

Literaturverzeichnis.

Balázs, G., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **21**, 515 (1933). — Gaupp, R., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **33**, Suppl.-H., 78 (1907). — Kernbach, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **28**, 309 (1937). — Kratter, J., Gerichtsärztliche Praxis II. Teil, 223 (1919). — Meixner, K., Beitr. gerichtl. Med. **9**, 40 (1929). — Merkel u. Walcher, Gerichtsärztliche Diagnostik und Technik **1936**, 55. — Munck, W., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **29**, 56 (1936). — v. Neureiter, F., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **16**, 305; **17**, 137 (1931). — v. Neureiter, F., u. A. Klose, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **9**, 69 (1929). — Paltauf, Dtsch. Z. gerichtl. Med. Ref. **52**, 397 (1890). — Ponsold, A., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **29**, 408 (1938). — Walz u. Holle, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **40**, 232 (1910).

(Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin an der Medizin. Akademie Düsseldorf.
Direktor: Prof. Dr. Böhmer.)

Über die Empfindlichkeit der Blutgruppenreaktionen.

Von

Dr. med. A. Hartmann,

Assistent am Institut.

Wenn ich über einige Untersuchungen berichte, die die Empfindlichkeit der Blutgruppenreaktionen betreffen, so sind wir uns darüber im klaren, daß es sich sowohl hinsichtlich der Quantität als auch bezüglich einer Vielseitigkeit von Modifikationen nur um einen bescheidenen Beitrag handeln kann. Es schien aber immerhin nicht ohne Interesse, einige für die praktischen Blutgruppenbestimmungen angewandte Maßnahmen in vergleichenden Untersuchungen zu kontrollieren. Dabei kam es uns mehr auf einzelne qualitative Prüfungen als auf Massenuntersuchungen an. Im wesentlichen galten die Prüfungen der Frage nach der Variationskurve der Agglutinationstiter, nach der Beeinflussung der Blutgruppenbestimmung durch Temperatur, nach der Abhängigkeit der Blutgruppentiter vom Inaktivieren des Serums, nach der Variationskurve der Blutkörperchenempfindlichkeit, nach den Bedingungen der Blutgruppenbestimmungen, sowie nach der Empfindlichkeit der Untersuchungsmethoden. Unsere Untersuchungen betreffen also zum größten Teil methodologische Maßnahmen, die vielfach erörtert worden sind. Geprüft wurden insgesamt 1126 Blute. Hiervon waren 520 Frischblute, die restlichen wurden uns aus dem Wassermannlabor des hiesigen Hygienischen Instituts überlassen, somit also schon 1—2 Tage alt.

Die Variationskurve der Agglutinationstiter. Ob eine Isoagglutination auftritt oder nicht, ist Sache der Anlage. Das läßt sich kaum bestreiten. Ob aber das zeitliche Erscheinen und die Stärke des Agglutinins aus-

schließlich oder auch nur hauptsächlich durch das Erbe bedingt ist, läßt sich bezweifeln. Äußere Reize müssen maßgebend sein für das Erscheinen und die Stärke des Isoagglutinins, Reize, die sich unserer Kontrolle entziehen können, vielleicht weil sie zu schwach sind oder zu früh die Blutdrüsen und das Reticuloendothel treffen.

