

(Aus dem Gerichtsärztlichen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Prof. *Karl Reuter.*)

Die Blutgruppenbestimmung an der Leiche.

von
Professor **Georg Strassmann.**

Die Blutgruppenbestimmung (BlGr.B.) an der frischen Leiche geschieht in ähnlicher Weise wie am Lebenden und pflegt dann keine Schwierigkeiten zu machen, wenn sich sowohl eine Blutkörperchenaufschwemmung in Kochsalzlösung herstellen, wie auch durch Zentrifugieren des flüssigen oder locker geronnenen Leichenblutes genügend Serum gewinnen läßt, um makroskopisch die Agglutininbestimmung in Röhrchen oder auf dem Objektträger mit Blutkörperchen A und B prüfen zu können.

Erhält man trotz längeren Zentrifugierens der Blutgerinnsel keine größere Serummenge, muß man durch Antrocknen kleinerer Blutmengen die Agglutininbestimmung nach der *Lattessen*schen Methode mikroskopisch vornehmen, was nicht immer so befriedigende Resultate liefert.

Die Feststellung der agglutinablen Blutkörpercheneigenschaften (Bl.E.) kann an der durch Fäulnis veränderten Leiche durch 2 Vorgänge erschwert sein:

1. können bakterielle Verunreinigungen (der *Thomsens*che Bacillus) eine Panagglutinabilität der Blutkörperchen verursachen, so daß sie durch jedes Serum agglutiniert und fälschlich als zur Gruppe AB gehörig bestimmt werden;
2. kann der im Laufe der Leichenzersetzung erfolgende Austritt des Blutfarbstoffes aus den roten Blutkörperchen und ihr schließlicher Zerfall die Herstellung einer brauchbaren Blutkörperchenaufschwemmung unmöglich machen.

Trotz bakterieller Verunreinigung kann man versuchen, die Blutgerinnsel in Kochsalzlösung mehrfach zu waschen und dann mit ihnen einen Absorptionsversuch gegen Serum 0 anzustellen. Man nimmt etwa 2 Teile gewaschener roter Blutkörperchen auf 4 Teile Serum und prüft nach 24 Stunden das überstehende Serum, ob ihm das Agglutinin Anti-A oder Anti-B oder beide Agglutinine mehr oder weniger vollständig entzogen worden oder ob sie in gleicher Stärke bestehen geblieben sind.

So gelingt auch bei nicht mehr ganz frischem Leichenblut oft noch die richtige Gruppenbestimmung an den Blutkörperchen. Unmöglich ist dies jedoch bei völligem Zerfall der Blutkörperchen. In solchen Fällen hochgradiger Leichenfäulnis müssen andere Methoden Platz greifen.

Palmieri hat eingehende Untersuchungen darüber angestellt, in welcher Zeit nach dem Tode die Blutkörperchen durch bakterielle Vorgänge so verändert werden, daß sie panagglutinabel würden. Er meint, dies sei nach 10—15 Tagen der Fall. Doch dürften die Zeitverhältnisse wechselnde sein, je nach der Art und der Ausdehnung der Fäulniserscheinungen. Daß Leichenserum bei längerem Stehen sich gleichfalls bakteriell verändert und neue Agglutinine in ihm auftreten, die vorher nicht vorhanden waren, kann man öfters beobachten. Auch in einem Fäulnistranssudat einer Gassepsisleiche, die nach den sonstigen Untersuchungen zur Gruppe B gehören mußte, fand ich Agglutinine gegen B-Blutkörperchen, allerdings nur im unverdünnten Brusthöhlentranssudat.

I. Die Agglutininbestimmung an der durch Fäulnis veränderten Leiche.

Zunächst wird man auch an der nicht mehr frischen Leiche versuchen, aus dem gesammelten Leichenblut oder den Leichenblutgerinnseln durch längeres Zentrifugieren etwas Serum zu gewinnen. Ist dies nicht möglich, so wird man andere Körperflüssigkeiten für die Agglutininbestimmung benutzen.

Holzer hat für diese Zwecke die Verwendung der Perikardialflüssigkeit empfohlen, in der er stets die Agglutinine, bisweilen sogar stärker ausgebildet als in der Blutflüssigkeit fand. Herzbeutelflüssigkeit ist leicht durch Ansaugen zu gewinnen, sie besitzt meist eine klare, gelbliche Farbe, nur bei älteren Leichen ist sie rötlich verfärbt. Sie zersetzt sich weniger leicht durch Fäulnis wie andere Transsudate. Die Agglutination von Blutkörperchen A und B durch die Perikardialflüssigkeit wird in der üblichen Weise beobachtet. Bei systematischen Leichenuntersuchungen fand ich allerdings den Agglutiningehalt der Herzbeutelflüssigkeit gegenüber demjenigen des Serums regelmäßig um mindestens 2 Stufen abgeschwächt. Ein Fehlen der Agglutinine in der Perikardialflüssigkeit wurde nicht beobachtet, wenn sie im Serum vorhanden waren. Eine Anreicherung von Agglutininen in der Herzbeutelflüssigkeit konnte ich nicht feststellen. Die untersuchten Leichen gehörten allen Gruppen an.

Stärker als in der Herzbeutelflüssigkeit sind die Agglutinine stets in den Leichentranssudaten vorhanden, die sich in der Bauch- und Brusthöhle finden. Diese Transsudate gewinnt man in genügender Menge und leidlich klarer Beschaffenheit, wenn auch durch ausgetretenen Blutfarbstoff meist rötlich verfärbt, von den meisten Leichen, die zur

gerichtlichen Sektion kommen — abgesehen von den Fällen, wo ausgedehnte pleuritische Verwachsungen oder frische pleuritische oder peritonitische Ergüsse vorhanden sind. Der Titer dieser Transsudate entspricht im allgemeinen demjenigen des Blutserums oder ist nur geringfügig gegenüber diesem abgeschwächt. Er ist regelmäßig stärker als der Titer der Herzbeutelflüssigkeit. Die Agglutininbestimmung wird daher zweckmäßigerweise, falls kein Serum zu gewinnen ist, nicht nur in der Herzbeutelflüssigkeit, sondern auch in den Transsudaten der Brust- oder Bauchhöhle vorgenommen.

