

REINHARD DAMEROW

KLINIK UND PRAXIS
DER IMMUNHAEMATOLOGIE

VEB GUSTAV FISCHER VERLAG JENA

KLINIK UND PRAXIS DER IMMUNHAEMATOLOGIE

Von

DR. MED. HABIL. REINHARD DAMEROW

Oberarzt der Universitäts-Kinderklinik der Charité

Berlin

mit einem Geleitwort von

Professor Dr. F. H. DOST

Direktor der Universitäts-Kinderklinik der Charité

Berlin

*Mit 31 Abbildungen im Text
und 25 Tabellen*



VEB GUSTAV FISCHER VERLAG · JENA

1958

ES. 17. F. 1

Alle Rechte vorbehalten • Printed in Germany

Copyright 1958 by VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Lizenznummer 261 215/63/57

Gesamtherstellung: Druckerei Fortschritt Erfurt, Werk II

GELEITWORT

Vorstellungen und Methodik der Immunhaematologie sind in jenem Denken verwurzelt, welches einerseits der Lehre von den klassischen Blutgruppen des AB0-Systems, andererseits der allgemeinen Immunserologie entsprungen ist. Was aber die Pathogenese der zugehörigen vielfältigen Krankheitsbilder selbst anbelangt, so wird man nicht ohne vernünftigen und stillen Beifall den Namen des Pädiaters CLEMENS V. PIRQUET zurückrufen dürfen, welcher der neuzeitlichen Medizin das Verständnis für diejenigen Zusammenhänge erschlossen hat, die unter der Bezeichnung „Allergie“ inzwischen längst zu einem festen Begriff geworden sind. — Ihre eigentliche Entwicklung hat die Immunhaematologie nach 1940 angetreten, nachdem von LANDSTEINER und WIENER das Rh-Merkmal und dessen antigene Eigenschaften entdeckt worden waren. Danach war der Weg zur Systematisierung der durch Immun-Antikörper verursachten Krankheiten verhältnismäßig kurz. Nicht viel länger war der Weg zu den Auto-Antikörpern und jenen Erkrankungen, welche man heute auf deren Auseinandersetzung mit den im gleichen Organismus angenommenen Antigenen zurückführt.

Vieles auf diesem Wissensgebiet ist heute schon hinreichend geklärt, mehr freilich ist dem Blick des Forschers noch verborgen, manches auch erscheint sogar unergründlich, um das Wievielfache weiter und tiefer wir auch unsere Gedanken lenken mögen. „Weiter“ und „tiefer“ in dem Sinne, wie es jeder Forscher erlebt, dem sich auf einem zu erschließenden Territorium immer wieder Scheinhalte bieten, vor denen das ursprünglich ins Auge gefaßte Ziel in die Ferne zurücksinkt.

Wenn mein Mitarbeiter R. DAMEROW es unternommen hat, für den klinisch arbeitenden und den praktizierenden Arzt den augenblicklichen Stand der Dinge in der vorliegenden Schrift über die agglutinierenden haematologischen Antikörper zusammenzufassen, so möchte ich dies sehr begrüßen; nicht zuletzt auch deswegen, weil es dem Verfasser gelungen ist, die reichen Erfahrungen, die er bei seinen Untersuchungen für verschiedene Kliniken der Charité, vor allem aber bei den serologisch so interessanten Fällen der Kinderklinik sammeln konnte, in einer Form wiederzugeben, welche der ärztlichen Allgemeinheit von Nutzen sein wird.

F. H. Dost

VORWORT

Die Immunhaematologie hat im Laufe der letzten Zeit eine besondere Bedeutung für die Lehre von den Blutkrankheiten erlangt. Dieses neu erschlossene Wissensgebiet ist mit seinen vielfältigen speziellen Untersuchungsmöglichkeiten auf Grund der ständig wachsenden Erkenntnisse immer umfangreicher geworden, so daß es gerechtfertigt erscheint, eine kurze zusammenfassende Darstellung für den praktischen Gebrauch zu geben.

