

Über die Entwicklung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens im Dienste der gerichtlichen Medizin unter besonderer Berücksichtigung eigener Forschungsergebnisse.
(Persönliche Erinnerungen.)

Von

PAUL UHLENHUTH, Freiburg i. Br.

(Eingegangen am 10. Juni 1948.)

I. Herr Prof. PONSOLD hat mich aufgefordert, über die Ergebnisse meiner Arbeiten auf dem Gebiete der *biologischen Eiweißdifferenzierung* im Zusammenhang zu berichten und im besonderen den Weg zu kennzeichnen, sowie die Überlegungen und Gedankengänge aufzuzeigen, die mich zur Entdeckung der *forensischen Blutdifferenzierung* geführt haben. Ich bin dieser Aufforderung zunächst nur zögernd gefolgt, da ich das im wesentlichen schon in meinen ersten Arbeiten dargelegt zu haben glaube. Doch steht, wie ich das bei rückschauender Betrachtung feststellen muß, vieles zwischen den Zeilen, was man bei einer objektiven Mitteilung der in meinen zahlreichen Arbeiten niedergelegten Forschungsergebnisse nicht zum Ausdruck bringen kann, das aber zum Verständnis der Entwicklungsgeschichte des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens im Dienste der forensischen Medizin auch historisch von Interesse sein dürfte.

Was aber meinen Entschluß besonders leicht gemacht hat, ist die beglückende Erinnerung an jene jungen Jahre — die wie freundliche Sterne in die Finsternis dieser Zeit hineinleuchten — wo ich als junger Forscher im Beginn meiner wissenschaftlichen Laufbahn mit heller Begeisterung aber auch in zäher Arbeit und harten Kämpfen Neuland miterobern konnte, auf dem ich bis in mein hohes Alter immer wieder säen und reiche Früchte wissenschaftlicher Erkenntnis ernten durfte, die vor allem auch für die Justiz und die *gerichtliche Medizin* zur Erforschung der Wahrheit von entscheidender Bedeutung geworden sind.

Und wenn ich im folgenden im Sinne der von PONSOLD gekennzeichneten Gesichtspunkte *diesen Teil meiner Lebensarbeit* mit ihren praktischen Ergebnissen gleichsam in *stato nascendi* zu schildern versuche, so sei es mir gestattet, bei den sachlichen Ausführungen über meine Forschungsarbeiten auch mein *persönliches Erleben* mit zu Worte kommen zu lassen, wie ich solches auch unserer jungen Forscher-generation von Herzen wünschen möchte.

Es war um die Jahrhundertwende, da ich das Glück hatte als junger Militärarzt und Assistent unseres großen Meisters ROBERT KOCH in

seiner Werkstatt im „Institut für Infektionskrankheiten“ in Berlin dem sog. „Triangel“ — an der Charité — arbeiten und mich ausbilden zu können. KOCH stand damals auf der Höhe seines Ruhmes. Seine klassischen Arbeiten über Milzbrand, Wundinfektionskrankheiten, über Tuberkulose und Cholera hatten seinen Namen in der ganzen Welt bekannt gemacht und die Erforschung der Tropenkrankheiten lockte ihn mit Begeisterung auf Expeditionen in ferne Erdteile. Zu jener Zeit lernte ich im Institut FRIEDRICH LÖFFLER kennen; er war der älteste Schüler von ROBERT KOCH, der in den 80er Jahren als sein allererster Assistent im Kaiserlichen Gesundheitsamt den Erreger des Rotzes, des Rotlaufs, der Diphtherie und der Schweinepest entdeckt hatte und dadurch auch schon Weltruf besaß. Er war ordentlicher Professor der Hygiene in Greifswald. Als Leiter der vom Preußischen Kultusministerium eingesetzten *Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche*, deren Arbeiten im Institut für Infektionskrankheiten durchgeführt wurden, hatte er gerade zusammen mit FROSCH die bedeutsame Entdeckung gemacht, daß der Erreger dieser verheerenden Tierseuche ein ultravvisibles filtrierbares Virus ist. Als FROSCH dann im Jahre 1898 aus der Kommission ausschied, wählte mich LÖFFLER zu seinem Nachfolger. Da für die an Umfang zunehmenden Arbeiten die im Institut zur Verfügung stehenden Räumlichkeiten — vor allem die Ställe für große Versuchstiere — die in den Stadtbahnbögen notdürftig untergebracht waren, nicht ausreichten, wurde die Kommission an das Hygienische Institut nach Greifswald verlegt und ich siedelte 1899 als Mitarbeiter LÖFFLERS nach dort über. Wenn es mir auch nicht leicht wurde, Berlin und die berühmte Forschungsstätte mit ihrer Krankenabteilung zu verlassen, so betrachte ich es doch als eine glückliche Fügung des Schicksals, daß es mir vergönnt war, mit einem Mann wie LÖFFLER, mit dem ich in freundschaftlicher Verehrung verbunden war, diese praktisch so wichtigen Arbeiten, die in Berlin bereits zu wichtigen Ergebnissen geführt hatten, unter den günstigeren ländlichen Verhältnissen in Greifswald — dieser lieben kleinen Universitätsstadt — fortsetzen zu können. Unsere weiteren Forschungen über das Wesen und die Bekämpfung dieser Seuche, besonders auch über die aktive und passive Immunisierung, die unter großen Schwierigkeiten im Hygienischen Institut und einem gepachteten Gehöft in der Nähe der Stadt und auf dem Lande durchgeführt wurden und an denen ich bis zu meiner Berufung als Direktor der Bakteriologischen Abteilung im Reichsgesundheitsamt im Jahre 1906 teilnahm, führten vor allem zur Entdeckung eines hochwirksamen *Heil- und Schutzserums*, das im Kampf gegen die verheerende Seuche eine große Bedeutung erlangt hat.

Die *Serumforschung*, das jüngste Kind unserer bakteriologischen Wissenschaft, stand damals noch im Anfang ihrer Entwicklung, hatte aber bereits glänzende Triumphe gefeiert. v. BEHRING hatte im Jahre 1890 die wichtige Entdeckung gemacht, daß im Blutserum von mit Diphtheriegift vorbehandelten Tieren, spezifische antitoxische Stoffe auftreten, welche imstande sind, das zur Einspritzung benutzte Gift im Reagensglas und im Tierkörper zu neutralisieren, eine Entdeckung, die sich bekanntlich im Kampfe gegen diese mörderische Seuche unserer Kinder als überaus segensreich erwiesen hat. Sie ist der Ausgangspunkt geworden für die gesamte Immunitätswissenschaft, der ich dann einen großen Teil meiner Lebensarbeit gewidmet habe. 1894 konnte dann RICHARD PFEIFFER nachweisen, daß im Blutserum von Tieren, die mit Cholera- und Typhusbacillen eingespritzt waren, ebenfalls spezifische Immunkörper (Antikörper) auftreten, welche die Bakterien in bestimmter Weise beeinflussen, indem sie dieselben bei Einspritzung in die Bauchhöhle des Meerschweinchens zur *Auflösung* bringen (PFEIFFERSches Phänomen). Zwei Jahre später (1896) haben GRUBER und DURHAM weitere spezifische Stoffe in dem genannten Serum nachweisen können, nämlich Stoffe, welche die Cholera- bzw. Typhusbakterien in Aufschwemmungen ihrer Kulturen zusammenballen (Agglutinine). Diese Reaktion hat bekanntlich als GRUBER-WIDALSche Reaktion diagnostisch eine große praktische Bedeutung erlangt und ich war einer der ersten, der den Wert dieser Methode im Jahre 1897 (als junger Assistenzarzt in Oldenburg) für die Praxis bestätigen konnte. Es war das meine allererste Arbeit, die ich veröffentlicht habe.

Es lag nach diesen Befunden der Gedanke nahe, daß auch in den aus Bakterienleibern hergestellten Extrakten mit spezifischem Serum ähnliche Reaktionen auftreten würden wie in den Kulturen selbst. War doch bereits festgesetzt, daß man mit keimfreien Filtraten aus Typhus- und Cholerabacillenkulturen immunisieren und so ein Serum mit denselben agglutinierenden Eigenschaften gewinnen konnte wie jenes, das durch Einspritzung von Reinkulturen selbst erzeugt worden war.

RUDOLF KRAUS, der diesen Weg weiter verfolgte, erbrachte dann im Jahre 1897 den Nachweis, daß Immunserum in Filtraten der betreffenden Bakterienkulturen spezifische Niederschläge erzeugt und zwar traten diese Niederschläge nur dann auf, wenn ein Immunserum mit dem Filtrat der zugehörigen Bakterienkultur zusammengebracht wurde. Auf Grund der nachgewiesenen Spezifität mußte man annehmen, daß dieser Präcipitinreaktion eine ebenso wichtige diagnostische Bedeutung zukommen müßte, wie der Agglutination und dem PFEIFFERSchen Phänomen. Das war vielfach auch der Fall, so bei

Rotz (Wladimiroff), *Milzbrand* (Ascoli) usw. BORDET hatte 1899 dann die wichtige Beobachtung gemacht, daß nach Einspritzung von defibriniertem Blut in dem Serum der so vorbehandelten Tiere Stoffe auftreten, welche die betreffenden Blutkörperchen auflösen (*Hämolysine*) und zusammenballen (*Hämagglutinine*). Auch nach Vorbehandlung mit anderen tierischen Zellen (Flimmerepithel, Leukozyten, Nierenzellen, Spermatozoen) konnten spezifische agglutinierende und lytische Antisera erzeugt werden (v. DUNGERN, METSCHNIKOFF, MOXTER, LANDSTEINER, LINDEMANN u. a.). BORDET fand dann weiterhin, daß sich auch nach Einspritzung von *Kuhmilch* im Blutserum vom Kaninchen *Präcipitine* bilden, welche das Casein der Kuhmilch ausfällen. Auch diese Lactoserumreaktion war spezifisch, so daß man die Eiweißkörper der Kuh-, Ziegen- und Frauenmilch voneinander differenzieren konnte (FISH, EHRLICH, WASSERMANN).

Alle diese Arbeiten über spezifische Antikörper, die uns auch bei unseren Forschungen über die Immunität und Serumbehandlung der Maul- und Klauenseuche wichtige Anregungen gegeben haben, zogen mich mächtig an, so daß ich jede freie Zeit benutzte, um eigene Untersuchungen auf diesem Gebiete anzustellen. Ich kann wohl sagen, daß in meinem ganzen Forscherleben nichts einen größeren Eindruck auf mich gemacht hat und nichts so in seinen Bann zog — wie das die ganze Immunitätslehre beherrschende *Gesetz der Spezifität*. Offenbart uns doch hier die Natur, unsere größte Lehrmeisterin, die großartige Leistungsfähigkeit ihrer kleinsten lebenden Organe, der Zellen; hier zeigt sie uns, daß diese Zellen unsere größten Chemiker und Physiologen sind. Nur den *Rohstoff* geben wir ihnen und spielend stellen sie uns daraus wie Heinzelmännchen die feinsten Reagenzien her, so scharf und sicher in ihrer Wirkung, daß der forschende Geist in anächtiger Ehrfurcht hier wie vor einem Wunder haltmacht.

Unter diesem Eindruck begann ich im Jahre 1900 meine Arbeiten, und ich fing „ab ovo“ an im wahrsten Sinne des Wortes, indem ich mir die Aufgabe stellte festzustellen, ob in dem Serum von mit *Eiereiweiß* vorbehandelten Tieren spezifische Präcipitine sich entwickeln und ob sich auf diese Weise die Eiweißstoffe verschiedener *Vogeleier* differenzieren ließen. Ich spritzte daher Kaninchen mit großen Dosen von Hühnereiklarlösung in die Bauchhöhle ein und gewann so ein Serum, das bei Zusatz von Hühnereiklarlösung noch in Verdünnungen von 1 : 100000 eine Trübung bzw. einen Niederschlag erzeugte, während die chemischen Reaktionen auf Eiweiß schon bei Verdünnungen von etwa 1 : 1000 versagten. Zu Lösungen von verschiedenen anderen Eiweißarten (Nutrose, Somatose, Nährstoff Heyden, sowie Pepton, Casein, Pferde-, Rinder-, Hammel- oder Eselserum) zugesetzt, gab das Serum keine Reaktion. Positiv reagierten nur, was auch praktisch von

Interesse war (s. unten), die aus verschiedenen Quellen bezogenen Eieralbuminpräparate. Die Reaktion war also für Eiereiweiß spezifisch, wie das auch unabhängig von uns fast gleichzeitig von MYERS festgestellt worden ist. Ich suchte dann weiterhin festzustellen, ob es mit Hilfe dieser so außerordentlich feinen biologischen Reaktion möglich war, die Eiweißstoffe verschiedener Vogeleiern zu unterscheiden. Diese Untersuchungen, die ich auf Hühner-, Tauben-, Gänse-, Enten-, Puten-, Perlhuhn-, Möven- und Kiebitzeier ausdehnte, führten insofern zu einem positiven Ergebnis, als es gelang, die Eiweißstoffe dieser Eier, abgesehen von den nahe verwandten Vogelarten, auf diesem Wege bis zu einem gewissen Grade zu differenzieren. Im weiteren Verfolg dieser biologischen Eiweißdifferenzierungsversuche stellte ich mir die Aufgabe, zu prüfen, ob es gelingen würde, Unterschiede nachzuweisen zwischen den Eiweißkörpern des Hühnereies und des Hühnerblutes, also zwischen 2 Eiweißkörpern eines und desselben Organismus. Darin lag nun der Schlüssel für das Verfahren zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, denn es zeigte sich, daß sich mit dem spezifischen Eierantiserum das *Eiereiweiß* von dem *Bluteiweiß* des Huhnes ohne weiteres differenzieren ließ, indem es nur im Eiereiweiß, *nicht* aber in Blutlösungen des Huhnes einen Niederschlag erzeugte. Gleichzeitig wurden Kaninchen mit defibriniertem *Hühnerblut* eingespritzt. Das Serum der so vorbehandelten Tiere rief nun in einer stark verdünnten Hühnereiereiweißlösung keine oder erst nach längerer Zeit eine ganz schwache Trübung hervor, während es *in einer mit Wasserrackfarben gemachten*, ebenso stark verdünnten *Hühnerblutlösung* einen starken Niederschlag erzeugte.

Durch diesen Versuch war erwiesen, daß man in der Tat das Eiereiweiß vom Bluteiweiß des Huhnes unterscheiden kann. Gleichzeitig war aber durch diesen Versuch eine *fundamentale* Tatsache festgestellt; denn das genannte Serum rief *nur* in einer Hühnerblutlösung einen Niederschlag hervor, während alle anderen zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen von Pferd, Esel, Rind, Hammel, Taube völlig klar blieben. Auch normales Kaninchenserum erzeugte keine Trübung in diesen Blutlösungen. *Diese interessante Beobachtung war der Ausgangspunkt für die Ausarbeitung des biologischen Verfahrens zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten.*

Nachdem ich über die Ergebnisse dieser Versuche in meiner Arbeit „*Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiereiweiß auf biologischem Wege*“ am 15. 11. 1900 in der Deutschen medizinischen Wochenschrift berichtet hatte, habe ich diese biologischen Eiweiß- und Blutreaktionen am 1. 12. 1900 im Greifswalder medizinischen Verein vorgeführt, wobei ich gleichzeitig auch eine entsprechende spezifische Reaktion auf Eselblut zeigen konnte. Bei dieser Gelegenheit gab ich

bekannt, „daß ich damit beschäftigt sei, in analoger Weise die *forensisch* wichtige Frage nach der *Differenzierung von Menschen- und Tierblut zu entscheiden*“. Nie werde ich diese denkwürdige Sitzung vergessen, in der so viele hervorragende Männer der Medizinischen Fakultät, wie LÖFFLER, BIER, GRAWITZ, BONNET, HUGO SCHULZ, BEUMER, PEIPER, SCHIRMER, MORITZ, MARTIN und KREHL mit Spannung meinen Ausführungen folgten und sich lebhaft an der Diskussion beteiligten, und noch sehe ich im Geiste, wie der bekannte Physiologe „*der alte LANDOIS*“ ein verdienstvoller Blutforscher, die Brille zurückschob und bei Betrachtung der Reaktion begeistert ausrief „*Blut ist ein ganz besonderer Saft!*“

Ich ging nun daran, präcipitierende Sera zum Nachweis der verschiedenen Blutarten herzustellen, was mir auch mit mehr oder weniger großen Schwierigkeiten gelang. So hatte ich zunächst ein hochwertiges Serum zum Nachweis von Rinderblut gewonnen. Geheimrat LÖFFLER stellte mir die Aufgabe, aus 18 verschiedenen, ohne Bezeichnung, beliebig von ihm nebeneinander gestellten lackfarben gemachten Blutlösungen das Rinderblut enthaltende Röhrchen herauszufinden. Die Blutlösungen stammten von folgenden Tieren: Rind, Pferd, Esel, Schwein, Hund, Katze, Hirsch, Damhirsch, Hase, Meerschweinchen, Ratte, Maus, Kaninchen, Huhn, Gans, Puter und Taube. Auch Menschenblut wurde zum Versuch herangezogen. Nach wenigen Minuten hatte ich die Aufgabe gelöst. *Einzig* und *allein* die Rinderblutlösung gab eine typische Trübung und einen Niederschlag, während alle anderen Röhrchen klar blieben. — Meine Geduld wurde aber auf eine harte Probe gestellt, da es mir — was ja *forensisch* das wichtigste war — zunächst nicht gelingen wollte, ein *Menschenblut* präzipitierendes Serum zu gewinnen, was an sich nicht besonders merkwürdig war, da es sich bei weiteren Untersuchungen herausstellte, daß die Individualität der Kaninchen bei der Herstellung präzipitierender Sera eine ausschlaggebende Rolle spielt, so daß von etwa 6 vorbehandelten Kaninchen manchmal nur 1—2 brauchbare Seren liefern. Endlich hatte ich dann ein brauchbares Serum gewonnen, das zu den gleichen genannten Blutlösungen zugesetzt, einzig und allein in der Menschenblutlösung einen Niederschlag erzeugte, so daß ich das Menschenblut ohne weiteres herausfinden konnte. Ausschlaggebend war aber vom *forensischen* Standpunkt aus die Feststellung, daß sich auch wochenlang an verschiedenstem Material angetrocknetes in physiologischer NaCl-Lösung aufgelöstes Blut von Mensch, Pferd, Rind usw. noch ohne weiteres differenzieren ließ, auch wenn es sich nur um ganz kleine Blutflecken handelte.

