Über eine neue Methode zur Bestimmung der „Flockungszahl“ des Blutserums.

I. Mitteilung: Über die methodische Darstellung und
die für den Reaktionsverlauf massgeblichen
physikalisch-chemischen Faktoren.

Von

Maki Takata und Mitsugi Dohmoto.

(高田 蔭)

(堂 元 貢)

(Aus dem Laboratorium der Inneren Abteilung
des Provinzial-Krankenhauses Kobe.)

Einleitung: In der Hämatologie gibt es zahlreiche Hilfsmittel, den Grad der Aktivität eines Krankheitsprozesses festzustellen. Von allen diesen scheint uns die Blutkörperchensenkungsreaktion nicht nur wegen ihrer Zuverlässigkeit, sondern in erster Linie deswegen, weil sich die Aktivität eines Prozesses in Zahlen ausdrücken lässt, unentbehrlich zu sein. Eine gleich gute Methode wie diese gibt es sonst fast kaum. Daher ist unser Bestreben immer dahin gegangen, eine Serumreaktion zu schaffen, der auch für die Klinik eine gleiche Bedeutung wie die Blutsenkungsreaktion zukommt. Nun ist es uns gelungen, auf Grund der Sublimat-Fuchsinreaktion Takata's eine neue Methode zur Bestimmung der „Flockungszahl“* zu schaffen, die zur eingehenden Ermittlung der Aktivität eines Krankheitsprozesses dienen kann. Unter den geläufigen Kolloidreaktionen und chemischen Untersuchungsmethoden nimmt die neue Methode insofern eine Sonderstellung ein, als sie die *Kolloidlage des Blutserums in Zahlen ausdrückt*.

* Flockungszahl (abgekürzt: Flz.) heisst auf Japanisch „Josû“ (架数) und Flockungszahlreaktion „Josû-Hannô“ (架数反應).

Prinzip der Methode: Die Tatsache, dass bei der Flockungszahlbestimmung die bisher übliche „direkte“ Titrationsmethode und zwar die portionsweise erfolgte Titration stets einen mehr oder weniger grossen Überschuss des titrierenden Reagens (Sublimat-Fuchsinmischung) bedingt, so dass sie zu keinem konstanten Resultate führt, hat Veranlassung gegeben, von der üblichen Titrationsmethode (Einglasmethode) abzugehen. Statt dessen wurde nun eine „Reihenmethode“—eigentlich aus 9 Röhrchen bestehend—gewählt, wodurch es erst ermöglicht wurde, den Reagensüberschuss auf ein Minimum herabzusetzen und stets konstante Resultate zu reproduzieren.

Bei diesem neuen Verfahren, bei dem es sich namentlich um eine „indirekte“ Titrationsmethode handelt, ist diejenige Menge des Takata-Reagens (s. unten) zu bestimmen, die zum *Eintritt der ersten bleibenden Flockung* des alkalisierten Serums erforderlich ist.

Reagenzien: Erforderliche Reagenzien* sind folgendermassen:

0,5%ige Sublimatlösung

0,02%ige wässrige Fuchsinlösung (nicht Fuchsin S!)

10%ige Natriumcarbonatlösung (nicht Natriumbicarbonat!)

Das *Takata-Reagens* (= Mischung gleicher Volumina 0,5%iger Sublimatlösung und 0,02%iger wässriger Fuchsinlösung) ist prinzipiell frisch zu bereiten.

Als Reagenzien verwendeten wir das Sublimat von Kahlbaum, Fuchsin von Dr. Grübler & Co., Leipzig, Natrium carbonicum puriss. siccum ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$) von E. Merck. Fuchsin „S“ darf man nicht benutzen, da dasselbe mit Sublimat keine richtige Farbänderung hervorruft.

Glasmaterial: Als Reagenzgläschen bewährten sich bei uns kleine Röhrchen aus Jenenser Glas von ca. 8 cm Länge und ca. 1 cm lichter Weite.** Für das Einpipettieren des Takata-Reagens empfiehlt sich die Anwendung einer möglichst fein graduierten 1 ccm fassenden Pipette.