Das Buch soll dem Krankenhausarzt und Praktiker einen Überblick über das bisher Erarbeitete geben, gleichzeitig aber auch in die immunhaematologische Methodik einführen. Da die methodischen Einzelheiten auf ein inzwischen kaum mehr zu übersehendes Schrifttum verstreut sind, wurde die Untersuchungstechnik ausführlich dargestellt. Was die Beziehung zwischen serologischen Befunden und den klinischen Krankheitsbildern anbetrifft, so haben wir diese in der Kasuistik besonders berücksichtigt, wobei an Hand der eigenen Untersuchungen auf die Interpretierung der immunhaematologischen Ergebnisse größter Wert gelegt wurde.

Die agglutinierenden Immun-Antikörper wurden intensiver bearbeitet, weil sie pathogenetisch am bedeutungsvollsten sind und ein Vergleich zwischen den Reaktionen der einzelnen Blutzellsysteme hier am besten möglich ist.

Wenn das Buch einzelne Leser zur Mitarbeit an dieser Problematik anregen sollte, so wäre der Zweck seines Erscheinens erfüllt.

Meinem Chef, Herrn Prof. Dr. F. H. DOST, bin ich für die große Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas sowie für das entgegengebrachte Verständnis in ganz besonderem Maße dankbar.

Für die Mitarbeit danke ich den med.-techn. Assistentinnen Fr. LORE FISCHER, Fr. DAGMAR HÖLZ und Fr. IRMGARD PLÖTZ.

Nicht zuletzt möchte ich auch dem Verlag für das großzügige Eingehen auf meine Wünsche meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Reinhard Damerow

INHALT

Einleitung.....	I
Agglutinierende heterophile Antikörper.....	3
I. Heterophile erythrozytäre Antikörper.....	3
II. Heterophile leukozytäre Antikörper.....	3
III. Heterophile thrombozytäre Antikörper.....	4
Agglutinierende Isoantikörper.....	5
I. Erythrozytäre Isoantikörper.....	5
a) Blutgruppenspezifische Isoantikörper.....	5
b) Austauschtransfusion.....	31
c) Antikörper nach Plasmatransfusion.....	54
d) Verteilung der Blutgruppen und -faktoren im Kindesalter (ABO, MN, Dd).....	56
e) Erythrozytäre Isoantikörper und Blutgruppensubstanzen im Liquor cerebrospinalis.....	57
f) Seltene Isoantikörper.....	57
II. Leukozytäre Isoantikörper.....	59
III. Thrombozytäre Isoantikörper.....	60
Agglutinierende Autoantikörper.....	61
I. Entstehung der Autoantikörper.....	61
II. Mechanismus der allergischen Antikörper.....	63
III. Erythrozytäre Autoantikörper.....	64
a) Komplette Kälteagglutinine.....	64
b) Inkomplette Wärmeautoantikörper.....	69
c) Inkomplette Kälteautoantikörper.....	74
d) Anhang.....	75
1. Bithermische Kältehämolysine (DONATH-LANDSTEINER).....	75
2. Wärmeautohämolysine.....	81
3. Monothermische Kälteautohämolysine.....	81
e) Allergische erythrozytäre Antikörper.....	82

IV. Leukozytäre Autoantikörper	82
a) Granulozytäre Autoantikörper	83
b) Lymphozytäre Autoantikörper	87
c) Leukozytenkernautoantikörper	87
d) Allergische leukozytäre Antikörper	92
V. Thrombozytäre Autoantikörper	97
a) Komplette thrombozytäre Autoantikörper	97
b) Inkomplette thrombozytäre Autoantikörper	99
c) Einwirkung von Bakterienverunreinigungen auf den Ausfall der Thrombozyten- und Leukozytenagglutinationen	104
d) Allergische thrombozytäre Antikörper	111
Zusammenfassende Darstellung kombinierter immunhaematologischer Unter- suchungen	114
I. Tabellarische Zusammenstellung	117
II. Der Einfluß der Bluttransfusion auf die Autoantikörperbildung	126
III. Besprechung der Ergebnisse	130
Schlußbetrachtung	145
Literatur	151
Sachregister	177

