

(Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der Universität München.
Vorstand: Obermedizinalrat Professor Dr. *Merkel*.)

Beeinträchtigen Kälte und Quarzlicht die Bestimmbarkeit der Blutgruppe an eingetrocknetem Blut?

Von

Priv.-Doz. Dr. **B. Mueller.**

Die Bestimmung der Blutgruppe aus dem Blutfleck bzw. aus eingetrocknetem Blut hat sich nach und nach ihren gesicherten Platz unter den erprobten gerichtlich-medizinischen Untersuchungsmethoden erobert. Wenn auch der in erster Zeit vorzugsweise zur Anwendung gelangende *Lattesche* Deckglasversuch zwecks Bestimmung der Serum-eigenschaften des eingetrockneten Blutes sich in der Praxis nicht immer bewährt haben mag, so hat sich der von *Schiff* angeregte Bindungsversuch zur Bestimmung der Blutkörpercheneigenschaften des Blutflecks als recht brauchbar und auch noch bei älteren Flecken als ausführbar erwiesen. Durch die von *Holzer* ausgearbeitete Technik ist die Durchführung dieser Untersuchung noch erheblich erleichtert worden; man ist jetzt imstande, noch mit relativ kleinen Blutmengen die Blutgruppenbestimmung vorzunehmen.

Nun liegt es allerdings auf der Hand, daß sich die Blutgruppenbestimmung am Blutfleck in der *Praxis* vielleicht nicht immer so eindeutig durchführen läßt, als beim Arbeiten mit eigens für Versuche hergestelltem Material. Das Blut kommt in der Praxis nur selten ganz rein in die Hand des Untersuchers, es ist häufig mit Schmutz, Mörtel und anderen Substanzen vermengt, es ist auf nicht ganz indifferenten Unterlagen, z. B. frisch geputzten Schuhen, lackierten Möbeln, imprägnierten Stoffen angetrocknet oder es ist allen möglichen, manchmal später gar nicht mehr zu kontrollierenden physikalischen Einflüssen, wie Feuchtigkeit, Sonnenlicht, Hitze, Kälte ausgesetzt gewesen, von denen man nicht immer weiß, ob sie die Agglutinine oder Agglutinogene nicht schädigen, so daß das erzielte Ergebnis unsicher wird.

Aus diesem Gesichtspunkt heraus haben es einzelne Untersucher unternommen, die Bestimmbarkeit der Blutgruppe an verunreinigtem oder sonstigen evtl. schädigenden Einflüssen ausgesetztem Blut zu studieren. *Holzer* ist aufgefallen, daß Beimischungen von Schlamm zu Blut, ferner auch ein Antrocknen von Blut auf Filtrierpapier Störungen der Agglutininbindung hervorrufen, die die Feststellung der Blutgruppe erschweren oder praktisch unmöglich machen können. Die gleiche Beobachtung machte *Zipp* für Beiz- und Appreturstoffe, mit denen Textilwaren vielfach verarbeitet werden, *A. Foerster* für Mull, Kork und Leder. *G. Strassmann*

machte auf die schädigenden Einflüsse von Reagenzien, wie H_2O_2 , Alkohol, Essigsäure, Kalilauge, sowie von physikalischen Einflüssen, wie Plätten, Waschen, längere Sonnenbestrahlung, Trockensterilisation, Quarzlichtbestrahlung und ähnliches aufmerksam. *Ruth Werckmeister-Freund* beobachtete bei ihren Untersuchungen über diese Frage, daß Mischung des Blutes mit Gartenerde, Sägespänen, Stroh, sowie Antrocknung auf Fußböden und lackierten Möbeln, keine Schädigung der Bestimmbarkeit der Blutgruppe nach sich zog, ebensowenig die Einwirkung von Feuchtigkeit und mäßiger Wärme (bis 37°), dagegen fand sie eine erhebliche Beeinträchtigung der Bestimmbarkeit nach Einwirkung von Quarzlicht- und Sonnenbestrahlung auf das Blut; letzteres wird allerdings von *Moskow* bestritten, jedoch von *G. Strassmann* bei längerer Sonnenbestrahlung (10 Stunden) bestätigt. Ferner beobachtete *Werckmeister-Freund*, daß Gefrieren von frisch entnommenem Blut die Gruppenbestimmbarkeit aufhebt.

