

(Aus dem Institut für Gerichtl. und Soziale Medizin der Universität Königsberg i. Pr.
Direktor: Prof. *M. Nippe.*)

Blutgruppenbestimmung an kleinsten Trockenblutmengen durch Agglutininbindung in Capillaren.

Von
Dr. **F. Hausbrandt**,
Assistent am Institut.

Einleitung.

Dem Gerichtsmediziner wird immer wieder die Aufgabe gestellt, an kleinen und oft kleinsten eingetrockneten Blutspuren Blutgruppenbestimmungen vorzunehmen. Wie groß sind aber oft die Schwierigkeiten, die sich der Lösung dieser Aufgabe entgegenstellen! Die mannigfachen, durch die verschiedensten äußeren Einflüsse hervorggerufenen Veränderungen des Trockenbluts, welche eine nachträgliche Blutgruppenbestimmung oft erschweren oder geradezu unmöglich machen, sind zu sehr bekannt, als daß sie noch eines besonderen Hinweises bedürften. Von diesen soll hier ganz abgesehen werden. Oft ergeben sich aus dieser Richtung *keine*, hingegen aus der besonderen *Geringfügigkeit der vorhandenen Blutspur* die größten Schwierigkeiten: eine zarte Wischspur, eine in weiche Erde oder morsches Holz versickerte Spur oder gar eine mehr zufällige, von einem auswärtigen Obduzenten beim Einfüllen von Organstücken am Rand des Präparatenglases hinterlassene Spur sind nicht zu selten das einzige zur Verfügung des Untersuchers stehende Material. Zur forensischen Bestimmung der Rezeptoren an Trockenblut findet das Agglutininbindungsverfahren mit vergleichender Titration des zur Adsorption verwandten O-Serums heute wohl allgemeine Anwendung. *Holzer*¹, welcher wohl als erster eine genauere Darstellung der Methodik gegeben hat, konnte an Hand einer Reihe von Blutkrustenuntersuchungen in etwa 90% der Fälle einen eindeutigen Erfolg feststellen. Er selbst verwendet in der Regel Trockenblutmengen von 10—20 mg, hält sein Verfahren jedoch auch bei wesentlich geringeren Blutspuren (bis zu 2 mg) noch für anwendbar.

In der gerichtsmedizinischen Praxis ist selbst eine derartige Menge von Trockenblut nicht immer vorhanden, so daß in solchen Fällen die Anwendung des obigen Verfahrens unter Beschickung des kleinen Proberöhrchens mit Gebrauchsserum und Blutpulver die Erfolgsaussicht noch weiter herabsetzt. Für die heute noch vorwiegend geübten Ver-

¹ Dtsch. Z. gerichtl. Med. **16** (1931).

fahren, in denen nach durchgeführter Auswertung des Testserums die Adsorption durch das Blutpulver im Proberöhrchen vorgenommen wird, ist zur Erreichung einer hinlänglichen Genauigkeit eine Serummindestmenge von 100 (*Lauer*¹) bis 200 mg erforderlich. Kleinere Mengen vermindern bei der nach der Adsorption im Eisschrank vorgenommenen Auswertung des Serums die Genauigkeit des Ergebnisses. Denn je kleiner die Anfangsmenge bei Herstellung fortlaufender Verdünnungsstufen ist, desto größer sind hierbei die Fehlerquellen, so daß eine vergleichende Titration der Gebrauchsserumverdünnung vor und nach der Adsorption und der folgenden Verdünnungsstufen nur sehr vorsichtige Schlüsse auf eine etwaige Titerabschwächung zulassen. Aus der Kenntnis dieser sich aus dem Pipettieren ergebenden Fehlerquelle heraus, welche sich beim Arbeiten mit kleinen Serummengen nur noch verstärkt, ist es auch allgemein üblich geworden, eine Titerabschwächung um mindestens 2 Verdünnungen gegenüber dem Testserum zu fordern, um eine gruppenspezifische Agglutininbindung annehmen zu können. Dabei ist es selbstverständlich, daß auch dann noch die Beurteilung unter Anwendung besonderer Vorsicht, Durchführung von Kontrollen und sonstiger ergänzender Untersuchungen erfolgt.

