Öffnung der Pipette bei leisem Druck auf das Gummihütchen 1 Tropfen zu hängen kommt. Nun wird der Teil des Capillarröhrchens, in dem das Serum enthalten ist, an den verjüngten Teil der Pipette herangebracht. Alsdann wird das Capillarröhrchen langsam dem unteren Ende der Pipette zugeführt, bis der obere Rand des an der Spitze hängenden und sich nach oben zu verjüngenden Tropfens erreicht ist. Hierbei schnellt dann ein Teil des Tropfens in die hingehaltene Öffnung des Capillarröhrchens, mit der das im Röhrchen enthaltene Serum abschneiden muß, hinein, wobei jedoch durch Verschuß der entgegengesetzten Öffnung durch Zuhalten mit einem Finger verhindert werden kann, daß nicht über ein gewünschtes Maß hinaus Probekörperchen in das Capillarröhrchen hineingelangen. Neben diesem Verschließen der Öffnung am entgegengesetzten Ende der Capillare dient auch das fast senkrechte Halten des an die Pipette herangeführten Capillarröhrchens dazu, das Abmessen der aufzuziehenden Menge in der Hand zu behalten. Durch Neigen des Capillarröhrchens aus der Senkrechten zur Horizontalen hin kann der Zufluß der Probekörperchen der Menge nach reguliert werden, und zwar wird ebensoviel von der Probekörperchenaufschwemmung aufgezogen, wie in der Capillare bis dahin Serum bzw. Serumverdünnung enthalten war, also zu gleichen Teilen.

Wir nehmen dieses Abmessen der aufzuziehenden Aufschwemmungsflüssigkeit genau vor, denn diese dient nicht nur als Testobjekt, nicht nur als Mittel zu einer qualitativen Feststellung, nämlich die des Auftretens oder Ausbleibens einer Agglutination, sondern durch den Zusatz einer Probekörperchenaufschwemmung erfolgt auch eine quantitative Änderung, eine Verdünnung des zu titrierenden Serums, und zwar bei einem Zusatz in dem genannten Ausmaße („ana“) um die Hälfte. Das muß bei der Berechnung des Verdünnungsgrades, also der Angabe der Titerzahlen, entsprechend berücksichtigt werden.

Die erste Capillare, in der das Serum zunächst unverdünnt gelassen worden war, erhält durch den Zusatz gleichen Volumens Blutkörperchenaufschwemmungsflüssigkeit eine Verdünnung von 1:2, während bis dahin der Verdünnungsgrad 1:1 betragen hatte. Entsprechend ändert sich auch der Verdünnungsgrad der in der zweiten Capillare enthaltenen Serumverdünnung von 1:2 auf 1:4 und in der dritten Capillare von 1:4 auf 1:8 usw. Die als Bezeichnung der Verdünnungsstufen dienenden Zahlen müssen also nach dem Zusatz der Testaufschwemmung verdoppelt werden.

Die Testblutkörperchenaufschwemmung wird also als Verdünnungsflüssigkeit verwendet. Die Berechtigung hierzu besteht um so mehr, je weniger konzentriert die Aufschwemmung ist.

Gebräuchlich sind die Konzentrationen von $\frac{1}{2}$ bzw. 1—10%, bezogen auf Vollblut. Wir benutzen die schwächste der üblichen Konzentrationen, nämlich eine 1proz. Aufschwemmung von Vollblut, wobei diese Dichte durch das Zusetzen zu dem zu titrierenden Serum eine weitere Verdünnung um die Hälfte erfährt. Wir titrieren also zwar mit einer 1proz. Aufschwemmung, der endgültige Blutkörperchengehalt ist jedoch ein $\frac{1}{2}$ proz. Diese niedrigste der gebräuchlichen Konzentrationen haben wir deshalb gewählt, weil das Erkennen von Agglutinen in der Capillare bei schwächeren Konzentrationen von Blutkörperchenaufschwemmung leichter ist, als bei stärkeren Konzentrationen, bei denen Agglutinate durch nicht zusammengeballte Blutkörperchen überdeckt werden und sich der deutlichen Wahrnehmung entziehen.