Blutentnahme und Serumgewinnung: Am Tage vor der Untersuchung werden aus der gestauten Vene der Versuchspersonen resp. der Pa-

* Gleiche Reagenzien wie bei Takata-Serumreaktion und Takata-Ara-Liquorreaktion.

Zu alte Lösungen, vor allem überaltete Natriumcarbonatlösung, sind nicht zur Verwendung geeignet, da sie schon einen flockigen Bodensatz enthalten, der beim Pipettieren oft aufgeführt wird und die genaue Betrachtung beeinträchtigt. Die Reagenzien müssen daher unter allen Umständen absolut frei von Flocken sein.

** Alle zur Verwendung kommenden Reagenzgläser müssen unbedingt den gleichen Durchmesser (1 cm) haben, da sonst keine genaue Bestimmung gewährleistet werden kann.

tienten 5 ccm Blut entnommen. Das Blutserum wird am nächsten Morgen in ein Zentrifugenglas abgegossen und daraufhin zentrifugiert. Dadurch gewonnenes, vollkommen klares Serum wird mit einer Pipette sorgfältig aufgesaugt und zur Verwendung gebracht.

Methodisches: Voraussetzung für eine einwandfreie Flockungszahlbestimmung ist peinlich sauber gehaltenes Glasmaterial (Reagenzgläser und Pipetten) und quantitativ genau hergestellte Reagenzien. Die Pipetten und Gläschen bewahrt man zweckmässig in einem Gefäss mit Bichromat-Schwefelsäure oder Königswasser auf. Die Glasgeschirre müssen natürlich vor Gebrauch mit Leitungswasser, dann mit destilliertem Wasser gründlich durchgespült und völlig abgetrocknet werden. Im Arbeitsgang ist stets auf eine ausserordentlich grosse Alkaliempfindlichkeit der Sublimat-Fuchsinmischung besonders zu achten, da eine evtl. Verunreinigung der Mischung selbst durch die kleinste Alkali-Menge sofort eine Farbänderung und eine theoretische Titerherabsetzung verursacht.

Für die Bestimmung der „Flockungszahl“ nimmt man das mit physiologischer Kochsalzlösung **10fach** verdünnte Serum. Die Verdünnung stellt man am besten so her, dass man in ein gewöhnliches Reagenzglas *1 ccm Serum* bringt und dann *9 ccm physiologischer Kochsalzlösung* hinzufügt.

Worauf es hierbei ankommt, ist die Verdünnung des Blutserums. Ist die Eiweisskonzentration der verdünnten Sera zu hoch (1:5) oder zu niedrig (1:20), dann werden die Bedingungen für die Serum-Titration schlechter, dadurch wird der Eintritt der Flockung undeutlicher, und demgemäss wird die Möglichkeit für einen Messfehler grösser. Eine solche Fehlergrenze wird nur durch eine bestimmte Verdünnung des Serums gänzlich ausgeschlossen. Die optimale Verdünnung liegt bei 1:10.

Zur Bestimmung der „Flockungszahl“ geht man folgendermassen vor:

Je 1 ccm dieser Verdünnung wird in eine Reihe von Reagenzgläschen, im allgemeinen nimmt man *9 Gläschen*, meist kommt man aber mit einer Reihe von 5 Röhrchen aus, eingebracht. Man kann natürlich sich mit einer halb so grossen Menge des Serums (0,5 ccm) arbeiten, was besonders bei geringen Serummengen empfehlenswert ist. Darauf wird bei sämtlichen Röhrchen *je 0,25 ccm einer 10%igen Natriumcarbonatlösung* hinzugefügt und gut durchgemischt, wobei aber unbedingt darauf zu achten ist, dass der Röhrcheninhalt von vornherein *durchaus klar* ist und nicht etwa geringfügige Aufschwemmungen enthält, da die korpuskulären Elemente wie Fibringerinsel usw.