In fallenden Verdünnungen wurden *345 Seren mit besonders ausgewählten Blutkörperchen auf ihre Titerhöhe* untersucht. Das Verhältnis von Serumverdünnung und Blutkörperchenaufschwemmung war 1:1, d. h. auf 2 Tropfen Serum kamen immer 2 Tropfen Blutkörperchenaufschwemmung. Die Ablesung der Agglutinationswerte erfolgte nach den am Ende der Mitteilung noch genauer zu besprechenden Methoden. Dabei zeigte sich, daß der Höhepunkt für das Anti-A Agglutinin normaler Seren bei einer absoluten Verdünnung von 1:256 lag, und zwar sowohl bei den Seren der Gruppe O als auch der Gruppe B. Dieser Befund stimmt annähernd überein mit den von *Schiff, Mondlowicz, Kettel* und *Thomsen* für das Anti-A Agglutinin der Gruppe O gefundenen Werten (absolute Verdünnung etwa 1:300). Bei den Seren der Gruppe B lag der Höhepunkt dagegen niedriger, nämlich bei der absoluten Verdünnung 1:260. Für das Anti-B Agglutinin der Gruppe O fand sich der Höhepunkt bei 1:64, er stimmt somit überein mit dem von *Kettel* und *Thomsen* gefundenen. *Schiff* und *Mondlowicz* haben hier etwas höhere Werte gefunden, und zwar bei 1:80. Für das Anti-B Agglutinin der Gruppe A fanden alle einen höheren Titer, sowohl in bezug auf das Anti-B der Gruppe O als auch auf die von uns gefundenen Werte. Unsere Ergebnisse liegen bei 1:100. Die von *Kettel* und *Thomsen* angegebenen bei 1:128, die von *Schiff* und *Mondlowicz* bei 1:150.

Das *Verhalten von Serumverdünnung und Blutkörperchenaufschwemmung* ist bei den verschiedenen Autoren verschieden. Ein Vergleich der Ergebnisse ist also nur so möglich, daß man die absolute Verdünnung der einzelnen Ergebnisse ausrechnet, wie dies bei den angegebenen Werten geschehen ist. *Hölscher* fand etwas niedrigere Werte. Der Durchschnittstiter normaler Seren lag bei ihm bei einer Verdünnung von 1:128.

Bezüglich der Stärke der Agglutinine haben wir dieselben Beobachtungen gemacht wie die angeführten Autoren, daß das Agglutinin Anti-A im allgemeinen stärker agglutiniert als das Anti-B, und daß zu einem hohen Anti-A Titer der Sera O auch meist ein hoher Anti-B Titer gehört. Ein Vergleich von Anti-A und Anti-B hat streng genommen wenig Sinn, denn es lassen sich beide Agglutinine nicht mit einem gemeinsamen Agglutinogen prüfen und umgekehrt. Man kann aus einer Titerübereinstimmung streng genommen nur dann Schlüsse ziehen, wenn auch eine gleiche Receptorempfindlichkeit der Testblutzellen vorausgesetzt werden kann.

Untersuchungen über *Mischung von gleichen Seren* ergaben keinerlei Besonderheiten. Hochempfindliche Seren blieben hochempfindliche. Eine Steigerung der Empfindlichkeit bei Mischung eines Serums mit niedriger Agglutinationsstufe mit einem sehr empfindlichen ist nur insofern eingetreten, als sich beide Seren auf einen Mittelwert einstellten. Man könnte also auch von einem Verlust des hochempfindlichen Serums sprechen. Geringwertige Seren verhielten sich nach Mischung ebenso. Eine Serummischung vorzunehmen hat also keinerlei Vorteile, bei gleichwertigen aber auch keinerlei Nachteile.

Die Beeinflussung der Blutgruppenbestimmung durch die Temperatur. Um den Einfluß der Temperatur zu prüfen, haben wir die Proben einerseits eine mehr oder weniger lange Zeit im Brutschrank bei verschiedener Temperatur, sodann bei Zimmertemperatur, andererseits im Eisschrank aufbewahrt. Die Unterschiede waren in den meisten Fällen nicht von wesentlichem Ausmaße. Eines Hinweises wert ist vielleicht der Umstand, daß bei Aufenthalt im Brutschrank die Blutkörperchen A zunächst stärker agglutiniert erscheinen als die Blutkörperchen B, während bei den Blutkörperchen der Gruppe B die Agglutination im Eisschrank etwas stärker war.