TECHNIKANLEITUNGEN ZU DEN SEROLOGISCHEN NACHWEISMETHODEN

1. Plattenmethode	6
2. Röhrchenmethode	8
3. Kapillarmethode.....	9
4. Senkungsmethode	10
5. Deckglasmethode	10
6. Kolloidmethode	16
7. Blocking-Test.....	17
8. Direkter MORESCHI-COOMBS-Test.....	19
9. Indirekter MORESCHI-COOMBS-Test	21
10. Super-MORESCHI-COOMBS-Test	23
11. Papaintest	24
12. Titerbestimmung zur Erkennung kompl., inkompl. und Auto-Antikörper mit Berücksichtigung der Temperaturamplitude	25
13. ASHBY-Test.....	28
14. Antikörperabsprengung	32
15. Absorptionsmethode	33
16. Kälteagglutination	66
17. DONATH-LANDSTEINER'scher Versuch	76
18. EHRLICH'scher Fingerversuch	77
19. Eiswürfeltest	78
20. Leukozytenagglutination	84
21. Nachweis des L. E.-Zell-Phaenomens	88
22. Thrombozytenagglutination.....	100
23. Thrombozyten-MORESCHI-COOMBS-Test	102
24. Antiglobulin-Konsumptions-Test	105

EINLEITUNG

Die Immunhaematologie befaßt sich mit den Immun-Reaktionen des Organismus auf arteigene und artfremde Antigene und mit den Auswirkungen auf die Blutzellssysteme, wobei einerseits die Haematologie und andererseits die Serologie, speziell die Blutgruppenserologie, in engem Zusammenhang für die Diagnostik herangezogen werden müssen. Für die Erkennung einer durch eine Sensibilisierung entstandenen Blutkrankheit ist somit der Nachweis eines Immunantikörpers von entscheidender Bedeutung.

Unter einem Immunantikörper (Immun-AK) verstehen wir einen durch Immunisierung entstandenen, vor der Antigeneinwirkung nicht vorhandenen AK, der mit dem Antigen in irgendeiner Weise reagiert, sei es als Agglutinin (auch als Glutinin), Haemolysin oder Opsonin. Entsprechend der unterschiedlichen Spezifität unterscheidet man:

1. heterophile AK, die durch speziesverschiedene Antigene erzeugt werden,
2. Iso-AK, die durch arteigene, aber individuumverschiedene (homoio-phile) Antigene gebildet werden und
3. Auto-AK, die nach Sensibilisierungen durch körpereigene Antigene entstehen.

Die als α -(Anti-A-) und β -(Anti-B-) AK im allgemeinen bereits kurz nach der Geburt entstehenden AK, welche ein physiologisches serologisches Merkmal im klassischen System der ABO-Blutgruppen darstellen und welche ebenfalls als Iso-AK bezeichnet werden, haben wir im folgenden nicht besonders berücksichtigt.

Die eingefügten eigenen Untersuchungen bezweckten, folgende Fragenkomplexe einer Klärung näher zu bringen:

1. Handelt es sich bei einer immunologischen Beeinflussung *mehrerer* Blutzellssysteme um die Wirkung eines spezifischen, polyagglutinierenden AK oder einer Kombination von Leit- und Begleit-AK; besteht gegebenenfalls die Möglichkeit einer Differenzierung?
2. Ist der Wirkungsmechanismus der Immun-AK auf die 3 Blutzell-systeme einheitlich?
3. Ermöglicht der Nachweis agglutinierender Immun-AK eine pathogenetische Eingruppierung verschiedener Krankheiten?

4. Sind die Auswirkungen auf die 3 Blutzellsysteme ähnlich?
5. Läßt sich aus dem Nachweis einer Sensibilisierung eine Therapie ableiten?

Zur Beantwortung dieser Fragen stehen uns folgende AK zum Vergleich zur Verfügung:

1. Erythrozytäre AK auf Grund von Sensibilisierungen, die zum Morbus haemolyticus neonatorum (M. h. n.) und Transfusionszwischenfall führen, und solche AK, die als Ursache der erworbenen haemolytischen Anaemien angesehen werden müssen.