Bei hochgradiger Gasfäulnis der Leiche sind größere Mengen rötlich verfärbter seröser Flüssigkeit oft nur in den Transsudaten der Brusthöhle oder in den Fäulnisblasen der Haut vorhanden. Ebenso wie die Brusthöhlentranssudate die Agglutinine enthalten, finden sich diese auch in dem rötlich gefärbten Inhalt der Fäulnisblasen, auch wenn die Flüssigkeit das Sulfhämoglobinspektrum zeigt. Sie scheinen dort allerdings etwas schwächer ausgebildet zu sein als im Brusthöhlentranssudat. Daß ein solches Transsudat bei hochgradiger Fäulnis Agglutinine gegen alle Blutkörperchen enthalten kann, wurde schon erwähnt. In dieser Hinsicht sind Fehlbestimmungen möglich.

Die Feststellung des Titers geschieht am zweckmäßigsten in den von *Holzer* vorgeschlagenen, mit Vertiefungen versehenen Glas- bzw. Porzellanplatten. Falls die Beobachtung der Agglutination durch die rote Farbe des Transsudates oder des Fäulnisblaseninhaltes makroskopisch erschwert ist, kann man aus den Vertiefungen der Platten die Flüssigkeit absaugen und auf dem Objektträger mikroskopisch betrachten.

Die Agglutinine lassen sich ferner im Inhalt der Brandblasen der Haut feststellen. So kann auch an der verbrannten Leiche die Blutgruppe bestimmt werden, falls Brandblasen vorhanden sind.

Es gelang z. B. bei einem 2jährigen Kinde, das bei einem Zimmerbrande umgekommen war (Sektion am 9. II. 1933), im Brandblaseninhalte das Agglutinin Anti-B in gleicher Stärke wie in der Perikardialflüssigkeit, jedoch schwächer ausgebildet als im Blutserum nachzuweisen.

Auch im Hydroceleninhalte konnten Agglutinine, die mit denen des Serums übereinstimmten, von mir gefunden werden. Im Liquor cerebrospinalis der Leiche ist dagegen das Vorhandensein von Agglutininen bisher nicht nachgewiesen (*F. Schiff*), was ich nur bestätigen kann.

Die im Hydroceleninhalte gefundenen Agglutinine besaßen ebenso wie diejenigen der Herzbeutelflüssigkeit einen schwächeren Titer als diejenigen des Serums.

Da also Agglutinine sich in den Fäulnistranssudaten, im Fäulnisblasen- und Brandblaseninhalte finden, wird man auch an der faulen oder verbrannten Leiche die Agglutininbestimmung versuchen können.

Man darf sich allerdings nicht mit der Agglutininbestimmung allein zur sicheren Blutgruppenbestimmung begnügen, sondern muß zur Ergänzung die agglutinablen Eigenschaften, d. h. die Receptoren, bestimmen. An die Möglichkeit von bakteriell-bedingtem Neuauftreten von Agglutininen (*Palmieri*) muß man auch denken, doch scheint mir dieses Vorkommnis relativ selten zu sein.

II. Die Bestimmung der agglutinablen Blutkörpercheneigenschaften bzw. der ihnen entsprechenden Gruppensubstanzen an der Leiche.

Zur genauen Gruppenbestimmung gehört außer der Bestimmung der Agglutinine diejenige der agglutinablen Substanzen. Falls die Blutkörperchen panagglutinabel geworden oder völlig durch Fäulnisvorgänge zerstört sind, ist die direkte Bestimmung der agglutinablen Blutkörpercheneigenschaften in der sonst gebräuchlichen Weise nicht möglich. Da aber Gruppeneigenschaften nicht nur in den roten Blutkörperchen, sondern neuerdings in den verschiedensten menschlichen Organen und Sekreten (*F. Schiff* u. a.) gefunden worden sind, kann man auch auf andere Weise als durch Untersuchung der roten Blutkörperchen diese Substanzen feststellen.

Solche gruppenspezifischen Substanzen finden sich in allen Leichentranssudaten, in der Perikardialflüssigkeit, dort meist schwächer, im Fäulnis- und Brandblaseninhalte, besonders stark in der Regel im Samenblaseninhalte und im Scheidenschleim.

Auf kompliziertere Methoden, wie sie *Schiff* schildert, wird man im allgemeinen verzichten, falls es auf eine rasche Bestimmung der BlGr. ankommt.

Die Bestimmung der Gruppensubstanzen an der faulen Leiche geschieht am besten durch Hemmung eines Serums 0 oder durch Absorption der Agglutinine aus einem Serum 0, das mit dem zu prüfenden Transsudat oder einer ähnlichen Flüssigkeit versetzt wird. Man kann auch statt des Serums 0 ein Serum A und B verwenden. Es kommt dabei nicht darauf an, wie etwa sonst beim Nachweis gruppenspezifischer Stoffe in Organen oder Zellen, daß diese blutfrei sind, sondern ein Gehalt an Blutkörperchenbestandteilen, die in die Transsudate übergegangen sind, wird die Gruppenbestimmung eher erleichtern. Da eine vollständige Hemmung oder Absorption der Agglutinine, auch wenn Gruppensubstanzen in den Transsudaten vorhanden sind, häufig nicht gelingt, muß man quantitativ die Abschwächung der Agglutinine beobachten. Dies geschieht am bequemsten mit der von *Holzer* für die Gr.B. an Blutflecken angegebenen Methode, die sich uns durchaus bewährt hat. Zum Hemmungsversuch wird ein Serum 0 gleichzeitig in steigender Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung gegen frische und stark agglutinable Blutkörperchen A und B ausgewertet und auf anderen

Platten dasselbe Serum 0 in gleicher Weise mit dem zu bestimmenden Transsudat der Leiche, der Herzbeutelflüssigkeit, dem Fäulnis- oder Brandblaseninhalte verdünnt und seine Agglutininstärke gegen dieselben A- und B-Blutkörperchen geprüft. Der Hemmungs- bzw. Absorptionsversuch muß ein Resultat liefern, welches der Agglutininbestimmung in diesen Transsudaten entspricht. Folgendes Beispiel möge zur Erläuterung dienen:

Serum 0 agglutiniert Blutkörperchen A und B in folgenden Verdünnungen in Kochsalzlösung:

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Blutkörperchen A	+	+	+	+	+	—	—
„ B	+	+	+	—	—	—	—

(Titer: Anti-A 1:32, Anti-B 1:8.)