Dieses letztere Ergebnis hätte für die gerichtlich-medizinische Praxis zur Folge, daß man an Leichen, die im Winter in durchgefrorenem Zustande aufgefunden werden, oder an Blutlachen, die infolge der Winterkälte gefroren sind, Bestimmungen der Blutgruppe nicht mehr vornehmen könnte.

Nachdem sich jedoch herausgestellt hat, daß man Testsera zur Blutgruppenbestimmung in gefrorenem Zustande mit gutem Erfolge längere Zeit aufbewahren kann (*Schiff*), mußten gegen die Richtigkeit der eben erwähnten Beobachtung Bedenken erhoben werden; denn es ist unter diesen Umständen sehr unwahrscheinlich, daß Blut durch Gefrieren seine Agglutinine tatsächlich einbüßen sollte. Zum mindesten müßte daher der *Lattessche* Versuch auch bei Bestimmung von Blut noch anwendbar sein, das gefroren gewesen war. Fand doch *Goroncy*, daß sich Blutflecke, die bei kühler Temperatur eingetrocknet waren (0°), sich besonders gut durch den *Lattessen* Versuch bestimmen ließen. Aber auch, daß durch den Einfluß der Kälte die an die Blutkörperchen gebundenen Agglutinogene schwer geschädigt werden sollten, erschien nunmehr etwas zweifelhaft und einer Nachprüfung bedürftig. Wenn es auch nicht sehr wahrscheinlich war, daß bei der Ablesung der Agglutination, die seinerzeit von dem Verf. dieser Arbeit und von Frau *Werckmeister-Freund* unabhängig voneinander mit übereinstimmendem Ergebnis vorgenommen worden waren, gröbere Fehler unterlaufen waren, so habe ich doch nachträglich nicht mehr feststellen können, in welcher Weise das gefrorene Blut in allen Einzelheiten verarbeitet worden ist. Angesichts der praktischen Wichtigkeit dieser Frage wurden von uns nach dieser Richtung hin nochmals Versuche vorgenommen, bei denen wir wie folgt vorgegangen sind:

Frisch entnommenes A-Blut wurde in 4 Portionen eingeteilt. Die 1. Portion wurde in frischem Zustand sofort 2 Stunden in eine Kältemischung gebracht (Temperatur — 3 bis — 7°), wo sie recht schnell gefror. Das Blut war in einer gut verschließbaren Glasschale in ziemlich dünner Schicht aufgegossen worden; es wurde darauf geachtet, daß der Verschuß dicht war, so daß beim Auftauen der Kältemischung Wasser zum Blut nicht eindringen konnte. Nach Ablauf von

3 Stunden wurde das Gefäß aus der Kältemischung herausgenommen und geöffnet; das Blut taute nach und nach auf und wurde schließlich lufttrocken, was häufig ziemlich lange Zeit in Anspruch nahm (bis 48 Stunden).

Die 2. Portion wurde gleichfalls in ein flaches Glasgefäß in dünner Schicht gegossen, das Gefäß blieb geöffnet an der Luft stehen, bis das Blut gallertig eingetrocknet war, was etwa 6 Stunden in Anspruch nahm. Dann wurde das Glasgefäß fest verschlossen und 3 Stunden in die Kältemischung gebracht. Nach Ablauf dieser Frist wurde es herausgenommen, die Schale wurde geöffnet und blieb bei Zimmertemperatur stehen, so daß das Blut an der Luft völlig trocken konnte.