Wenn es auch danach keinem Zweifel unterliegen konnte, daß das Problem der forensischen Blutdifferenzierung im Prinzip gelöst war,

so konnte ich mich doch im Bewußtsein der ungeheuren *Verantwortung*, die mit der Bekanntgabe eines für die Rechtsprechung oft entscheidenden Verfahrens verbunden war, zunächst noch nicht zu einer Veröffentlichung entschließen. Immer von neuem überprüfte ich meine Ergebnisse unter Anwendung aller nur denkbaren Kontrollen. Ich ließ mir auf einem Brett (s. unten S. 335) eine Anzahl kleinerer und größerer Blutflecken vom Menschen und den verschiedensten Tieren antrocknen und mir von LÖFFLER und auch meinem treuen Gehilfen SCHIRMACHER, der diese Untersuchungen mit heller Begeisterung mitmachte, immer wieder abgekratzte Proben „verdeckt“ zur Feststellung ihrer Herkunft übergeben. Ausnahmslos stellte ich die richtige Diagnose, trotzdem der äußerst kritische und vorsichtige LÖFFLER mir scherweise öfter eine Falle stellte. Schon lange lag das Manuskript fertig vor. Und da war es meine junge Frau, die mit wachsender Spannung und Freude meine Arbeiten verfolgt hatte und die ahnungsvoll — wie die Frauen nun einmal sind — mir riet, nun nicht mehr länger zu warten, zumal ich ja bereits am 15. 11. 1900 die grundlegenden Versuche publiziert und am 1. 12. im Greifswalder medizinischen Verein demonstriert hatte.

Als ich nun eines Tages in peinlichen Selbstprüfungen alle mir vorgelegten Blutproben mit mathematischer Sicherheit identifiziert hatte, suchte ich noch am Abend Geheimrat LÖFFLER, der bis dahin auch noch eine vorsichtig abwartende Haltung angenommen hatte, in seiner Wohnung auf. Ich las ihm die Arbeit, der er in jeder Weise zustimmte, vor und brachte sie noch am selben Abend zur Post. Schon nach 1 Woche etwa erhielt ich die¹ Korrektur und kurz darauf, am 7. 2. 1901 erschien die Arbeit¹ unter dem Titel „Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten insbesondere zum differentialdiagnostischen Nachweis von Menschenblut“. 14 Tage später berichteten WASSERMANN und SCHÜTZE in der Berliner klinischen Wochenschrift über gleichartige Ergebnisse. So hatte ich aber zweifellos die Priorität, wie ich sie meiner ahnungsvollen Frau mit zu verdanken hatte.

Wenn ich das alles so ausführlich geschildert habe, so deshalb, weil ich auch der jungen Generation zeigen wollte, wie ungeheuer schwer es für mich war, den richtigen Augenblick für die Bekanntgabe eines so verantwortungsvollen Verfahrens, von dem unter Umständen „Kopf und Kragen“ eines Menschen abhängt, zu erfassen. Da heißt es in der beglückenden Entdeckerfreude — wie sie nun einmal ein junger Forscher hat — mit der man morgens gar nicht schnell genug ins Labor kommen konnte, Ruhe und kritische Selbstbeherrschung zu bewahren, um sich nicht zu einer voreiligen Veröffentlichung hinreißen zu lassen. Und das

¹ UHLENHUTH: Dtsch. med. Wschr. 1901, Nr 7.

will erst gelernt sein. Rückschauend rechne ich solche Zeiten der Spannung und Erwartung wie ich sie auch später so oft erlebt habe, zu den schönsten meines an Erfolgen aber auch an Enttäuschungen reichen Forscherlebens. Niemals darf aber die Selbstkritik und die Zeit der Prüfung und des Abwägens zu lange dauern, damit die Entschlußkraft nicht leidet; sonst kommt man zu spät. Für mich wäre das vielleicht verhängnisvoll geworden, denn diese Entdeckung war mit ausschlaggebend für meine weitere wissenschaftliche Laufbahn.

In diesem Zusammenhang muß ich *ausdrücklich* darauf hinweisen, daß ich kurze Zeit nach der Veröffentlichung meiner Arbeit *Kenntnis* erhielt von einer Beobachtung, die TSISTOWITCH 1899 bei seinen Studien über die Immunisierung gegen das bekanntlich äußerst giftige Aalserum gemacht hatte. Als er dieses Aalserum mit antitoxischen Serum vermischt, trat nach einigen Augenblicken eine Trübung auf; nahm er dann statt des giftigen Aalserums Pferdeserum zur Vorbehandlung seiner Tiere, so konnte er alsbald analoge Verhältnisse feststellen. BORDET bestätigte diese Beobachtung unmittelbar darauf mit dem Serum eines mit defibriniertem *Hühnerblut* vorbehandeltem Kaninchens. Danach kann es kein Zweifel sein, daß diese verdienstvollen Autoren aber, was besonders bemerkenswert ist — in einem ganz anderen Zusammenhang — durch ihre uns damals völlig unbekannten Untersuchungen, spezifische Bluteiweißpräcipitine festgestellt haben.

Andererseits dürfte es aber ebensowenig zweifelhaft sein, daß wir im Zuge unserer Untersuchungen über die biologische Eiweißdifferenzierung der verschiedenen Vogeleier und speziell der von uns festgestellten Differenz der Eiweißkörper des Hühnereies und Hühnerblutes, die Methode zur Erkennung und Unterscheidung der verschiedenen Blutarten zuerst angegeben und, was die Hauptsache ist, für die *forensische Praxis* ausgearbeitet und empfohlen zu haben. Gelingt es uns doch auch zum ersten Male *Menschenblut* selbst im alten angetrockneten Zustand als solches zu erkennen und von Blut der verschiedenen Tiere zu unterscheiden, was bisher nicht möglich war. *Diese Tatsachen, die in der Literatur und auch in meinen früheren Arbeiten nicht klar zum Ausdruck gekommen sind, verdienen bei der historischen Darstellung der Entwicklungsgeschichte der biologischen Blutdifferenzierung ausdrücklich hervorgehoben zu werden.*

II. In der größten Mehrzahl der gerichtlichen Fälle, wo es auf eine Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut ankam, war man bis dahin fast ausschließlich auf die *mikroskopische Messung der roten Blutkörperchen* angewiesen, welche aber bei eingetrocknetem Blut, um das es sich ja in der forensischen Praxis fast ausschließlich handelt, wegen der mit dem Eintrocknen verbundenen Schrumpfung

keinesfalls eine sichere, höchstens eine *Wahrscheinlichkeitsdiagnose* gestattete. Damit konnte aber der Richter nichts anfangen. Wie deprimierend diese Unzulänglichkeit sich auch auf den gerichtlichen Sachverständigen auswirkte, wissen die Gerichtsärzte am besten, die solche Untersuchungen jahrelang ausgeführt hatten. Wie mit einem Zauberschlag trat darin nun eine Wendung ein.

Wenn nun aber auch das von uns ausgearbeitete Verfahren der Blutdifferenzierung vom gerichtlichen Standpunkte aus endgültig gelöst erschien, nachdem sich abgesehen von altem an den verschiedensten Gegenständen angetrocknetem Blut, wie ich feststellte auch längere Zeit gefaultes, gefrorenes, mit verschiedenen Chemikalien (auch Seife usw.) versetztes Blut, seiner Herkunft nach mit Sicherheit bestimmen ließ, so habe ich doch weiterhin jede Gelegenheit benutzt, um über die forensische Bedeutung der Methode mir selbst in der *Praxis* ein Urteil zu bilden. So habe ich eine große Anzahl blutbefleckter Gegenstände, die mir vom Direktor des gerichtsärztlichen Institutes, Prof. BEUMER, sowie dem 1. Staatsanwalt HÜBSCHMANN in Greifswald zur Verfügung gestellt wurden, untersucht, vor allem auch Asservate von abgelaufenen Kriminalfällen, die mir vom Justizminister zur Untersuchung überlassen waren. Nach Untersuchung der blutbefleckten corpora delicti, die mir ohne irgendwelche weiteren Angaben zur Untersuchung übergeben wurden, wurde mein Gutachten mit den betreffenden Aktenangaben verglichen. In jedem Falle konnte ich die richtige Diagnose stellen, mochte es sich um Menschenblut oder irgendwelches Tierblut handeln. Nachdem auf diese Weise auch die *Leistungsfähigkeit* und *Zuverlässigkeit* der Methode im Laboratorium erwiesen war, war es ein glücklicher Zufall, daß sie auch bald in dem von der Staatsanwaltschaft in Greifswald geführten sensationellen Mordprozeß gegen den Lustmörder *Tessnow* ihre Feuerprobe bestehen konnte. Dieser Prozeß war überhaupt der *allererste*, in dem *unser Verfahren* eine *praktische Anwendung fand*. *Tessnow* stand, abgesehen von dem ihm zur Last gelegten Lustmord im Verdacht, in grausam sadistischer Weise auch *Schafe* abgeschlachtet zu haben. In der Tat konnte ich an den mir zur Begutachtung übergebenen Kleidungsstücken außer *Menschenblut* auch *Schafblut* nachweisen, was zur Aufklärung des Tatbestandes und zur Überführung des Mörders von entscheidender Bedeutung war. *Tessnow* hat daraufhin ein umfangreiches Geständnis abgelegt und wurde zum Tode verurteilt¹. — Da ich begreiflicherweise zunächst der *einige* war, der die Technik der forensischen Blutuntersuchung beherrschte, wurde ich in zahlreichen Kriminalfällen als Sachverständiger zur Erstattung

¹ Als ausführliche Gutachten siehe das Buch UHLENHUTH und WEIDANZ unter Fußnote 2, S. 318—319.

von Gutachten zugezogen — wobei mich schöne Reisen in alle Genden von Deutschland führten — um auf Ersuchen der Gerichte die von mir erstatteten Gutachten in der Gerichtsverhandlung persönlich zu vertreten. Dabei war es mir dann immer eine ungemein große Befriedigung und Genugtuung, wenn ich feststellen konnte, welche Wichtigkeit diese zunächst rein wissenschaftliche Methode der biologischen Eiweißdifferenzierung für die Erforschung der Wahrheit in der Rechtsprechung gewonnen hatte, zumal, da sie nicht nur zur Verurteilung, sondern auch zur Entlastung des Angeklagten beitrug.

Es ist daher begreiflich, daß zahlreiche Gerichtsärzte aus dem In- und Auslande nach *Greifswald* kamen, um die technischen Einzelheiten der Methode und besonders auch die Herstellung präzipitierender Sera kennenzulernen, um deren Lieferung ich dann auch von allen Seiten gebeten wurde, so daß ich die Anforderungen bald nicht mehr befriedigen konnte. Sehr wertvoll und erfreulich war es für mich als jungen Forscher, daß ich bei dieser Gelegenheit viele persönliche und wissenschaftliche Beziehungen zu zahlreichen Gelehrten anknüpfen konnte.

Wenn auch die Ergebnisse meiner Arbeiten durch zahlreiche Nachprüfungen sogleich bestätigt und anerkannt wurden, so wurden doch hier und da, wie das bei einer so feinen biologischen Reaktion nicht anders zu erwarten war, gewisse Einwände erhoben, die aber lediglich in der fehlerhaften Handhabung der Methode besonders seitens Un-erfahrener, serologisch nicht vorgebildeter Sachverständiger begründet waren. Ich hielt es daher mit Rücksicht auf den schwerwiegenden Entscheid, den die Blutuntersuchung im gerichtlichen Verfahren im Gefolge hat, für notwendig, daß *nach gewissen einheitlichen Gesichtspunkten*, die sich uns bisher bewährt hatten, gearbeitet würde. So habe ich im Jahre 1903 zusammen mit dem überaus kritischen und peinlich gewissenhaften mir unvergesslichen Gerichtsarzt Prof. BEUMER, dem Direktor des Institutes für gerichtliche Medizin in Greifswald eine „*Praktische Anleitung der gerichtsärztlichen Blutuntersuchung mittels der biologischen Methode*“¹ ausgearbeitet, die dann durch die in den folgenden Jahren mit meinen Schülern WEIDANZ, STEFFENHAGEN, SEIFFERT u. a. ausgeführten Untersuchungen noch einen weiteren Ausbau erfahren hat².

¹ UHLENHUTH u. BEUMER: Z. Med.beamte 1903, Nr 5/6.

² UHLENHUTH: Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut, sowie anderer Eiweißsubstanzen und seine Anwendung in der forensischen Praxis. Ausgewählte Sammlung von Arbeiten und Gutachten. Jena: Gustav Fischer 1905. — UHLENHUTH u. WEIDANZ: Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung von KRAUS und LEVADITI, Bd 2, S. 731. 1908. — Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensi-

III. Ohne auf alle Einzelheiten einzugehen, halte ich es doch für notwendig, auf die wichtigsten der von uns ausgearbeiteten Vorschriften in diesem Zusammenhang noch einmal hinzuweisen.

Da die biologische Methode keine spezifische Blutprobe, sondern eine spezifische *Eiweißreaktion* ist, so daß mit einem Menschenblut-Antiserum z. B. auch eitriges Sputum, Spermaeiweiß (Trippersekret), eiweißhaltiger Urin, Ascites und andere Exsudate, eventuell auch Milch und Kollostrum reagieren können, so ist es die erste *Aufgabe* des Sachverständigen *Blut als solches* mit Hilfe der bekannten chemischen und physikalischen Methoden festzustellen. Dann erst geht man zur biologischen Feststellung der Herkunft des Blutes über. — Dabei wird in unserer „Anleitung“ zunächst die wegen der verschiedenen Individualität der fast ausschließlich in Frage kommenden Kaninchen — nicht ganz einfache *Gewinnung* eines einwandfreien Antiserums, das *absolut klar, nicht opalescierend, steril, artspezifisch* und *hochwertig* sein muß, eingehend erörtert.