Eine derartige Unabhängigkeit der Agglutinationswirkung der beiden Isoagglutininen α und β im menschlichen Blutserum der Gruppe O ist öfters beschrieben worden, und auch uns ist die Überlegenheit der α -Agglutinine gegenüber den β -Agglutininen, wie schon mehrfach erwähnt, begegnet. Allerdings möchten wir nicht ohne weiteres eine Schlußfolgerung auf einen größeren Gehalt an α -Agglutinin in menschlichen Blutseren ziehen. Man wird berücksichtigen müssen, daß derartige Differenzen von der verschiedenen Agglutinabilität der Blutkörperchen abhängen können und wird auch dann, wenn, wie das auch in unseren Versuchen der Fall ist, sich gehäuft eine stärkere Agglutinabilität von A-Blutkörperchen findet, dem Umstand Rechnung tragen dürfen, daß nach *Schütz* und *Wöhlisch* augenscheinlich der B-Receptor weniger stabil ist und sich leichter auswaschen läßt als der A-Receptor. Damit soll aber andererseits nicht ausgeschlossen werden, daß auch quantitative Unterschiede im Gehalt von Seren der Gruppe O an α - und β -Agglutinin bestehen können. Vom Gesichtspunkt der verschiedenen Agglutinabilität aus ist es auch zu verstehen, daß nach kurzfristigem Digerieren die Blutkörperchen B im Eisschrank stärker agglutiniert erscheinen als im Brutschrank, während unter gleichen Bedingungen für die A-Blutkörperchen die umgekehrte Reaktionsweise beobachtet wurde.

Es liegt nach allgemeinen Erfahrungen über Antigen-Antikörperreaktionen nahe, anzunehmen, daß die spezifische Bindung ihr Optimum bei höherer Temperatur hat, während der Agglutinationsvorgang durch Temperaturniedrigung begünstigt wird. So würde das Ergebnis eine

Resultante darstellen, die die Differenz erklärlich erscheinen lassen könnte. Die Bindung des Isoagglutinins ist also von der Temperatur abhängig. Es ist durchaus nicht besonders günstig, die Reaktionen, wie es viele Autoren tun, im Brutschrank vor sich gehen zu lassen, da sie nach unseren Beobachtungen bei gewöhnlicher Temperatur leichter eintreten.

Bei längerem Stehen scheinen sich bestehende Unterschiede häufig wieder auszugleichen. Im übrigen ist zu bemerken, daß auch beim Digerieren im Eisschrank und bei Zimmertemperatur eine unspezifische Agglutination von O-Blutkörperchen selbst nach längerer Versuchszeit nicht in Erscheinung getreten ist. Wir sind überhaupt einer Kälteagglutination nur sehr selten begegnet, so daß wir es augenscheinlich bei der von uns geübten Methode mit Kälteagglutination selten zu tun haben. Es muß dahingestellt bleiben, wieso in unseren Versuchen unspezifische Kälteagglutinationen nicht oder nur selten in Erscheinung getreten sind. Wir haben streng darauf geachtet, die Seren in üblicher Weise bei Zimmertemperatur zu gewinnen. Wir möchten die Gefahr unspezifischer Agglutination der Kälte für geringfügig erachten und können jedenfalls Testseren für die Blutgruppenbestimmungen gewinnen, ohne der Gefahr einer Täuschung durch unspezifische Agglutination ausgesetzt zu sein. Keineswegs möchten wir jedoch aus der Erfahrung etwa die Schlußfolgerung ziehen, daß man Gruppenbestimmungen in der Kälte ausführen sollte. Es ergibt sich für ein derartiges Vorgehen nicht der geringste Anhaltspunkt. Denn abgesehen davon, daß die durch die Temperaturerniedrigung eintretende Verstärkung nur eine geringfügige ist, zuweilen überhaupt nicht in Erscheinung tritt, haben sich nach $\frac{1}{2}$ stündigem Verweilen im Brutschrank und darauf folgendem Aufenthalt bei Zimmertemperatur häufig genug hinreichende Titerwerte ergeben, die die Brauchbarkeit der Seren als Testseren gewährleisten. Daß die geeignetsten Testseren wegen des schwankenden Gehalts an Agglutinin ausgewählt werden müssen, versteht sich von selbst. Gegen langdauerndes Aussetzen in Eiskälte waren die Erythrocyten der Gruppe O am resistantesten, diejenigen der übrigen Gruppen empfindlicher.