Dasselbe Serum 0 agglutiniert Blutkörperchen A und B in folgenden Verdünnungen mit Brusthöhlentranssudat A (Perikardialflüssigkeit A):

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Blutkörperchen A . .	+	—	—	—	—	—	(Transsudat A)
	+	+	—	—	—	—	(Perikardialfl. A)
Blutkörperchen B . .	+	+	+	+	+	+	+

Das Anti-A des Serums 0 ist durch das Transsudat A fast völlig gehemmt, das Anti-B nicht abgeschwächt, scheinbar verstärkt. Dies beruht darauf, daß sich in jeder Mischung die gleiche Menge Anti-B aus dem Transsudat A und aus dem Serum 0 findet, so daß eine Verdünnung des wirksamen Anti-B überhaupt nicht stattfindet. Die hemmende Wirkung auf das Anti-A ist im hämolytischen Brusthöhlentranssudat A meist stärker vorhanden als in der Herzbeutelflüssigkeit. Dementsprechend bewirkt Transsudat B einer Leiche nur eine Hemmung des Anti-B, während das Anti-A unverändert bleibt, bzw. scheinbar verstärkt wird, was wiederum darauf beruht, daß keine Verdünnung des Anti-A in den Mischungen stattfindet.

Dasselbe Serum 0 agglutiniert Blutkörperchen A und B in folgenden Verdünnungen mit Brusthöhlentranssudat B:

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Blutkörperchen A	+	+	+	+	+	+	+
„ B	—	—	—	—	—	—	—

Das Anti-B ist völlig gehemmt, das Anti-A noch in weiteren Verdünnungen wirksam, als in Verdünnung desselben Serums mit Kochlösung.

Ein Transsudat 0 oder eine Perikardialflüssigkeit 0 (Fäulnisblaseninhalte 0, Brandblaseninhalte 0) bewirkt keinerlei Hemmung im Serum 0,

weder von Agglutinin Anti-A noch Anti-B. Diese bleiben unverändert wirksam, da in keiner Mischung irgendeine Verdünnung eines Agglutinins stattfindet.

Serum 0 agglutiniert Blutkörperchen A und B in folgenden Verdünnungen mit Transsudat 0 (Perikardialflüssigkeit 0):

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Blutkörperchen A	+	+	+	+	+	+	+
„ B	+	+	+	+	+	+	+

Ursprüngliche Titerstärke des Serums 0 war Anti-A 1:32, Anti-B 1:8.

Als Ergänzung des Hemmungsversuches wird man den Absorptionsversuch mit Serum 0 anstellen. Das Serum 0 wird mit der gleichen Menge des zu prüfenden Transsudates versetzt, die Mischung bleibt 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wird nach Ausschleudern austitriert. Findet sich eine bindende Substanz A in dem Transsudat, so muß das Anti-A aus dem Serum 0 mehr oder weniger gebunden sein, während das Anti-B in der früheren Stärke wirksam ist. Die Untersuchung geschieht wiederum in steigender Verdünnung mit Kochsalzlösung in Porzellan- oder Glasplatten, wobei beweisend die Abschwächung des Agglutinins um 2 oder mehr Stufen ist und gleichzeitig eine unspezifische Abschwächung ausgeschlossen werden muß. Für eine richtige Gruppenbestimmung wird man verlangen, daß die Hemmungs- und Absorptionsprobe ein Resultat liefert, das mit der direkten Agglutininbestimmung im Transsudat übereinstimmt. Wenn eine Hemmung nachweisbar ist, gelingt auch die Feststellung der agglutinablen Substanz mittels der Absorption. Hat keine Hemmung eines Agglutinin stattgefunden und ist kein Agglutinin bei der Absorption gebunden worden, liegt also scheinbar ein Transsudat 0 vor, wird man die Absorptionsprobe, um ein sicheres Resultat zu erhalten, über 48 oder 72 Stunden ausdehnen.

Selbst bei Gassepsis ist mir auf diese Weise die richtige Gruppenbestimmung gelungen, wobei die im Transsudat und dem Fäulnisblaseninhalt gefundenen Agglutinine den durch den Bindungsversuch festgestellten Gruppensubstanzen in diesen Flüssigkeiten entsprachen. Immer ist allerdings bei hochgradiger Fäulnis die Gr.B. in den Transsudaten nicht eindeutig. Durch Transsudate der Gruppe 0 fand bei der Absorption keine unspezifische Abschwächung statt, durch Transsudate der Gruppe B nur eine solche des Anti-B. Im Brandblasen- und Fäulnisblaseninhalt fanden sich gleichfalls gruppenspezifische, bindende Substanzen, in der Hydrocelenflüssigkeit dagegen nicht. Diese gruppenspezifischen Eigenschaften in den Flüssigkeiten entsprachen den Agglutininen, also Agglutinin Anti-B einer Gruppensubstanz A und umgekehrt.