Das Antiserum muß vor allem eine *prompte Wirksamkeit* zeigen, d. h. es muß *hochwertig* sein, denn ich verlange, daß die Reaktion, d. h. die spezifische Trübung sich unter unseren Augen in wenigen Minuten entwickelt und so prompt und eklatan in die Erscheinung tritt, daß selbst für einen Laien ein Zweifel an dem Eintritt der Reaktion ausgeschlossen ist. Ein Antiserum, welches diese Wirkung ausübt, muß folgenden Titer haben: Es muß in 1 ccm einer mit 0,85%iger Kochsalzlösung hergestellten Serumverdünnung von 1:1000 bei vorsichtiger Unterschichtung mit 0,1 cm³ Antiserum eine momentane, spätestens nach 1—2 Min., in der Serumverdünnung von 1:10000 bzw. 1:20000 nach 3—5 Min. in der Kuppe des Röhrchens eine ringförmige, allmählich stärker werdende Trübung auftreten, was man bei Vorhalten eines schwarzen Pappdeckels am besten beobachten kann¹. Bei Beachtung dieser Normen hat man den nicht hoch genug zu schätzenden Vorteil, daß man selbst winzige Blutspuren mit Erfolg untersuchen kann, denn wir sehen ja selbst in Verdünnungen von 1:20000 die Reaktion in kurzer Zeit auftreten. — Von besonderer Wichtigkeit ist ferner die *Artspezifität*. Abgesehen von der „Verwandtschaftsreaktion“, auf die wir unten noch eingehen werden, beobachteten Blut- und Fleischuntersuchung, sowie der Gewinnung präzipitierender Sera. Jena: Gustav Fischer 1909; sowie entsprechende Handbuchartikel, UHLENHUTH u. STEFFENHAGEN: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von KOLLE-KRAUS-UHLENHUTH, 2. Aufl. 1913, UHLENHUTH und SEIFFERT, 3. Aufl. 1928. — UHLENHUTH: Über die biologische Eiweißdifferenzierung unter besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1914.

¹ Man benutzt zweckmäßig gleichmäßig dicke, saubere, kleine Reagensröhrchen (Präcipitationsröhrchen nach UHLENHUTH) mit Rand, die in ein passendes Reagensglasgestell eingehängt werden.

man bisweilen sog. „*heterologe Trübungen*“ auch in nichtverwandten Eiweißlösungen, die besonders dann in Erscheinung treten, wenn man hochwertige spezifische Sera zu wenig verdünnten Eiweißlösungen zusetzt, also dann, wenn man nicht quantitativ arbeitet, was ja bei allen Immunitätsreaktionen unbedingt notwendig ist.

Dieses „Übergreifen“ kann allerdings bei einzelnen Seren so stark sein, daß auch in größeren Verdünnungen Trübungen bzw. Niederschläge entstehen können. Jedoch sind auch diese nach unseren Erfahrungen bezüglich der Schnelligkeit des Auftretens und der Intensität von dem geübten Untersucher mit spezifischen Trübungen nicht zu verwechseln. Immerhin können sie für den Unerfahrenen zu Täuschungen Veranlassung geben.

Die Prüfung auf *Artspezifität* der als hochwertig erkannten Antisera (Titer 1: 20000) erfolgt mit heterologen Antigenlösungen 1: 100, 1: 200 (eventuell 1: 1000). Nach den sehr sorgfältigen im Reichsgesundheitsamt ausgeführten Untersuchungen meiner Schüler MANTEUFEL und BEGER¹ an einer großen Anzahl von Antisera konnten 87 % als absolut spezifisch nachgewiesen werden, d. h. sie gaben selbst in Konzentrationen von 1: 100, 1: 200 keine Spur einer Trübung. Sera, die bis zu 1: 200 noch heterologe Trübungen geben, sind für die forensische Praxis unbrauchbar und dürfen nicht zur Abgabe gelangen (näheres siehe unten, *staatliche Prüfung* der präcipitierenden Sera, S. 347).

Für die *Ausführung und den Gang der biologischen Reaktion* haben wir dann weiterhin genaue Anweisungen gegeben und zwar zunächst für die Behandlung des Untersuchungsmaterials zur Herstellung des Extraktes aus dem blutverdächtigen Material. Wie überhaupt bei allen forensischen Blutuntersuchungen ist es wichtigster *Arbeitsgrundsatz*, daß alle Gefäße, Röhrchen, Instrumente peinlich sauber, steril und alle Flüssigkeiten absolut klar sein müssen. Als Lösungsmittel kommt nach unseren Erfahrungen lediglich *physiologische* (0,85%ige) *Kochsalzlösung* in Betracht, die auf das entsprechend zerkleinerte auszulaugende Substrat genügend lange einwirken muß, wobei, um klare Lösungen zu erhalten, möglichst jedes Umrühren zu vermeiden ist. Die unter Umständen noch klar zu filtrierende Untersuchungsflüssigkeit, die zum Zeichen, daß genügend Eiweiß in Lösung gegangen ist, Schaumbildung beim Schütteln aufweisen muß, ist dann auf eine *Verdünnung* von 1: 1000 einzustellen, was bei der Salpetersäurekochprobe durch eine leichte Trübung zu erkennen ist. Außer der Untersuchungsflüssigkeit müssen noch in gleicher Weise hergestellte *Kontrollen* mit einer Lösung derjenigen Blutart, deren Nachweis durch die Reaktion erbracht werden soll, sowie Lösungen von heterologen Blutarten angesetzt werden. Die Wahl der heterologen Blutarten

² MANTEUFEL u. BEGER: Z. Immunit.forsch. 33, H. 4/5 (1921).

ist belanglos (für den Pferdeblutnachweis nimmt man zweckmäßig Rind- und Schweineblut). Blutlösungen von Tieren, die eine Verwandtschaftsreaktion zeigen (s. unten), sind natürlich nicht zu verwenden. Sodann müssen die klaren Extrakte mit Lackmuspapier auf ihre *Reaktion* geprüft werden. Sie sollen auf 1:1000 eingestellt neutral reagieren. Stark alkalische und stark saure Lösungen sind zu verworfen, kommen *praktisch* auch wohl bei der starken Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeit kaum vor. Reagieren sie ausnahmsweise sauer (Leder, Baumrinde usw.), so werden sie mit 0,1%iger Sodalösung oder Magnesioxyd neutralisiert.

In Röhrchen I und II wird sodann die Untersuchungsflüssigkeit (je 1 cm³), d. h. einer nach Vorschrift hergestellten Lösung des verdächtigen Blutfleckens gebracht. In Röhrchen III die gleiche Menge der homologen, d. h. der dem Antiserum entsprechenden Blutlösung¹. In Röhrchen IV und V je einer heterologen Blutlösung (z. B. Schweine- und Rinderblut). In Röhrchen VI kommt physiologische Kochsalzlösung, wie sie zur Herstellung der Untersuchungsflüssigkeit benutzt war. Als weitere Kontrolle kommt für gewisse Fälle dann noch Röhrchen VII, d. h. ein Auszug aus einem blutfreien Stück des Substrates in Frage (s. unten).

Zu den einzelnen mit den betreffenden Lösungen gefüllten Röhrchen wird dann mit Ausnahme des Röhrchens II je 0,1 cm³ von dem im Vorversuch geprüften Antiserum (mit dem vorgeschriebenen Titer von 1:20000) mit einer graduierten Pipette (1 cm³ mit 100 Teilstichen) zugesetzt, während in Röhrchen II 0,1 cm³ normales Kaninchenserum gegeben wird. Beim Zusetzen des Serums hat man darauf zu achten, daß es an der Wand des Reagensröhrchens herunterläuft und nicht direkt auf die Flüssigkeit getropft wird. Das zugesetzte Serum sinkt in der Regel als spezifisch schwerer zu Boden. Die Schichtung muß sehr vorsichtig erfolgen, weil sonst die beginnende Reaktion nicht deutlich als Ringbildung in die Erscheinung tritt.

Für die *Beurteilung* der Reaktion gilt folgendes: Röhrchen III, IV, V, VI geben den Maßstab für die Brauchbarkeit des verwendeten Serums ab. In Röhrchen III muß am Boden des Röhrchens innerhalb einer Minute eine deutliche Trübung eingetreten sein (Wertigkeit des Antiserums). Röhrchen IV und V (Spezifität des Serums) und ebenso Röhrchen VI (Klarheit des Serums) dürfen innerhalb von 20 Min. eine Reaktion bzw. Trübung nicht zeigen. In Röhrchen II muß durch einen negativen Ausfall der Beweis erbracht werden, daß das normale Kaninchenserum nicht an sich schon eine Trübung hervorruft. Nur dann, wenn der Ablauf der Reaktion in den 6 Kontrollröhrchen in der oben dargelegten Weise sich abspielt, kann das Resultat in *Röhrchen I*,

¹ Bzw. Serumverdünnung.

das bei positivem Ausfall der Reaktion in gleicher Weise wie in Röhrchen III eine Trübung bzw. einen Niederschlag zeigen muß, als ein sicheres gelten. Später etwa entstehende Trübungen, die nach 20 Min. auftreten, können als positive Reaktion nicht gewertet werden. Um die Reaktion in der geschilderten Weise beobachten zu können, dürfen die Röhrchen *nicht geschüttelt werden*. Die Reaktion wird bei *Zimmer-temperatur* und nicht im Brutschrank vorgenommen und ist zweckmäßig mehrfach zu wiederholen und sollte in *statu nascendi* genau beobachtet und verfolgt werden. Wird nach dieser Vorschrift verfahren, so sind auch sog. heterologe Trübungen bzw. unspezifische Reaktionen und sonstige „Störungsfaktoren“ ausgeschlossen.

Auf einen „Störungsfaktor“, der volle Beachtung verdient, muß ich hier noch aufmerksam machen. Schon frühzeitig haben wir festgestellt, daß stärkere Auszüge von *Baumrinde* und *Leder* wohl infolge ihrer sauren Reaktion (Gerbsäure) eine „*Pseudoreaktion*“ geben, d. h. daß bei Zusatz von Antiserum und auch beliebigem anderen Serum eine deutliche (oft wolkige) Trübung bzw. Niederschlag entstehen kann (UHLENHUTH und DÜRCK, GRAHAM-SMITH), während das bei allen sonst von uns untersuchten Substraten wie Holz, Glas, Zeugstoff, Eisen, Papier, Stein, Kohle, Kork, Stroh, Sand, Erde usw. nicht der Fall ist. Bei der vorschriftsmäßigen Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeit auf 1:1000 tritt jedoch die durch die Säure bedingte Trübung nicht mehr auf. Auf jeden Fall würde eine solche „*Pseudoreaktion*“ sich schon in Röhrchen II ohne weiteres bemerkbar machen. Zur Sicherheit haben wir aber noch das Röhrchen VII als „*Substratkontrolle*“ vorgeschrieben, so daß jede Irrtumsmöglichkeit ausgeschlossen ist. Wohin die Außerachtlassung der von uns angegebenen Vorschriften und Kontrollen führen kann, beweist ein von HEINDL neuerdings veröffentlichtes Gutachten des chemischen Staatslaboratoriums in Lagos, wo die fahrlässige Untersuchung eines auf Menschenblut verdächtigen Fleckens auf einem imprägnierten Gummimantel ein positives Ergebnis vortäuschte, indem der Auszug aus dem Gummimantel *allein* schon mit einem beliebigen Serum eine „*Pseudoreaktion*“ gab, die, wie später festgestellt wurde, von dem Imprägnierungsmaterial herrührte (FRITZ). Hätte sich der Sachverständige an unsere Vorschriften gehalten, so wäre ein so gefährlicher Irrtum unmöglich gewesen, denn Röhrchen II und VII hätten den Störungsfaktor sofort erkennen lassen, wie es bei unseren früheren Untersuchungen mit *Baumrinde*, *Leder* usw. der Fall war. Ich verweise im übrigen auf die im Anschluß an diesen Fall von HEINDL angeregten Untersuchungen von FRITZ, BESSEMANS und BAERT, sowie auf meine Ausführungen dazu¹.

¹ UHLENHUTH: Arch. Kriminol. 106, H. 5/6 (1940); 109, H. 1/2; 110, H. 3/4 (1942).

Vor allem hat SCHOENHERR in meinem Laboratorium diese Frage eingehend untersucht. Er konnte in 81 Auszügen aus verschiedenen Materialien (Baumrinde, Eiche¹, Leder, Gummi, Kunststoffe, Dachpappe) bei 28 eine „Pseudoreaktion“ feststellen und zwar, wenn er zunächst Auszüge im Verhältnis von 1 : 10 (1 Teil Substrat und 10 Teile physiologische Kochsalzlösung) untersuchte (Reaktion sauer). Nach Verdünnung bis 1 : 500 verschwand die Pseudoreaktion, so daß sie bei Beachtung unserer Vorschriften praktisch keine Rolle spielt.

Bezüglich der Einzelheiten verweise ich auf die im *Archiv für Kriminologie* erscheinende im Druck befindliche Arbeit, sowie auch auf die Arbeit von FISCHER in derselben Zeitschrift.

So hat denn die biologische Methode, wie sie von uns ausgearbeitet worden ist, eine solche Vollkommenheit erlangt, daß sie in ihrer *Sicherheit und Zuverlässigkeit* allen erdenklichen Anforderungen genügt. Selbstverständlich nur in der Hand eines *erfahrenen* Sachverständigen. Der beste Beweis dafür ist die Tatsache, daß sich an unseren Vorschriften im Laufe der Jahre nichts wesentliches geändert hat.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich aber nicht verfehlten, auf die von meinem Freunde HAUSER angegebene, und in meinem Laboratorium von CARNWATH modifizierte *Capillarmethode* hinzuweisen. Auf die *Technik* kann ich hier nicht eingehen. Für diese Methode genügen die *kleinsten* Mengen der zu prüfenden Blutlösung und zwar bereits Bruchteile eines Tropfens, so daß in der Praxis kaum ein Fall vorkommen dürfte, in welchem die Untersuchung einer Blutspur wegen ihrer Kleinheit auf unüberwindliche Hindernisse stieße, vorausgesetzt, daß die Löslichkeit des Blutes durch das Alter oder sonstige Einwirkungen nicht zu sehr gelitten hat. Dazu bedarf es natürlich besonderer Übung und Erfahrung. Ich habe zusammen mit meinen Schülern WEIDANZ und ANGELOFF die *Capillarmethode* mit Erfolg zum Nachweis der Herkunft des Blutes in Blutegeln und in *blutsaugenden Insekten* (Wanzen, Flöhe, Läuse, Mücken, Fliegen) angewandt, wobei wir z. B. in Wanzen noch nach 14 Tagen Menschenblut nachweisen konnten. Ähnlich waren die Ergebnisse bei Menschen-, Rinder- und Ziegenläusen, bei Flöhen, Schaf- und Hühnerzecken.

Bei einer Anzahl von Anophelesmücken — der Überträgerin der Malaria — konnten wir feststellen, daß sie Schweine- und Rinderblut, aber kein Menschenblut, wie wir das erwartet hatten, enthielten. Die Mücken waren, wie wir nachträglich erfuhren, in Schweine- und Rinderställen gefangen worden. So gelingt es in einfacher Weise die für die einzelnen Zwischenträger in Frage kommenden Blutlieferanten zu ermitteln, was für *epidemiologische* Forschungen von großer Bedeutung sein kann.

¹ Birke, Buche und Tanne gab keine Pseudoreaktion.

Die *Capillarmethode* hat sich auch *sonst* — statt der Reagensglas-methode im „UHLENHUTH-Röhrchen“ in der forensischen Praxis vielfach eingebürgert (s. auch MERKEL¹), und wir selbst haben sie mit Vorteil benutzt, weil die beim Überschichten der Untersuchungs-flüssigkeit mit dem Antiserum auftretende *Ringbildung* in den Capillar-röhrchen besonders markant in die Erscheinung tritt.

IV. Um die *forensische Bedeutung der biologischen Methode* zu illu-strieren, genügt es wohl auf die *Gutachten* der Gerichtsärzte hinzu-weisen, die in zahlreichen Prozessen wegen Mord, Körperverletzung, Sittlichkeitsverbrechen, Diebstahl von Haustieren, Wildfrevel u. a. zur Aufklärung des Tatbestandes eine ausschlaggebende Rolle gespielt haben. Eine Sammlung solcher besonders wichtiger *von mir selbst* abgegebener Gutachten habe ich in meinem oben genannten Buche (mit WEIDANZ) zusammengestellt.

Aus der großen Fülle der von mir im Laufe der Zeit erstatteten Gutachten will ich an dieser Stelle nur einige markante Beispiele herausgreifen, um die praktische Wichtigkeit der Methode zu illu-strieren.

1. Ein des 3fachen Raubmordes beschuldigter Schlächter gibt an, daß die an seinen Hemdärmeln gefundenen Blutflecken vom Schlachten eines Kalbes herrührten. Mit Hilfe der Präcipitinreaktion konnte ich mit Sicherheit Menschenblut feststellen. Auf Grund eines erdrückenden Indizienbeweises, bei dem dieser Befund als wichtiger Faktor in Betracht kam, wurde der Angeklagte zum Tode verurteilt. Kurz vor seiner Hinrichtung hat er ein umfassendes Geständnis abgelegt.