Die 3. Portion ließen wir zunächst völlig lufttrocken werden (2mal 24 Stunden) und stellten sie dann nach Verschuß des Gefäßes für 3 Stunden in die Kältemischung.

Die 4. Portion diente als Kontrollblut, sie wurde in eine Petri-Schale gegossen, die offen stehen blieb, so daß das Blut an der Luft eintrocknen konnte; besonderen physikalischen Einflüssen wurde diese Blutportion nicht ausgesetzt.

Dreimal 24 Stunden nach der Blutentnahme setzten wir mit den 4, inzwischen völlig eingetrockneten Blutportionen nach der von *Holzer* angegebenen Technik, von deren Wiedergabe im einzelnen wohl abgesehen werden kann, den Agglutinationsbindungsversuch an. Gleichzeitig wurde mit den 4 Blutportionen der Deckglasversuch nach *Lattes* zwecks Feststellung der Serumeigenschaften vorgenommen.

Zum Bindungsversuch benutzten wir jedesmal aus frisch entnommenem Null-Blut abzentrifugiertes $\alpha\beta$ -Serum, das mit den von uns benutzten, jedesmal frisch entnommenen Testblutkörperchen A und B einen Agglutinationstiter von 1:128, manchmal auch 1:256 ergab (makroskopische Ablesung im Objektträgerversuch). Die Versuche wurden in einem von den Angaben *Holzers* etwas abweichenden Mengenverhältnis, nämlich 0,02 g eingetrocknetes Blut + 0,2 ccm Serum angesetzt. Nach dem Ansetzen blieben die Versuchsröhrchen 24 Stunden im Kühlschrank bei einer Temperatur von 5° stehen, sie wurden während dieser Zeit 4mal kräftig umgeschüttelt. Die Titration des überstehenden Serums mit Blutkörperchen A und B erfolgte in den von *Holzer* angegebenen, mit Vertiefungen versehenen Glasplatten. In Übereinstimmung mit *Holzer* lasen wir die eingetretenen Agglutinationen zunächst nach 10 Minuten ab, die nach 30 Minuten vorgenommene Ablesung war die endgültige. Als bestimmbar galt die Blutgruppe nur, wenn die Ablesung einen Agglutinationsunterschied von mindestens 2 Stufen ergab.

Der erste von uns angesetzte Versuch schien der Feststellung von Frau *Werckmeister-Freund* recht zu geben; sowohl bei der Blutportion I (frisch gefroren) als auch bei der Blutportion II (halb trocken gefroren) ergab sich bei Titration des dem Bindungsversuch unterworfenen $\alpha\beta$ -Serums mit Blutkörperchen A und B nur ein Unterschied von einer Stufe, bei den beiden anderen Blutportionen (nach Eintrocknen der Kälte ausgesetzt und ohne Einwirkung von Kälte getrocknet) ein Unterschied von 3 Stufen. Freilich wurde dieses Ergebnis sofort *wertlos*, als ich bei nachträglicher Kontrolle des Aufbewahrungsortes der Blutportionen feststellen mußte, daß gerade die Portionen I und II, bei denen der Bindungsversuch ein negatives Resultat ergeben hatte, ohne mein Wissen zur Beschleunigung des Trocknens an das Fenster in die

pralle Sonne (Anfang April) gestellt worden waren; wie die spätere Beobachtung der Beleuchtungsverhältnisse des Zimmers zeigte, mußte das Blut im ganzen 8 Stunden der Sonnenbestrahlung, teils bei geöffnetem, teils bei ungeöffnetem Fenster ausgesetzt gewesen sein. Der Ausfall des Versuchs sagte daher über die von uns zu bearbeitende Fragestellung nichts aus, war aber geeignet, die von Frau *Werckmeister-Freund* und *G. Strassmann* gemachte, von *Moskow* jedoch nicht bestätigte Beobachtung zu stützen, daß die Einwirkung des *Sonnenlichtes* die Bestimmbarkeit der Blutgruppe beeinträchtigt.