[illegible]

Ablezen der Resultate: Das Ablezen der Resultate in jedem einzelnen Gläschen erfolgt **sofort** nach Zugabe des Takata-Reagens; eine Weile zu warten ist nicht gestatten. Resultate späterer Ableesungen z. B. nach 1–2 Stunden sind infolge möglicherweise auftretender unspezifischer Flockenbildungen nicht zu verwerten. Nur bei undeutlicher Flockenbildung muss man das Glas zeitweise durchschütteln und nach etwa 10–20 Minuten nochmals ablesen.

Das Aussehen der Initialflockungen, die bei Betrachtung durch den Beleuchtungsapparat im durchfallenden Licht mehr oder weniger intensiv aufleuchten, ist je nach dem Gesundheitszustand der Versuchspersonen etwas verschieden, und zwar gibt es *zwei verschiedene Formen*. Es sind dies: 1) *die feinen, ganz zarten Flockungen bei dem normalen Serum*. Diese kann man sich am besten so vorstellen, wie man bei sehr kalter Witterung feine Schneeflocken vereinzelt aus der Luft fallen sieht. 2) *die groben Flockungen bei dem pathologischen Serum*. Eine ungefähre Vorstellung dieser Art Flocken bekommt man, wenn man an den Schnee denkt, wie er bei feuchtkalter Witterung in grössere Flocken fällt, die auch aussehen wie feine Wattebüschchen. Das Zustandekommen der pathologischen Initialflockung hängt wesentlich von dem Eiweissquotienten, und zwar von der einseitigen Vermehrung der Globuline im Serum ab, während die Entstehung der normalen Initialflockung damit offenbar nichts zu tun hat, worauf wir später noch näher eingehen werden.

Die Ablesung erfolgt bei **künstlichem Licht**. Als künstliches Licht benutze man zweckmässig eine 60 Watt starke elektrische Birne (100 V) aus Milchglas. Um aber eine evtl. Überstrahlung der ganz feinen, eben entstandenen initialen Flocculation durch zu starkes Licht zu vermeiden, bedecke man die nach oben und dem Beobachter gegenüber etwas nach vorn gerichtete Lampe mit einer grossen, schwarz gefärbten dicken *Pappe* (am besten mit einem dicken Karton zum Aufziehen photographischer Aufnahmen), die in ihrer Mitte mit einem halberbsengrossen *Loch* versehen ist, das gerade auf den stärkstblendenden Teil der Lampe mit 1–2 mm Trennbreite einzustellen ist. Von diesem Loch geht ein *Lichtkegel* aus, der die Flockungen von unten auffallend beleuchtet und die ganz feinen initialen Flockungen leicht erkennbar macht. Die Flockungen sind besonders deutlich sichtbar, wenn das Glas während der ganzen Ablesungsdauer so *stark schräg* gehalten wird, bis dessen Längsachse mit der Horizontalen einen Winkel von etwa 5° bildet und hin- und herneigend bewegt wird, wodurch die Flüssigkeitsoberfläche flächenhafter wird. Beim Betrachten muss man das Glas aber von der Pappe soweit

Abb. 1. Apparatur zur Betrachtung der Flockenbildung in Seitenansicht.

a) Auge des Beobachters. b) Querschnitt durchs Reagenzröhrchen. c) Pappe. d) Loch. e) Lampe.

entfernt halten, dass man die Wärme der Lampe nur wenig an den Händen spürt (Betrachtung auf 5–6 cm Entfernung von dem Loch). Auch muss man beim Betrachten die Aussenwand des Glases jedesmal tadellos abtupfen. Ein Fingerabdruck stört die Betrachtung sehr.

Ferner ist es sehr empfehlenswert, die Bestimmung der Flockungszahl im Sommer wie im Winter möglichst bei ungefähr gleicher Zimmertemperatur (20°C) auszuführen, da die Flockungszahl, wie folgende Versuche zeigen, durch eine zu warme bzw. zu kalte Temperatur wesentlich beeinflusst wird.