Die Unterteilung deutet bereits daraufhin, daß es sich hierbei um zwei verschiedene AK handelt, und zwar im 1. Fall um Iso-AK und im 2. Fall um Auto-AK. Der Unterschied dieser AK wird im weiteren deutlich hervortreten.

2. Antileukozytäre AK und
3. Antithrombozytäre AK.

Diese beiden AK sind wieder mit den AK der erworbenen haemolytischen Anaemie insofern verwandt, als sie meist Auto-AK sind.

Die Beschreibung der benutzten Versuchsanordnungen kann wegen der verschiedenartigen Methodik, die bei den einzelnen Zellarten angewandt werden muß, nicht generell gegeben werden, sondern wird in den einzelnen Abschnitten abgehandelt (vgl. Inhaltsverzeichnis).

AGGLUTINIERENDE HETEROPHILE ANTIKÖRPER

Agglutinierende heterophile AK können experimentell gegen Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten erzeugt werden.

I. Heterophile erythrozytäre Antikörper

Die heterophilen erythrozytären AK werden vor allem zur Diagnostik der Blutgruppen und -faktoren verwandt, wie z. B. in Anti-M-, Anti-N-, Anti-O- und Anti-P-Seren.

Dabei werden Tiere, meist Kaninchen, gegen das entsprechende Antigen sensibilisiert und der mitgebildete artspezifische AK an Zellen adsorbiert, die den homologen Faktor des gewünschten AK nicht besitzen. Auch konnten WASASTJERNA et al. (452) die intravasale Erythrozyten-(Ery) Agglutination bei experimenteller hämolytischer Anämie durch heterophile Immun-AK beobachten. Sie haben somit neben der Diagnostik rein wissenschaftliches Interesse. Pathogenetische Bedeutung kommt diesen heterophilen AK nicht zu. Soweit sie für das Verständnis notwendig sind, finden sie innerhalb der folgenden Kapitel Erwähnung.

II. Heterophile leukozytäre Antikörper

Nachdem METSCHNIKOFF (287) und BESREDKA (35) gegen Leukozyten gerichtete cytotoxische Seren hergestellt hatten, konnte GLADIN (160) erstmalig einen isoliert die neutrophilen polynucleären Leukozyten angreifenden AK darstellen. Spätere Nachuntersuchungen bestätigten den immunologischen Unterschied zwischen polynucleären und mononucleären Leukozyten (65, 253, 278, 489). Auch die isolierte Beeinflussung der Lymphozyten (66, 73, 278) gelang, während die Monozyten, Eosinophilen und Basophilen durch antineutrophiles Serum unbeeinflusst blieben (65).

Nur gegen die Eosinophilen gerichtete AK konnten MARTI und ESSELIER (276) erzeugen.

Die Artspezifität dieser heterophilen AK ist noch umstritten. Teilweise wurden Reaktionen mit heterologen Tierleukozyten beschrieben (35, 203, 257), teilweise die Artspezifität anerkannt (118).

Bei Gegenwart von Komplement im Antigen-AK-Geschehen kommt es nicht nur zur Agglutination der Leukozyten sondern auch zur teilweisen

Lyse und zur Hemmung der Phagozytose. Andererseits konnte nachgewiesen werden, daß opsonierte Leukozyten von anderen phagozytiert werden. Dieses Phaenomen wurde mit Hilfe des „Bogomoletz-Serums“ (60) wie auch mit Anti-Seren gegen menschliche Leukozyten erreicht (36, 56, 133, 293, 490).

Zur Untersuchung der antigenen Fähigkeit einzelner Bestandteile der Leukozyten und der spezifischen Reaktionen durch die entstandenen AK erfolgte durch MIESCHER et al. (293) die Sensibilisierung mit Lymphozyten- und Milzzellkernen. Dabei kam es zur Reaktion vor allem mit den Leukozyten-Kernen, aber auch nach lytischen Veränderungen zur Phagozytose durch andere polynucleäre Leukozyten.