Bei den weiteren Versuchen wurden daher die Blutportionen einheitlich auf dem Regal meines Dienstzimmers bei Zimmertemperatur getrocknet, die Fenstersonne kommt niemals bis zu diesem Aufbewahrungsort, auch ist die Stubenheizung nicht in der Nähe. Die Versuche wurden im Frühling und Herbst des Jahres 1933 mit den erwähnten Vorsichtsmaßregeln 7mal wiederholt. Sie hatten folgendes Ergebnis:

In keinem Falle ergab sich ein wesentlicher Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Blutportionen sowohl beim Agglutininbindungsversuch als auch beim *Lattessen* Objektträgerversuch. Die Titergrenze bei Zusatz von Blutkörperchen A nach eingetretener Bindung lag bei 1 : 4 bis 1 : 32; die Titergrenze bei Zusatz von B-Blutkörperchen lag ausnahmslos um 2—3 Stufen, einmal 4 Stufen höher. Ein nachweisbarer Unterschied im Verhalten der 4, wie oben geschildert, verschieden behandelten Blutportionen konnte nicht nachgewiesen werden; wir beobachteten gelegentlich einen hohen Agglutinationsunterschied von 3—4 Stufen sowohl bei frisch gefrorenem Blut als auch bei Blut, das an der Luft eingetrocknet war, ohne der Kälte ausgesetzt gewesen zu sein. Auf eine tabellarische Wiedergabe der Einzelergebnisse kann daher verzichtet werden.

Der *Lattessen* Versuch fiel bei allen Versuchen bei sämtlichen Blutportionen bei Zusatz von A-Blutkörperchen negativ, bei Zusatz von B-Blutkörperchen regelmäßig positiv aus, allerdings in sehr wechselnder Stärke, jedoch ohne daß sich eine bestimmte Regel aufstellen ließ. Die Agglutination war regellos hier und da sowohl bei frisch gefrorenem, später getrocknetem Blut als auch bei Kontrollblut, das wir der Kälte nicht ausgesetzt hatten, recht schwach, aber immerhin noch deutlich wahrnehmbar.

Weiterhin wurde in 4 Versuchen an frisch gefrorenem Blut *unmittelbar nach Wiederauftauen* (das Blut war völlig hämolytisch geworden) durch Zusatz von A- und B-Blutkörperchen die Agglutinationsfähigkeit des Serums geprüft. Die Agglutinationsfähigkeit erwies sich gegenüber frischem Serum in Übereinstimmung mit den entsprechenden Beobachtungen *Schöts* an hämolytischem, vorher allerdings *nicht* gefrorenem Blut als deutlich herabgesetzt, jedoch als nicht völlig aufgehoben. Mit

gelatinös eingetrocknetem Blut war, gleichgültig ob es vorher gefroren gewesen war oder nicht, ein positiver Agglutinationsbindungsversuch nicht zu erzielen (3 Versuche); dies ist wohl auch völlig erklärlich; denn gelatinös angetrocknetes Blut dürfte in der Hauptsache Serum und nur sehr wenig an Blutkörperchen gebundene Agglutinogene enthalten, die nicht hinreichen, eine Bindung herbeizuführen.

Zusammenfassend kann wohl gesagt werden, daß, entgegen den Beobachtungen von *Ruth Werckmeister-Freund*, *Kälte* (Temperaturen von -3 bis -7°) *die Bestimmbarkeit der Blutgruppe nicht wesentlich zu beeinflussen scheint*, gleichgültig, ob das Blut in flüssigem Zustand gefroren war, ob man es in halbflüssigem Zustand der Kälte aussetzt oder ob es erst in getrocknetem Zustand der Kälte ausgesetzt wird. Notwendig ist allerdings, daß die Untersuchung in *lufttrocknem Zustande* stattfindet; man darf also halbgetrocknetes Blut zum Ansetzen des Agglutinationsbindungsversuches nicht verwenden. Es sei bemerkt, daß die Versuche lediglich mit A-Blut angesetzt worden sind.