Eine 1proz. Aufschwemmung ist bei Anwendung der Capillarmethode eine relativ hohe Konzentration. Das Optimum liegt bei einer Konzentration, die

niedriger als eine 1 proz. ist. Allerdings liegt dieses nicht gerade bei einer $\frac{1}{2}$ proz. Konzentration, sondern die Erkennbarkeit von Agglutinaten ist ebenso deutlich bei einer $\frac{1}{4}$, als auch bei einer $\frac{1}{8}$ proz. Konzentration. Die $\frac{1}{2}$ proz. Konzentration ist aber die oberste Grenze des Optimums; die untere Grenze liegt bei einer Konzentration von 1 Prom. Bei einer derartig schwachen Konzentration dauert es allerdings etwas länger, bis die Agglutinate groß genug sind, um mit bloßem Auge wahrgenommen werden zu können.

b) Das Ablesen.

Eine längere Beobachtungsdauer braucht bei Anwendung der Capillarmethode bis zum Ablesen nicht eingehalten zu werden. Wir beginnen damit alsbald nach dem Zusetzen der Probeblutkörperchen und erhalten dieselben Resultate wie dann, wenn die für die übrigen Titriermethoden vorgeschriebene Beobachtungsdauer (4 Stunden, mit oder ohne Aufenthalt im Brutschrank) eingehalten wird. Im allgemeinen haben wir in der Capillare eine Agglutination nie später als nach 30 Minuten eintreten und danach auch nicht wieder verschwinden sehen.

Ausnahmen in bezug auf die Reaktionszeit ergaben sich nur unter Umständen in der Grenzstufe, sowie am Blut von Defekttypen und am Leichenblut. Hierbei war mitunter eine viel längere Beobachtungsdauer erforderlich.

Die relativ kurze Spanne, nach deren Ablauf mit dem Ablesen beim Titrieren begonnen werden kann, erklärt sich durch die bessere Erkennbarkeit der Agglutinate in der Capillare als auf dem Objektträger oder im Röhrchen. In der Capillare lassen sich kleinste Agglutinate nicht nur leichter erfassen, sondern sie sind auch früher erkennbar, weil die Bedingungen zum Zustandekommen von Agglutinaten in der Capillare günstiger sind als auf dem Objektträger. Die Röhrenzentrifugiermethode kommt hier, wo es sich um die Erkennbarkeit kleinster Agglutinate handelt, nicht in Betracht. Im allgemeinen besteht also bei Anwendung der Capillarmethode eine geringere Abhängigkeit der Höhe des Titers von der Reaktionszeit, als bei Anwendung der übrigen Methoden.

Zwischen einem „makroskopischen“ und einem „mikroskopischen“ Titer, deren Reaktionszeiten verschieden lang sind, machen wir keinen Unterschied, sondern uns kommt es lediglich darauf an, wie weit in der Verdünnungsreihe Agglutinate in der Capillare überhaupt nachzuweisen sind („Maximaltiter“), wobei es für uns gleichgültig ist, ob diese Agglutinate mit bloßem oder mit bewaffnetem Auge erkannt werden.

Das Ablesen der eingetretenen Reaktionen kann, wie bei allen Blutgruppenuntersuchungsmethoden, mit dem bloßen Auge, mit der Lupe oder unter dem Mikroskop vorgenommen werden. Bei der Untersuchung mit *bloßem Auge* kann man sich die Agglutinate wie beim Ablesen der *Uhlenhuth'schen* Präcipitinreaktion, durch einen dunklen Hintergrund deutlich zu Gesicht bringen.

Zunächst untersuchen wir mit bloßem Auge, und zwar nur zur Orientierung, bis zu welcher Stufe eine Agglutination deutlich zu erkennen ist. Hierzu reicht die Betrachtung mit dem bloßen Auge aus. Alsdann benutzen wir zur Feststellung des Grenzwertes das Mikroskop oder die binokulare Lupe bei 20- bis 30facher Vergrößerung.

Betrachtet man das Capillarröhrchen *unter der binokularen Lupe*, so wird es an diese nicht fixiert, sondern frei in der Hand behalten. Man faßt mit Zeigefinger und Daumen der einen Hand das eine Ende und mit Zeigefinger und Daumen der anderen Hand das andere Ende der Capillare, stellt die Mitte des Capillarröhrchens ins Blickfeld unter die Lupe ein und läßt nun die Flüssig-

keit durch den zu übersehenden mittleren Teil hindurchfließen. Dabei wird die Scharfeinstellung nicht mit der Mikrometerschraube der Lupe vorgenommen, sondern das Glasröhrchen so an die Okulare herangebracht, daß jedes einzelne Blutkörperchen genau zu erkennen ist.