Die Abhängigkeit der Blutgruppentiter vom Inaktivieren der Sera.
Die Testsera zur Blutgruppenbestimmung kommen in unserem Institut nur in inaktiviertem Zustand zur Verwendung. Die Seren werden $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° im Brutschrank gehalten. Die Unterschiede zwischen aktivem und inaktiviertem Serum sind in der Agglutinationsfähigkeit kaum bemerkbar. Zuweilen erwies sich das inaktivierte Serum eher etwas stärker, eine Differenzierung, die insbesondere bei Seren von geringem Agglutiningehalt in Erscheinung getreten ist. Jedenfalls hat sich eine Verminderung der Bindungskraft der Seren durch das In-

aktivieren niemals ergeben. Nach alledem kann man für die Blutgruppenbestimmungen die Verwendung inaktivierter Seren durchaus empfehlen. Die Inaktivierung dürfte den Vorteil haben, daß hämolytische Wirkung von vornherein ausgeschaltet wird, und daß sich das Serum in inaktiviertem Zustand besser hält.

Nach *Replöh* u. a. hat ein inaktiviertes Serum die Fähigkeit der Agglutination der Erythrocyten durch ein von dem gleichen Individuum stammendem Serum. Eine solche autoagglutinative Fähigkeit inaktivierter Seren, deren Anwesenheit nicht in Abrede gestellt werden soll, hat uns nie Schwierigkeiten gemacht, weil sie nie in Erscheinung getreten ist.

Die Variationskurve der Blutkörperchenempfindlichkeit. Untersucht man eine größere Reihe von Blutkörperchen mit einem konstanten isoagglutininhaltigen Serum, so findet man, daß nicht alle Proben gleich kräftig agglutiniert werden. Es bestehen Unterschiede im Zeitpunkt des ersten Auftretens der Reaktion und in der Stärke der Ballung. Ebenso zeigen sich Unterschiede, wenn man prüft, bis zu welchem Verdünnungsgrad des Serums die Blutkörperchen eine deutliche Reaktion ergeben. Eine quantitative Erfassung dieser Verhältnisse ist aus praktischen und theoretischen Gründen erwünscht. Die praktische Bedeutung ist ohne weiteres einleuchtend. Zur Blutgruppenbestimmung gehört auch die Prüfung auf Agglutinine, und es ist natürlich erforderlich, hierfür möglichst empfindliche Erythrocytensuspensionen herauszuziehen. Vom theoretischen Standpunkt aus muß eine qualitative Analyse der Erythrocytenempfindlichkeit durchgeführt werden, weil sich hier die Aussicht auf qualitative Differenzierung innerhalb der A- und B-Gruppe zu bieten scheint.

Bei der Prüfung der Haltbarkeit zeigte sich regelmäßig, daß die Agglutinabilität der Erythrocyten in physiologischer Kochsalzlösung sehr schnell und auch stark abnimmt, dagegen die Empfindlichkeit bei täglich frischer Herstellung der Suspension aus dem Blutkuchen in den ersten 3—4 Tagen nach der Entnahme die gleiche bleibt. Die Abnahme der Empfindlichkeit beruht offenbar darauf, daß ein erheblicher Teil der agglutinablen Substanz in Lösung geht. Ist also das Lösungsmittel nur in sehr geringen Mengen vorhanden, wie das für den Blutkuchen in toto gilt, so ist auch nur eine geringe Abnahme der Agglutinabilität zu erwarten. Trotz der im allgemeinen guten Haltbarkeit der Erythrocyten im Blutkuchen hat man aber eine sichere Gewähr für maximale Empfindlichkeit nur bei Verwendung ganz frischer Aufschwemmungen.