MIESCHER et al. (297) ziehen die Artspezifität in Zweifel, da es ihnen gelang, durch Sensibilisierung mit Kaninchen-Leber-Zellkernen mit dem entstandenen AK Nucleophagozytosen von menschlichen Leukozyten zu erzeugen. In diesem Sinne würden auch die Versuche dieser Autoren sprechen, die mit Hilfe von Antileukozyten-Cytoplasma-Serum gegen menschliche Leukozyten auch das Cytoplasma von Kaninchen-Leukozyten schädigen konnten. Eine Leukozytendepression beruht augenscheinlich nur auf der Einwirkung von Anticytoplasma-AK (57). Während STEINBERG und MARTIN (425, 426, 427, 428) serologisch 4 verschiedene Zelltypen unterscheiden, und zwar reife und unreife neutrophile Leukozyten und reife und unreife Lymphozyten, konnten SELIGMANN, GRABAR und BERNARD (412) die Ursache klären, indem sie nachwiesen, daß den Myeloblasten ein wichtiger Antigenbestandteil gegenüber den reifen Leukozyten fehlt.

III. Heterophile thrombozytäre Antikörper

Die Organspezifität der heterophilen thrombozytären AK konnte schon Anfang des Jahrhunderts gesichert werden. Während MARINO (270) durch Sensibilisierung von Meerschweinchen mit Kaninchen-Thrombozyten antithrombozytäre AK erhielt, konnte weiterhin nachgewiesen werden, daß gegen menschliche Thrombozyten erzeugte AK die Ery (69) wie auch die Leukozyten und Lymphozyten (23, 24) nicht agglutinieren.

Interessant sind die Untersuchungen von KATSURA (218), der zeigen konnte, daß antithrombozytäres Serum auch gewisse Endothelzellschädigungen verursachen kann (positive Komplementbindung, jedoch keine Absorption durch die Endothelzellen!). Anscheinend bestehen verschiedene Antigen- oder Partialantigen-Verwandtschaften zwischen verschiedenen Spezies, so zwischen Rind, Schaf, Ziege, Pferd und Hund (388), wie auch zwischen Mensch und Kaninchen (310).

WITTE (481) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu der Auffassung, daß (im Tierversuch) das Antiplättchenserum die Knochenmarksriesenzellen schädigt.