Bei künstlicher Beleuchtung entstehen an der Oberfläche des Capillarröhrchens störende Reflexe, die dadurch zu vermeiden sind, daß das Capillarröhrchen nicht horizontal, sondern etwas geneigt gehalten und die künstliche Lichtquelle ungefähr eine Handbreite entfernt von der Lupe, und zwar etwas über der Höhe der Okulare, aufgestellt wird.

Betrachtet man das Capillarröhrchen unter dem Mikroskop, so eignet sich zur Feststellung des positiven bzw. negativen Ausfallens einer Reaktion ganz besonders der Trockendunkelfeldkondensor Ap. 0,5/0,8, der sog. Planktonkondensor von Leitz.

1. Das Ablesen einer eingetretenen Agglutination in der letzten Stufe mit positivem Ausfall.

In den Stufen mit wenig verdünntem Serum tritt eine Agglutination ein, bevor eine gleichmäßige Durchmischung von Serum und Blutkörperchen erfolgt ist. Dadurch werden die Agglutinate verschieden groß: die zunächst sich bilden, sind größer, die später entstehenden kleiner. Tritt aber die Agglutination erst mit der Zeit nach längerem Einwirken des Serums ein, wie in den Grenzstufen, so ist eine gleichmäßige Durchmischung schon erfolgt, bevor Agglutinate entstehen. Die Durchmischung ist dann so gleichmäßig, daß die Bildung von Agglutinaten verschiedener Größe, wie das zu Beginn der Durchmischung der Fall ist, ausbleibt.

Besonders deutlich sind Agglutinate dann zu erkennen, wenn die Flüssigkeitssäule mit der binokularen Lupe oder Mikroskop in den Randpartien sozusagen *tangential* betrachtet wird. Hierbei bekommt man gewissermaßen die Oberfläche der Flüssigkeitssäule zu Gesicht, ohne daß durch dahintergelegene Blutkörperchen, wie das bei der Durchsicht der Fall ist, Agglutinate überdeckt werden. Man kann aber auch — allerdings nicht mit derselben Deutlichkeit — Agglutinate erkennen, wenn man durch die Flüssigkeit hindurchschaut.

Betrachtet man das horizontal gehaltene Capillarröhrchen *von oben her*, so kann man die der Schwere nach abgesunkenen Agglutinate nur dann deutlich zu Gesicht bekommen, wenn man das Capillarröhrchen langsam um die Längsachse dreht, bis die zu unterst liegenden Agglutinate an der Seitenfläche und schließlich an der dem Auge zugekehrten Oberfläche der Flüssigkeitssäule erscheinen, von wo sie beim Unterbrechen des Drehens wieder abzusinken beginnen.

Betrachtet man jedoch das Capillarröhrchen *von der Seite her*, so sieht man die an die Unterfläche der Capillarinnenwand hinabgesunkenen Agglutinate in einer Schicht zusammenliegen, ohne daß sie durch ein Drehen des Capillarröhrchens um die Längsachse zu Gesicht gebracht werden müssen.

Zur Betrachtung der Capillarröhrchen von der Seite her hebt man die Lupe an, dreht sie um etwa 90°, so daß der bis dahin vertikal gestellte Tubus eine horizontale Lage einnimmt, sieht nun durch die Lupe hindurch wie durch ein waagrecht gehaltenes Fernglas. Das Capillarröhrchen wird an dem Objektisch vor einer Mattscheibe fixiert. Richtet man nun die Lupe mit dem Capillarröhrchen auf einen hellen Hintergrund (künstliche Beleuchtung), so heben sich Blutkörperchen und Agglutinate deutlich voneinander ab. Dreht man nun die Capillare um ihre Längsachse in der Weise, daß die Blutkörperchen, die sich

gesenkt haben, wieder nach oben zu liegen kommen, so kann man das Sedimentieren derselben durch die Flüssigkeitssäule hindurch schrittweise verfolgen, wobei Agglutinate schneller sedimentieren als nichtagglutinierte Blutkörperchen.

Neigt man die Lupe langsam nach der einen und dann nach der anderen Seite, so daß der Inhalt der Capillare in Bewegung kommt und die Blutkörperchen aufgewühlt werden, dann läßt sich erkennen, daß die hinabgesunkenen Agglutinate am Boden des Capillarröhrchens wie in einer Rille hin- und herrollen, während die nichtagglutinierten Blutkörperchen aufgewühlt über diesen Agglutinaten in der Flüssigkeit schweben. Freilich muß man sich in der Intensität, mit der die Flüssigkeit hin und her bewegt wird, nach der Größe der Agglutinate richten, denn je kleiner sie sind, desto vorsichtiger und behutsamer muß das Röhrchen zur Seite geneigt werden, und je gröber sie sind, desto schneller kann man die Flüssigkeitssäule hin und her gleiten lassen. Durch diese Abstufung der Bewegung lassen sich Agglutinate jeder Größe von nichtagglutinierten Blutkörperchen abtrennen.