III. Samenflecke und Samenblaseninhalt.

Bei männlichen Leichen sind die Gruppeneigenschaften meist im Samenblaseninhalt nachzuweisen. Der gerichtlich-medizinisch wichtige Gruppennachweis im Samen gelang *Landsteiner* und *Levine*, *Yamakami*, in Samenflecken *Krainskaja-Ignatowa*, *Christiansen*, nicht nur an frischen, sondern auch an alten Samenflecken. Der Nachweis geschieht durch die Absorptionsmethode, indem ein Samenfleck herausgeschnitten, einem 0-Serum zugesetzt und nach 24 Stunden dieses Serum 0 auf seine agglutinierenden Fähigkeiten geprüft wird. Wie bei der Blutfleckenbestimmung muß man einen Kontrollversuch anstellen, bei dem ein Stück unbefleckten Stoffes mit demselben 0-Serum zusammengebracht und nach gleicher Zeit ausgewertet wird, um eine unspezifische Abschwächung der Agglutinine auszuschließen. Wenn auch eine quantitative Abwägung des Fleckes nicht nötig ist, so scheint mir es doch zweckmäßig, eine Menge von etwa 0,01 g Tuchfleck auf 0,2 ccm $\frac{1}{2}$ -fach verdünnten Serums 0 zu benutzen. Ist das Serum 0 sehr stark, so kann es auch noch weiter verdünnt werden, da der Stoff eine bestimmte Serummenge aufsaugt, und es unter Umständen zweckmäßig ist, aus diesem Grunde mehr Serum als 0,2 ccm auf 0,01 g Stoff zu verwenden. Die Prüfung, ob Agglutinine gebunden sind, erfolgt nach 24 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur, wobei, wie bei Blutflecken, die Abschwächung der Agglutinine quantitativ bestimmt wird und mindestens 2 Stufen betragen muß, wenn man auf eine Agglutininbindung schließen will. Hat keine merkbare Abschwächung von Agglutininen stattgefunden, gehört also anscheinend der Samenfleck zur Gruppe 0, so wird man den Absorptionsversuch auch hier bis zu 48 und 72 Stunden ausdehnen. Durch einen Samenfleck A wird nur das Anti-A, durch einen Samenfleck B nur das Anti-B gebunden, während ein 0-Fleck keine merkbare Abschwächung der Agglutinine Anti-A oder Anti-B bedingt. Dieselben Resultate, wie mit Samenflecken, erzielt man, wenn man Samenblaseninhalt auf Stoff, z. B. Leinwand, antrocknen läßt und nach einiger Zeit den Absorptionsversuch anstellt.

An der Leiche des erwachsenen Mannes kann man, auch wenn sie nicht mehr frisch ist, nach Freipräparieren der Samenblasen so gut wie immer Samenblaseninhalt gewinnen und mit diesem die Gruppenbestimmung vornehmen. Der graugelblich oder bräunlich gefärbte, vielfach glasige Inhalt eignet sich in unverdünnter Form allerdings nicht, da er unter Umständen unspezifisch hemmt. Am besten nimmt man eine mindestens vierfache Verdünnung des Samenblaseninhalts in physiologischer Kochsalzlösung vor, so daß eine graue, etwas trübe Flüssigkeit entsteht. Man kann auch noch stärkere Verdünnungen wählen. Samenblaseninhalt einer Leiche der Gruppe A hemmt, falls das Serum 0 mit diesem Samenblaseninhalt in steigendem Maße ver-

dünnt wird, nur das Anti-A, während das Anti-B unverändert bleibt, derjenige einer Leiche B nur das Anti-B, der einer Leiche AB sowohl Anti-A und Anti-B, während Samenblaseninhalte 0 keine Hemmung der Agglutinine bedingt. Kontrollen werden mit dem in Kochsalzlösung verdünnten Serum 0 gegen Blutkörperchen A und B angestellt, um die Agglutininstärke zu prüfen. Zur Absorption kann man gleiche Mengen Serum 0 mit vier- oder mehrfach verdünntem Samenblaseninhalte, in welchem sich die Gr.E. meist stark ausgebildet finden, mischen und nach 24 Stunden den Serumtiter prüfen. Das entsprechende Agglutinin ist, falls die Leiche der Gruppe A, B oder AB angehört, vollständig gebunden oder in erheblichem Grade abgeschwächt. Da Agglutinine im Samenblaseninhalte sich nicht finden, kann man in ihm nur die bindenden Gruppeneigenschaften bestimmen, und wird aus diesem Grunde nicht darauf verzichten, gleichzeitig die Agglutinine in den Transsudaten oder der Perikardialflüssigkeit zu prüfen. Es stellt aber die Untersuchung des Samenblaseninhalts eine wirksame Ergänzung der Gruppenbestimmung in den Transsudaten dar, zumal Samenblaseninhalte in genügender Menge in der Regel gewonnen werden kann. Bleibt Hemmung oder Absorption nach Mischung von Samenblaseninhalte und Serum 0 aus, gehört also scheinbar die Leiche zur Gruppe 0, wird man die Absorption auf 48—72 Stunden ausdehnen.

Nur einmal fand sich in dem Samenblaseninhalte eines durch Messerstichverletzung getöteten 30jährigen Mannes, der der Gruppe B angehörte, eine auffallend gering ausgebildete Substanz B. Diese wirkte kaum hemmend auf ein 0- und A-Serum ein, auch bei dem Absorptionsversuch trat nur eine geringfügige Abschwächung des Anti-B ein, so daß hier u. U. fälschlich eine 0-Gruppe bestimmt worden wäre, wenn man sich allein mit der Untersuchung der Samenblasenflüssigkeit, die im übrigen reichlich Samenfäden enthielt, begnügt hätte.