Andererseits ist die Tatsache zu beachten, daß die Isoagglutination bei gewaschenen Blutkörperchen stärker auftritt als bei nichtgewaschenen, d. h. bei Blutkörperchen, die noch einen Teil eigenen Serums

enthalten. Dieses Phänomen zeigt das Vorhandensein einer die Isoagglutination hemmenden Kraft des Serums. Manchmal ist diese hemmende Kraft so stark, daß die Agglutination bedeutend verzögert oder fast gehemmt wird und folglich zu einer falschen Klassifikation des betreffenden Blutes führt. Daher die Forderung: Keine Untersuchung der Blutkörperchen im verdünnten Blut, weil Plasma und Serum die Reaktionsfähigkeit der Erythrocyten hemmen.

Die Bedingungen der Blutgruppenbestimmungen. Die Notwendigkeit einer bis ins kleinste richtigen technischen Ausführung, an sich eine Selbstverständlichkeit bei jeder biologischen Untersuchung, muß bei der Vornahme von Blutgruppenbestimmungen besonders erwähnt werden. Es ist bekannt, daß die Erythrocytenagglutination durch agglutinierende Seren ein komplizierter Prozeß ist, bei dem man zwei Phasen unterscheidet: die Fixierung von Agglutinin durch die Blutkörperchen und das Zusammenkleben von Erythrocyten. Dabei wissen wir noch nicht einmal, ob die blutgruppenbildenden Kräfte an bestimmte Elemente des Blutes, an gruppenspezifische Substanzen gebunden sind, oder ob sie unter speziellen physikalischen Bedingungen chemisch verschiedenen Substanzen gemeinsam sind, so daß man nur von gruppenspezifischen Eigenschaften sprechen kann. So stellt die Agglutinationserscheinung einen komplexen Vorgang dar, der zum Teil von der Stärke der Agglutinogene abhängt. Es stellt sich darum eine eintretende Agglutination meist verschieden rasch ein. Deshalb ist es recht angenehm, eine Reihe von Kontrollen eingeschaltet zu haben, die entweder bei Agglutination einen bestimmten Weg zeigen oder bei Nichtagglutination eine zweite Sicherheit geben. Den erheblichen Vorteilen steht eigentlich kein Nachteil gegenüber.

Die Ablesung der Reaktionen geschieht beim Arbeiten mit konzentrierten Seren mit freiem Auge; diese Art hat sich uns als die zweckmäßigste erwiesen. Für die Bestimmung der eben noch agglutinierenden Serumdosis bevorzugen wir dagegen die Ablesung mit der Lupe. Das freie Auge urteilt in diesen Grenzgebieten unsicher bzw. bei verschiedenen Beobachtern nicht einheitlich. Der eine liest manchmal bereits negativ ab, wenn die Lupe noch vereinzelt Klümpchen anzeigt, der andere Beobachter hält noch manche Proben für positiv, welche bei Lupenbetrachtung keinerlei Verklumpung mehr erkennen lassen. Wir lesen trotzdem mit freiem Auge ab und befolgen dabei den Grundsatz, nur solche Reaktionen als positiv zu bezeichnen, bei denen ein Zweifel nicht möglich ist. Wenn wir im folgenden auf die gebräuchlichen Methoden der Blutgruppenuntersuchungen eingehen, so war bei der Ablesung dieser Grundsatz maßgebend.

Die Empfindlichkeit der Untersuchungsmethoden. Die gegenwärtig gebräuchlichsten Methoden der Blutgruppenbestimmung sind das

Objektträgerverfahren, das *Zentrifugierverfahren* und die *Brutschrankmethode*. Bei jedem dieser Verfahren sind Fehler und Irrtümer möglich. In großen Reihenuntersuchungen (etwa 500) haben wir diese drei Verfahren auf ihre Brauchbarkeit geprüft, mit dem Ergebnis, daß die Objektträgermethode, die vielfach als schwach und unempfindlich hingestellt wird, die besten Resultate ergab, besser als Zentrifugier- und Brutschrankmethode. An Hand einiger Zahlen und einiger Tabellen sei dies zuvor gezeigt. Von den Vergleichen fielen am stärksten aus:

Objektträgermethode in	60,83 %
Zentrifugiermethode in	11,60 %
Brutschrankmethode in	3,33 %
Objektträger- = Zentrifugiermethode in	15,80 %
Objektträger- = Brutschrankmethode in	4,16 %
Zentrifugier- = Brutschrankmethode in	4,16 %

Das liegt nun nicht daran, daß die Objektträgermethode etwa einen höheren Agglutinationstiter ergibt, sondern, wie gleich zu ersehen ist, an anderen Momenten.