2. Ein Mann, an dessen Kleidern sich Blutflecken befanden, wurde wegen dringenden Mordverdachtes verhaftet. Er beteuerte aber seine Unschuld, indem er behauptete, das Blut röhre von einer Wunde seines Pferdes her. Das wurde ihm aber nicht geglaubt bis ich die Richtigkeit seiner Aussage durch die Präcipitinreaktion nachweisen konnte. Der Mann wurde daraufhin aus der Haft entlassen.

3. Ein Angeklagter wurde beschuldigt ein Schwein gestohlen, ab-geschlachtet und in einem Sack beiseite geschafft zu haben. Von den an dem Sack befindlichen Blutflecken behauptete er, daß sie von einer Hündin, die Junge geworfen habe, herrührten. Ich konnte jedoch feststellen, daß es sich um Schweineblut handelte und somit die Schuld-frage geklärt wurde.

4. Interessant ist auch folgender Fall: Ein Mann, der eine Rente erschwindeln wollte, wurde eines Morgens in seinem mit Blut befleckten Bett aufgefunden. Er behauptete, einen Blutsturz gehabt zu haben. Da die ärztliche Untersuchung keinen Anhalt dafür ergab, so wurde,

¹ MERKEL: Z. ärztl. Fortbild. 1909, Nr 19.

um die Herkunft des Blutes festzustellen, von mir die Präcipitinreaktion angestellt, die das Vorhandensein von Rinderblut ergab. Als das dem Betreffenden direkt auf den Kopf zugesagt wurde, gab er zu, zum Zwecke der Täuschung eine Flasche mit Rinderblut, die er sich vom Schlachthof hatte besorgen lassen, in sein Bett ausgegossen zu haben.

Hinsichtlich der großen Verantwortung, die eine solche forensische Untersuchung mit sich bringt, so liegen die Verhältnisse hier ganz ähnlich wie bei der bakteriologischen Feststellung gemeingefährlicher Krankheiten — wie z. B. der Cholera. Wenn die Reichsbehörde¹ mit Rücksicht auf die weittragende Konsequenz einer solchen Diagnose genaue streng zu befolgende Anweisungen erlassen hat, ohne deren Erfüllung die Diagnose Cholera nicht anerkannt wird und Sachverständige nur zugelassen werden, die den Nachweis einer speziellen Ausbildung erbracht haben, so dürften solche *Forderungen* auch hier nötig sein, wo die Feststellung von *Menschenblut* z. B. in einem Mordprozeß vielfach über Leben und Tod entscheidet. Gibt es doch sogar für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion auf Syphilis eine besondere Anleitung, die im Reichsgesundheitsamt seinerzeit ausgearbeitet und als Verordnung für alle amtlichen Untersuchungen vorgeschrieben ist. Ich habe daher schon 1903 die *Einrichtung von Zentralstellen* gefordert, als welche ich die gerichtsärztlichen Universitätsinstitute für die geeignetsten hielt —, wo Sachverständige in der Handhabung der forensischen Blutuntersuchung unterrichtet werden sollten; ebenso Zentralstellen, von denen die Sachverständigen hochwertige staatlich geprüfte Seren beziehen können². Handelt es sich doch hier um eine Serumreaktion, die äußerst feine biologische Vorgänge zum sichtbaren Ausdruck bringt, deren Beobachtung und Beurteilung ein besonderes Spezialstudium erfordert. Wenn solche Arbeitsmethoden selbst den Gerichtsärzten fernliegen, wieviel mehr noch den Gerichtschemikern, die vielfach berufen sind, solche Untersuchungen auszuführen.

Bei dieser Sachlage war es zu begrüßen, daß die amtlichen Stellen auf Grund eines Gutachtens der *Wissenschaftlichen Deputation für das Medizinalwesen* zu dieser für die Justiz so wichtigen Angelegenheit Stellung nahmen. Dieses Gutachten hatte folgenden Wortlaut: „Die Erfahrungen über die Serummethode der Blutuntersuchung sind bereits in Deutschland wie im Ausland so ausgedehnte, die Resultate der Forschungen im wesentlichen so übereinstimmende, daß kein Zweifel mehr darüber bestehen kann, daß diese neue biologische Methode in der Mehrzahl der Fälle mit großer Sicherheit gestattet, frisches sowie angetrocknetes Blut nach seiner Herkunft zu bestimmen, Menschenblut von Tierblut, Blut verschiedener Tierarten zu unterscheiden. Es

¹ Anweisung des Bundesrates zur Bekämpfung der Cholera.

² UHLENHUTH u. BEUMER: Z. Med.beamte 1903, H. 5/6.

ist daher dringend geboten, diese vortreffliche Methode, welche natürlich die alten bewährten Methoden des Blutnachweises nicht verdrängen, sondern nur ergänzen und vervollständigen soll, für die gerichtliche Praxis allgemein nutzbar zu machen.“

Auf Grund dieses Gutachtens hat dann der Preußische Justizminister am 8. 9. 1903 eine entsprechende Verfügung erlassen¹, wodurch das biologische Verfahren in die gerichtsärztliche Praxis eingeführt worden ist. Als *Institute*, die für die Vornahme forensischer Blutuntersuchung zunächst empfohlen wurden, wurden das *Hygienische Institut der Universität Greifswald*, das *Institut für Infektionskrankheiten in Berlin*, das *Institut für Staatsärzneikunde in Berlin* und das *Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.* genannt. — Ähnliche Verfügungen sind in Österreich, Bayern, Württemberg, Baden und weiterhin auch im Auslande fast in allen Kulturstaaten erlassen worden. Um jederzeit ein *einwandfreies Serum* zur Verfügung zu haben, wurde im Frühjahr 1904 das *Hygienische Institut in Greifswald* vom Preußischen Unterrichtsministerium mit der Herstellung hochwertiger Antisera beauftragt — die ich selbst kontrollierte; späterhin auch vom Reichsministerium des Innern die bakteriologische Abteilung des Reichsgesundheitsamtes, wohin ich 1906 als Direktor übergesiedelt war. Die *Herstellung und die Kontrolle* dieser Sera war um so notwendiger, als ich feststellen konnte, daß von Gerichtsärzten selbst hergestellte oder auch aus anderen Quellen bezogene Antisera vielfach durchaus nicht den oben angegebenen Vorschriften entsprachen; vor allem fanden sich darunter stark opaleszierende und nicht genügend hochwertige Sera, so daß Irrtümer bzw. Fehlresultate nicht ausgeschlossen waren. Leider war es in den letzten Jahren infolge der unglücklichen Zeitverhältnisse diesen offiziellen Stellen nicht mehr möglich, die Gewinnung der notwendigen Antisera durchzuführen, so daß der Gerichtsarzt einwandfreie, amtlich geprüfte Antisera nicht mehr beziehen konnte. Nachdem nun auf meine wiederholten Anregungen die *staatliche Prüfung*² der Sera, wie wir sie seinerzeit im einzelnen ausgearbeitet und die ich bereits 1903 für dringend notwendig gehalten hatte, durch das *Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.* vor kurzem eingeführt worden ist und neuerdings namhafte Serumwerke die Herstellung der Antisera, die große Erfahrung erfordert, aufgenommen haben, ist zu hoffen, daß die bestehenden Schwierigkeiten in dieser Hinsicht nunmehr behoben sind. Ich halte es aber auch für dringend notwendig, daß der *Ausbildung* der gerichtlichen Sachverständigen auf diesem Gebiete noch mehr Beachtung geschenkt

¹ Veröffentlichung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes 1903, Bd. XXVII, 1. 42.

² Arbeiten aus dem P. Ehrlich Institut und dem Georg Speyer-Hause. Bd. 47, S. 28. Jena: Gustav Fischer 1948 (s. Anhang).

wird und die Blutuntersuchungen wie früher auf *staatliche gerichtsärztliche* evtl. auf hygienisch-serologische Institute, die den Gerichten bzw. Polizeibehörden namhaft gemacht werden müßten, beschränkt bleiben, wo dauernd solche Untersuchungen von erfahrenen Sachverständigen ausgeführt werden. Nachdem die *alten* amtlichen Verfügungen in Anbetracht der Zeitverhältnisse in Vergessenheit geraten sind und offenbar — wie meine Umfragen bei den gerichtsärztlichen Instituten ergeben haben — zur Zeit beachtenswerte Mißstände auf diesem Gebiete bestehen, sollte die Frage der forensischen Blutuntersuchung einheitlich neu geregelt und erreicht werden, daß Chemiker, Kriminalisten, Amtsärzte und Gesundheitsämter diese Untersuchungen im allgemeinen nicht ausführen dürfen.

V. Forensisch wichtig und zugleich naturwissenschaftlich hochinteressant ist die schon in meinen *ersten* Arbeiten über die Unterscheidung des Eiweißes verschiedener Vogeleier festgestellte Tatsache (s. oben), daß bei dieser biologischen Reaktion die verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Tieren zum sichtbaren Ausdruck gelangen. Und so kam ich auf die naheliegende Idee, die Präcipitinreaktion zum *Studium der verwandtschaftlichen Beziehungen* unter den Tieren zu benutzen und vorzuschlagen. So konnte die Blutsverwandtschaft zwischen Pferd und Esel zwischen Hammel, Ziege und Rind, zwischen Hund, Fuchs, Wolf und Schakal, zwischen Schwein und Wildschwein, Hase und Kaninchen, Huhn und Taube von uns ad oculos demonstriert werden, die biologische Reaktion verlief mit gewissen graduellen und zeitlichen Unterschieden annähernd proportional dem Grade der Blutsverwandtschaft und stimmte im allgemeinen mit der Tiersystematik überein. Auch bei den Reptilien, Amphibien (v. DUNGERN) und Fischen (NERESHEIMER, DUNBAR, KODAMA u. a.) liegen ähnliche Verhältnisse vor. Diese Untersuchungen sind besonders von NUTTALL in großem Umfange an 900 verschiedenen Blutarten mit 30 verschiedenen Antisera und 16000 Reaktionen bestätigt und erweitert worden¹. Von ganz besonderem Interesse sind die Untersuchungen über die *Blutsverwandtschaft zwischen Menschen und Affen*, deren *Nachweis* von mir und WASSERMANN zuerst erbracht und von NUTTALL bestätigt und weiterhin eingehend studiert worden ist. Es zeigte sich, daß ein Menschenantiserum in dem Bluteiweiß der menschenähnlichen Affen (Schimpanse, Gorilla, Orang-Utan) — bei möglichst quantitativer Auswertung — einen fast ebenso starken Niederschlag erzeugte wie in Menschenblut. Etwas schwächer reagierte dieses Serum mit dem Blut der *Hundsaffen* und *Meerkatzen*. Schwächer wurde die Reaktion weiterhin bei den Affen der neuen Welt, den

¹ NUTTALL: *Blood immunity and blood relationship*. Cambridge: University press 1904.

Cebiden und *Hapaliden*. Das Blut der *Lemuren* (Halbaffen) reagierte mit sehr hochwertigem Serum nur noch ganz schwach (UHLENHUTH) oder überhaupt nicht mehr (NUTTALL). Da es nun erwiesen ist, daß das Serum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens nicht nur in Menschenblut, sondern auch in Affenblut, im übrigen aber in keiner anderen Blutart einen Niederschlag hervorruft, so ist das ein zwingender Beweis für die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen- und Affengeschlecht. Ferner muß im Hinblick auf die quantitativen Differenzen im Ausfall der biologischen Reaktion angenommen werden, daß verschiedene nähere bzw. entferntere Verwandtschaftsgrade zwischen Menschen und den einzelnen Affenarten bestehen, insonderheit, daß die anthropomorphen Affen (Schimpanse usw.) den Menschen am nächsten stehen und im allgemeinen die Affen der alten Welt den Menschen näher verwandt sind als die Affen der neuen Welt. Es ist klar, daß dieser biologische Beweis für die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen- und Affengeschlecht allen übrigen, die sich aus der vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte ergeben, würdig an die Seite gestellt werden kann. Ja, der dürfte der eklatanteste und verblüffendste sein, da man ihn jeden Augenblick im Reagensglas ad oculos demonstrieren kann. *So findet die Descendenzlehre, wie sie von DARWIN, LAMARCK und HÄCKEL begründet und aufgebaut ist, durch diese biologische Reaktion eine feste und sichtbare Stütze.*

Diese Untersuchungen sind von zahlreichen Forschern bestätigt worden (HANSEN, BRUCK, W. A. SCHMIDT, YAMANOUCHI usw.). Besonders eindrucksvoll und interessant sind vom Standpunkt der *Tiersystematik* aus die serologischen Arbeiten von MOLLISON und v. KROGH, die auf Grund ihrer sorgfältigen quantitativen Untersuchungen mit Messung der Niederschlagsmenge und Anwendung kreuzweiser Reaktionen zu dem Schluß kommen, „daß die stammesgeschichtliche Verwandtschaft der Lebewesen durch die bewährte *Präcipitinreaktion* klarer und sicherer zu erfassen ist, als das mit Hilfe der morphologischen Ähnlichkeitsmerkmale geschehen kann¹.“

„Wenn verwandten Arten Eiweißstoffe gemeinsam sind, die sich nirgendwo wieder in der Tier- und Pflanzenwelt finden, so muß diese Tatsache ein höheres Gewicht beanspruchen als irgendein morphologisches Merkmal. Das Eiweiß, das ein Lebewesen von seinen Vorfahren ererbt hat, ist gewissermaßen ein *Paß*, auf dem die unendlich komplizierten Erkennungszeichen aller seiner Vorfahren eingetragen sind.“ Er besagt eindeutig, „daß beide Arten vor ihrer heutigen Differenzierung ein Stück ihrer stammesgeschichtlichen Entwicklung gemeinsam zurückgelegt haben und somit stammesgeschichtlich verwandt sind. Ein Unterschied zwischen Eiweißverwandtschaft und

¹ MOLLISON u. v. KROGH: *Anthrop. Anz.* 1937, H. 3/4.

phylogenetischer Verwandtschaft gibt es nicht“ (v. KROGH). Wenn EHRHARDT anderer Ansicht ist¹, so dürfte sein Urteil höchstens für die älteren Untersuchungen zutreffen, bei denen ungeeignete Methoden in Anwendung kamen. So steht unsere Präcipitationsreaktion als biologische Eiweißdifferenzierungsmethode der gesamten morphologischen Untersuchung als mindestens gleichwertig gegenüber und beide werden den größten Nutzen davon haben, daß sie ihre Ergebnisse gegenseitig kontrollieren² und damit hat unsere *Präcipitinreaktion für die Anthropologie und Zoologie* eine große Bedeutung gewonnen.

Diese lehrreiche biologische Betrachtungsweise ist bisher noch nicht gebührend gewürdigt. Mich hat z. B. die auffallend verschiedene Empfänglichkeit gegenüber Infektionen und Geschwülsten (Krebs) angeblich nahe verwandter Nagerarten dazu geführt, ihre Blutsverwandtschaft eingehend zu studieren. Dabei konnte ich zu unserer Überraschung feststellen, daß z. B. zwischen *Ratte* und *Maus* eine nur entfernte Blutsverwandtschaft besteht, so daß man in der Regel mit einem nicht zu hochwertigen Antiserum Mäuse- und Rattenblut ohne weiteres unterscheiden kann (s. auch TROMMSDORF, GRAETZ, STEFFEN-HAGEN und SCHÖNBURG), wenn das auch nicht mit jedem Antiserum in gleicher Weise der Fall zu sein scheint (OTTO und CRONHEIM). Ratte und Maus gehören allerdings zwei verschiedenen Gattungen an (Epimys und Mus). Neuerdings konnten wir³ auch zeigen, daß mit einem Antiserum gegen Feldmausblut eine Differenzierung des Blutes von Feldmaus und Hausmaus (weißer Maus) und umgekehrt gelingt. Eine solche Differenz zwischen diesen beiden Blutarten hat schon ROBERT KOCH vermutet bei seinen Untersuchungen über die verschiedene Empfänglichkeit gegen die Erreger der Mäusesepticämie und Milzbrand (1878), wogegen die Feldmaus im Vergleich zur Hausmaus eine beachtenswerte Resistenz zeigt. Andererseits reagierte ein Antiserum gegen Hausmaus nach unseren Untersuchungen gleichstark gegen das Blut der weißen Maus, was ja vollkommen erklärlich ist, da die weiße Maus eine pigmentlose Hausmaus ist, zwischen denen eine Kreuzung stattfindet.

So interessant auch diese Verwandtschaftsreaktionen sein mögen, so störend sind sie begreiflicherweise in der *gerichtsärztlichen Praxis*. Ist z. B. der Sachverständige vor die Aufgabe gestellt, Pferde- und Eselblut, Hammel- und Ziegenblut voneinander zu unterscheiden, so

¹ EHRHARDT: Die Verwandtschaftsbestimmungen mittels der Immunitätsreaktion in der Zoologie und ihr Wert für die phylogenetischen Untersuchungen. Diss. Rostock 1929.