Stellt man sich einen konzentrierten Extrakt eines Samenfleckes in Kochsalzlösung her, so wirkt auch dieser spezifisch hemmend auf ein Serum 0 ein. Samenflecke, ebenso wie Flecke, die von Samenblaseninhalte hergestellt sind, sind gegen physikalische und chemische Einflüsse außerordentlich widerstandsfähig. Sowohl längere Behandlung solcher Flecke mit kaltem oder warmem Wasser, mit dünnen Säuren oder Laugen und anderen Reagenzien, mit künstlicher und Sonnenbestrahlung und Wärme verhinderten nicht den Nachweis der Gruppensubstanz im Absorptionsversuch. Daß unverdünnter Samenblaseninhalte auch unspezifisch hemmen kann, geht aus folgendem Versuch hervor:

1. Serum B, verdünnt in Kochsalzlösung, agglutiniert Blutkörperchen A:

1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
+	+	+	—

2. Dasselbe Serum B, verdünnt mit konzentriertem Samenblaseninhalt A, agglutiniert Blutkörperchen A:

1:2 1:4 1:8 1:16

ist also völlig gehemmt worden.

3. Dasselbe Serum B, verdünnt mit Samenblaseninhalt B, agglutiniert Blutkörperchen A:

1:2 1:4 1:8 1:16
+ — — —

ist also unspezifisch gehemmt.

Man muß also aus diesem Grunde stets verdünnten Samenblaseninhalt zur Prüfung verwenden. Die Stärke der Gruppensubstanz im Samenblaseninhalt kann man so auswerten, daß der Samenblaseninhalt steigend in Kochsalzlösung verdünnt wird, zu jeder Verdünnung ein Tropfen bekannten Serums 0 oder A und B zugesetzt wird, und darauf ein Tropfen Blutkörperchenaufschwemmung A bzw. B hinzugefügt wird. Folgendes Beispiel erläutert dies:

Serum B (Titer 1:16) wird in dieser Weise zu Samenblaseninhalt A, der mit Kochsalzlösung steigend verdünnt ist, zugesetzt und in derselben Weise mit Samenblaseninhalt B behandelt und gegen Blutkörperchen A ausgewertet.

	Verdünnung				
	1:2	1:4	1:8	1:16	
Serum B, mit Samenblaseninhalt A	—	—	—	—	} agglutiniert Blutkörperchen A
„ B, „ „ B	+	+	+	+	

Das Anti-A ist vollkommen gehemmt, bei Weiterprüfung sogar bis zur Verdünnung 1:64 der Samenblasenflüssigkeit A. Durch Samenblaseninhalt B ist keinerlei Hemmung eingetreten. Jedoch war die Agglutination der A-Blutkörperchen bei der Verdünnung des Serum B mit Samenblaseninhalt B von 1:2 und 1:4 deutlich schwächer als bei den stärkeren Verdünnungen als Beweis einer gewissen unspezifischen Hemmung. Daß die Hemmung durch Samenblasenflüssigkeit B oder Extrakt aus Samenfleck B zuweilen gering sein kann, wurde schon erwähnt, und wird durch folgendes Beispiel erläutert:

Serum A mit 4fach verdünntem Samenblaseninhalt A und B steigend verdünnt, agglutiniert Blutkörperchen B:

	Verdünnung				
	1:2	1:4	1:8	1:16	
1. A mit Samenblaseninhalt A . .	+	+	+	+	} agglutiniert Blutkörperchen B
2. A „ „ B . .	+	+	+	—	

ist nur um eine Stufe gehemmt.

Zwar gelingt es auch mit Hodensubstanz, die in Kochsalzlösung aufgeschwemmt einem Serum 0 zugesetzt wird, eine gruppenspezifische Bindung nachzuweisen, falls die Leiche zur Gruppe A, B oder AB gehört, doch scheint die Verwendung von Hodensubstanz gegenüber derjenigen von Samenblaseninhalte für die Gruppenbestimmung an der Leiche keinen Vorteil zu bieten.

IV. Scheidenschleim.

Bei weiblichen Leichen kann der Scheidenschleim zur Gruppenbestimmung benutzt werden. Auch er pflegt gruppenspezifische Substanzen zu enthalten. Ihn unverdünnt mit Serum 0 zu versetzen, ist unzweckmäßig, da die fadenziehende Masse die Agglutination an sich stört. Man verwendet also eine Verdünnung des Schleims mit Kochsalzlösung, ohne daß eine bestimmte Verdünnung notwendig ist. Doch erscheint eine mindestens 4fache Verdünnung mit Kochsalzlösung zweckmäßig. Von dieser Verdünnung mischt man gleiche Teile mit dem Serum 0, läßt 24 Stunden stehen und prüft, ob ein oder beide Agglutinine gebunden oder wie weit sie abgeschwächt worden oder ob sie in gleicher Stärke erhalten geblieben sind. Man kann auch die Mischung so vornehmen, daß der verdünnte Scheidenschleim mit der doppelten Menge $\frac{1}{2}$ -fach verdünnten Serums 0 gemischt wird. Auch eine spezifische Hemmung bei Verdünnung eines 0-Serums mit Scheidenschleim tritt ein, wenn die Substanzen A, B oder AB in dem Schleim vorhanden sind. Bei Scheidenschleimflecken wird die Gruppenbestimmung mittels Absorption vorgenommen, ein Stück des Fleckes herausgeschnitten, dem Serum 0 zugesetzt und nach 24 Stunden das Serum geprüft, ob und welche Agglutinine in ihm gebunden sind. Kontrollen, soweit es sich um Flecke handelt, mit gleichartigem unbefleckten Stoff sind notwendig, um unspezifische Hemmungen auszuschließen. Scheidenschleim A bindet nur das Anti-A, B nur das Anti-B, Scheidenschleim 0 in 4facher Verdünnung bindet kein Agglutinin.