Die von *Werckmeister-Freund* erzielten Ergebnisse wurden weiterhin noch insofern von uns überprüft, als wir die Bestimmbarkeit von Blutportionen untersuchten, die wir *Quarzlicht* ausgesetzt hatten. Frisch entnommenes A-Blut wurde 2 Stunden unfiltriertem Licht der Hanauer Quarzlampe ausgesetzt; dann ließen wir die Blutportion völlig lufttrocknen werden. Eine zweite Blutmenge ließen wir 24 Stunden an der Luft trocknen und setzten sie dann erst die gleiche Zeit unter gleichen Bedingungen dem unfiltrierten Quarzlicht aus. Diese Versuche wurden 3mal wiederholt. Das in frischem Zustande dem Quarzlicht ausgesetzte Blut ergab bei Titration nach erfolgter Bindung keinen Unterschied bei Zusatz von A- und B-Blutkörperchen; das im trocknen Zustande der Quarzlampe ausgesetzte Blut wies bei einem Versuch einen Agglutinationsunterschied von 1 Stufe, bei den beiden anderen Versuchen keinen Agglutinationsunterschied auf, während sich das Kontrollblut regelmäßig einwandfrei bestimmen ließ. Der *Lattesche* Versuch fiel bei Blut, das im frischen Zustande dem Quarzlicht ausgesetzt worden war, regelmäßig negativ aus, bei Blut, das wir in trockenem Zustande unter die Quarzlampe gebracht hatten, 2mal negativ, 1mal schwach positiv aus, bei Blut, das bei Zimmertemperatur getrocknet und dem Quarzlicht *nicht* ausgesetzt worden war, regelmäßig positiv aus.

In Übereinstimmung mit den von *Werckmeister-Freund* erzielten Ergebnissen kann wohl gefolgert werden, daß Bestrahlung von Blut mit *Quarzlicht* seine Gruppenbestimmbarkeit *aufhebt*, zum mindesten aber sehr schwer beeinflußt, gleichgültig, ob das Blut in flüssigem oder trockenem Zustande dem ultravioletten Licht ausgesetzt wird. Das gleiche gilt auch nach unserer Erfahrung für Blut, das längere Zeit direktem Sonnenlicht ausgesetzt gewesen ist.

Zusammenfassung.

I. Nach dem Ergebnis unserer mit Blut der Gruppe A vorgenommenen Versuche vermindert Frostkälte die Bestimmbarkeit der Blutgruppe *nicht oder wenigstens nicht wesentlich*, gleichgültig ob das Blut in flüssigem, halbtrockenem oder trockenem Zustande der Kälte ausgesetzt wird.

II. Bestrahlung mit Quarzlicht und ebenso längere Bestrahlung mit direktem Sonnenlicht scheinen die Bestimmbarkeit der Blutgruppe erheblich zu beeinträchtigen.

Literaturverzeichnis.

- ¹ Foerster, A., Jkurse ärztl. Fortbild. **1933**, H. 9, 39. — ² Goroncy, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **6**, 9 (1926). — ³ Holzer, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **16**, 445 (1931). — ⁴ Moskow, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**, 309 (1932). — ⁵ Schiff, Die Technik der Blutgruppenuntersuchung. Berlin 1932. — ⁶ Schött, Die Technik der Blutgruppenbestimmung. In Steffan, Handbuch der Blutgruppenkunde. München 1932, 453. — ⁷ Strassmann, G., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**, 302 (1932). — ⁸ Strassmann, G., Ärztl. Sachverst.-Ztg **34**, 199 (1933). — ⁹ Werckmeister-Freund, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**, 238 (1932). — ¹⁰ Zipp, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **18**, 66 (1932).
-