² MOLLISON: Serodiagnostik als Methode der Tiersystematik. In ABDERHALDENs Technik der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IX, Teil 1, H. 3. 1923.

³ UHLENHUTH: Z. Immunit.forsch. 104, H. 2/3 (1943).

stößt er auf unüberwindliche Schwierigkeiten, da die Präcipitinreaktion hier versagt. In dem Bestreben, nahe verwandte Blutarten zu unterscheiden, bediente sich WEICHARDT der sog. „Absättigungsmethode“, auf die ich hier nicht näher eingehen kann, da sie auch in der Hand des Geübten keine praktisch-forensische Bedeutung erlangt hat.

Ein *forensisches Gutachten* gab mir dann Veranlassung, mich mit der Differenzierung nahe verwandter Blutarten eingehend zu beschäftigen, so daß es gelang, in dieser Frage einen Schritt weiter zu kommen. Es wurde mir vom Gericht ein blutbefleckter Spazierstock mit dem Ersuchen übersandt, die Herkunft dieser Blutflecken festzustellen. Der Mann, bei dem der Stock gelegentlich einer Hausuntersuchung gefunden wurde, stand im Verdacht ein Reh oder ein kleineres Stück Wild (Hase, Fuchs oder dgl.) erlegt und auf dem Stock fortgetragen zu haben. Der Mann behauptete aber, die Blutflecken rührten von Gänseblut her; seine Mutter habe Gänse geschlachtet und aufgehängt. Der Stock habe unter diesen Gänzen gestanden und das Blut sei an dem Stock heruntergelaufen. Es konnte zunächst festgestellt werden, daß das Serum eines mit Gänseblut vorbehandelten Kaninchens in der Lösung des vom Stock abgekratzten bluthaltigen Materials eine Reaktion nicht hervorrief, daß also *Gänseblut ausgeschlossen* war. Ebenso konnte bei Anwendung eines Rehblutantiseraums Rehblut mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Um nun weiterhin zu entscheiden, ob *Hasenblut* vorlag, versuchte ich, ein Hasenantiserum herzustellen. Zu diesem Zwecke behandelte ich *Kaninchen* mit *Hasenblut* vor, obwohl sich wegen der angenommenen *nahen* Verwandtschaft des Hasen mit dem Kaninchen dagegen theoretische Bedenken geltend machten. Um aber auf jeden Fall ein auf Hasenblut wirksames Antiserum zu erhalten, wurden außer 3 Kaninchen gleichzeitig 3 *Hühner* mit Hasenblut vorbehandelt. Da frisches Hasenblut damals während der Schonzeit nicht zu bekommen war, so bediente ich mich angetrocknetem, 4 Jahre alten Hasenblutes, das ich in physiologischer Kochsalzlösung auflöste. Alle 3 Kaninchen lieferten zu meiner größten Überraschung brauchbare *Hasenblut* präzipitierende Antiseren. Auch die 3 Hühner lieferten nach 4—5 intramuskulären Einspritzungen von Hasenblut wirksame Sera.

Die von den Kaninchen wie von den Hühnern gewonnenen Antisera reagierten *beide* auf Hasenblut, zeigten aber folgende Unterschiede: Das Serum der mit Hasenblut vorbehandelten Kaninchen zu den verschiedensten Blutlösungen zugesetzt ergab nur im Hasenblut eine Reaktion. Die Blutlösungen von zahmen und wilden Kaninchen blieben vollkommen klar. Mit dem vom Huhn gewonnenen Hasenantiserum war dagegen eine sichere Unterscheidung von Hasen- und Kaninchenblut nicht möglich, denn es erzeugte einen Niederschlag sowohl in Hasen- wie in Kaninchenblut.

Mit Hilfe des von *Kaninchen* gewonnenen *Hasenantisérums* führte ich dann den sicheren Beweis, daß das an dem Spazierstock des Wild-diebes befindliche Blut aus *Hasenblut* bestand. Durch diese „*kreuzweise Immunisierung*“ konnte ich in ähnlicher Weise auch Huhn- und Taubenblut mit Sicherheit unterscheiden. Indem ich nun *Affen* mit Menschenblut vorbehandelte, gelang es mir dann auch mit dem vom Affen stammenden Menschenantisérum *Menschen- und Affenblut zu unterscheiden*, indem das Serum dieses Affen — der mich in ausgestopftem Zustande auf meinem Lebensweg bisher begleitet hat —, nur in Menschenblut nicht aber in Affenblut eine Präcipitation hervorrief. Diese interessante Beobachtung ist von *LANDSTEINER* mit einem vom Schimpansen gewonnenen Menschenantisérum bestätigt worden. Es ist also in gewissen Fällen doch möglich, bei verwandten Tieren wie Huhn und Taube, Hase und Kaninchen, sowie bei *Mensch und Affe*, durch gegenseitige Einspritzung ihres Blutes *praktisch* verwertbare Präcipitine zu erzeugen und auch Menschen- und Affenblut voneinander zu unterscheiden, wenn auch diese Antisera in der Regel nicht sehr hochwertig sind und sich im allgemeinen *schwer* herstellen lassen. Dagegen gelang es nicht, von *Pferden* auch mit großen Dosen von Eselserum spezifische *Präcipitine gegen Eselbluteiweiß* zu erzeugen. Ebensowenig von *Hammeln*, die mit *Ziegenblut* vorbehandelt wurden, wohl wegen der *zu nahen Verwandtschaft* des Bluteiweißes dieser Tiere, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß diese überhaupt schlechte Präcipitinbildner sind.

Es ist notwendig, daß der Sachverständige auf die Verwandtschaftsreaktionen sorgfältig achtet und er sollte, z. B. da ihm ja ein vom Affen gewonnenes Menschen-Antiserum kaum zur Verfügung steht —, wie ich das stets getan habe —, in seinem gerichtlichen Gutachten beim Nachweis von Menschenblut den Zusatz machen „*falls durch richterliche Untersuchung Affenblut ausgeschlossen ist.*“ Glücklicherweise hat das in unseren Gegenden praktisch keine Bedeutung. Nötigenfalls ließe sich aber, wie gesagt, eine Entscheidung durch ein vom *Affen* stammendes Serum treffen. Das gleiche gilt für Hase und Kaninchen, Huhn und Taube usw.

Praktisch besonders bedeutungsvoll ist aber ein solcher Hinweis, wenn es sich z. B. um *Schafblut* handelt (s. oben Fall Teßnow), das ja überhaupt mit unseren bisherigen Methoden von *Ziegen* (Reh) (und Rinderblut) *praktisch* nicht unterschieden werden kann. Das gleiche gilt für Pferde- und Eselblut. Hier muß dann im Verein mit der richterlichen Untersuchung die Diagnose per *exclusionem* gestellt werden. Jedenfalls muß das in dem Gutachten stets zum Ausdruck kommen, denn es ist in der Tat vorgekommen, daß der Angeklagte den Sachverständigen vor Gericht bloßgestellt hat.

Wenn wir also sehen, daß die „*kreuzweise Immunisierung*“ bei der Differenzierung der verschiedenen Blutarten einen gewissen Fortschritt bedeutet, so zeigen uns doch die erfolglosen Differenzierungsversuche zwischen Pferd und Esel, Hammel und Ziege usw., daß die sonst so leistungsfähige Präcipitinreaktion hier ihre Grenze findet. Wo biologisch eine *Gleichwertigkeit* des *Bluteiweißes* zu konstatieren ist, liegt der Gedanke an die Möglichkeit einer *Kreuzung* nahe, wie es bei Pferd und Esel der Fall ist, auch Hammel- und Ziegenblut sind biologisch nicht zu unterscheiden, ob hier Kreuzungen vorkommen ist noch eine strittige Frage. Wo aber biologisch eine *Verschiedenheit* des *Bluteiweißes* nachzuweisen ist, dürfte eine *Kreuzung* ausgeschlossen sein. Diese Tatsache ist geeignet, phantastische Züchterideen von vornherein zurückzuweisen. So können also diese Untersuchungen auch für die Tierzüchter von praktischem Nutzen sein.

Es wäre natürlich besonders vom *anthropologischen* Standpunkt sehr interessant, wenn es gelänge, das Blut der verschiedenen *Menschenrassen* voneinander zu unterscheiden. Bekanntlich soll es C. BRUCK gelungen sein, mit schwach präzipitierenden Seren — unter Anwendung der *Komplementbindung* (s. unten) — mit Hilfe eines gegen Vertreter der weißen Rasse gerichteten Antiserums diese von Angehörigen der mongolischen und malaiischen Rasse zu unterscheiden. Er schloß sogar aus den erzielten Titergrößen auf die Verwandtschaft der einzelnen Rassen untereinander. Nach unserem Dafürhalten sind aber die Differenzen der Titergrößen so gering, daß sie sichere Schlüsse nicht zulassen. Auch konnten die Untersuchungen von BRUCK nicht bestätigt werden (LINOSSIER und LEMOINE, MARSHALL, TEAGUE, FITZGERALD u. a.), auch die Untersuchungen von SUTHERLAND und SUK, sowie von FISCHER und RAQUET haben keinen Fortschritt gezeitigt. Ob eine „*kreuzweise Immunisierung*“ mit Blut von Weißen und Schwarzen, die immerhin zu versuchen wäre, weiterführen würde, ist nach dem Gesagten nicht anzunehmen, weil ja unter den einzelnen Menschenrassen sich in weitestem Umfange Kreuzungen vollziehen (Europäer mit Negern, Indianer mit Eskimos). Wir selbst hatten Gelegenheit mit einem aus dem Robert-Koch-Institut bezogenen Menschenblutantiserum gelegentlich *frisches* Blutserum verschiedener Rassen von Engländern, Armeniern, Russen, Indern, Negern, Arabern, Mongolen *quantitativ* auszuwerten, wobei allerdings zu beachten ist, daß der Eiweißgehalt der Blutseren auch gewissen Schwankungen unterliegen kann.

Eine Differenzierung des *Blutes verschiedener Rassen* konnte nicht beobachtet werden. Die Reaktion verlief ganz gleichmäßig in einer Verdünnung von 1:1000 bis 1:20000. Ebenso verlief die Reaktion in dem Blut von einem *Affen*, der zur Kontrolle mit herangezogen

war. Unsere biologische Differenzierung verschiedener *Hunderassen*¹, die ja an Mannigfaltigkeit ihres äußeren Erscheinungsbildes nichts zu wünschen übrig lassen, haben mit dem Antiserum gegen das Blut eines *nachweislich rassereinen Schäferhundes*² quantitative Unterschiede im Blut von 19 „angeblich reinrassigen“ Hunden nicht erkennen lassen, was ja auch mit der bekannten allgemeinen Kreuzungsmöglichkeit der verschiedenen Hunderassen übereinstimmt. So sind wir, so interessant es auch vom anthropologischen Standpunkte aus wäre, mit den *bisherigen* biologischen Methoden nicht weitergekommen. Die von uns mit der *ABDERHALDENschen Abwehrferment-Reaktion* begonnenen Versuche, die vielleicht zum Ziele führen könnten, — deren Technik aber äußerst schwierig ist, — mußten aus äußeren Gründen leider abgebrochen werden.

VI. Die Anwendung meiner Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten legte mir den Gedanken nahe, zu untersuchen, ob es möglich sei, diese Methode auch für die *Differenzierung des Fleisches verschiedener Tiere* nutzbar zu machen. Von vornherein war das in höchstem Maße wahrscheinlich, da ja auch in gut ausgeschlachtetem Fleisch noch eine ziemliche Menge Blut vorhanden ist.

Durch umfangreiche Untersuchungen hatte ich festgestellt, daß auch bei den verschiedensten jahrelang angetrocknet gewesenen *Organen* von Schweinen (Milz, Leber, Herz, Muskel) die Reaktion noch positiv ausfiel und daß somit die *Herkunft dieser Organe* noch genau ermittelt werden konnte. Diese Tatsache war für mich der Ausgangspunkt zur Ausarbeitung einer *Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Fleischarten*, wie sie für die *Fleischbeschau* von grundlegender Bedeutung geworden ist.

Durch zahlreiche Versuche konnte von uns gezeigt werden, daß das Serum eines mit Schweineblut vorbehandelten Kaninchens nur in einem Schweinefleischauszuge, eines mit Katzenblut vorbehandelten Kaninchens nur in einem Auszuge von Katzenfleisch usw. einen Niederschlag erzeugte. Es wurden dann weiterhin spezifische Sera für den Hammel- und *Pferdefleischnachweis* hergestellt, indem gleichzeitig auf die eventuellen Verwandtschaftsreaktionen zwischen Pferde- und Esselfleisch, sowie zwischen Hammel-, Ziegen- und Rindfleisch hingewiesen wurde. Die Wichtigkeit dieser Methode für die Untersuchung von *Hackfleisch* auf Beimengung von Pferde-, Hunde- und Katzenfleisch usw. ergab sich danach von selbst. Es wurde ferner von mir die für die *Fleischbeschau* wichtige Tatsache festgestellt, daß der spezifische Nachweis auch noch in Räucherwaren (Sulze, Pastete) gelingt; so konnte selbst an jahrealten geräucherten Pferde- und

¹ UHLENHUTH: Arch. Kriminol. (im Druck).

² Zuchtbuch für deutsche Schäferhunde Bd. XXXI, Nr. 54984.

Schweineschinken die Herkunft noch mit Sicherheit ermittelt werden. Ebenso gelang es durch die spezifische Reaktion die Herkunft von Pferde- und sonstigen Mettwürsten festzustellen, falls nicht die reaktionsfähigen Eiweißkörper, wie bei der Leberwurst, durch Kochen zerstört waren.

Die Methode der Fleischuntersuchung, die von mir¹ zusammen mit WEIDANZ, WEDEMANN, BORGHMANN für die Praxis genau so wie die biologische Blutuntersuchung bis ins einzelste ausgearbeitet worden ist, fand durch die Arbeiten von JESS, PIORKOWSKI, NÖTEL, MIESSNER und HERBST, v. RIEGLER, GROENING, RUPPIN, W. A. SCHMIDT, SCHÜTZE, FIEHE u. a. volle Anerkennung und Bestätigung. Da es mit Hilfe der bisher gebräuchlichen chemischen und physikalischen Methoden nicht gelingt, Pferdefleisch, geschweige denn Fleisch irgendeines Tieres mit Sicherheit nachzuweisen, besonders wenn es sich um Wurst oder sonstige Fleischgemische handelt, so war es erklärlich, daß die *biologische Methode* für die *praktische Fleischbeschau* von außerordentlicher Bedeutung geworden ist. Für die *Auslandsfleischbeschau* ist die Präcipitation zum Nachweis von *Pferdefleisch* nach der von uns ausgearbeiteten Anweisung gesetzlich vorgeschrieben. Diese befindet sich in der Anlage a der am 1. 4. 1908 in Kraft getretenen Ausführungsbestimmungen D zum *Fleischbeschaugesetz*² und für die *Inlandsfleischbeschau* ist sie amtlich empfohlen (s. die betreffenden Verfügungen von Preußen, Württemberg, Bayern usw., sowie auch einschlägige Gutachten³). Für die praktische Anwendung der biologischen Methode im Rahmen des *Fleischbeschaugesetzes* würde frisches, gefrorenes, ausgetrocknetes, geräuchertes, gepökeltes, gekochtes und faulendes Fleisch (falls es nicht bereits vorher beanstandet wird) zur Untersuchung kommen können. In allen diesen Fällen gibt die biologische Reaktion über die Herkunft des Fleisches Auskunft, falls nicht die Eiweißkörper durch Kochen völlig zerstört sind. Trotz vieler Bemühungen ist es nicht gelungen, brauchbare Antisera gegen gekochtes Fleischeiweiß herzustellen. Bezuglich aller Einzelheiten der Technik und Methodik verweise ich auf die genannten Arbeiten.

Es sei noch erwähnt, daß unter das Verbot von zubereitetem Pferdefleisch auch die Einfuhr von *Pferdedärmen* und *angetrocknetem Pferdeblut* fällt. Auch in diesen Fällen hat sich das biologische Verfahren nach unseren Untersuchungen wie auch bei Fischfleisch mit

¹ UHLENHUTH, WEIDANZ u. WEDEMANN: Arb. Reichsgesdh.amt, 28, H. 3.

² Zbl. Dtsch. Reich 1908, 60.