Wie oben schon erwähnt, scheidet eine erfolgversprechende Durchführung des Agglutininbindungsverfahrens im Proberöhrchen schon an der Geringfügigkeit der Blutspur. Nach *Holzer* ist eine Mindestmenge von $\frac{1}{15}$ bis unter Umständen zu $\frac{1}{30}$ gepulverten Trockenblutes, gemessen an der Serummenge, hinreichend, um das Agglutinin fast vollständig zu erschöpfen bzw. noch deutlich zu vermindern. Wir kommen also, selbst wenn wir die obengenannte, eben noch verwendbare Mindestmenge von 100 mg Serum und die von *Holzer* für das Blutpulver genannte äußerste Verhältniszahl von $\frac{1}{30}$ der Serummenge zugrunde legen, auf eine Trockenblutmenge von etwa 3,3 mg. Es ergibt sich aber schon aus der Annahme dieser Mindestmengen und den damit verbundenen Fehlerquellen, daß in einem solchen Fall unter *ungünstigsten* Bedingungen gearbeitet wird, welche sich noch weiterhin verschlechtern, wenn die verwendete Trockenblutmenge noch geringer ist. Daraus ergibt sich schon ohne weiteres eine Abnahme der für forensische Zwecke unbedingt zu fordernden Verläßlichkeit der Untersuchungsergebnisse.

Man ist also als Untersucher durch das Vorliegen nur zu oft geringster Trockenblutmengen gezwungen, den Agglutininbindungsversuch „mit untauglichen Mitteln“ anzustellen, sofern man sich nicht mit seiner Untersuchungstechnik den gegebenen minutiösen Verhältnissen anpaßt.

Aus dem ähnlichen Bestreben heraus, die *Uhlenhuthsche* Eiweißpräzipitinreaktion mit kleinsten Flüssigkeitsmengen anzustellen, wurde

¹ Dtsch. Z. gerichtl. Med. **11**, 264 (1928).

schon vor Jahrzehnten von *Hauser*¹ zur Capillarmethode übergegangen, die sich in kundiger Hand bewährt hat, worauf *Walcher*² mit Nachdruck hinweist. Für die Blutgruppenlehre hat *Ponsold*³ in einer Reihe von Arbeiten auf die Verwendbarkeit der Capillarmethode hingewiesen, und zwar nicht nur für die qualitative Blutgruppenbestimmung, sondern auch für die quantitative Auswertung kleinster Serumengen. Für letztere gibt er eine eingehende Darstellung des von ihm angewandten technischen Verfahrens. Es beruht im wesentlichen auf der Herstellung der Verdünnungsstufen des Prüfserums in 10 cm langen, etwa 1 mm weiten Capillarröhrchen, wobei zur Erreichung der jeweils nächststärkeren Verdünnung die halbe Flüssigkeitssäule von Capillare auf Capillare übertragen wird. Das Zusetzen der Iproz. Probekörperchenaufschwemmung erfolgt — ähnlich wie bei der Röhrchenmethode — zu gleichen Teilen, was natürlich bei Feststellung des Titers berücksichtigt werden muß. Die Ablesung erfolgt nach *Ponsold* längstens 30 Minuten nach Blutkörperchenzusatz, am besten in seitlicher Betrachtung der leicht zu schwenkenden Capillare unter Benutzung der binokularen Lupe oder des Mikroskops mit Trockendunkelfeldkondensator⁴.

Auch für die uns hier besonders interessierende *Blutfleckendiagnose* vertritt *Ponsold* die Anwendbarkeit seines Verfahrens, ohne hierüber genauere Angaben oder Erfahrungen mitzuteilen⁵. *Ponsold* hält für diesen Zweck eine Serummenge von nicht mehr als 10—20 mg für erforderlich, womit die Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit an Trockenblut bei einer Menge von nur 1 mg durchgeführt werden könne.