Einfluss der Temperatur auf die Flockungszahlwerte des Serums: Die Flockungszahlwerte verändern sich, wenn auch nicht sehr stark, jedoch mehr oder weniger deutlich mit den Messungstemperaturen.

Um dieses Verhältnis noch genauer festzustellen, haben wir die Untersuchungen besonders in der kältesten Jahreszeit vorgenommen. Hierdurch wollten wir den Einfluss der Aussentemperaturen auf die *Temperaturen der verschiedenen geheizten Zimmer* (8–33°C), wie er in den wärmeren Jahreszeiten besteht, möglichst ausschalten. Bereits vor der Messung wurden sämtliche für jeden einzelnen Temperaturversuch bestimmten Geräte und Reagenzien solange in dem entsprechenden Zimmer aufgestellt, bis ein vollkommener Angleich an die Temperatur des betreffenden Zimmers erreicht war. Dann wurde die Flockungszahl in der üblichen Weise bestimmt.

Tabelle 2.

Einfluss der Zimmertemperatur auf die Flockungszahlwerte des Serums eines Hypertonikers (Datum der Untersuchung: 9. II. 1936).

Zimmertemperatur (°C)	8	11	14,5	18,5	21	24	28,5	33
Flockungszahl	13,0	20,0	35,0	37,0	40,0	42,0	48,5	54,5

Abb. 2. Einfluss der Zimmertemperatur auf die Flockungszahlwerte des Serums.

Aus dem Resultat erhellt, dass durch unterschiedliche Zimmertemperaturen eine mehr oder minder regelmässige Ab- oder Zunahme der Flockungszahlwerte bedingt wird. Je höher also die Zimmertemperatur ist, desto grösser sind die Flockungszahlwerte, und umgekehrt (s. Abb. 2).

Einige ähnliche Versuche

wurden auch in der wärmeren Zeit vorgenommen. Diese waren von obigen Untersuchungen nur dadurch verschieden, dass es sich dabei um Versuche *im Wasserbad* bei mehreren um jeweils 5°C auseinander liegenden Temperaturen handelte. Zunächst liess sich das wie üblich mit Natriumcarbonat alkalisierte Serum in mehrere Versuchsgruppen aus je 9 Reagenzröhrchen unterteilen. Jede Gruppe der Reagenzröhrchen nebst Gestell wurde jeweils bis zu etwa einem Viertel in ein Wasserbad mit einer dazu bestimmten Temperatur gestellt und auf dieser Temperatur gehalten. Nach einer Weile wurde ihre Flockungszahl ermittelt.

Tabelle 3.

Einfluss der Temperatur auf die Flockungszahlwerte des Serums eines gesunden Mädchens (Datum der Untersuchung: 15. V. 1935).

Temperatur des Wasserbades (°C)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Flockungszahl	47,0	49,5	50,5	50,5	50,5	51,0	51,5	53,5	58,0	71,0	180,0

Tabelle 4.

Derselbe Versuch.

Temperatur des Wasserbades (°C)	0	5	10	15	17,5	20	25	30	35	40	45
Flockungszahl	53,0	57,0	59,0	61,0	64,0	65,0	65,0	66,0	69,0	73,0	über 100

Abb. 3. Einfluss der Temperatur auf die Flockungszahlwerte.

Abb. 4. Einfluss der Temperatur auf die Flockungszahlwerte.

Bei der in der Regel nur wenige Augenblicke dauernden Betrachtung der Flockungen ist jedoch eine Beeinflussung durch unterschiedliche Zimmertemperatur nicht ganz auszuschalten, so dass bei dieser Art der Bestimmung nur geringe Abweichungen vorkommen. Daher empfiehlt es sich, die Flockungszahl-Bestimmung möglichst *bei derselben Temperatur*, am besten aber **bei 20°C** (im Wasserbad) auszuführen, denn dadurch wird ein etwa durch Temperaturschwankungen bedingter Messfehler so gut wie völlig ausgeschlossen. Die Flockungszahl bei 20°C wird zweckmässig als „absolute Flockungszahl“ bezeichnet.