V. Die Gruppenbestimmung im Speichel und in Speichelflecken.

Gruppensubstanzen im Speichel sind am Lebenden verhältnismäßig leicht und, soweit es sich um Personen der Gruppe A handelt, meist noch in sehr erheblicher Verdünnung des Speichels nachzuweisen (*F. Schiff*). Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man einen Hemmungs- oder Absorptionsversuch mit Speichel anstellt, wobei allerdings eine mindestens 4fache Verdünnung der Speichelflüssigkeit in Kochsalzlösung benutzt werden muß, da der fadenziehende Speichel als solcher die Agglutination stört. Auch in Speichelflecken gelingt der Gruppennachweis mit der Absorptionsmethode ohne Schwierigkeiten. Bei Personen des hiesigen Institutes, die der Gruppe A, B und 0 an-

gehörten, wurden an 14 Tage alten, zum Teil noch älteren Speichelflecken die gruppenspezifischen Stoffe einwandfrei festgestellt, indem einem Serum 0 durch den entsprechenden Speichelfleck nur das Anti-A bzw. Anti-B oder gar kein Agglutinin entzogen wurde. Auch bei Speichelflecken sind Kontrollen an unbefleckten Stoffen notwendig, damit Fehldeutungen durch unspezifische Bindung vermieden werden. Stärkere Extrakte von angetrockneten Speichelflecken in Kochsalzlösung wirken spezifisch hemmend auf ein 0-Serum ein, soweit es sich nicht um Speichel 0 handelt. Man schneidet für die Speichelfleckenuntersuchung mittels Absorption ebenso wie für die Blut- oder Samenfleckenuntersuchung etwa 0,01 g Fleck heraus und versetzt diesen mit 0,2 cm $\frac{1}{2}$ fach verdünntes Serum 0, dessen Titer gegen Blutkörperchen A und B mindestens 1 : 8 beträgt. Eine unspezifische Bindung durch Speichel 0 wurde nicht beobachtet. *Busatto* ist in ähnlicher Weise die Gruppenbestimmung an Speichelflecken, die bis zu 50 Tage alt waren, gelungen. Für die Gruppenbestimmung der Leiche wird die Speicheluntersuchung allerdings kaum in Betracht kommen. Findet keinerlei Bindung von Agglutininen aus dem Serum 0 durch den Speichelfleck statt, so setzt man die Absorption auch hier bis zu 48 oder 72 Stunden fort.

Weder im Speichel noch im Samenblaseninhalte konnten Agglutinine von uns gefunden werden. *Putkonen* will sie allerdings öfters im Speichel festgestellt haben und fand, daß andererseits im Speichel und in anderen Flüssigkeiten die gruppenspezifischen Stoffe, die man erwartet hätte, öfter nicht vorhanden waren. Speichelflecke erweisen sich gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen sehr widerstandsfähig. (*Schiff* weist auf die besonders starke Hitzebeständigkeit der Gruppensubstanz im Speichel hin, er unterscheidet Ausscheider und Nichtausscheider.) Sowohl längeres Wässern in kaltem und warmem Wasser, in Säuren und Laugen und anderen Chemikalien wie langdauernde Bestrahlungen verschiedener Art und Hitzeeinwirkungen störten den Nachweis der Gruppensubstanz in Speichelflecken nicht, was durch Kontrolluntersuchungen mit Speichelflecken 0, die auf gleichartiger Leinwand angetrocknet waren und denselben Einwirkungen ausgesetzt wurden, bestätigt wurde.

Jedoch wurden gelegentlich an 0-Speichelflecken, die chemischen und physikalischen Einwirkungen ausgesetzt waren, unspezifische Hemmungen beobachtet, die bei nicht behandelten Flecken nicht vorkamen und Anlaß zu Fehldeutungen geben können.

VI. Die Artagglutination zum Nachweis der Herkunft von Blut-, Samen- und anderen Flecken.

Krainskaja-Ignatowa hat an Stelle der üblichen Präcipitinreaktion für den Nachweis, ob ein Blut- oder Samenfleck von einem Menschen

oder einem Tier herrührt, eine Methode vorgeschlagen, die sie Art-agglutination nennt.

Die Artagglutination beruht darauf, daß fast alle Tiersera Agglutinine gegen menschliche Blutkörperchen oder Blutkörperchen anderer Tierarten besitzen, die durch Absorption spezifisch entfernt werden können. Aus ähnlichen Gedankengängen heraus hatten seinerzeit *H. Marx* und *Ehrnrooth* geglaubt, menschliche und tierische Blutflecke durch Agglutination unterscheiden zu können. Als Vorteil ihrer Methode gibt die Autorin an, daß gewöhnliche Tiersera stets zur Verfügung ständen und dadurch die langdauernde Immunisierung, die für die Herstellung präcipitirender Antisera nötig ist, vermieden werden könnte.

Wenn ein Blutfleck, der von Menschenblut herrührt, mit einem Tiereserum versetzt wird, welches menschliche Blutkörperchen bis zu einer bestimmten Verdünnung agglutiniert, so werden nach Ansicht von *Krainskaja-Ignatowa* durch Absorption nur die Agglutinine gegen menschliche Blutkörperchen entfernt, diejenigen gegen Blutkörperchen anderer Tiere bleiben unverändert. *Krainskaja-Ignatowa* konnte mit ihrer Methode an jahrealten Blut- und Samenflecken feststellen, ob es sich um menschliche oder tierische Blut- und Samenflecke handelte.

An den von mir für die Gruppenbestimmung untersuchten Blut-, Samen- und Speichelflecken der verschiedensten Art und auch an Tierblut- und -samenflecken wurde die Herkunft mit der Artagglutination geprüft. Untersucht man verschiedene Tiersera, so findet man in diesen die Agglutinine gegen menschliche oder tierische Blutkörperchen durchaus nicht gleichmäßig ausgebildet. Im Hundeserum scheinen die Agglutinine gegen menschliche Blutkörperchen sehr schwach vorhanden zu sein. Im Taubenblut fehlten sie einmal vollständig, und auch im Hammel- und Kaninchenserum waren sie in sehr wechselnder Stärke vorhanden. Das zur Artbestimmung benutzte Tiereserum ist vorher auszutitrieren und darf nicht zu schwach wirksam sein. Die Artagglutination mag als Ergänzung zur Präcipitinreaktion herangezogen werden, ersetzen kann sie diese Reaktion meiner Meinung nach nicht und bessere Resultate als die Präcipitinreaktion liefert sie nicht. Man bedarf für die Absorption einer gewissen Blutmenge, etwa 0,01 g Trockenblut bzw. Blutfleck auf 0,15—0,2 cem Tiereserum, die Absorption muß über 24 Stunden, unter Umständen bis zu 72 Stunden vorgenommen werden, wenn keine vollständige Bindung oder erhebliche Abschwächung der Agglutinine festzustellen ist. An frischen menschlichen Blut- und Samenflecken gelang durch die Absorption mit Tiereserum es in der Tat, das Agglutinin gegen menschliche Blutkörperchen zu binden, während die Agglutinine gegen Tierblutkörperchen unverändert blieben, jedoch versagte die Methode bei alten Blut- und Samenflecken öfters. Im Gegensatz dazu gelang mit der Präcipitinreaktion an denselben alten Blutflecken einwandfrei