Tabelle I. Beispiel einer Empfindlichkeitsprüfung mit Hilfe der drei Methoden.

	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{256}$
<i>Serum der Gruppe O gegen Blutkörperchen A.</i>						
Objektträgermethode	+++	+++	+++	++ ₁	++	+
Zentrifugiermethode	+++	++ ₁	++	+	+	-
Brutschrankmethode	+++	+++	++	+	+	-
<i>Serum der Gruppe O gegen Blutkörperchen B.</i>						
Objektträgermethode	+++	+++	++	+	+	±
Zentrifugiermethode	+++	++ ₁	++	+	-	-
Brutschrankmethode	+++	++	+	±	-	-
<i>Serum der Gruppe O gegen Blutkörperchen AB.</i>						
Objektträgermethode	+++	++ ₁	++	+	+	-
Zentrifugiermethode	++ ₁	++	+	+	-	-
Brutschrankmethode	+++	++ ₁	++	+	±	-
<i>Serum der Gruppe A gegen Blutkörperchen B.</i>						
Objektträgermethode	+++	+++	++	+	+	-
Zentrifugiermethode	++ ₁	++	+	-	-	-
Brutschrankmethode	+++	++ ₁	++	+	-	-
<i>Serum der Gruppe B gegen Blutkörperchen A.</i>						
Objektträgermethode	+++	++ ₁	++	+	+	±
Zentrifugiermethode	+++	++ ₁	++	+	±	-
Brutschrankmethode	+++	++ ₁	++	+	-	-

Gegenüber den Röhrenmethoden (Zentrifugier- und Brutschrankverfahren) zeichnet sich die Objektträgermethode dadurch aus, daß

sich der positive Ausfall in den Grenzstufen mit fraglichem Befund durchschnittlich 1 sogar $1\frac{1}{2}$ Stufen weiter verfolgen läßt, weil die Agglutinate auf dem Objektträger leichter zu erkennen sind als in den Röhren. Das betrifft aber nur die Ablesbarkeit und bedeutet nicht, daß sich bei der Objektträgermethode höhere Titerwerte ergeben als bei den beiden anderen, sondern daß die Objektträgermethode zum Ablesen positiver Reaktionen in den Grenzstufen geeigneter ist als die Zentrifugiermethode, bzw. das Brutschrankverfahren. Der gesamte Ablauf der Reaktion läßt sich von Beginn bis zum Abschluß derselben verfolgen. Die Reaktionen werden nicht dem Auge entzogen durch stundenlanges Stehen im Brutschrank, bzw. minutenlanges Zentrifugieren. Die agglutinierten Teilchen entwickeln sich vor unseren Augen, sie sind bedeutend besser als in einem Versuchsröhrchen. Wenigstens erscheint uns das subjektive Gefühl der Unsicherheit, das sich beim Anstellen von Agglutinationsbeobachtungen an der Titergrenze einstellen will, bei Benutzung der Objektträgermethode geringer als bei den Röhren. Der Farbablauf geht sichtbar vor sich. Wenn die agglutinierten Teile sich zu Boden setzen, so wird die überstehende rötliche Flüssigkeit allmählich immer weniger rot, um schließlich farblos zu werden. Die so entstehenden Farbunterschiede lassen sich auf dem Objektträger beobachten, während dies bei den anderen Verfahren nicht möglich ist. Schließlich läßt sich auf dem Objektträger die Geschwindigkeit des Reaktionsablaufes verfolgen. Zu der günstigeren Ablesbarkeit kommt, daß die Bildung der Agglutinate sehr ausgiebig ist, weil die Durchmischung von Serum und Blutkörperchen auf dem Objektträger durch dauerndes Bewegen gewährleistet wird. Auf diese Weise wird auch die viel genannte Pseudoagglutination vermieden. Zu einer Austrocknung der Tropfen kommt es nicht, wenn man bei länger dauernder Reaktion die Proben in eine feuchte Kammer bringt. Ein Ineinanderlaufen der Tropfen ist bei der nötigen Sorgfalt und bei stets gleichen Mischungsverhältnissen (2 Tropfen Serum zu 2 Tropfen Erythrocytensuspension) ausgeschlossen. Verwechslungen können nicht, nur bei der Objektträgermethode vorkommen, sondern auch bei den anderen Methoden.