³ UHLENHUTH u. WEIDANZ: Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens, S. 161. Jena: Gustav Fischer 1909. UHLENHUTH: Die serologischen Untersuchungsmethoden von Fleisch- und Wurstwaren, Eiern, Fischen usw. Im Handbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden von GOTTSCHLICH, S. 815. Jena: Gustav Fischer 1927.

Vorteil verwenden lassen (UHLENHUTH, WEIDANZ, BORCHMANN). Auch hat sich, was *forensisch* von Bedeutung ist, die Herkunft von *Tier-* und *Menschenknochen*¹, falls sich aus ihnen noch eine genügende Menge lösliches reaktionsfähiges Eiweiß extrahieren ließ, bestimmen lassen (BEUMER, SCHÜTZE, STEFFENHAGEN und CLOUGH), was in forensischen Fällen bei angebrannten, gebleichten oder verkohlten, bzw. lange Zeit im Wasser gelegenen Knochen nicht mehr der Fall war (wohl aber mit der *Anaphylaxie*-Reaktion S. 383).

VII. Wenn es sich auch in der forensischen Praxis in der Regel um frisches Material handelt, mit dem der spezifische Nachweis mit Hilfe der Präcipitation leicht gelingt, so dürfte doch die Untersuchung von *relativ alten Blutspuren* unter Umständen zur nachträglichen Aufklärung eines Verbrechens usw. von Bedeutung sein. Schon in meinen ersten Arbeiten konnte ich nachweisen, daß auch mit wochen- und monatelang, ja mit 3, 5 und 11 Jahre angetrockneten Blutflecken und $1\frac{1}{2}$ Jahre ausgetrockneten Organen die biologische Reaktion noch positiv ausfiel, was auch von anderer Seite bestätigt wurde (BIONDI, ZIEMKE, GRAHAM SMITH), auch bei 30—40 ja 60—70 Jahre alten mumifizierten Organen von Tier und Mensch konnte ich ihre Herkunft noch mit Sicherheit bestimmen, während in tausendjährigen ägyptischen *Mumien* und auch in einem hundert Jahre alten Pferdemuskel, sowie in mehrere hundert (100—450) Jahre alten Mumien aus dem *Bleikeller* im *Bremer Dom*, sowie auch in der Kopfhaut eines Inkaschädels die *Präcipitinreaktion* keinen positiven Ausschlag mehr gab. Die angeblich positiven Ergebnisse von v. HANSEMANN bei 3000—5000 Jahre alten ägyptischen Mumien beruhen, wie ich feststellte, auf Versuchsfehlern (Pseudoreaktionen s. oben). Jedoch konnte, wie ich bei dieser Gelegenheit erwähnen möchte, durch die sog. *Anaphylaxiereaktion* (s. unten) die Herkunft von einzelnen ägyptischen und peruanischen Mumien sowie des genannten 100 Jahre alten Pferdemuskels noch von uns festgestellt werden^{2 u. 3} (s. S. 343).

Wie oben erwähnt, hatte ich bei meinen ersten Untersuchungen im Winter 1900—1901 ein *Brett* (s. oben S. 315) mit verschiedenen Blutarten (Mensch, Pferd, Rind, Schwein usw.) bestrichen, an dem ich meine ersten Versuche mit angetrocknetem Blut anstellte. Diese Blutflecken gaben, wie mein Schüler ZIMMERMANN anlässlich der im Greifswalder medizinischen Verein mir zu Ehren veranstalteten Feier des 30jährigen Bestehens der forensischen Blutuntersuchung feststellte, noch eine prompte spezifische Reaktion⁴. Er konnte auch bei alten von mir

¹ STEFFENHAGEN und CLOUGH: *Klin. Wschr.* 1910, Nr 46.

² UHLENHUTH u. HAENDEL: *Z. Immunit.forsch.* 1910, Bd. IV, H. 6.

³ UHLENHUTH: *Festschrift für SCHWALBE. Z. Morph. u. Anthropol.* 1914, 18.

⁴ ZIMMERMANN: *Dtsch. med. Wschr.* 1931, Nr 6.

seinerzeit mit positivem Ergebnis untersuchten gerichtlichen Asservativen, die zum Teil 25—30 Jahre alt und in Reagensgläsern im Laboratorium aufbewahrt waren, in den meisten Fällen noch eine positive Reaktion erzielen. Nur in einigen Fällen hatte das Eiweiß seine Löslichkeit, trotz mehrtägiger Auslaugung — und daher seine Reaktionsfähigkeit verloren, besonders in Blutresten, die nur gering und in die Gewebsfasern fest eingesogen waren. Auch Blutflecken auf dem *glatten Papier* eines Notenblattes aus dem Jahre 1900, die ich damals als Schweineblut diagnostiziert hatte, waren unlöslich geworden.

Es geht aber aus diesen Untersuchungen hervor, daß auch die Untersuchung *relativ alter* Blutspuren zur nachträglichen Aufklärung eines Verbrechens noch erfolgreich sein kann. Eine Altersgrenze anzugeben, wann ein Erfolg der biologischen Reaktion nicht mehr zu erwarten ist, dürfte nicht möglich sein. Dem Versagen der Präcipitreaktion scheint in erster Linie ein *Verlust der Löslichkeit* (weniger der Spezifität) zugrunde zu liegen, der von der Einwirkung mannigfacher äußerer Einflüsse abhängig ist. Von Bedeutung ist, daß das Blut möglichst schnell antrocknet, weil durch das Antrocknen das Eiweiß nur wenig geschädigt wird und im angetrockneten Zustande viele Jahre unverändert erhalten bleibt, da es vor allem dem Einfluß der Fäulnis entzogen ist. Ich habe daher seinerzeit empfohlen, frisches Blut, das am Tatort gefunden und den Sachverständigen zur Untersuchung vorgelegt werden soll, auf einer einwandfreien Unterlage (Fließpapier) einsaugen und antrocknen zu lassen. ZIMMERMANN hat in Petrischalen von mir angetrocknetes und in Reagensgläsern in Substanz aufbewahrtes Blut vom Menschen und den verschiedensten Tieren — das 13—30 Jahre alt war — fast ausnahmslos noch mit positivem Ergebnis untersuchen können, wenn auch zur Herstellung der Lösungen bisweilen mehrere Tage notwendig waren. Ich selbst¹ habe, wie oben bereits erwähnt, noch mit 4 Jahre altem angetrocknetem in Kochsalzlösung aufgelöstem Hasenblut ein praktisch brauchbares Antiserum vom Kaninchen herstellen können, ja *selbst mit 30 Jahren altem, in gleicher Weise aufbewahrtem Menschenblut*, Hundeblut und Eiereiweiß gelang es mir, besonders hochwertige *spezifische Antisera* (Titer bis 1:80 000!) zu gewinnen. Alle diese Tatsachen dürften zur Differenzierung von schwer zu beschaffenden Blutsorten (z. B. von Wild in der Schönzeit usw.) auch von forensischer Bedeutung sein.

VIII. Im übrigen hat das *biologische Eiweißdifferenzierungsverfahren* auch für die *Nahrungsmittelkontrolle* und den *Nachweis von Verfälschungen* nach unseren Untersuchungen eine erhebliche *forensische* Bedeutung erlangt. So zur Feststellung von *Eidotter* in Teigwaren, Eigelbmargarine

¹ UHLENHUTH: Dtsch. med. Wschr. 1931, Nr 42.

usw., da es wie ich feststellte¹, mit einem spezifischen Dotterantiserum gelingt selbst Eidotter vom Eiklar zu unterscheiden (s. auch OTTO-LENGHI, EMMERICH u. a.). Auch Verfälschungen von *Kaviar* mit minderwertigem Fischrogen konnten mit dem biologischen Verfahren mit Sicherheit in meinem Laboratorium (KODAMA, HÄNDEL, SCHEER) nachgewiesen werden, da sich der Störkaviar von anderen Fischrogen mit einem spezifischen Serum sicher differenzieren ließ. Auch die Zusammensetzung bzw. Verfälschung von *Eiweiß-Nährpräparaten* des Handels konnte, wie bereits oben erwähnt, durch das biologische Verfahren aufgeklärt werden. So konnten wir nachweisen, daß Hämatogen (HOMMEL) und käufliches Hämoglobin Rindereiweiß enthält. Ich erinnere ferner an den sensationellen Prozeß wegen des Fleischsaftes „*Puro*“, der aus Preßsaft von frischem Ochsenfleisch bestehen sollte, aber lediglich Hühnereiweiß enthielt, wie wir durch die Präcipitinreaktion — ebenso wie von GRUBER und HORIUCHI — feststellen konnten. Auch zum Nachweis von *Bienenhonig* (Bieneneiweiß), d. h. zur Unterscheidung von Kunsthonig ist das biologische Verfahren von uns mit Vorteil in Anwendung gezogen worden (s. auch LANGER, RIEGLER, GALLI-VALERIO, THÖNI u. a.), desgleichen zum Nachweis der Herkunft von *Milchpräparaten* und *Käse* (SION und LAPTES). Auch zur Untersuchung von *Fettgewebe* (Butter, Knochenmark, Margarine), soweit sich daraus noch lösliches Eiweiß extrahieren lässt, ist das biologische Verfahren zur Bestimmung seiner Herkunft mit Erfolg in Anwendung gezogen worden. Das gilt auch für die Untersuchung von *pflanzlichen Eiweißstoffen* (Getreide, Mais, Reis, Leguminosen, Hanf, Mohn, Cocosamen, Mandeln und Pilzen (Trüffel, Champignon u. a., Hefe usw.), sowie auch zur Feststellung von *Futterverfälschungen* z. B. mit Ricinussamen (MIESSNER), wie die Fälle aus der Praxis bewiesen haben.

IX. Auch auf anderen Gebieten z. B. der *Physiologie* und der *klinischen Medizin* hat sich die Präcipitinreaktion z. B. zum Studium ernährungsphysiologischer Fragen (Resorptionsverhältnisse von artfremdem Eiweiß, Mechanismus der Albuminurie) als äußerst wertvoll erwiesen (UHLENHUTH, CITRON, ASCOLI, HAMBURGER, MORO usw.). Man hat sie weiterhin auch zur Erkennung von *Echinokokken* und *Tänierenerkrankungen*, zur *Krebsdiagnose* mit mehr oder weniger Erfolg herangezogen. Es sei in dieser Beziehung auf unsere Handbuchartikel (s. oben) verwiesen. Auch konnten am *Krankenbett* *Simulationsversuche* aufgedeckt werden, so z. B. bei einem Kranken, der eine Albuminurie fingierte. Nachdem im Urin statt menschliches Eiweiß Hühnereiweiß nachgewiesen worden war, gab er zu, daß er sein Frühstücksei in seinen Urin befördert hatte (WEGNER). Ein Mann, der eine Rente erschwindeln wollte, wurde

¹ UHLENHUTH: Dtseh. med. Wschr. 1903, Nr. 5.

eines Morgens in seinem mit Blut befleckten Bett vorgefunden. Er gab an, einen „Blutsturz“ gehabt zu haben. Da die ärztliche Untersuchung keinen Anhaltspunkt dafür ergab, wurden mir die Blutflecken zur Untersuchung übergeben. Ich stellte *Rinderblut* fest. Als ihm das auf den Kopf zugesagt wurde, gab er zu, zum Zwecke der Täuschung ein Fläschchen mit Rinderblut, das er sich aus dem Schlachthof hatte besorgen lassen, in seinem Bette ausgegossen zu haben.

Über einen ähnlichen Fall berichtet MERKEL, der bei einer jahrelang wegen angeblichem Ulcus ventriculi in ärztlicher Behandlung befindlichen und Rente beziehenden Frau nachweisen konnte, daß sie heimlich Rinderblut in ihr Speigefäß schüttete.

Kurz hinweisen möchte ich noch auf meine Arbeiten über *Organ-spezifität*, die von meinen ersten oben erwähnten Untersuchungen über die Unterscheidung der *Eiweißstoffe* des *Hühnereies* und *Hühner-blutes* ihren Ausgang genommen haben, also mit der biologischen *Bluteiweißdifferenzierung* in engem Zusammenhang stehen.

Ich konnte feststellen, daß die *Krystallinse des Auges* der einzige bis jetzt bekannte tierische Eiweißkörper ist, der mit einem Blutantiserum keine Präcipitin-Reaktion gibt¹. Umgekehrt gab ein vom Kaninchen durch Einspritzung von Linseneiweiß erzeugtes Antiserum nur in Linseneiweiß eine Reaktion, nicht aber in den zugehörigen Blutlösungen bzw. Lösungen anderer Organe. So konnten *Blut-* und *Linseneiweiß* — also zwei Eiweißkörper desselben Organismus — mit Sicherheit von einander unterschieden werden. Diese Untersuchungen führten dann weiterhin zu dem naturwissenschaftlich interessanten Ergebnis, daß die *Krystallinse* der Säugetiere, Vögel und Amphibien zum Teil in minimalen Spuren auch der Fische ein biologisch gleichartiges Eiweiß besitzt. Kaninchen, die z. B. mit Rinderlinseneiweiß vorbehandelt sind, liefern ein Serum, das einen gleichmäßigen Niederschlag in Linseneiweiß des Menschen, Schweines, des Hundes, des Frosches usw. erzeugt, so daß hier das Gesetz der Artspezifität der biologischen Methode durchbrochen zu sein scheint. Die *Linse* ist also gleichsam als *artfremder Eiweißkörper* im tierischen Organismus anzusehen. Eine Erklärung dafür liegt vielleicht in der Tatsache, daß die Linse ein rein epitheliales Organ ist, das des spezifischen Bluteiweißes vollkommen entbehrt. Diese *Organspezifität der Linse* ist dann Gegenstand umfangreicher Arbeiten auch der Ophthalmologen geworden (RÖMER, CRU-
SIUS, v. SZILY, DOERR, KRAUS, OKAMOTO, SHIBATA, UHLENHUTH, HÄNDEL). SACHS hat diese Reaktion als *Lipoidantikörperreaktion* gedeutet und eine ähnliche *Organspezifität* beim *Gehirn* festgestellt.

¹ UHLENHUTH: Festschrift R. KOCH (60. Geburtstag, 11. Dezember 1903). Jena: Gustav Fischer.

Ohne auf die weiteren Arbeiten über *Organspezifität*, die bei der Differenzierung von Eiweißkörpern der *Milch* und der *Vogeleier* (Eiklar und Eidotter) eine praktische Bedeutung erlangt haben, näher einzugehen; möchte ich kurz hinweisen auf die *forensisch* interessante Sonderstellung von *Hämoglobineiweiß*. A. KLEIN und H. PFEIFFER konnten feststellen, daß die nach Einspritzung von Erythrocytenextrakten (Hämoglobin) verschiedener Tierarten auftretenden Präcipitine spezifisch sind, d. h. Niederschläge nur in dem Erythrocytenextrakt derjenigen Tiergattung hervorrufen, welche zu ihrer Erzeugung benutzt war. In den zugehörigen Blutseris treten dagegen Niederschläge mit einem solchen Antiserum nicht auf. KLEIN glaubte daher mit Hilfe solcher Antisera auf den chemischen Blutnachweis verzichten zu können. Im übrigen greifen die Hämoglobinantisera ebenso wie die Antisera gegen Blutserum auf die verwandten Tierarten über (Pferd-Esel, Mensch-Affe usw.) Wir selbst konnten bestätigen, daß die Serum- und Erythropräcipitine, wenn auch nicht vollkommen so doch ziemlich streng spezifisch sind. Wenigstens haben wir mit Serumpräcipitinen, wenn das zur Immunisierung benutzte Serum nicht hämoglobinhaltig war, im aufgelösten Blut keine deutliche Reaktion erzielen können. Trotz zahlreicher Versuche ist es uns aber nicht gelungen, *hochwertige Hämoglobinantisera* herzustellen (UHLENHUTH und WEIDANZ), was auch von anderer Seite beobachtet ist. Zudem liegt ein Bedürfnis nach solchen Seris, die in der *Praxis* auch wohl kaum erprobt sind, nicht vor. Im übrigen verweise ich auf die einschlägigen Arbeiten (LEERS, HECTOEN und SCHULHOFF, HEIDELBERGER und LANDSTEINER, HIJASCHI u. a.).

Zu beachten ist aber im Hinblick auf die *Spezifität* der Serum- bzw. Erythro- (Hämoglobin-) Präcipitine die forensisch wichtige von MEZGER, JESSER und VOLKMANN¹ gemachte Beobachtung, daß der Extrakt auf *Holz angetrockneter* Blutkrusten mit dem gewöhnlichen — auf Serum eiweiß eingestellten spezifischen Antiserum — keine oder doch nur schwache Präcipitinreaktion ergab, während ein Extrakt von *unter der Kruste* entnommenen Holzteilchen, wohinein das bei der Gerinnung ausgepreßte Serum hineingesogen war, eine deutliche Reaktion erkennen ließ. Es scheint mir wichtig, in diesem Zusammenhang auf diese Beobachtung hinzuweisen.