Ohne Zuhilfenahme der binokularen Lupe in horizontaler Haltung oder des Mikroskopes mit horizontal gestelltem Tubus, d. h. ohne seitliche Betrachtung, läßt sich diese Trennung in zwei Schichten nicht erkennen. Wir halten deshalb diese Art, nach Agglutinaten zu suchen, und zwar gerade diejenige mit *seillicher* Betrachtung, für die sorgfältigste des Ablesens überhaupt und besonders in den Grenzstufen beim Titrieren in Capillarröhrchen.

Betrachtet man auf diese Weise, so wird man bei einer schwachen und spät einsetzenden Agglutination alsbald nach dem Anstellen der Reaktion der ersten Ansätze einer Agglutination gewahr, d. h. früher, als bei der Untersuchung mit den übrigen Methoden, und zwar schon zu einer Zeit, in der ein negativer Ausfall der Reaktion sonst noch angenommen worden wäre.

Läßt man nun in den Stufen mit fraglichem Ausfall die in der horizontal gehaltenen Capillare befindliche Flüssigkeitssäule hin und her fließen, so kann allein *aus dem Überblick*, ohne Agglutinate im einzelnen ins Auge zu fassen, festgestellt werden, ob eine Agglutination eingetreten bzw. ausgeblieben ist. Dieser Gesamteindruck läßt eine Agglutination eher erkennen, als ein noch so genaues Betrachten von Agglutinaten im einzelnen, denn diese sind so winzig, daß sie kaum von nichtagglutinierten Blutkörperchen auseinanderzuhalten sind. Nur die Regelmäßigkeit, mit der diese Agglutinate verteilt sind, läßt sie als solche erkennen.

Diese Gleichmäßigkeit der Anordnung kann jedoch nur in einer *fließenden* Flüssigkeit, wie das in der Capillare der Fall ist, und nicht in einer ruhenden, wie auf dem Objektträger unter dem Deckglas, erfaßt werden. Ob dabei mit dem Mikroskop oder mit der binokularen Lupe untersucht wird, ist gleichgültig, wesentlich ist aber, daß sich die agglutinierten und nichtagglutinierten Blutkörperchen bewegen, wobei sie sich nicht schneller bewegen dürfen, als daß sie einzeln ins Auge gefaßt werden können. Die Blutkörperchen dürfen nicht vorbeischnellen. Sie müssen so langsam vorbeifließen, wie sie sich beim Sedimentieren in einer ruhenden Flüssigkeit senken würden.

Zu diesem Zwecke, um die zu untersuchende Flüssigkeit im Fließen beobachten zu können, kann die Capillare auch bei den anderen Titriermethoden zum Ablesen verwendet werden, indem vom Objektträger oder Röhrchen aus den Stufen mit fraglichem positivem Ausfall Teile der Flüssigkeit in die Capillare aufgezogen werden. Dadurch können Agglutinate erfaßt werden, die sich bei Anwendung der übrigen Methoden der Wahrnehmbarkeit, selbst bei Zuhilfenahme des Mikroskopes, entziehen.

Dieser Vorzug der Capillarmethode verlangt jedoch unter Umständen, z. B. beim Titrieren der Antisera „M“ und „N“ eine gewisse Vorsicht insofern, als hierbei in der Capillare auch unspezifische Agglutinate gesichtet werden, die bei Anwendung z. B. der Objektträgermethode gar nicht oder erst nach geraumer Zeit in Erscheinung treten.

Zur Verdeutlichung eines fraglich positiven Ausfalles kann beim Ablesen nach Ablauf der einzuhaltenden Beobachtungsdauer der Inhalt des Capillarröhrchens verdünnt werden. Hierdurch wird bezweckt, die isoliert gebliebenen, nichtagglutinierten Blutkörperchen so zu verteilen, daß nur die Agglutinate in Erscheinung treten und die nichtagglutinierten Blutkörperchen sich in der Verdünnungsflüssigkeit verlieren. Dabei werden zwar auch die Agglutinate räumlich auseinandergebracht, allein durch das Verdünnen wird erleichtert, Agglutinate herauszufinden, die sonst von den nichtagglutinierten Blutkörperchen verdeckt worden wären.