Ausführung.

a) Gesichtspunkte.

Wenn nun die von *Holzer*⁶ zur vollständigen oder weitgehenden Agglutininbindung als hinreichend ermittelten Trockenblutmengen von $\frac{1}{15}$ — $\frac{1}{30}$ der Serummenge richtig waren, dann mußte die von *Ponsold*

¹ Münch. med. Wschr. **51**, H. 7, 289 (1904).

² Dtsch. Z. gerichtl. Med. **9** (1927) und Arch. Kriminol. **91** (1932).

³ Münch. med. Wschr. **80**, H. 41, 1594 (1933) bzw. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **23** (1934) und **24** (1935).

⁴ Die soeben von *Herold* und *Anacker* mitgeteilten ungünstigen Erfahrungen für Blutgruppenbestimmungen an Frischblut Neugeborener [Z. Rassenphysiol. **10**, H. 1 (1938)] mit der von *Ponsold* angegebenen Mikrocapillarmethode sind zwar bemerkenswert, sind jedoch für den Gegenstand der vorliegenden Arbeit von keiner Bedeutung: Einerseits ist das Prüfungsmaterial ein ganz anderes, andererseits hat die zu den obigen Untersuchungen angewandte Technik mit der im folgenden beschriebenen nur die Anwendung der Capillaren gemein.

⁵ Einer während des Abschlusses der Arbeit besonders erbetenen, soeben eingetroffenen schriftlichen Mitteilung *Ponsolds* entnehme ich, daß die von *Ponsold* geübte Technik vielleicht in der nächsten Zeit in einer Arbeit erscheinen wird.

⁶ Wie oben.

angegebene Trockenblutmenge von 1 mg bei Verwendung einer Serummenge von 10 mg zum mindesten *theoretisch* noch beträchtlich unterschritten werden können. Rein rechnermäßig mußte bei Anwendung einer geeigneten Technik eine Trockenblutmenge von 0,66 bzw 0,33 mg, d. i. etwa $\frac{2}{3}$ oder $\frac{1}{3}$ mg für eine weitgehende Agglutininbindung und damit Titerabschwächung zureichend sein. Auch war die Annahme nicht unbegründet, durch ein besonders sorgfältiges Verreiben des Trockenblutes und durch die erst in der horizontalgelagerten Capillare vorhandene innige Einwirkungsmöglichkeit die Agglutininbindung möglichst vollständig zu gestalten. Es war ferner zu überlegen, ob nicht durch Anwendung einer geeigneten Technik noch eine weitere Verminderung des zur Adsorption verwendeten Serums und damit wieder des Blutpulvers erreicht werden könne. Nach diesen theoretischen Erwägungen und praktischen Gesichtspunkten wurde auch in dem Bestreben vorgegangen, dem *Lattessen* Agglutininnachweis durch den Deckglasversuch an kleinsten Blutschuppen den *ergänzenden Agglutinogennachweis* an die Seite zu stellen.

b) Arbeitsgang.