die Feststellung, daß Menschenblut vorlag, ja auch die Gruppenbestimmung mit der Absorptionsmethode lieferte an diesen Flecken gute Resultate. Es scheint daher, daß durch längeres Antrocknen jene Substanzen, die die Agglutinine aus einem Tierserum binden, schneller zerstört werden und ihre Nachweisbarkeit einbüßen, als die gruppenspezifischen Stoffe. In Speichelflecken konnten überhaupt keine Substanzen festgestellt werden, die Agglutinine aus Tierseren absorbierten, so daß auf diese Weise nicht festzustellen war, daß ein menschlicher Speichelfleck vorlag. Die Gruppenbestimmung gelang dagegen an diesen Speichelflecken stets ohne Schwierigkeit. Bei frischen menschlichen Blut- und Samenflecken bewirken konzentrierte Extrakte in Kochsalzlösung eine spezifische Hemmung der Agglutination von menschlichen Blutkörperchen durch Tierserum.

Sehr verdünntes Tierserum für den Absorptionsversuch zu verwenden, erscheint nicht zweckmäßig, da geringe unspezifische Abschwächungen durch mancherlei Stoffe nicht allzu selten beobachtet werden. Ein Kontrollversuch mit unbeflecktem Stoff ist auch bei der Artagglutinationsmethode, die die Feststellung der Herkunft eines Blut- oder ähnlichen Fleckes bezweckt, erforderlich. Besser und sicherer als die *Uhlenhuths*che Präcipitinreaktion scheint die Methode der Artagglutination nicht zu sein.

VII. Zur Gruppenbestimmung an Blutflecken.

Daß die agglutinablen Substanzen bei Antrocknen widerstandsfähiger sich erweisen als die Agglutinine und mit der *Holzers*chen Methode noch nach Jahren nachgewiesen werden können, ist inzwischen von uns und anderen bestätigt worden. Man hätte annehmen können, daß die Blutkörpercheneigenschaften, die schwach ausgebildet sind, beim Antrocknen schneller zerstört werden, als solche, die stärker ausgebildet sind. Doch konnten bei verschiedenen starken A-Blutproben, die unter gleichen Bedingungen auf Leinwand angetrocknet wurden und bis zu 4 Monaten bei Zimmertemperatur in einem geschlossenen Schrank aufbewahrt wurden, keine Unterschiede in dieser Hinsicht festgestellt werden. Obwohl ein A-Blut im Leben sehr schwach agglutinabel, ein anderes sehr stark agglutinabel war, wurden mit der Absorptionsmethode durch beide Blutflecke nach 4 Monaten das Anti-A in gleicher Weise einem Serum 0 entzogen. Offenbar sind ja auch die Verhältnisse, unter denen Blut antrocknet, außerordentlich verschieden. Auch die äußeren Einflüsse, die auf angetrocknetes Blut einwirken, sind so wechselnd, daß man aus sehr starker Bindung, die ein angetrockneter Blutfleck auf ein Agglutinin ausübt, oder aus einer sehr schwachen solchen Bindung nicht schließen kann, daß das Blut im Leben sehr stark oder sehr schwach agglutinabel war. Ähnlich sind die von *Moskow* für die

Agglutinine erzielten Resultate. Auch die agglutinablen Blutkörpercheneigenschaften erwiesen sich chemischen und physikalischen Einwirkungen gegenüber verhältnismäßig widerstandsfähig, wie Wärme, Bestrahlung, Behandlung mit Laugen; nur durch Säuren, Wässern, Benzin wurden sie ziemlich rasch zerstört. Ein Unterschied in der Zerstörbarkeit und Widerstandsfähigkeit von stärker und schwächer agglutinablen A-Blutkörperchen, die auf gleichem Gewebe angetrocknet waren, gegenüber den verschiedenartigsten Einwirkungen war nicht festzustellen.

Zusammenfassung.

An der Leiche, die bereits durch Fäulnisvorgänge verändert ist, können, wenn Serum sich nicht gewinnen läßt und brauchbare Blutkörperchenaufschwemmungen nicht herzustellen sind, Agglutinine sowohl in der Herzbeutelflüssigkeit, wie in den Pleura- und Bauchhöhlentranssudaten und im Inhalt der Fäulnisblasen der Haut festgestellt werden, bei verbrannten Leichen auch im Inhalt der Brandblasen, ferner in der Hydrocelenflüssigkeit. In den Transsudaten der Pleurahöhle pflegen die Agglutinine annähernd so stark vorhanden zu sein wie im Serum. In der Herzbeutelflüssigkeit sind sie stets schwächer ausgebildet, auch im Fäulnisblasen- und Brandblaseninhalt ist ihre Stärke geringer als im Serum.