Im Vergleich mit der schonenden Behandlung der Blutkörperchen bei der Objektträgermethode erscheint uns das *Zentrifugieren* als eine Gewaltmaßnahme, die nicht ohne Einfluß auf den Ablauf der Reaktion, auf die Form- und Größenbildung der Agglutinate sein kann, wobei zu dem spezifischen Zusammenballen ein durch Zentrifugierkraft bedingtes Zusammenballen hinzutritt, ganz abgesehen davon, daß durch Zentrifugieren auch Fehlerquellen, wie Pseudoagglutination erhöht in Erscheinung treten. Das Zentrifugieren ist eine Maßnahme, wenn es auch eine Beschleunigung der Agglutination herbeiführen soll, wobei

jedoch als Fehlerquelle eine künstliche Intensivierung der Agglutination hinzutreten kann, die nicht geeignet ist, die beim Ablesen von Titerwerten ohnehin bestehenden Schwierigkeiten zu verringern, geschweige denn sie zu beseitigen.

Auch bei der *Brutschrankmethode* ist der normale Ablauf der Reaktionen insofern nicht gewährleistet, als durch Abdunstung die Aufschwemmungsflüssigkeit zunehmend konzentriert wird und die Blutkörperchen Stechapfelform annehmen, ein Zustand, der gleichfalls nicht als physiologisch in bezug auf die Bildung von Agglutinaten anzusehen ist. Zweierlei Titer, je nachdem eine Eintrocknung eingetreten ist oder nicht, ist die Folge. Weiterhin erinnern wir an die oben gemachten Ausführungen, wonach es durchaus nicht besonders günstig ist, die Reaktionen im Brutschrank vor sich gehen zu lassen.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Objektträgermethode übereinstimmend den Vorzug gegenüber der Zentrifugiermethode und gar der Brutschrankmethode verdient. Sie stellt innerhalb der Fehlerquelle liegende Unterschiede scharf heraus. Sie zeigt gerade die Unterschiede, die der Zentrifugiermethode bzw. dem Brutschrankverfahren entgehen. Weiterhin zeigen die Versuche, daß das Zentrifugieren einen Vorzug gegenüber der Behandlung im Brutschrank darstellt. Dabei kann die Reaktion innerhalb der Versuchsbreite bei manchen Antiseren in beiden Fällen gleich kräftig sein. Bei anderen Seren treten Unspezifitäten in den höheren Serumkonzentrationen beim Zentrifugieren ein. Im übrigen ergab sich, daß auch die Brutschrankmethode mit allen Antiseren hinreichend scharfe Ergebnisse zeitigt. *Als Methode der Wahl zur Blutgruppenbestimmung erscheint uns das Objektträgerverfahren.*

Zusammenfassung.

Zweck der vorliegenden Arbeit war es, einige für die praktische Blutgruppenforschung angewandte Maßnahmen in vergleichenden Untersuchungen zu kontrollieren. Es kam dabei mehr auf einzelne qualitative als auf Massenuntersuchungen an.

1. Die Variationskurve der Agglutinationstiter ergab für das Anti-A Agglutinin normaler Seren eine Empfindlichkeit bis zu 1:256; für das Anti-B der Gruppe O eine solche von 1:64, dagegen für das Anti-B der Gruppe A eine solche von 1:100. Das Agglutinin Anti-A ist stärker als das Anti-B.