Der genaue Nachweis einer *Gesetzmässigkeit der durch Temperaturunterschiede bedingten Flockungszahlschwankungen* ist dadurch er-

Abb. 5. Beziehungen der Flockungszahl zur Wärme-Amplitude.

schwert, dass diese Schwankungen offensichtlich kein genaues Abhängigkeitsverhältnis zu den Wärme-Amplituden aufweisen. So erhält man bei der graphischen Darstellung der erhaltenen Resultate ein Bild, das sich dadurch kennzeichnet, dass die in einer bestimmten Wärme-Amplitude stattfindenden Flockungszahlschwankungen um so viel stärker sind, als die bedingten Flockungszahlwerte grösser sind, und umgekehrt (s. Abb. 5).

Einfluss der bei der Serumausscheidung herrschenden Temperatur auf die Flockungszahlwerte: Um festzustellen, ob die bei der Serumausscheidung herrschende Temperatur irgendeinen Einfluss auf die Flockungszahlwerte des betreffenden Serums ausübt, haben wir einen Versuch vorgenommen, indem wir das durch Aderlass entnommene, noch nicht geronnene Blut in 4 bzw. 5 Glasröhrchen verteilten und 24 Stunden lang an 4 bzw. 5 Stellen mit verschiedenen Temperaturen aufbewahrten. Dann wurde die Flockungszahl jeder einzelnen Probe ermittelt. Es zeigte sich dabei folgendes Bild:

Tabelle 5.

Einfluss der bei der Serumausscheidung herrschenden Temperatur auf die Flockungszahlwerte (Datum der Untersuchung: 1. II. 1936).

Temperatur bei der Serumausscheidung	Flockungszahl (bei 10°C)*
1-3° (unter Null, draussen)	20,0
4-6° (Eisschrank)	27,0
9-11° (Zimmertemperatur)	37,0
30-32° (Brutschrank)	31,0

* Zimmertemperatur

Beziehungen der Serumverfärbung bzw. -lagerung zur Flockungszahl: Bekanntlich erfährt das Serum durch Lagerung eine Alteration, so dass selbstverständlich anzunehmen ist, dass hierbei auch eine mehr oder weniger starke Änderung in der Flockungszahl eintreten kann. Da-

bei müssen wir zunächst klarstellen, ob ein einige Tage altes Serum überhaupt noch brauchbar ist, worüber folgende Versuche Aufschluss geben:

Tabelle 8.
Serumveraltung und Flockungszahl.

Nr.	Name, Alter, Geschlecht, Diagnose	Datum der Bestimmung	Flockungszahl
1	Oji., 62 J., weibl., gesund	16. I. 1936 (Blutentnahme) 17. I. 18. I.	28,0 (14°) 23,0 (14°)
2	Ni., 20 J., weibl., gesund	16. I. 1936 (Blutentnahme) 17. I. 18. I. 19. I.	21,0 (14°) 14,0 (14°) 10,0 (14°)
3	Na., 30 J., männl., Hypertonie	24. I. 1936 (Blutentnahme) 25. I. 26. I. 27. I.	36,0 (15°) 29,0 (12°) 20,0 (12°)
4	Ders.	22. II. 1936 (Blutentnahme) 23. II.	36,5 (17°)* 36,0 (17°)
5	To., 56 J., männl., Nephritis chronica	5. III. 1936 (Blutentnahme)** 6. III. 7. III. 8. III. 9. III. 10. III. 11. III. 12. III. 13. III.	33,5 (20°) 27,5 (20°) 25,0 (20°) 21,0 (20°) 18,0 (20°) 16,0 (20°) 14,0 (20°) 12,5 (20°)

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Zimmertemperatur bei der Messung.

* Das eben frisch entnommene Blut wurde zum Teil sofort ausgeschleudert und das dadurch erhaltene Serum am selben Tage auf seine Flockungszahl geprüft.