Es ist selbstverständlich, daß genaues Arbeiten und eine bei einiger Übung schnell zu erlangende Gewandtheit in der Handhabung der Capillaren unbedingte Voraussetzung für die Erlangung verlässlicher Ergebnisse ist. Die ersten Versuche, welche sich vor allem auf das Manipulieren mit den Capillaren (das Ein- und Überfüllen von Flüssigkeit) erstrecken, waren naturgemäß von manchem Mißerfolg begleitet. Es ergab sich von selbst, daß in den Versuchen, welche sich auf einen Zeitraum von einigen Monaten erstreckten, sozusagen schrittweise vom Arbeiten mit größeren Capillaren und Serum- sowie Blutpulvermengen zu einer Verfeinerung der Methodik übergegangen werden konnte. Eine Reihe von beachtenswerten technischen Feinheiten bei Handhabung der Capillaren sind von *Ponsold* angegeben. Die von *Ponsold* angegebene quantitative Auswertung des Serums wurde u. a. an einer Reihe von Proben durchgeführt und seine Mitteilung von der Durchführbarkeit der Gruppenbestimmung an einer Trockenblutmenge von nur 1 mg durchaus bestätigt. In dem Bestreben, zu einer möglichst weitgehenden Vereinfachung der Methode zu kommen und die erforderliche Trockenblutmenge noch über das bisherige Maß zu verkleinern, haben wir uns immer mehr an Erfahrungen von etwa 80 Agglutininbindungsversuchen mit bis zu mehrere Monate alten Blutspuren auf Glas, Stoff oder Holz eine besondere Methodik zurechtgelegt, welche sich uns gut bewährt und zum mindesten ermunternde Ergebnisse gezeitigt hat. Es bedarf nicht besonderer Erwähnung, daß die Blutgruppe sämtlicher verwendeten „künstlichen“ Blutflecke (mit Ausnahme

eines Mordfalls mit Blutflecken auf Holz) im frischen Zustande eindeutig bestimmt worden war.

Die Methode unterscheidet sich im Grundsätzlichen in nichts von den bisher üblichen Agglutininbindungsverfahren: Verwendung eines kräftigen möglichst ausgeglichenen $O-\alpha\beta$ -Serums. Genaue Bestimmung des Titers. Sorgfältige Auswahl der zur Adsorption zu verwendenden Verdünnungsstufe. Vermengung des Blutpulvers mit dem Serum. Adsorption im Eisschrank. Isolierung des Serums vom Blutpulver. Vergleichende Agglutinationsprüfung des adsorbierten und des nicht adsorbierten Serums.

Dies Verfahren soll letzten Endes der Praxis dienen und kann bei genügender Trockenblutmenge kontrollhalber oder auch selbständig angewandt werden. Bei ganz kleinen Blutmengen kommt wohl nur die verfeinerte Capillarmethode in Betracht und ich lege daher der nun folgenden Schilderung der technischen Einzelheiten bewußt die Annahme des Vorhandenseins kleinster Trockenblutmengen zugrunde. Es versteht sich, daß der Untersucher bei größerer Blutmenge seine Technik den günstigeren Verhältnissen anpassen kann.

I. Der Vorversuch mit Titerbestimmung des Gebrauchsserums $O-\alpha\beta$.

Als Gebrauchsserum kommt am besten ein kräftiges, gegenüber den Testblutkörperchen A und B möglichst gut ausgeglichenes in Frage. Aus dem wohl in jedem serologischen Laboratorium vorhandenen Vorrat an geeigneten Seren werden in der üblichen Weise in je einer Röhrenreihe arithmetisch fortschreitende Verdünnungen hergestellt und das am Untersuchungstage am besten ausgeglichene verwendet. Eine Serummenge von 0,2 ccm pro Röhren erweist sich als hinreichend. Das Röhren wird sorgfältig zugestöpselt. Die Auswertung des Serums muß in derselben Weise geschehen, wie nach der Adsorption der Serumverdünnung. Aus jedem Proberöhren wird mit je 2 feinkalibrigen, gleichmäßig ausgezogenen Capillaren von etwa 7—8 cm Länge eine 7—10 mm lange Flüssigkeitssäule durch Capillaradhäsion eingesogen. Hierbei wird zur Vermeidung eines plötzlichen übermäßigen „Einschießens“ von Serum der Zeigefinger an die freie Öffnung der Capillare angelegt und bei Bedarf leicht gelockert. Wenn auf diese Weise aus jedem Röhren je 2 Capillaren mit etwas Serum gefüllt worden sind, markiert man sich entsprechend der Empfehlung *Ponsolds* die doppelte Strecke der Flüssigkeitssäulenlänge mit einem Tintenpunkt an der Capillare, muß hierbei aber beachten, daß die Flüssigkeitssäule genau mit dem Röhrenende abschneidet, was unter Umständen durch leichtes, etwas ruckartiges Bewegen der Capillare in ihrer Achsenrichtung erreicht werden kann. (Es kommt hier nicht auf genau gleiche Länge der Flüssigkeitssäule zwischen den einzelnen Capillaren an.) Nun erfolgt in je eines der Capillarenpaare die Nachfüllung der etwa 5proz. A-Testblutkörperchenaufschwemmung bis zum Tintenpunkt, wobei am besten zur Vermeidung einer Verunreinigung der Aufschwemmung mit am Capillarenende hängenden Serumresten von einer Hilfsperson je 1 Tropfen der Aufschwemmung auf einen Objektträger für je eine Capillare aufgetropft wird. Dasselbe erfolgt unter Anwendung der B-Blutkörperchenaufschwemmung für die restliche Capillare jedes Capillarenpaares. Jede Capillare wird nach Hinzufügen der Testblutkörperchen unter Anmerkung der Uhrzeit 10mal derart umgedreht, daß die Flüssigkeitssäule von