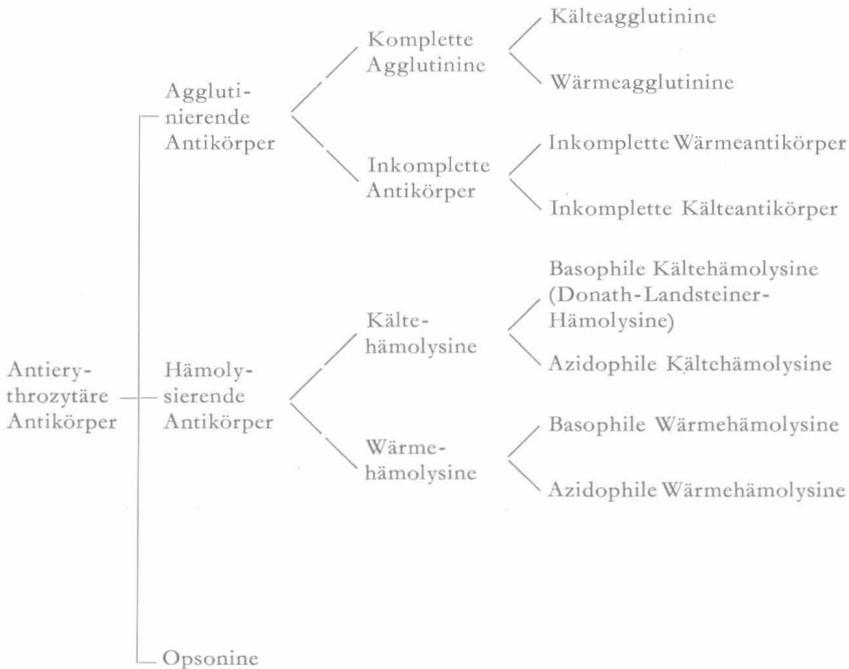
AGGLUTINIERENDE ISOANTIKÖRPER

I. Erythrozytäre Isoantikörper

a) Blutgruppenspezifische Isoantikörper

Da die Entdeckung der erythrozytären Iso-AK am längsten zurückliegt, sind sie am besten erforscht. Schon METSCHNIKOFF (287) gelang die Erzeugung erythrozyten- und leukozytenspezifischer Cytotoxine; mit der Beschreibung der ABO-Blutgruppen durch LANDSTEINER (245, 246) wurde jedoch die Grundlage zu den weiteren Arbeiten geschaffen. MENDES DE LÉON (286) gab eine Einteilung der bisher bekannten Eigenschaften nach verschiedenen Gesichtspunkten (siehe Tab. 1).

Tab. 1 Einteilung der erythrozytären Antikörper



Während die Opsonine (333) keine weitere Unterteilung erfahren, werden bei den agglutinierenden und hämolysierenden AK das Temperatur- und p_H -Optimum berücksichtigt. Die agglutinierenden AK werden weiterhin in komplette und inkomplette aufgeschlüsselt. Diese Unterscheidung ist von großer pathognomonischer Bedeutung, und es erscheint deshalb ein kurzes Eingehen auf die Blutgruppenserologie erforderlich. Bei den kompletten Agglutininen handelt es sich meist um Iso-AK, wie sie bei den sog. „klassischen Blutgruppen“ als α (Anti-A) und β (Anti-B) vorkommen. Die LANDSTEINERSche Regel besagt, daß in einem Blut nur die verträglichen Agglutinine regelmäßig vorhanden sind, während die unverträglichen regelmäßig fehlen, wenn wir von den ersten Lebensmonaten und späten Lebensjahren absehen, wo diese regulären Isoagglutinine noch nicht bzw. nicht mehr gebildet werden. Diese, wie auch selten vorkommende, a priori vorhandene irreguläre AK (Anti-M, Anti-N, Anti-P, Anti-Le^a usw.) können als komplette AK nachgewiesen werden.

Serologische Nachweismethoden der agglutinierenden kompletten AK

Da die gesamte Blutgruppenserologie in diesem Zusammenhang nicht vollständig abgehandelt werden kann, sollen hier nur die Nachweismöglichkeiten der erwähnten agglutinierenden erythrozytären AK besprochen werden. Dazu gehört als Vorbedingung die Auffindung des Blutgruppengenmosaiks, soweit es uns heute möglich ist, denn hierdurch können die homologen AK ausgeschlossen werden, wenn es sich nicht um Auto-AK handelt (s. weiter unten). Die einfachste Methode ist der Nachweis der agglutinablen Substanzen ABO am Ery. Hierbei dürfen die serologischen Verhältnisse der „klassischen Blutgruppen“ ABO vorausgesetzt werden.

Klassische Plattenmethode

Die am meisten angewandte Untersuchungsmethode ist der Platten-test. Es muß betont werden, daß die Entnahme der Testblute, wie auch der -seren steril erfolgen muß, da es sonst zu erheblichen Fehlermöglichkeiten kommt, auf die im einzelnen nicht eingegangen werden kann. Für den Plattentest benutzen wir Milchglasscheiben, die mit Flußsäure einseitig geätzt sind, um das Verlaufen der Tropfen auf ein Minimum zu beschränken. Von der Industrie werden auch Platten mit ausgeschliffenen Höhlungen zur Aufnahme der Tropfen hergestellt, die jedoch nach unseren Erfahrungen entbehrlich sind.

Es lohnt sich für die Routine, die Beschriftung der Proben immer in der gleichen Weise durchzuführen, die Seren auf der linken Seite, die Ery-Aufschwemmungen oben. Verwandt wird bei dieser Methode eine 3%ige Ery-Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung (NaCl). Grund-

sätzlich sollen die Seren inaktiviert sein, d. h. 30 Min. im Wasserbad auf 56° C erwärmt, um das Komplement zu entfernen und dadurch eine Hämolyse zu verhindern, die sich bei der Ablesung sehr störend auswirken kann.