** Das Serum wurde bei 17–18°C aufbewahrt.

Die Versuche ergaben, dass mit zunehmendem Alter eine fortschreitende Abnahme der Flockungszahl stattfand. Daher ist ein älteres Serum zur Flockungszahlbestimmung nicht zu verwerten. Hingegen kann aber das im Anschluss an die Blutentnahme durch sofortiges Auszentrifugieren erhaltene Serum unter Umständen zur Bestimmung benutzt werden.

Einfluss der Inaktivierung des Serums auf die Flockungszahlwerte: Das Serum wurde nach Ermittlung seiner Flockungszahlwerte eine halbe Stunde lang bei 56°C inaktiviert. Danach wurde nochmals die Flockungszahl des inaktivierten Serums ermittelt. Es ergab sich, dass

bezüglich der Flockungszahlwerte *gar kein Unterschied* zwischen beiden Serumproben besteht, wie folgende Tabelle zeigt:

Tabelle 9.
Inaktiviertes Serum.

Nr.	Name	Alter	Geschlecht	Flockungszahl	
				Vor Inaktivierung	Nach Inaktivierung
1	Mi.	20 J.	weibl.	45,0	45,0
2	Ha.	46 J.	männl.	39,0	39,0
3	Ma.	19 J.	weibl.	64,5	64,5

Einfluss der Hämolyse auf die Flockungszahlwerte: *Hämolysiertes Blut eignet sich nicht zur Bestimmung*, da in diesem eine mehr oder weniger deutliche Verschiebung der Flockungszahl nach der pathologischen Seite hin eintritt, und die Zahl deswegen ziemlich geringer als sonst wird (s. Tabelle 7). Wie empfindlich aber die Flockungszahlreaktion gegen hämolysiertes Blut ist, zeigt nun folgende Untersuchung:

Das Blut wurde defibriniert und daraufhin abzentrifugiert. Die auf diese Weise erhaltenen Blutkörperchen wurden mit jeweils erneuten, reichlichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung wiederholt gewaschen und jedesmal scharf zentrifugiert. Nach Zusatz von 9 Teilen destillierten Wassers zu 1 Teil der dreimal gewaschenen Blutkörperchen und erfolgter Hämolyse wurde eine ca. 10%ige Hämolyse-Lösung gewonnen, die zwecks Klärung zentrifugiert wurde. Darauf wurde die Flockungszahl dieser Hämolyse-Lösung ermittelt.

Tabelle 10.
Die hämolysierte Blutkörperchen-Lösung.

Nr. 1	10% Hämolyse-Lösung, serumfrei	Flockungszahl 3 (18°)
Nr. 2	" " " "	" 4 (20°)

Beziehungen der Mahlzeiten zu den Flockungszahlwerten: Um festzustellen, dass tatsächlich die *Speiseaufnahme keinen Einfluss auf die Flockungszahlwerte* ausübt, haben wir folgende drei Versuche vorgenommen. Die erforderliche Menge Bluts wurde zunächst bei nüchternem Magen, dann ca. eine Stunde nach dem Frühstück resp. Essen aus der Armvene steril entnommen.

Die Flockungszahl wird also durch die Speiseaufnahme durchaus nicht beeinflusst.

Tabelle 11.
Beziehungen der Speiseaufnahme zur Flockungszahl.

Nr.	Name, Alter, Geschlecht, Diagnose	Art der Speisen	Flockungszahl	
			Vor der Mahlzeit	Nach der Mahlzeit
1	M. D., 31 J., männl., gesund	Brot	62,0	62,5
2	E. T., 28 J., männl., Rekonvalleszenz nach Appendizitis	Gewöhnliche Kost	36,0	35,0
3	E. M. 56 J., männl. Neurasthenie	„ „	49,0	49,0

Tabelle 12.
Beziehungen der Zentrifugierung zur Flockungszahl.