Capillarende zu Capillarende läuft, so daß eine gute Durchmischung gewährleistet ist. Dann werden die Capillaren horizontal gelagert nach Testblutkörperchen und Verdünnung geordnet auf einen geriffelten Karton oder auch auf einen *Ponsold*schen Capillarröhrchenständer gelegt. 10 Minuten nach Blutkörperchenzusatz werden die Capillaren neuerlich in der oben angegebenen Weise geschwenkt (es genügt 5 maliges Schwenken) und aus mindestens 2 Stellen der Flüssigkeitssäule Proben auf geschliffene Deckgläschen übertragen und nun auf hohlgeschliffenen Objektträgern die Reaktion erstmalig und nach weiteren 20 Minuten zum 2. Male mikroskopisch geprüft, ihrem Grad nach klassifiziert und vermerkt. Es ist dabei zweckmäßigerweise der Rand des Deckglases zur Verhinderung der Verdunstung mit Vaseline aufzukleben. Nun erfolgt die Auswahl des geeignetsten Serums und die Festsetzung der zum Hauptversuch zu verwendenden Serumverdünnung, welche gleich aus demselben — während des Vorversuchs gut mit Stöpsel und im Eisschrank versorgten — Röhrchen der Röhrchenreihe entnommen wird, in welchem auch noch nach der Entnahme reichlich Serum verbleibt. Durch die unverändert für Vorversuch, Hauptversuch und Kontrollversuch nach der Adsorption erfolgende Verwendung desselben Serums aus ein und demselben Proberöhrchen werden die bei noch so genauer Pipettierung unvermeidlichen Verdünnungsunterschiede innerhalb der gleichen Stufen mehrerer Verdünnungsreihen mit Sicherheit vermieden.

II. Der Hauptversuch.

1. Vorbemerkungen und Richtlinien.

Das Prinzip des Hauptversuchs beruht genau wie bei den anderen für größere Trockenblutmengen gebräuchlichen Agglutininbindungsmethoden auf der Feststellung des durch Adsorption eintretenden oder ausbleibenden Titerabfalls des O- α β -Gebrauchsserums gegenüber den A- oder B-Testblutkörperchen. Während bei den bisher üblichen Verfahren mit größeren Trockenblutmengen der Titerabfall nach der Adsorption des Gebrauchsserums vergleichend mit dem nicht adsorbierten Serum an einer Reihe fortschreitender Verdünnungsstufen bestimmt und ausgewertet wird, muß in dem von uns angewandten Verfahren für kleinste Blutmengen grundsätzlich auf die serumverbrauchende stufenweise Auswertung verzichtet werden, da wir ja von vornherein den Hauptversuch mit den kleinsten, in diesem Verfahren eben noch anwendbaren Serumengen ansetzen mußten. Hier gilt zur Feststellung der stattgehabten Agglutininbindung die Beobachtung, ob in der zur Adsorption verwendeten Serumverdünnung eine Agglutinationshemmung eintritt, wobei die Reaktion in den weitergehenden Verdünnungsstufen nicht angestellt und daher unberücksichtigt gelassen wird. Das kann man deswegen ohne wesentliche Beeinträchtigung der Sicherheit der Bewertung tun, weil das verdünnte Gebrauchsserum für den Vorversuch, den Hauptversuch und für die zur endgültigen Auswertung notwendige Serumkontrolle aus ein und demselben Proberöhrchen der eingangs hergestellten Verdünnungsreihe entnommen wird. Die Herstellung

von fortlaufenden Verdünnungen mit kleinsten Serumengen ergibt hingegen nicht zu vermeidende Fehlerquellen.