Es werden nun zur Überprüfung der Testseren und -Ery auf der Kontrollplatte die Seren von links nach rechts und die Ery-Aufschwemmungen von oben nach unten getropft. Die Reihenfolge zeigt Abb. 1. In der letzten Reihe muß zum Ausschluß von Panagglutininen oder Kälteagglutininen mit nach oben verbreiteter Temperaturamplitude NaCl pipettiert werden. Es kann auch noch eine weitere Reihe mit AB-Serum hinzugefügt werden.

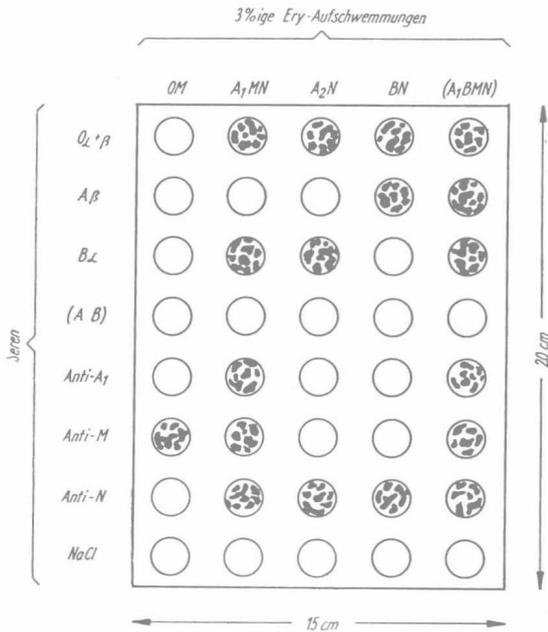


Abb. 1 Agglutinationen auf einer Kontrollplatte

Bei der Auswahl der Test-Ery muß darauf geachtet werden, daß die MN-Faktoren homozygot und heterozygot vorkommen, da wir die Testseren (mit heterophilen Immun-AK) ja auf der gleichen Platte prüfen wollen.

Danach werden die Tropfen einzeln jeweils mit einer Ecke eines sauberen Objektträgers verrührt. Es kann auch ein Glasstäbchen verwendet werden, das jedesmal nach dem Umrühren sauber abgewischt werden muß. Nachdem die Platte 5 Min. bei Zimmertemperatur gelegen hat, kann ein erstes leichtes Aufschütteln erfolgen, dem ein endgültiges nach

15 Min. folgt, um dann die Reaktionen ablesen zu können. Dabei werden optische Hilfsmaßnahmen nicht benötigt. Es hat sich als förderlich erwiesen, die Ablesung über einer beleuchteten Milchglasscheibe vorzunehmen, da hierbei schwächere Agglutinationen leichter zu erkennen sind.

Die verschiedenen Agglutinationsstärken können folgendermaßen charakterisiert werden:

Stärke 1: kleine Agglutinate mit lackfarbener Flüssigkeit,

Stärke 2: deutliche Agglutinate mit trüber Flüssigkeit,

Stärke 3: starke Agglutinate mit klarer Flüssigkeit,

Stärke 4: zusammenhängendes Agglutinat mit klarer Flüssigkeit.

Nachdem die Testseren und -Ery auf diese Art geprüft wurden, erfolgt die Untersuchung der fraglichen Ery in der gleichen Weise. Anstatt der bekannten Test-Ery werden nun die dem Protokoll entsprechenden Zahlen an der oberen Kante der Platte notiert. Die inaktivierten Seren dieser Pat.-Blutproben hingegen werden untereinander auf einer 2. Platte von links nach rechts, wobei die Protokollzahlen links geschrieben werden, getropft und dann die Test-Ery, entsprechend der Kontrollplatte, von oben nach unten hinzugefügt. Nach dem Verrühren der Tropfen erfolgt die Ablesung wie bei der Kontrollplatte.