Auch über die biologische Differenzierung aus *Geschlechtseiweiß* wie sie von mir und DUNBAR durchgeführt worden ist, müssen noch einige Bemerkungen gemacht werden. Letzterer konnte bei *Pflanzen* und auch bei *Tieren* feststellen, daß die männlichen und weiblichen Geschlechtszellen sich serobiologisch gegeneinander und auch gegen andere Gewebsbestandteile desselben Organismus wie artfremd ver-

¹ MEZGER, JESSER u. VOLKMANN: Dtsch. Z. gerichtl. Med. 21, H. 1.

halten (s auch GRAETZ). Besonders konnte er das bei *Sperma* und *Rogen* der *Fische* nachweisen. Ich selbst konnte mit meinen Mitarbeitern HÄNDEL, KODAMA und SCHERN den Nachweis erbringen, daß *Fischrogen* eiweiß sich scharf von *Fischfleisch* desselben Tieres unterscheiden läßt. Auch konnte gezeigt werden, daß die Eier vom Stör sich von anderem Fischrogen (Karpfen, Rotauge, Brasse, Schleie, Lachs, Hering, Forelle) differenzieren läßt. Auf dieser Tatsache beruht der oben erwähnte Nachweis von *Kaviarverfälschungen*.

In ähnlicher Weise konnte von uns das *Froscheiereiweiß* vom Froschfleischeiweiß biologisch scharf voneinander unterschieden werden, während Froschlaichantiserum auch Extrakte von Kaulquappen-weiß desselben Frosches wenn auch nur schwach präzipitierte, nicht aber den Fleischextrakt des ausgewachsenen geschlechtsreifen Frosches (UHLENHUTH, WURM, HSIÄ¹). Bei diesen Untersuchungen konnte dann die wichtige Feststellung gemacht werden, daß die *schleimige Eihülle* von Lurchen, die aus *Mucin* besteht und nach unseren Untersuchungen mit größter Wahrscheinlichkeit frei von Beimengungen echten Eiweißes ist, antigene Eigenschaften besitzt, so daß es möglich ist, auch gegen *Mucine Präcipitine* von anscheinend spezifischem Charakter zu erzeugen. Es liegen hier wohl ähnliche Verhältnisse vor wie bei der von mir zuerst nachgewiesenen Antikörperbildung gegen das fast reine *Kohlehydrat Gummi arabicum*², eine Feststellung der zahlreiche Untersuchungen über *C-hydrat-Antikörper* bei Bakterien gefolgt sind (AVERY, HEIDELBERGER usw.). In letzter Zeit habe ich dann noch die interessante Beobachtung gemacht, daß, wie sich beim Frosch verschiedene Entwicklungsstadien bezüglich ihrer Eiweißkörper durch die Präcipitinreaktion voneinander unterscheiden lassen, ähnliche Verhältnisse auch bei den verschiedenen Stadien des *Kartoffelkäfers*, mit dessen Biologie und Bekämpfung ich mich neuerdings beschäftigt habe³, vorliegen. Vor allem gelang es mir mit einem gegen die *Eier* des Kartoffelkäfers gerichteten präcipitierendem Antiserum das *Eiereiweiß* in den *geschlechtsreifen weiblichen eiertragenden Käfern* durch die Präcipitinreaktion nachzuweisen, während diese Reaktion an männlichen Käfern ausblieb. Man sollte solche Untersuchungen auch auf die Entwicklungsstadien anderer Insekten (z. B. Schmetterlinge, Raupen) ausdehnen.

Bemerken möchte ich noch, daß ich früher schon versucht habe, durch Anwendung *hochwertiger Antisera* gegen menschliches *Sperma*

¹ UHLENHUTH-WURM: Z. Immunit.forsch. 96, H. 2 (1939). — HSIÄ: Z. Immunit.forsch. 98, H. 5 (1940).

² UHLENHUTH: Dtsch. med. Wschr. 1905, Nr 14. — UHLENHUTH-REMY: Z. Immunit.forsch. 79 (1933); 82 (1934); 85 (1935); 88 (1936); 92 (1938).

³ UHLENHUTH: Kartoffelkäferforschung und -bekämpfung. Aulendorf: Editio Cantor 1948.

eiweiß Unterschiede im Blut von geschlechtsreifen Männern und Frauen festzustellen. Die Versuche verliefen jedoch völlig negativ, während ich gelegentlich beobachten konnte, daß *hochwertige* Antisera gegen Hühnereiklar im Bluteiweiß von geschlechtsreifen Hühnern einen stärkeren Niederschlag erzeugte wie in dem Blut von Hähnen.

X. Meine Ausführungen über die *biologische Eiweißdifferenzierung* würden unvollständig sein, wenn ich nicht wenigstens kurz noch auf 2 Methoden hinweisen würde, die vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus ein hohes Interesse beanspruchen, da man mit ihnen minimalste Eiweißspuren festzustellen imstande ist, d. h. als *Komplementbindungsreaktion* in dem *Anaphylarieverfahren*.

Was die *Komplementbindung* (BORDET, GENGOU) betrifft, die bei der Diagnose von Infektionskrankheiten wie Syphilis (WASSERMANN) Rotz usw. eine große praktische Bedeutung erlangt hat, so ist diese Methode von NEISSE und SACHS auch zur *Kontrolle* und *Ergänzung der Präcipitinmethode*, mit der sie in der Regel parallel geht, für die Unterscheidung von Menschen- und Tierblut in Vorschlag gebracht worden. In Fällen, wo die Präcipitinreaktion in sehr starken Verdünnungen nur noch angedeutet ist, dokumentiert sich der positive Ausfall der Reaktion noch in auffälliger Weise durch Ausbleiben der Hämolyse, während das Auftreten der Hämolyse einen negativen Ausfall der Reaktion anzeigt. Die Komplementbindung leistet uns bei wissenschaftlichen Laboratoriumsversuchen, wo wir es mit *reinen* Eiweißlösungen zu tun haben, ausgezeichnete Dienste und ich selbst habe sie für derartige Untersuchungen mit Erfolg angewandt.

Was nun aber die *Verwertbarkeit* in der *forensischen Praxis* anbetrifft, so ist sie gegenüber dem einfachen Präcipitinverfahren außerordentlich kompliziert und schwer auszuführen. Auch ist sie überaus empfindlich. Diese außerordentliche Empfindlichkeit ist ihr besonderer Nachteil bei der praktischen Handhabung, da sie bei Anwesenheit von $1/100\,000$ bis $1/1\,000\,000$ cm³ Bluteiweiß noch positiv sein kann. So gibt auch menschlicher Schweiß unter Umständen eine positive Reaktion, was bei Untersuchung eines schweißdurchtränkten blutbefleckten Hemdes z. B. verhängnisvoll werden kann. Bei der Präcipitinmethode ist das selbst mit hochwertigem Antiserum nicht der Fall. Auch konnten wir feststellen, daß Extrakte aus verschiedenen Substraten (Säcke, Fußlappen, wollene Strümpfe usw.) an sich schon ablenkende Stoffe enthalten können, die zu Irrtümern Veranlassung geben können. Angesichts der großen Kompliziertheit und ihrer übergroßen Empfindlichkeit und der kaum übersehbaren Fehlerquellen ist die Methode wenigstens für die *gerichtsärztliche Praxis* selbst in der Hand eines erfahrenen Sachverständigen *nicht zu empfehlen*. Eine feinere Reaktion wie die nach unseren Vorschriften auszuführende Präcipitinmethode

brauchen wir in der Praxis nicht. Ich verlange, daß in jedem forensischen Fall zunächst die gewöhnliche Präcipitinreaktion nach den bekannten Vorschriften auszuführen ist. Ist die Reaktion positiv, so ist ja eine eigentliche Kontrolle überhaupt überflüssig, da Zweifel nicht entstehen können. Ist die Präcipitinreaktion negativ, die Komplementbindung aber positiv, so darf in der Praxis, wo es sich ja häufig um Leben oder Tod eines Menschen handelt, auf den positiven Ausfall der Reaktion *allein* ein Urteil über die Provenienz des Blutes nicht abgegeben werden (UHLENHUTH und LÖFFLER)¹.

Die gleichen Gesichtspunkte gelten auch für die Anwendung der Methode in der *Fleischbeschau*, wo sie als Bestätigungsreaktion bei positivem Ausfall der Präcipitinreaktion herangezogen werden kann.

Ähnlich ist unser Urteil über die *Bedeutung der Anaphylaxiereaktion*, die bekanntlich eine biologische Reaktion im lebenden Tierkörper ist. Ihre Spezifität und die Tatsache, daß auch hier bereits minimalste Eiweißspuren genügen, um beim Meerschweinchen typische anaphylaktische Erscheinungen auszulösen, legten den Gedanken nahe, sie zur Differenzierung der verschiedenen Eiweißarten praktisch zu verwenden. Die mit meinem Freund und Mitarbeiter HÄNDEL ausgeführten umfangreichen Untersuchungen führten uns zu der Erkenntnis, daß in allen Fällen, wo die Präcipitinreaktion anwendbar ist auch die Anaphylaxiereaktion mit herangezogen werden kann, daß aber das Ergebnis der *Präcipitinreaktion als allein ausschlaggebend* anzusehen ist. Die außerordentliche Feinheit der Reaktion, da auch — wie mit Schweiß — mit Urin sensibilisierte Tiere mit menschlichem Serum positiv reagieren, so daß sogar die *Urine*² der verschiedenen Tiere voneinander differenziert werden können, mahnt jedoch auch hier zur allergrößten Vorsicht. Aber auch wegen der Umständlichkeit, der nicht geringen technischen Schwierigkeiten, sowie der schwierigen Beurteilung der bei den einzelnen Tieren individuell verschiedenen auftretenden Überempfindlichkeiterscheinungen, ist das *Verfahren* für die *gerichtsärztliche Praxis* nicht zuverlässig genug und daher *ungeeignet*. Auch ist es durchaus entbehrlich. Damit soll aber der Wert der Methode für rein *wissenschaftliche* Forschungen keineswegs herabgesetzt werden, wenn es sich z. B. darum handelt, die mit der Präcipitinmethode erzielten Ergebnisse zu bestätigen und zu ergänzen. Das gilt z. B. für meine Differenzierungsversuche mit Froscheiweiß und Fischfleisch, sowie Froscheiern, Kaulquappen und Froschfleischeiweiß (S. 340), die mit den obengenannten mit der Präcipitinmethode gewonnenen Ergebnissen übereinstimmen. Wo aber die *Präcipitinreaktion versagt*

¹ UHLENHUTH, u. LÖFFLER: *Klin. Jb.* **19** (1908).

² UHLENHUTH u. HÄNDEL: *Z. Immunit.forsch.* **4**, H. 4 (1910). — RHEIN: *Z. Immunit.forsch.* **19**, H. 3 (1913). — SCHEIDIN: *Diss.* Straßburg 1914.

oder überhaupt aus technischen Gründen nicht ausgeführt werden kann, wird man die Reaktion für *wissenschaftliche Fragen* mit Vorteil heranziehen können. Ich habe diese Verhältnisse mit HÄNDEL zusammen eingehend studiert. Es zeigte sich, daß die Methode auch bei der Unterscheidung verwandter Blutarten versagt, ja sie greift wegen ihrer Feinheit noch viel mehr über wie die Präcipitinreaktion, so daß man selbst Ratten- und Mäuseblut im Gegensatz zur Präcipitinreaktion nicht voneinander unterscheiden kann (S. 329). Andererseits ist es uns gelungen, bei Meerschweinchen, die mit Extraktten von einigen ägyptischen Mumien der 26. Dynastie (600 v. Chr.) und der 21. Dynastie (950 v. Chr.), sowie von koptischen und peruanischen Mumien vom Totenfeld von *Ancon* beim Nachspritzen mit Menschen serum deutliche anaphylaktische Erscheinungen festzustellen (s. S. 335). Auch in 14 Jahre altem, *völlig verfaultem Menschenblut*, das lange der Sonne ausgesetzt war und wo die Präcipitinreaktion versagt hatte, gelang es, Meerschweinchen noch überempfindlich zu machen. Auch unsere weiteren Versuche mit *gekochtem* Pferdefleisch, Schellfischfleisch und gekochten Würsten (UHLENHUTH und HÄNDEL), sowie von gekochten, angebrannten und gefaulten Knochen¹, wo die Präcipitinreaktion und chemische Eiweißreaktion versagt hatte (S. 335), ergaben noch ein positives Resultat. Jedoch zeigte sich hier ein starkes *Übergreifen* der Reaktion bei Nachprüfung der Meerschweinchen mit heterologem Eiweiß, da, wie zuerst HAILER² und sodann BÜRGER³ in meinem Laboratorium feststellten, *stark abgebautes Eiweiß* (Eiweißspaltprodukte) die *Spezifität* bei der Anaphylaxiereaktion *einbüßt*. HAILER benutzte für seine Versuche durch Zerkochen mit Dampf oder mit Säure bzw. durch peptische und tryptische Verdauung gewonnenes Material, sowie Fleischextrakt und Nährpräparate, BÜRGER Aminosäuren, reine Albumosen, Protamine, Acidalbumine.

„Das durch artspezifischen Aufbau unspezifischer Bausteine charakterisierte Eiweißmolekül zerfällt beim Abbau in seine Bausteine, diese vermögen bei ihrer Verimpfung einen sensibilisierenden Reiz auf den geimpften Organismus auszuüben. Die *Sensibilisierung* ist aber *nicht spezifisch*. Es treten nämlich bei der Nachbehandlung auch mit heterologem Eiweiß typische anaphylaktische Erscheinungen auf. Die Unspezifität der erzielten Sensibilisierung tritt auch dann hervor, wenn in der zur Vorbehandlung benutzten Lösung neben den Eiweißspaltprodukten noch koagulierbares (artspezifisches) Eiweiß vorhanden gewesen war“ (HAILER). Interessant ist schließlich auch eine von

¹ UHLENHUTH-HÄNDEL: Z. Immunit.forsch. 4, H. 6 (1910). — STEFFEN-HAGEN-CLOUGH: Klin. Wschr. 1910, Nr 46.

² HAILER: Arb. ksl. Gesdh.amt, Berl. 47 (1914).

³ BÜRGER: Z. Immunit.forsch. 33, H. 2 (1914).

meinen Schülern festgestellte Tatsache, daß es mit lange in *Alkohol konservierten Organen* gelang, Meerschweinchen zu sensibilisieren, aber nur dann, wenn das fein zerriebene Organmaterial in Substanz subcutan oder intramuskulär den Tieren einverleibt wurde (DOLD und AOKI¹), während das mit Extrakt (KODAMA²) nicht gelang. So konnte KLAEBE³ noch bei 25, 38, 41 und 50—60 Jahre alten Alkoholpräparaten positive zum Teil noch spezifische Reaktionen erzielen.

Auch auf *pflanzliche Öle* und *Fette*, wo ja eine Präcipitinreaktion ebenfalls aus technischen Gründen ausgeschlossen war, haben wir unsere Untersuchungen ausgedehnt. Mit *rohem* Leinöl, Rüböl, Mandelöl, Cocosbutter sensibilisierte Meerschweinchen zeigten bei späterer Prüfung mit entsprechendem pflanzlichem nativen Eiweiß anaphylaktische Erscheinungen, wenn sie auch nicht in allen Fällen eindeutig waren. Auch ließen sich auf diese Weise *Futterverfälschungen* durch Ricinussamen, Ackersenf und Kornrade nachweisen (SCHERN⁴). Ähnliche Ergebnisse wie mit pflanzlichen erzielten wir auch mit *tierischen Fetten* (Butter, Schweineschmalz, Rindertalg, Klauenöl) bei Nachprüfung mit dem homologen Serum, wobei die mit Butter sensibilisierten Tiere sowohl auf Nachbehandlung mit roher und gekochter Milch, sowie mit Rinderserum reagierten. Die Erscheinungen waren bei diesen Versuchen auch nicht immer so überzeugend, daß die Abgabe eines endgültigen Urteils in jedem Falle möglich war, so daß hier *große Vorsicht* geboten ist. Ich muß es mir versagen, hier auf alle weiteren Differenzierungsversuche (Menschen- und Tierhaare, Haut, Organeiweiße (Linse), Hämoglobin, Geschlechtseiweiß) noch näher einzugehen und verweise auf die einschlägigen Arbeiten⁵.