Außer den Agglutininen können auch gruppenspezifische, agglutininbindende Substanzen in allen diesen Leichentranssudaten gefunden und im Hemmungs- und Absorptionsversuch gegen bekanntes Serum 0 bzw. Serum A und B nachgewiesen werden. Wenn daher Serum aus dem Leichenblut nicht zu gewinnen ist und die Blutkörperchen durch Fäulnis und Hämolyse zerstört sind, können in den Transsudaten sowohl die Agglutinine wie die agglutininbindenden Substanzen ermittelt werden. Dadurch gelingt meist die Gruppenbestimmung auch an der durch Fäulnis veränderten Leiche. Voraussetzung ist, daß das Resultat der Agglutininbestimmung mit der Ermittlung der gruppenspezifischen Stoffe übereinstimmt. Für die Feststellung der Hemmung und Absorption eignet sich am besten die *Holzersche* Methode der steigenden Verdünnung in Glas- oder Porzellanplatten. Bei erwachsenen männlichen Leichen ist in der Regel stets auch eine gruppenspezifische Substanz im Samenblaseninhalt festzustellen, falls es sich nicht um eine Leiche der Gruppe 0 handelt. Der Samenblaseninhalt wird am besten in mindestens 4fach verdünnter Form für den Hemmungs- oder Absorptionsversuch verwendet. Bei weiblichen Leichen kann in ähnlicher Weise der Scheidenschleim zur Gruppenbestimmung benutzt werden, jedoch nur in verdünnter Form, da sonst unspezifische Beeinträchtigungen der Agglutination vorkommen. Auch in Samenflecken bzw. auf Stoff angetrocknetem Samenblaseninhalt oder Scheidenschleimflecken

kann mittels Absorption von Agglutininen aus einem Serum 0 die Gruppenbestimmung vorgenommen werden, wobei Kontrollen mit unbeflecktem gleichartigen Stoff notwendig sind, um unspezifische Abschwächungen ausschließen zu können. Auch in Speichelflecken gelingt ebenso wie im Speichel selbst durch die Absorptions- oder Hemmungsmethode die Feststellung der Gruppenzugehörigkeit, wobei verdünnte Speichelflüssigkeit zu verwenden ist und bei Flecken Kontrollen mit sauberem gleichen Stoff anzustellen sind. Unspezifische Hemmungen oder Abschwächungen durch Samen- oder Speichelflecke der Gruppe 0, bzw. verdünnten Samenblaseninhalte oder Speichel der Gruppe 0 wurden nicht beobachtet.

Die von *Krainskaja-Ignatowa* angegebene Methode der Artagglutination von Blut- und Samenflecken scheint gegenüber der Präcipitinreaktion keinerlei Vorteile zu bieten, sie versagte mehrfach an 1 bis $1\frac{1}{2}$ Jahre alten Blutflecken, während sie bei frischen Blut- und Samenflecken sich erfolgreich durchführen ließ.

Da durch bakterielle Einflüsse nicht nur die Blutkörperchen panagglutinabel werden, sondern auch in den Transsudaten bei hochgradiger Fäulnis neue Agglutinine auftreten können, z. B. solche gegen Blutkörperchen der eigenen Gruppe, so müssen die Agglutininbestimmung und die Feststellung der gruppenspezifischen Rezeptoren an verschiedenen Flüssigkeiten vorgenommen werden, um ein einigermaßen sicheres Resultat der Gruppenbestimmung zu erzielen. Im allgemeinen sind im Samenblaseninhalte die Gruppensubstanzen noch in starker Verdünnung nachweisbar, jedoch scheinen sie zuweilen bei der Gruppe B nur schwach ausgeprägt sich zu finden. Sowohl Samenflecke, wie künstlich angetrocknete Flecke von Samenblaseninhalte zeigen sich gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen verschiedener Art sehr widerstandsfähig. Das gleiche gilt für Speichelflecke, deren Gruppensubstanz durch langdauernde Behandlung mit Wasser, dünnen Säuren und Laugen, langdauernde Bestrahlung nicht zerstört wurde. Die agglutinable Substanz der Blutkörperchen ist in angetrockneten Flecken gegenüber physikalischen und chemischen Einwirkungen weniger widerstandsfähig, durch Säuren, auch in verdünnter Form, Wässern, Benzin wird sie ziemlich rasch zerstört. Blutflecke, die von verschiedenen stark agglutinablen A-Blutkörperchen stammten, zeigten keine sicheren Unterschiede in bezug auf die Widerstandsfähigkeit gegenüber denselben physikalischen und chemischen Einwirkungen.¹

¹ *Anmerkung bei der Korrektur:* Inzwischen ist mir ebenso wie im Magensaft und Urin (*Schiff*) auch in angetrockneten Magensaft- und Urinflecken die Gruppenbestimmung mittels Absorption gelungen.

Literaturverzeichnis.

- Busatto*, Arch. di Antrop. crimin. **52**. — *Christiansen*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**. — *Friedenreich*, The Thomsen Hemagglutination Phenomenon. Kopenhagen 1930. — *Holzer*, Klin. Wschr. **1929**, 24, 27 — Dtsch. Z. gerichtl. Med. **16**. — *Krainskaja-Ignatowa*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **13**. — *Krainskaja* u. *Sobolewa*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**. — *Krainskaja-Ignatowa*, Z. Immun.forsch. **75**. — *Marx-Ehrnrooth*, Münch. med. Wschr. **1904**, Nr 7; Nr 16. — *Moskow*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**. — *Müller-Heß* u. *Hallermann*, Jkurse ärztl. Fortbildg **23**, H. 9. — *Palmieri*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **18**. — *Putkonen*, Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, 277. — *Schiff, F.*, Arch. Kriminol. **89** — Die gruppenspezifischen Substanzen im menschlichen Körper. Jena: Fischer 1931 — Technik. 3. Aufl. **1932**. — *Strassmann, G.*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**. — *Thomsen*, in Stephans Handbuch der Blutgruppenkunde. München: E. F. Lehmann 1932. S. 66. — Ferner: *Landsteiner* u. *Levine*, Gruppensubstanz in Spermaflecken. J. of Immun. **12**. — *Yamakami*, Ebenda. — Weitere Literatur siehe bei *Schiff, F.*, Die gruppenspezifischen Substanzen. Jena 1931 und Dtsch. med. Wschr. **1933**, Nr 6.
-