Klassische Röhrenmethode

Eine weitere Technik wird in der Röhrenmethode angewandt. Hierzu werden kleine Röhren von 8 cm Länge und 0,8 cm Lumen benötigt. Diese Methode eignet sich besonders zur längeren Beobachtung der Reaktion auch bei höheren Temperaturen und zur Ausführung der Hämolyseversuche, da hier Eintrocknungserscheinungen kaum ins Gewicht fallen. Entsprechend der Anordnung im Plattentest werden je 0,1 ml Serum und 0,1 ml einer 1%igen Ery-Aufschwemmung in NaCl in ein Gläschen pipettiert und das ganze aufgeschüttelt. Auch hierbei müssen Kontrollversuche vorausgehen. Der weitere Ablauf kann nach 3 verschiedenen Methoden erfolgen.

1. Nach 5 Min. Stehenlassen bei Zimmertemperatur werden die Röhren 2 Min. bei 1000 bis 2000 Umdrehungen/min. zentrifugiert und dann nach leichtem Beklopfen der Gläschenkuppen abgelesen. Sehr bewährt hat sich auch die Kuppenablesung im Reagenzglasständer, bei der im positiven Fall ein zackiges, im negativen ein rundes Sediment entsteht. Die Bezeichnung der Agglutinationsstärken erfolgt entsprechend dem Plattentest.
2. Nachdem das Serum-Ery-Gemisch aufgeschüttelt wurde, verbleibt es 4 Stunden bei Zimmertemperatur, um dann wie bei 1. abgelesen zu werden.

3. Das Gemisch kann statt bei Zimmertemperatur 1 Stunde im Brutschrank bei 37° C gehalten werden, wonach die Ablesung in der üblichen Weise erfolgt.

Kapillarmethode nach PONSOLD (360)

Zur Kapillarmethode benötigen wir ca. 10 cm lange Kapillaren mit einem Lumen von 0,75 mm. Die Ery-Aufschwemmung in NaCl soll hierbei auch 1 %ig sein.

Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß Austrocknungserscheinungen nicht auftreten und daß auch sehr schwache Serumeigenschaften, wie z. B. bei jungen Säuglingen, zur Darstellung gelangen. Der Gang der Untersuchung zur Feststellung der Ery-Eigenschaften ist folgender:

In 4 Röhrchen mit A-, B- und O-Seren sowie NaCl werden 4 Kapillaren gestellt, die sich durch Kapillarattraktion zu ca. $\frac{1}{4}$ füllen. In 4 weitere Röhrchen mit der zu untersuchenden 1 %igen Ery-Aufschwemmung kommen ebenfalls Kapillaren. Die Kapillaren werden nun mit den gefüllten Enden aneinandergehalten, und zwar so, daß die Ery-Aufschwemmungen in die Serumkapillaren fließen (s. Abb. 2).

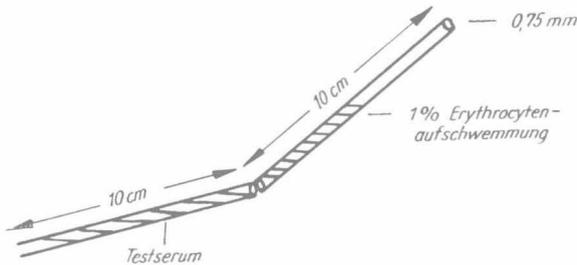


Abb. 2 Einfließen der Erythrozytenaufschwemmung

Jede Serumkapillare wird also mit 1 Kapillare Ery-Aufschwemmung aufgefüllt. Danach werden die Kapillaren auf eine Glasscheibe mit Zaponlack aufgeklebt und geschaukelt, wobei die Flüssigkeitssäulen die freien Öffnungen nicht berühren dürfen. Nach 30 Min. Zimmertemperatur erfolgt die Ablesung, wobei sich im positiven Falle perlschnurartige Agglutinate erkennen lassen. Es kann diese Methode auch durch Zentrifugieren, und zwar 2 Min. bei 2000 Umdrehungen/min., intensiviert werden. Die Ablesung erfolgt dann entsprechend der Senkungsmethode, indem die Agglutinate rasch und gut sichtbar nach unten sinken. Diese letztgenannte Zentrifugiermethodik empfiehlt sich besonders zum Nachweis schwacher Serumeigenschaften, wobei man viel Serum auf wenig