Bei den bisherigen Verfahren wurde zur Feststellung einer spezifischen, für die Praxis zu verwertenden Agglutininbindung im allgemeinen eine Titer senkung um mindestens 2 Verdünnungsstufen gefordert.

Bei unseren Untersuchungen verwendeten wir als Gebrauchsverdünnung zur Adsorption eine Verdünnungsstufe, welche selbst unter der Annahme einer unspezifischen geringen Titer senkung durch bloßes Stehen u. dgl. trotzdem im Kontrollversuch noch kräftige Agglutination mit den Testblutkörperchen erwarten läßt. Es wird daher als Gebrauchsverdünnung eine solche gewählt, welche mindestens *eine Stufe über der letzten kräftig A- und B-Blkp. agglutinierenden liegt*. Auf die sorgfältige Auswahl des Gebrauchsserums und der Verdünnungsstufe durch den Vorversuch ist natürlich besonderes Gewicht zu legen.

Die zur Verfügung stehende Menge von Trockenblut wird zweckmäßig mit einer Präzisionswaage abgewogen, um so je nach Blutmenge die Größe der Capillaren bzw. die zur Adsorption zu verwendende Gebrauchsserummenge anzupassen. Dabei ist es zweckmäßig, die Menge des Gebrauchsserums etwa im Verhältnis von 1:25 zu wählen. Ein weit unter 1:25 liegendes Verhältnis soll nicht gewählt werden, weil sonst nach Mischung des Blutpulvers mit dem Gebrauchsserum das Arbeiten aus mehreren Gründen erschwert wird. Umgekehrt kann bei äußerst geringer Blutmenge — also nur im Notfall — der Versuch gemacht werden, bis zu einem Trockenblut-Serum-Mischungsverhältnis von etwa 1:200 zu gehen! An mehreren derart angeordneten Versuchen konnten wir mit geeigneten Blutproben einmal eine vollständige und mehrmals eine partielle Agglutininbindung nachweisen. Ein derart ungünstiges Mischungsverhältnis wird sich allerdings kaum jemals aus der Not ergeben. In der Regel wird man sich durch Anstellung des Adsorptionsversuchs in einer möglichst kleinkalibrigen Capillare (Durchmesser etwa 0,6—0,7 mm) behelfen können und so dem „idealen“ Mischungsverhältnis nahekommen. Die zur Verwendung kommende Gebrauchsserummenge, welche ja nach der Adsorption zur Auswertung gegenüber A- und B-Testblutkörperchen noch geteilt werden muß, soll in der Capillare eine Flüssigkeitssäule von nicht unter 15 mm Länge ausmachen, das ist bei einer Capillare von 0,7 mm im Durchmesser der Menge nach etwa ein Drittel eines Capillartropfens, wie sich praktisch überprüfen läßt; das entspricht rechnerisch und an der Präzisionswaage festgestellt einem Serumgewicht von 5—6 mg. Eine Trockenblutmenge von 0,2 mg würde also für diesen Fall dem „idealen“ Mischungsverhältnis entsprechen. Zu derart kleinen Serumengen wird man jedoch aus verschiedenen Gründen nur im Notfall greifen. Immerhin haben

wir in einer Reihe von Agglutininbindungsversuchen mit etwa $0,1\text{ mg}$ *Trockenblut* und zweckentsprechender Serumanwendung eine ausgesprochene Titerenkung feststellen können.