Serum	Zu zentrifugierende Serummenge	Zentrifugieren	Flockungszahl
Nr. 1	Ca. 8 ccm, auf einmal zentrifugiert	Zuerst 20' bei 1000 Drehungen	24,0 (27,5°)
		Weiter 20' „ 3000 „	39,0 („)
Nr. 2	Ca. 8 ccm, auf einmal zentrifugiert	Zuerst 20' „ 1000 „	26,0 („)
		Weiter 30' „ 3000 „	30,0 („)
Nr. 3	Ca. 6 ccm, auf einmal zentrifugiert	Zuerst 10' „ 2000 „	26,0 („)
		Weiter 20' „ 2000 „	27,0 („)
		„ 30' „ 2000 „	24,0 („)
Nr. 4	Ca. 10 ccm Serum in 3 kleinere Portionen geteilt, gesondert zentrifugiert	(a) Zuerst 10' „ 1000 „	17,0 („)
		„ Weiter 20' „ 1000 „	18,0 („)
		(b) Zuerst 10' „ 2000 „	15,0 („)
		„ Weiter 20' „ 2000 „	15,0 („)
		(c) Zuerst 10' „ 3000 „	15,0 („)
		„ Weiter 20' „ 3000 „	15,0 („)
		„ 30' „ 3000 „	15,0 („)
		„ 30' „ 3000 „	15,0 („)

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Zimmertemperatur bei der Messung.

Beziehungen der Zentrifugierung des Serums zu den Flockungszahlwerten: Das Serum muss natürlich vor der Vornahme der Untersuchung *unbedingt einmal zentrifugiert werden*. Es ist dabei besonders darauf zu achten, dass das Zentrifugieren nicht zu scharf und nicht zu lang erfolgt. Es genügt schon mit einem zwanzig- bis dreissigminutigen Zentrifugieren bei 2000 Drehungen.

Übrigens darf man *nicht auf einmal zu viel Mengen Serums, beispielsweise 7–10 ccm, zentrifugieren*, da dann trotz ziemlich langen Abzentrifugierens die in der Serumflüssigkeit suspendierenden, feinen Flockungen manchmal nicht vollständig auf den Boden des Zentrifugengläschens gelangen. Diese stören dann die für die Flockungszahlbestimmung nötige, genaue Betrachtung sehr. Ausserdem gibt ein solches Serum öfter einen im Lauf der Zentrifugierung allmählich

zunehmenden Flockungszahlwert (s. Tabelle 12). Am bequemsten zum einwandfreien Zentrifugieren ist eine Menge von höchstens 5 ccm oder darunter.

Zur Frage der Jahreszeitenschwankung des Flockungszahlspiegels im Blutserum: Um festzustellen, ob eine saisonmässige Schwankung des Flockungszahlspiegels im Blutserum überhaupt existiert, haben wir bei einem Gesunden eine fortlaufende Beobachtung in grösseren Zeiträumen durchgeführt. Das Ergebnis ist in folgender Tabelle wiedergegeben:

Tabelle 13.
Flockungszahlspiegel im Jahreslauf (Versuchsperson:
M. D. 32 jähr. gesunder Mann).

Datum	Flockungszahl		Bemerkung
	bei der Zimmer- temperatur	bei der höheren Temperatur	
16. III. 1935	60,0 (20°)		
19. IV. „	61,0 (23°)		
22. IV. „	62,0 (24°)		
2. IX. „	61,5 (26°)		
30. IX. „	61,0 (25°)		
10. X. „	60,0 (21,5°)		
14. X. „	60,0 (22°)		
11. II. 1936	38,0 (15°)	59,0 (24°)	Gemessen in einem warmen Zimmer (24°C)
15. II. „	39,0 (14°)	57,0 (20°)	
17. II. „	40,0 (16°)	59,0 (21°)	
19. II. „	41,0 (18°)	57,0 (20°)	
23. II. „	38,0 (15°)	58,0 (20,5°)	Gemessen im Was- serbad (20–21°C)
25. II. „	39,5 (16°)	57,5 (20°)	
7. III. „	39,0 (15°)	58,0 (20°)	
17. III. „	35,0 (14°)	57,5 (20°)	