2. Das Ablesen einer ausgebliebenen Agglutination in den Stufen mit negativem Ausfall.

Bei negativem Ausfall ist an der langsam fließenden Flüssigkeitssäule besonders auf die Enden zu achten. Hier werden die Blutkörperchen gestaut und beim Fließen durch die nach innen zur Flüssigkeit hin gerichtete Konvexität des Meniscus von den Randpartien zur Mitte hin abgelenkt, so daß sie in die Längsachse der Flüssigkeitssäule zu liegen kommen, wo sie, auf einen kleinen Raum eingengt, in Massen angehäuft, als Schlieren in Erscheinung treten, die zu den Enden der Flüssigkeitssäule hin intensiver in die Augen fallen als im Inneren, wo die Blutkörperchen nicht gestaut und infolgedessen gleichmäßig verteilt sind. Diese *Agglomerationerscheinungen* müssen durch intensives Mischen erst zum Verschwinden gebracht werden, bevor der eigentliche Befund festgestellt werden kann, weil sie in den Grenzstufen als positiver Ausfall einer Reaktion mißdeutet werden können. Das Vorhandensein von Schlieren ist also ein Hinweis, daß nicht ausgiebig genug gemischt worden ist.

Neben diesen Agglomerationerscheinungen ist in den Grenzstufen auf das Auftreten von *Pseudoagglutinen* zu achten. Diese sind im Vergleich mit echten Agglutinaten von verschiedener Form und Größe und liegen in unregelmäßigen Abständen zumeist am Boden als Satz im horizontal gehaltenen Capillarröhrchen oder an den Enden in den Schlieren.

Bei diesen Pseudoagglutinaten handelt es sich nicht um solche in der Form von Geldrollen, denn diese kommen bei Anwendung der Capillare überhaupt nicht zustande, weil sich Geldrollen durch die besondere Art des Mischens in Capillarröhrchen nicht ansammeln können. Die Blutkörperchen werden durch das Hin- und Herfließen der Flüssigkeit zum Auseinanderrollen gebracht, während echte Agglutinate auch bei schnellstem Hin- und Herfließenlassen der Flüssigkeit erhalten bleiben. Vielmehr sind diese Pseudoagglutinate mit Blutkörperchen behaftete Fremdkörper (feinste Staubpartikelchen usw.). Es muß also mit peinlichster Sauberkeit bei Anwendung der Capillarmethode zur Sichtbarmachung schwächster Reaktionen gearbeitet werden. Zu diesem Zwecke halten wir besonders gesäuberte Capillaren unter staubfreiem Verschluß vorrätig, die nur bei subtilen Untersuchungen verwendet werden.

3. Das Feststellen des Grenzwertes.

Nachdem nun im vorstehenden beschrieben wurde, wie ein mehr oder weniger ausgesprochen positiver oder negativer Befund festgestellt wird, ist nun zu er-

örtern — und das bereitet beim Titrieren am meisten Schwierigkeiten —, wie die zwischen der letzten Stufe mit positivem Ausfall und der ersten Stufe mit negativem Ausfall gelegenen Übergangsstufen auseinanderzuhalten sind.

Bei Anwendung der Capillarmethode stellen wir zunächst makroskopisch fest, bis zu welcher Stufe ein positiver Ausfall deutlich zu erkennen ist. Bei der auf diese folgenden nächsten Stufe sind die Agglutinate so klein, daß sie mit bloßem Auge nicht ohne weiteres erkannt werden. Um jedoch auch bei dieser Stufe noch mit bloßem Auge die Entscheidung fällen zu können, wird das nächstfolgende Capillarröhrchen zum Vergleich herangezogen. Vergleicht man diese beiden Stufen, d. h. diese Übergangsstufe mit fraglichen positivem Ausfall mit der nächstfolgenden, so erkennt man nun auch mit bloßem Auge, daß es sich bei dieser Übergangsstufe um eine Reaktion mit positivem Ausfall handelt.

Durch den unmittelbaren Vergleich dieser Übergangsstufe mit der nächstfolgenden Stufe wird das Ablesen des Grenzwertes erleichtert. Solange zwischen diesen beiden Capillaren makroskopisch oder mikroskopisch ein Unterschied wahrnehmbar ist, also in einer der Capillaren anscheinend doch noch eine Agglutination eingetreten ist, wird die Untersuchung um eine Stufe weiter verlegt. Ist bei der Prüfung der beiden nächsten Capillaren auch mikroskopisch kein Unterschied wahrnehmbar, so ist damit sichergestellt, daß in diesen beiden Stufen Reaktionen mit negativem Ausfall vorliegen, also diese beiden Capillaren die zwei nächsten Stufen nach der letzten mit positivem Ausfall darstellen.