2. Die Beobachtung der Temperatureinflüsse auf die Blutgruppenbestimmung führt zu dem Ergebnis, daß die Bindung des Isoagglutinins von der Temperatur abhängig ist, daß es aber durchaus nicht besonders günstig ist, die Reaktionen im Brutschrank vor sich gehen zu lassen. Keineswegs ist aus der Erfahrung auch die Schlußfolgerung zu ziehen, daß man Gruppenbestimmungen in der Kälte ausführen sollte.

3. Unterschiede zwischen aktivem und inaktiviertem Serum sind in der Agglutinationsfähigkeit kaum bemerkbar. Die Verwendung inaktivierten Serums ist aber zu empfehlen, da die Hämolyse ausgeschaltet wird und die Haltbarkeit eine bessere ist.

4. Die Untersuchung der Blutkörperchenempfindlichkeit führt zu der Forderung: Keine Untersuchung der Blutkörperchen im unverdünnten Blut.

5. Die Notwendigkeit einer bis ins kleinste richtigen technischen Ausführung, an sich eine Selbstverständlichkeit bei jeder biologischen Untersuchung, muß bei der Vornahme von Blutgruppenbestimmungen besonders hervorgehoben werden.

6. Die Untersuchung der Empfindlichkeit der gebräuchlichsten Untersuchungsmethoden führt zu dem Ergebnis, daß das Objektträgerverfahren als die Methode der Wahl bezeichnet wird, sie ist die empfindlichste Probe. In zweiter Linie empfehlenswert ist die Zentrifugiermethode, in letzter die Brutschrankmethode.

Literaturverzeichnis.

- Balgavies, E.*, et *H. Spriet*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **27**, 24 (1936). — *Döller, W.*, Z. Immun.forsch. **43**, 93 (1925). — *Dold, Klin. Wschr.* **1924**, 629. — *Farjot, A.*, et *H. Spriet*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **25**, 47 (1935). — *Fischer, W.*, Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **1929**, H. 22, 64. — *Hallauer, C.*, Z. Immun.forsch. **76**, 119 (1932). — *Hölscher, F.*, Z. Immun.forsch. **66**, 193 (1930). — *Holzer, F. J.*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**, 257 (1932); **25**, 5 (1936). — *Karavanoff, G.*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 154 (1937). — *Kettel u. Thomsen*, Z. Immun.forsch. **65**, 245 (1930). — *Koepplin*, Z. klin. Med. **129**, 512 (1936). — *Landsteiner u. Welecki*, Z. Immun.forsch. **8**, 397 (1911). — *Neuda, P.*, Z. Immun.forsch. **86**, 65 (1935); **89**, 164 (1936); **91**, 37 (1937). — *Ottenssooser, F.*, u. *W. Tobler*, Z. Immun.forsch. **90**, 65 (1937). — *Ottenssooser, F.*, u. *A. Lenzinger*, Z. Immun.forsch. **81**, 354 (1933/1934). — *Poulsen, E.*, Z. Immun.forsch. **91**, 134 (1937). — *Schiff u. Mondlowicz*, Z. Immun.forsch. **48**, 1 (1926). — *Reploh, H.*, u. *H. Bötticher*, Z. Immun.forsch. **85**, 107 (1936). — *Thomsen, O.*, Z. Rassenhyg. **2**, 105 (1930) — Z. Immun.forsch. **89**, 435 (1936). — *Wöhlich, E.*, Med. Welt **1936**, 327.

Aussprache zum Vortrag Hartmann-Düsseldorf: Herr *Elbel-Heidelberg:* Bei Mischung von α - und β -Seren (für Trockenblutspuren) sinkt der Titer ganz erheblich. Eine Inaktivierung für anti-A und anti-B wird nicht für notwendig gehalten. Noch empfindlicher als die Objektträgermethode ist der hängende Tropfen. Bei Säuglingen wird das *Ponsoldsche* Capillarverfahren angewandt.