2. Technische Einzelheiten.

Das zu verwendende Trockenblut wird möglichst an einem Punkt eines kleinen glasierten Porzellan- oder Achatnäpfchens zusammengeschabt und nun mittels des abgerundeten Endes eines feinen Glasstäbchens unter leichten Bewegungen solange zerdrückt, bis es zu einem kakaomehlartigen Pulver verfeinert ist. Die Gewinnung des Blutpulvers von einem dünnen Stoff geschieht zweckmäßig in der Weise, daß man den Stoff mit der Blutfleckseite auf eine glatte Porzellanplatte legt und dann unter leichter Spannung des Stoffes an der dem Fleck gegenüberliegenden Stoffstelle mit dem Skalpell drüberschabt. Durch dieses Vorgehen erreicht man zumeist, daß Blutpulver in genügender Menge und ohne zu reichlich Stofffäserchen auf die Unterlage absplittert. Die Stofffäserchen lassen sich auch dadurch zum Teil entfernen, daß man mit einem durch Wollereibung elektrisch gemachten Hartgummistab (wir benutzen die Kappe einer Füllfeder) vorsichtig in einiger Entfernung über das der Unterlage aufliegende Pulver streift, wodurch ein gut Teil der störenden Fäserchen entfernt werden. Zu starkes Annähern des Gummistabes reißt auch die Pulverteilchen zum Teil mit.

Ist das Trockenblut durch sorgfältige Präparierung gebrauchsfertig gemacht, muß es peinlich genau an eine möglichst begrenzte Stelle des Porzellannäpfchens zusammengeschabt werden.

Nun erfolgt die Entnahme des durch den Vorversuch festgesetzten Gebrauchsserums aus dem bis dahin sorgfältig verschlossen gehaltenen Röhrchen der Anfangsreihe und der Zusatz desselben zum Blutpulver in der den vorhin gegebenen Anweisungen entsprechenden Menge. Das Serum kann entnommen und dem Blutpulver zugesetzt werden mit einer Capillare, an welcher man sich durch einen kleinen Vorversuch die einem Capillarentropfen entsprechende Flüssigkeitssäulenlänge mit einem Tintenpunkt markiert hat. Das Zusetzen des Gebrauchsserums zum Pulver, das Mischen und das Einsaugen (durch Adhäsion) in die Capillare soll mit äußerster Beschleunigung vor sich gehen. Man vermeidet das Verschmieren des geringen Pulver-Serumgemisches, setzt die (frische) Capillare möglichst senkrecht auf den eben benetzten Boden des Näpfchens auf und unterstützt das Einsaugen, indem man mit aufsitzender Capillare das Näpfchen sozusagen umdreht und mit dem Capillarenende trachtet, möglichst auch die letzten anklebenden Reste mit hineinzusaugen, solange sie feucht sind. Bei einiger Übung gelingt es, das Gemisch als ununterbrochene Flüssigkeitssäule in die Capillare zu bekommen. Man läßt die Säule etwas in die Capillare fließen und schmilzt dann das von der Säule entferntere Ende über der Gassparflamme reinlich zu.

Für den *Kontrollversuch* nach der Adsorption wird schon jetzt in der gleichen Weise, nur ohne Blutzusatz, eine Probe des Gebrauchsserums aus demselben Röhrchen der Anfangsreihe in eine Capillare überfüllt. Versuchscapillare und Kontrollecapillare werden nun, nachdem für eine möglichst gleichmäßige Verteilung des Blutpulvers in der ersteren gesorgt worden ist, in *horizontaler* Lage 3—24 Stunden im Eisschrank verwahrt und wiederholt umgedreht. Danach erfolgt zur Sedimentierung des Blutpulvers in der Capillare Zentrifugierung bei etwa 2500 Umdrehungen. Die Capillaren müssen dabei vor dem Zerbrechen dadurch geschützt werden, daß sie in ein Glasröhrchen eingelegt oder zu einer Art Stäbchenbündel zusammengelegt werden. Das Pulver sammelt sich am zugeschmolzenen Ende an und wird von dem klaren Serum durch Anfeilen und