Durch den Vergleich der letzten Stufe mit positivem Ausfall bzw. der Übergangsstufe mit der ersten mit negativem Ausfall wird die Anwendung einer Kontrollaufschwemmung überflüssig. Als solche dienen uns die Stufen mit negativem Ausfall.

B. Das Capillartitrieren im Vergleich mit den bisher üblichen Titriermethoden.

1. Vergleich mit der Objektträger-Titriermethode.

Gegenüber der Objektträgermethode zeichnet sich die Capillarmethode dadurch aus, daß sich der positive Ausfall in den Grenzstufen mit fraglichem Befund durchschnittlich eine Stufe weiter verfolgen läßt, weil Agglutinate in der Capillare leichter zu erkennen sind, als auf dem Objektträger. Das betrifft aber nur die Ablesbarkeit und bedeutet nicht, daß sich bei der Capillarmethode höhere Titerwerte ergeben als bei der Objektträgermethode, sondern, daß die Capillarmethode zum Ablesen von positiven Reaktionen in den Grenzstufen geeigneter ist als die Objektträgermethode. Während bei dieser nach der letzten Stufe mit ausgesprochen positivem Ausfall eine Übergangsstufe (\pm) folgt, an die sich die erste Stufe mit negativem Ausfall anschließt, fällt bei der Capillarmethode diese Übergangsstufe weg, denn in dieser Stufe sind in der Capillare positive Reaktionen zweifelsfrei zu erkennen. Bei Anwendung von Capillaren folgt also auf die letzte Stufe mit ausgesprochen positivem Ausfall unmittelbar die erste Stufe mit negativem Ausfall. Das läßt sich besonders deutlich bei gleichzeitigem Betrachten zweier Capillaren erfassen, wodurch der Titerwert genau festgesetzt

werden kann. Ein Überprüfen desselben auf dem Objektträger unter dem Mikroskop ergibt nicht so scharfe Gegensätze, auch nicht bei Anwendung eines Vergleichsokulars, weil die unter dem Deckgläschen befindliche Flüssigkeit sich nicht in Bewegung befindet und sich daher die Agglutinate nicht so prägnant abheben wie in der Capillare, wobei sich die Agglutinate am Boden des Röhrchens sammeln, während die nichtagglutinierten Blutkörperchen in der Flüssigkeit suspendiert bleiben. Zudem wird durch ein leichtes Hin- und Herführen der Flüssigkeitssäule die Trennung zwischen agglutinierten und nichtagglutinierten Blutkörperchen noch weiter durchgeführt und jede Geldrollenbildung verhindert. Bei der mikroskopischen Betrachtung liegen agglutinierte und nichtagglutinierte Blutkörperchen unregelmäßig vermischt umher, und die Geldrollenbildung macht sich störend bemerkbar. Wir haben es deshalb nie nötig gehabt, die mittels der Capillare erzielten Resultate unter dem Mikroskop nachzukontrollieren, wie das in den Übergangsstufen bei Anwendung der Objektträger- bzw. Röhrchen-Zentrifugiermethode erforderlich ist.

Zu dieser günstigeren Ablesbarkeit kommt hinzu, daß die Bildung von Agglutinaten in der Capillare ausgiebiger vor sich geht, als auf dem Objektträger, weil die Durchmischung von Serum und Blutkörperchen in der Capillare eine ausgiebigere ist als auf dem Objektträger. Das ist u. a. daraus zu ersehen, daß sich an Proben, die der Grenzstufe mit fraglichem Ausfall vom Objektträger entnommen wurden, in der Capillare alsbald (nach einigen Minuten) ein deutlich positiver Ausfall einstellte. Diese Verdeutlichung einer fraglichen Agglutination beruht darauf, daß die Bedingungen für die Agglutination in der Capillare günstiger sind als auf dem Objektträger, denn beim Mischen in der Capillare rollen die sedimentierten Agglutinate wie in einer Rinne übereinander hinweg und werden dadurch vergrößert, vergleichbar mit einer Lawine, die über nassen Schnee rollt. Dieses Vergrößertwerden der Agglutinate erfolgt nicht durch eine künstliche Maßnahme, nicht durch Mitwirken einer Schleuderkraft, sondern es beruht nur auf dem besseren Ausnutzen der Agglutinationsfähigkeit an sich, wobei die Agglutinate näher aneinandergebracht werden, und zwar nur mit Hilfe ihres Eigengewichtes, so daß sie eher zum Aneinanderhaften kommen und sich schneller vergrößern können.