Ich komme zum Schluß. Ich hoffe, daß es mir gelungen ist, aus *persönlichem Erleben* heraus und unter Berücksichtigung eigener Forschungsergebnisse einen Überblick über den Werdegang und die Entwicklung der biologischen Eiweißdifferenzierung gegeben und besonders auch den Weg und die Gedankengänge gekennzeichnet zu haben, die mich zur Entdeckung des Verfahrens *zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut* geführt haben.

Dabei dürfte aus meinen Ausführungen hervorgehen, daß das biologische Eiweißdifferenzierungsverfahren nicht nur für die Rechts-

¹ DOLD u. AOKI: Z. Hyg. 75 (1913).

² KODAMA: Z. Hyg. 74 (1914).

³ KLAEBE: Arch. Tierhk. 44, H. 3/4 (1918).

⁴ SCHERN: Arch. Tierhk. 36 (1910). —

⁵ UHLENHUTH u. HÄNDEL: Z. Immunit.forsch. 4, H. 6 (1910). — UHLENHUTH: Über die biologische Eiweißdifferenzierung unter besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchungen. Nahrungsmittelchemie in Vorträgen. Herausgeg. von W. KERP. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1914. — CLOUGH: Arb. ksl. Gesdh.amt, Berl. 31, H. 2 (1911).

sprechung und gerichtliche Medizin in allen Kulturstaaten von fundamentaler Bedeutung geworden ist, sondern auch durch den sinnfältigen Nachweis der *Blutsverwandschaft* unter den Tieren wichtige Beiträge für die Tiersystematik, Entwicklungs- und Abstammungslehre, geliefert hat. Auch hat sie die Erforschung *epidemiologischer Zusammenhänge* bei den durch *blutsaugende Insekten* übertragenen Infektionskrankheiten wesentlich gefördert. Darüber hinaus hat sie sich für die *praktische Fleischbeschau* und *Nahrungsmittelkontrolle* (Verfälschungen) als unentbehrlich erwiesen und ist gesetzlich vorgeschrieben. Auch hat sie zur Lösung *rein wissenschaftlicher Fragen* auf dem Gebiete der Physiologie, Pathologie, klinischen Medizin, Anthropologie, Zoologie, Botanik und anderer Naturwissenschaften überaus wertvolle Dienste geleistet.

In dem Bestreben die Präcipitinreaktion nach allen Richtungen möglichst zuverlässig und einwandfrei zu gestalten, habe ich, um alle Fehlerquellen auszuschalten, eingehende *technische Anweisungen* und Vorschriften ausgearbeitet und bin dabei — auch unter Hinzuziehung der Komplementbindungs- und Anaphylaxiereaktion — zu den *äußersten Grenzen* ihrer erstaunlichen *Leistungsfähigkeit* vorgedrungen. Mit einer weiteren Verfeinerung kann meiner Ansicht bei den jetzigen Methoden nicht mehr gerechnet werden. Für die *forensische Praxis* dürfte es auch kaum nötig sein, denn es hat sich gezeigt, daß die *Präcipitinreaktion in der Hand eines erfahrenen Sachverständigen* allen Anforderungen gewachsen ist.

Anhang.

Vorschriften für die staatliche Prüfung präcipitierender Immunsera zur biologischen Eiweißdifferenzierung¹.

I. Gewinnung, Herstellung, Vorprüfung und Einsendung zur staatlichen Prüfung.

1. Wegen der Bedeutung der durch die biologische Eiweißdifferenzierung zu erhebenden Befunde dürfen bei gerichtlichen Verfahren, bei der amtlichen Fleischbeschau² und bei Nahrungsmitteluntersuchungen³ nur solche präcipitierenden Sera zur Anwendung kommen, die zuvor einer staatlichen Prüfung im PAUL EHRLICH-Institut, Staatliche Anstalt für experimentelle Therapie, Frankfurt a. M. unterzogen und als tauglich befunden worden sind.

2. Die zur biologischen Eiweißdifferenzierung dienenden präcipitierenden Immunsera (Testsera) werden auf Antrag des Herstellers einer staatlichen Prüfung nach den Vorschriften der Absätze 3—17 unterworfen. Herstellungsstätten, welche die bezeichneten Testsera einer staatlichen Prüfung unterstellen, dürfen ungeprüfte Testsera der genannten Art nicht in den Verkehr bringen.

¹ Siehe Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut, Frankfurt a. M., H. 47. Jena: Gustav Fischer 1948.

² Ausführungsbestimmungen D zum Fleischbeschaugesetz vom 29. 10. 40, RGBl. I, S. 1463.

³ Reichsgesetz betreff des Verkehrs mit Nahrungsmitteln usw. vom 14. 5. 79 bzw. 5. 7. 27.

3. Wer Testsera für die biologische Eiweißdifferenzierung einer staatlichen Prüfung unterstellen will, hat dies der zuständigen Behörde mitzuteilen, welche einen staatlichen Kontrollbeauftragten sowie einen Vertreter bestimmt, der nach den Vorschriften der Absätze 4—12 bei der staatlichen Prüfung mitzuwirken hat. Wegen der Vereidigung dieser staatlichen Kontrollbeauftragten wird auf die entsprechenden Anordnungen im § 16 der „Vorschriften über Impfstoffe und Sera“ (VMBL. 1929, S. 664) verwiesen.

4. Jeder Hersteller, welcher seine Testsera einer staatlichen Prüfung unterstellt, hat über die Gewinnung und Abgabe der Sera Listen zu führen, die folgende Angaben enthalten müssen:

- a) Operationsnummer des Testserums,
- b) Art der Vorbehandlung und Nummer der serumspendenden Tiere,
- c) Tag(e) der Blutentnahme(n),
- d) Menge und Behandlung des erhaltenen Serums (filtriert),
- e) Ergebnis der Prüfung durch den Hersteller,
- f) Tag der Absendung an das Prüfungsinstutut,
- g) Tag des Eingang des Bescheides des Prüfungsinstutes und das mitgeteilte Ergebnis,
- h) Tag der Abgabe des Testserums, Menge des abgegebenen Testserums,

5. Zwecks Gewinnung der Testsera ist das frisch entnommene Blut — zur Vermeidung einer Opalesenz des Serums sollen die Tiere vor der Blutentnahme 24 Stunden ohne Futter bleiben — über Nacht in den Eisschrank zu stellen, das Serum am nächsten Tage abzuheben, möglichst bald durch rasches Zentrifugieren von den Blutkörperchenresten zu befreien und darauf steril zu filtrieren. Von keimwidrigen Zusätzen ist abzusehen, da dieselben den Titer der Sera ungünstig beeinflussen und zu Trübungen der Sera führen können, wodurch die Sera unbrauchbar werden.

6. Die Einleitung der staatlichen Prüfung ist von dem Hersteller bei dem staatlichen Kontrollbeauftragten zu beantragen. Ist das zu prüfende Testserum in verschiedenen Behältern aufbewahrt, so hat der staatliche Kontrollbeauftragte zu untersuchen und nach Anhörung des Herstellers darüber zu entscheiden, ob und inwieweit nach Maßgabe der angestellten Vorprüfungen die Gleichwertigkeit der in den verschiedenen Behältern aufbewahrten und zu prüfenden Testsera als nachgewiesen anzusehen ist. Von jeder Operationsnummer des Testserums hat der Sachverständige oder staatliche Kontrollbeauftragte zweimal je 2 cm^3 in sterilisierte Fläschchen zu entnehmen und einzusenden. Für das Serum eines jeden Tieres ist eine besondere Operationsnummer zu verwenden. Eine Mischung von Seren verschiedener Tiere, auch der gleichen Art, darf nicht stattfinden.

7 a. Nach der Probeentnahme sind die die Proben enthaltenden Verpackungen von dem staatlichen Kontrollbeauftragten zu plombieren oder mit Banderolen zu verschließen. Ebenso sind die Behälter, in denen das zu prüfende Testserum sich befindet, mit einer Plombe zu verschließen. Die Behälter sind in einem von dem Hersteller zur Verfügung zu stellenden Kühlschrank unter Mitverschluß durch den staatlichen Kontrollbeauftragten aufzubewahren.

7 b. Der Hersteller hat die Proben der für die biologische Eiweißdifferenzierung bestimmten Testsera mit einem Begleitschreiben nach Muster der Anlage 1 an das Prüfungsinstutut zu senden. Auf den die Proben enthaltenden Gefäßen ist die Operationsnummer des Testserums anzugeben. Der Inhalt der Begleitschreiben ist von dem staatlichen Kontrollbeauftragten auf seine Richtigkeit zu prüfen und gegenzuzeichnen.

8. Für die Prüfung der Testsera und für die Beurteilung der Prüfungsergebnisse gelten die unter Ziffer II gegebenen Vorschriften. Von dem Ausfall der

Prüfung ist dem Hersteller sofort durch Schreiben nach dem Muster der Anlage 2 Nachricht zu geben.

9 a. Testsera, welche nach dem Prüfungsergebnis der staatlichen Prüfungsstelle untauglich sind, dürfen von dem Hersteller nicht abgegeben werden.

9 b) Testsera, welche tauglich befunden worden sind, sind zur Abgabe freizugeben. Die Entfernung der Plomben von den Behältern, in denen die Testsera aufbewahrt werden und die Abfüllung der Testsera in die Versandgefäße dürfen nur unter Kontrolle des staatlichen Kontrollbeauftragten erfolgen.

Die Abfüllung der Sera zur Abgabe erfolgt am besten in braune, vollkommen klare Röhrchen von etwa 12,5 cm Länge und 0,7 cm Durchmesser. In jedes Röhrchen wird 1 cm³ Serum direkt einfiltriert. Darauf werden die Röhrchen mit steriles Wattepropfen verschlossen und bei Zimmertemperatur im Dunkeln 7 Tage aufbewahrt. Bleibt das Serum während dieser Zeit vollkommen klar und ist sein Titer als genügend hochwertig festgestellt worden, so werden die Röhrchen zugeschmolzen. Der Titer eines Testserums ist als genügend hochwertig anzusehen, wenn es bei Unterschichten in einer homologen Eiweißlösung in einer Verdünnung von 1:20 000 innerhalb von 5 Min. eine deutliche Trübung oder Flockung hervorruft.

9 c. Packungen, in denen die geprüften Testsera in den Verkehr gebracht werden, müssen mit Plomben oder Banderolverschluß gesichert und mit Vermerken versehen sein, aus denen Herstellungsstelle, Operationsnummer, Art (Anti-Mensch, Anti-Rind usw.), Menge und Titer des Testserums, die Zeitangaben der Gewinnung und der staatlichen Prüfung sowie die voraussichtliche Verwendbarkeitsdauer ersichtlich sind. Auf den Plomben oder Banderolen muß sich ein auf die Prüfung durch den staatlichen Kontrollbeauftragten hinweisendes Zeichen finden; auch müssen die Gefäße die deutliche Aufschrift tragen „staatlich geprüft“.

10. Die voraussichtliche Verwendbarkeitsdauer der präcipitierenden Testsera ist auf ein Jahr nach der Zulassung zu bemessen; nach Ablauf dieser Frist findet eine Einziehung der etwa noch im Verkehr befindlichen Operationsnummern statt. Tauglich befundene Testsera werden von dem Prüfungsinstutut nach 6 Monaten einer erneuten Prüfung unterzogen.

11. Der staatliche Kontrollbeauftragte hat eine Liste zu führen, in die über jede Prüfung eine Aufzeichnung einzutragen ist. Daraus muß ersichtlich sein:

- a) Name des Herstellers und Operationsnummer des Testserums,
- b) Zeit der Gewinnung,
- c) Menge, Art und Behandlung (filtriert) des Testserums,
- d) Menge des zur Prüfung entnommenen Testserums,
- e) Tag der Einsendung des Serums an das Prüfungsinstutut,
- f) Ergebnis der Prüfung,
- g) Menge des freigegebenen Testserums,
- h) Tag der Einfüllung in die Versandgefäß.

12. Die Gebühren der staatlichen Prüfung einschließlich der dem staatlichen Kontrollbeauftragten zu zahlenden Vergütungen fallen dem Hersteller zur Last.

II. Staatliche Prüfung der präcipitierenden Immunsera.

13. Die staatliche Prüfung der Sera erstreckt sich auf die Feststellung der Wertigkeit (Titerhöhe) und der Artspezifität sowie auf Keimfreiheit, Klarheit und etwaige Opalescenz.

14. Für die Titerbestimmung werden 4 gleichmäßig dicke und saubere kleine Reagensröhrchen mit Rand (Präcipitationsröhrchen) in ein passendes Gestell

eingehängt, so daß die Kuppen der Röhrchen nicht verdeckt werden. Von den betreffenden Serumarten, zu deren Nachweis das Antiserum dienen soll, werden zuerst mit 0,85%iger Kochsalzlösung Verdünnungen 1:1000, 1:10000 und 1:20000 hergestellt. Mit einer sterilen geeichten Pipette werden in Röhrchen I, II und III je 1 cm³ der klaren Verdünnungen 1:1000, 1:10000 und 1:20000 gebracht. Röhrchen IV wird mit 1 cm³ 0,85%iger Kochsalzlösung beschickt. Zum Einfüllen dieser verschiedenen Lösungen genügt eine sterile, 1 cm³ fassende geeichte Pipette, indem man zuerst Röhrchen IV, dann III, II und zuletzt I mit den Verdünnungen versieht. In die einzelnen Röhrchen läßt man nunmehr je 0,1 cm³ des zu prüfenden klaren Antiseraums mit einer sterilen graduirten geeichten Pipette (1 cm³ mit 100 Teilstichen) an der Wand des schräg gehaltenen Röhrchens hinzulaufen (Unterschichtung). Ohne zu schütteln werden dann die Röhrchen bei durchfallendem Tageslicht betrachtet, indem zwischen Lichtquelle und Reagensröhren eine schwarze Fläche (geschwärzter Pappdeckel oder dgl.) schräg nach oben geneigt gehalten wird. Bei einem den Anforderungen entsprechenden Antiserum muß in Röhrchen I fast sofort (spätestens nach 1—2 Min.) eine deutliche Trübung in der Kuppe des Röhrchens auftreten. Nach 3 bzw. 5 Min. muß auch in Röhrchen II bzw. III die beginnende Trübung deutlich erkennbar sein. Die Reaktion ist zuerst als hauchartige Trübung an dem Boden des Röhrchens sichtbar und verwandelt sich nach etwa 5 Min. in eine mehr oder minder starke Trübung oder Flocking, die sich weiterhin als Bodensatz absetzt. Entsprechend den einzelnen Verdünnungen verläuft die Reaktion mehr oder weniger schnell. Röhrchen IV muß dagegen vollständig klar bleiben.

15. *Die Prüfung auf Artspezifität* wird in der Weise ausgeführt, daß eine Reihe heterologer Eiweißlösungen von je 1:200 und 1:1000 hergestellt wird. Das homologe Serum wird dagegen nur 1:1000 verdünnt. Wie bei der Titerbestimmung werden die einzelnen Lösungen zu je 1 cm³ in die Präcipitationsröhren gebracht und mit je 0,1 cm³ Antiserum unterschichtet. Während in den mit homologer Eiweißlösung beschickten Röhrchen sofort nach dem Antiserumzusatz eine deutliche spezifische Trübung auftreten muß, müssen die übrigen Röhrchen noch nach 20 Min. absolut klar bleiben. Bei der Titerbestimmung von Pferdeantiserum muß in jedem Falle genau die Spezifität des Serums gegen Schweine- und Rinderserum (bzw. Schweine- und Rindfleischlösung) bestimmt werden, wobei die Verwandtschaftsreaktionen, z. B. Pferd, Esel, Schaf, Ziege zu berücksichtigen sind. Sera, die mit heterologen Eiweißlösungen starke Trübungen (über 1:200) aufweisen, sind für die Praxis unbrauchbar und werden zur Abgabe nicht zugelassen.

16. *Zur Prüfung auf Keimfreiheit* wird ein Röhrchen mit verflüssigtem und auf 45° abgekühltem Agar mit einem Tropfen Serum beschickt, umgeschwenkt, und der Inhalt des Agarröhrens in eine Petrischale zur Plattenkultur ausgegossen. In ein Röhrchen mit Nährfleischbrühe wird ebenfalls ein Tropfen Serum hinzugegeben. Platte und Röhrchen müssen nach 6 tägigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° steril befunden werden.

17. *Die Prüfung auf Klarheit* erfolgt mit durchfallendem Licht; die Prüfung auf Opalescenz mit durchfallendem und auffallendem Licht gegenüber einem schwarzen Hintergrund.