Es fiel uns deutlich auf, dass ein hoher Sommerwert von 60–62 sich allmählich zu einem niedrigen Winterwert von 38–41 hin verschiebt. Diese winterliche Senkung der Flockungszahl ist jedoch nicht einfach auf jahreszeitlich bedingte, physiologische Vorgänge im Körper zurückzuführen, also nicht etwa als ein Ausdruck der durch bioklimatische Faktoren bedingten Stoffwechseländerung zu betrachten. Gewiss ist es falsch, auf Grund oberflächlicher Beobachtung zu glauben, dass eine Saisonschwankung des Flockungszahlspiegels in der Tat vorliegt. Führt man also die Flockungszahlbestimmung unter Ausschaltung der klimatischen Faktoren, d. h. bei einer bestimmten Temperatur (z. B. bei 20°C), aus, so erhält man mit der Ausnahme der dem weiblichen Zyklus entsprechenden periodisch regelmässigen Schwankung eine konstante Jahreskurve des Flockungszahlspiegels im Serum

Abb. 6. Beziehungen des An- und Abschwellens klimatischer Faktoren im Jahreslauf zu dem Flockungszahlspiegel im Blutserum eines gesunden Mannes (M.D.).

Erklärung der Kurve: Punktirt: Interpolierter Kurvenverlauf in Monaten ohne Beobachtungen (Mai, Juni, Juli, August, November, Dezember, Januar). Obere Kurve A: Flockungszahl bei Zimmertemperatur. Obere Kurve B: Flockungszahl bei Bestimmung im Wasserbad. Untere Kurve A': Zimmertemperatur. Untere Kurve B': Temperatur des Wasserbades.

der gesunden männlichen Individuen.* Es gibt also *keine* Saisonschwankung des Flockungszahlspiegels, soweit es sich hierbei um das männliche Geschlecht handelt.

Zusammenfassung: Es ist uns gelungen, auf Grund der Sublimat-Fuchsinreaktion Takata's eine neue Methode zur Bestimmung der „Flockungszahl“ des Blutserums zu schaffen, die die Möglichkeit bietet, den Grad der Labilität resp. Stabilität der Blutkolloide in exakten Zahlen auszudrücken. In vorliegender Arbeit wird besonders ausführlich über die Methodik der „Flockungszahlreaktion“ und die für den Reaktionsverlauf massgeblichen physikalisch-chemischen Faktoren berichtet.

Die Bestimmungen sollen möglichst bei derselben Temperatur (20°C) stattfinden, da die Flockungszahl mit steigender Temperatur zu- und mit fallender Temperatur abnimmt. Die Flockungszahl bei 20°C wird als „absolute Flockungszahl“ bezeichnet.

Die Flockungszahlreaktion zeichnet sich durch ihre technische Einfachheit, grosse Empfindlichkeit und nicht zuletzt durch ihre scharfe Ablesbarkeit aus. Ferner nimmt die Flockungszahlbestimmung eigentlich keine längere Zeit in Anspruch, bei geübten Händen

* Als Normalwerte der Flockungszahl werden an Hand von ca. 400 Männern etwa 57–64 angenommen.

ja sogar nur 10–15 Minuten. Bei Würdigung ihrer Fähigkeiten hat die Reaktion ausserdem noch den Vorteil, dass sie ohne besondere Apparate selbst in einem kleinen Laboratorium oder im klinischen Betrieb am leichtesten durchführbar ist.

Über die normalen Flockungszahlwerte der männlichen Sera sowie das zyklische Verhalten der Flockungszahlreaktion bei weiblichen Individuen soll demnächst berichtet werden.

Schrifttum.

Takata, M.: Experimentelle Beiträge zur Theorie des Farbumschlages. [Kolloidchemische Betrachtung über den Farbumschlag in Lösungen]. Tohoku J. of Exp. Med., 1935 **26**, 9–30. Takata, M.: Über die Takata-Reaktion im Blut, 1935 Kobe. Takata u. Ara: Über eine neue kolloidchemische Liquorreaktion und ihre praktischen Ergebnisse, 1926 Tokio.