2. Vergleich mit der Röhrchen-Zentrifugiermethode.

Da es beim Titrieren ohnehin zahlreiche methodische Fehlerquellen gibt, sind wir bei Anwendung der Capillarmethode bestrebt, jede irgendwie zu vermeidende methodische Maßnahme, die von Einfluß auf den Titerwert sein könnte, zu unterlassen. Wir nehmen also nach dem Zusammenbringen von Serum und Blutkörperchen nur noch das Mischen

vor. Dieses erfolgt jedoch auf eine Art und Weise, wie es schonender nicht ausgeführt werden kann. Wir lassen die Flüssigkeit im Glas-capillarröhrchen hin und her fließen. Durch dieses Mischen werden Agglutinate nicht auseinandergesprengt.

Im Vergleich mit dieser schonenden Behandlung der Blutkörperchen bei der Capillarmethode erscheint uns das Zentrifugieren bei Anwendung der Röhrchenmethode als eine Gewaltmaßnahme, die nicht ohne Einfluß auf den Ablauf der Reaktion, auf die Form- und Größenbildung der Agglutinate ist, wobei zu dem spezifischen Zusammenballen ein durch Schleuderkraft bedingtes unspezifisches Zusammenballen hinzutritt, so daß der mittels der Röhrenmethode gewonnene Titer höher (*Clausen*: 2—4mal, *Fischer*: im Mittel 3,84fach) erscheint, als der auf Objektträgern bzw. mittels der Capillarmethode ermittelte, ganz abgesehen davon, daß durch das Zentrifugieren auch Fehlerquellen, wie die Pseudo- und Panagglutination, vermehrt in Erscheinung treten (*Fischer*).

Wir sehen also im Zentrifugieren, wenn es auch eine Beschleunigung der Agglutination herbeiführt, wobei jedoch als Fehlerquelle eine artifizielle Intensivierung der Agglutination hinzutreten kann, eine methodische Maßnahme, die nicht geeignet ist, die beim Ablesen von Titerwerten ohnehin bestehenden Schwierigkeiten zu verringern, geschweige denn sie zu beseitigen. Deswegen unterlassen wir das Zentrifugieren bei Anwendung der Capillarmethode.

Mit dieser Darlegung wollen wir nun nicht das Zentrifugieren überhaupt für ungeeignet erklären, sondern nur in bezug auf das Titrieren, und dieses besonders im Hinblick auf den Grenzwert. An einer Beschleunigung des Titrierens durch das Zentrifugieren auf Kosten des Titerwertes ist uns nichts gelegen, wenn dieser mit dem Zentrifugieren ein anderer ist als ohne Zentrifugieren. Wir zielen auf den absoluten Titerwert hin und vermeiden alles, was diesem durch methodische Maßnahmen, die unterlassen werden können, Abbruch tut. Deshalb ahmen wir beim Titrieren nach Möglichkeit die Bedingungen nach, denen die Blutkörperchen im Blut beim Strömen in der Blutbahn unterliegen. Dem Verhältnisse des Blutes in der Blutbahn wird im Capillarröhrchen eher entsprochen als bei Anwendung des Objektträgers oder des *Schiffschen* Röhrchens. Deswegen erscheint uns die Bestimmung der Blutgruppenzugehörigkeit in der Capillare gleichsam als eine „physiologische“ Maßnahme, und zwar „physiologisch“ etwa in jenem Sinne, in dem z. B. die „physiologische“ Kochsalzlösung als Aufschwemmungsflüssigkeit verwendet wird. Wenn bei Herstellung einer Aufschwemmung durch die Anwendung dieser Art von Flüssigkeit darauf Bedacht genommen wird, die Blutkörperchen in ein ihnen genehmes Medium zu versetzen, so wird bei der Bestimmung der Blutgruppenzugehörigkeit

diesem Bestreben entgegengehandelt, wenn zur Beschleunigung einer Agglutination zentrifugiert wird. Zwar schadet dieses den Blutkörperchen nicht in der Weise, wie etwa die Verwendung einer nicht isotonischen Lösung, allein die „physiologische“ Bildung von Agglutinaten wird durch das Zentrifugieren nicht gewährleistet.