Abbrechen der Capillare an dieser Stelle entfernt. Nun wird das Serum in zwei neue Capillaren verteilt und unter zu gleichen Teilen erfolgendem Zusatz der Testblutkörperchenaufschwemmung A bzw. B die Agglutinationsprobe wie im Vorversuch angestellt. Gleichzeitig wird in derselben Weise mit dem Kontrollserum aus der zweiten Capillare der Kontrollversuch angestellt. Außerdem empfiehlt sich ein Kontrollversuch mit O-Blutkörperchen.

Zusammenfassend verläuft demnach das Verfahren nach beiliegendem schematischem Beispiel:

Tabelle 1. Vorversuch mit Titerbestimmung des O- α - β -Gebrauchsserums Krauss.

Titer		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
Test A Blk. <i>Plank</i> {	nach 10 Min.	+++	+++	+++	(+++)	(+++)	++	(+)	0
	„ 30 „	+++	+++	+++	+++	(+++)	(+++)	+	0
Test B-Blk. <i>Schmidt</i> {	nach 10 Min.	+++	+++	(+++)	(+++)	++	+	(+)	0
	„ 30 „	+++	+++	+++	+++	+++	++	(+)	0

Anmerkung: Titer auf Verdünnung mit Blk.-Aufschwemmung berechnet.
Ergebnis: Verdünnungsstufe 1:32 für den Hauptversuch!

Tabelle 2. Hauptversuch, Agglutination nach Adsorption mit Trockenblut X.

		Adsorbiertes Gebrauchsserum 1:32	Nicht adsorbiertes Gebrauchsserum (Kontrolle)
Test A-Blk. <i>Plank</i> {	nach 10 Min.	—	(+++)
	„ 30 „	—	(+++)
Test B-Blk. <i>Schmidt</i> {	nach 10 Min.	++	++
	„ 30 „	+++	+++

Anmerkung: Trockenblutmenge etwa 0,2 mg, Serummenge etwa 6 mg, 6 Stunden Eisschrank. *Endergebnis:* im Trockenblut X Blutgruppe A nachgewiesen.

Die Anwendbarkeit und Bewertung des Verfahrens.

Das hier beschriebene Verfahren der Agglutininbindung in Capillaren gibt uns die Möglichkeit in die Hand, bei einiger Gewandtheit, Auswahl geeigneter Behelfe, richtiger Einteilung des Versuchs und unerläßlichem sorgfältigem Arbeiten auf indirektem, grundsätzlich nicht neuem Wege Blutgruppen zu bestimmen an Trockenblutmengen, an welchen dies meines Wissens mangels genügend verfeinerter Methoden bisher noch nicht gelungen war. Die angegebene Methode stellt somit in gewissem Sinne die bisher noch ausständig gewesene Ergänzung dar zum direkten Agglutininnachweis an kleinsten Blutschuppen durch den *Lattessen* Deckglasversuch.

Die Capillarmethode kommt für Blutgruppenbestimmungen an kleinsten Trockenblutmengen, wie sie sich in der gerichtsmmedizinischen

Praxis nicht selten ergeben, bei dem bis heute erreichten Stand serobiologischer Methoden vor allen anderen oder wohl als einzige in Betracht. Ihre Empfindlichkeit ergibt sich aus der Tatsache, daß einige Versuche mit Blutmengen von bis zu 0,1 mg unter sonst günstigen Bedingungen noch eine deutliche Agglutininabschwächung oder gar vollständige Agglutininbindung ergaben. Die Capillarmethode kommt aber nicht zuletzt als jeweils zu den bisher üblichen Agglutininbindungsmethoden mit größeren Mengen anwendbare Kontrollreaktion in Frage, vor allem aber auch in solchen Fällen, in denen eine unspezifische Agglutininbindung — etwa durch (blutimprägnierte) Stoffe — zu unsicheren Ergebnissen führt.