Auch in der Objektträgermethode ist bei Mikrobestimmungen der „physiologische“ Ablauf der Reaktion insofern nicht gewährleistet, als durch Abdunstung die Aufschwemmungsflüssigkeit zunehmend konzentriert wird und die Blutkörperchen Stechapfelform annehmen — ein Zustand, der gleichfalls als nicht „physiologisch“ in bezug auf die Bildung von Agglutinaten anzusehen ist. Zweierlei Titer, je nachdem eine Eintrocknung eingetreten ist oder nicht (*Schött*), gibt es bei Anwendung der Capillarmethode nicht, wie bei der Titrierung „am Glas“, wobei der Titer bei den „flüssigen Agglutinationen“ höher wird als der, den man bei der eingetrockneten abliest“ (*Schött*).

Zusammenfassung.

Die Capillarmethode eignet sich nicht nur zur qualitativen¹ Bestimmung der Blutgruppzugehörigkeit, sondern auch zur quantitativen Auswertung des Agglutiningehaltes und der Receptorempfindlichkeit, insbesondere auch an kleinsten Mengen Blut.

Die Technik des Capillartitrierens ist unter Berücksichtigung quantitativer Gesichtspunkte dieselbe wie die der Typenbestimmung¹ mittels Capillarröhrchen.

Die Menge Ausgangsmaterial, die zur Typen- und Titerbestimmung mittels der Capillarmethode erforderlich ist, beträgt etwa 10 mg Frischblut bzw. bei der Blutfleckendiagnose 1 mg Trockenblut.

Die Verdünnungsreihe wird durch Übertragen von Capillare zu Capillare mit zwischengeschaltetem Zusetzen von Verdünnungsflüssigkeit angelegt, wobei die Aufschwemmungsflüssigkeit der Probeblutkörperchen auch als Verdünnungsmittel gilt und in den Titerwert mit einbezogen wird.

Bei Anwendung der Capillarmethode bereitet das Ablesen des Grenzwertes geringere Schwierigkeiten als bei den übrigen Methoden, weil sich in den Übergangsstufen in der Capillare ein positiver von einem negativen Ausfall leichter auseinanderhalten läßt, als auf dem Objektträger oder im *Schiffschen* Röhrchen.

Literaturverzeichnis.

Giovanni, Pecorella, e C. Angeleri, Zbl. Hyg. **25**, H. 1/2, 92 (1931). — *Gerzon, L.*, Minerva-Z. **21**, 8, 315 (1930). — *Hölscher, F.*, Z. Immunforsch. **66**, H. 3/4, 193—203 (1930). — *Holzer, Franz Josef*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **16**, H. 6, 445

¹ *Ponsold, A.*, Münch. med. Wschr. **1933**, Nr 41, 1594.

(1931). — *Kettel, K.*, u. *O. Thomsen*, Z. Immun.forsch. **65**, H. 3/4, 245—253 (1930). — *Lauer*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **11**, 264 (1928). — *Lederfeind, G.*, Minerva-med. (Torino) **1930 I**, 315—318; Ref. Ber. Physiol. **59**, H. 9/10, 809—810 (1931). — *Lehmann, K.*, Acta path. scand. (Københ.) **5**, H. 2/3, 155—169 (1928). — Hosp.tid. (dän.) **71**, 852—857 (1928). — *Pikkarainen* u. *Souminen*, Z. Immun.forsch. **78**, 145 bis 151 (1933). — *Ponsold, A.*, Münch. med. Wschr. **1933**, Nr 41, 1594. — *Roth, H.W.*, Ärztl. Sachverst.-Ztg **37**, H. 8, 115—117 (1931). — *Schiff, F.*, u. *G. Hübner*, Z. Immun.forsch. **45**, H. 2, 207—222 (1925). — *Schiff, F.*, u. *L. Mendlowicz*, Z. Immun.forsch. **48**, H. 1, 1—22 (1926). — *Schött, E. D.*, Acta med. scand. (Stockh.) **71**, H. 1/2, 115—146 (1929). — *Schrader, G.*, Z. Rassenphysiol. **3**, 108 (1931). — *Shigeno, S.*, Z. Immun.forsch. **66**, H. 5/6, 403—423 (1930). — *Thomsen, O.*, u. *K. Kettel*, Z. Immun.forsch. **63**, H. 1/2, 67—92 (1929). — *Weber, H.*, Untersuchungen über die Veränderlichkeit des Agglutinationstiters von menschlichem Serum und menschlichen Blutkörperchen nach Narkosen und Operationen. Hannover: Helwingsche Verlagsh. 1930, 17. — *Zantop, H.*, Z. Immun.forsch. **68**, H. 3/4, 277—285 (1930).
