

(Aus dem Institut für Wissenschaftliche Gerichtsexpertise in Odessa.)

Über den Einfluß von Gewebstoffen auf den Verlauf der Isohämooagglutination¹.

Von
Dr. W. N. Zipp.

Die Methodik zur Bestimmung der Blutgruppen in Blutflecken ist in der Praxis der Gerichtsmedizin bereits befriedigenderweise von *Lattes, Schiff* u. a. Verfassern ausgearbeitet worden. Das Verfahren der unmittelbaren Agglutination und die Adsorptionsmethode mit nachfolgender Abspaltung der Agglutinine erlaubt es dem Gerichtssachverständigen in den meisten Fällen mit voller Sicherheit, dieses oder jenes Gutachten abzugeben. Dies bezieht sich hauptsächlich auf trockenes Blut, welches in Schuppen- oder Pulverform von Holz, Glas, Stein und selbst Eisen gesammelt worden ist.

Die Bestimmung der Blutgruppen in Flecken auf verschiedenen Stoffen bereitet dagegen oft große Schwierigkeiten. Nur allzu häufig erhält man dabei unklare Ergebnisse und ist gezwungen, sich einer kategorischen Antwort zu enthalten.

Bei unseren Arbeiten auf dem Gebiete der Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit von Blut auf materiellen Beweisstücken, machten wir es uns zur Aufgabe, den Grund der Fehlschläge mit Blutflecken auf Geweben aufzuklären. Beim Studium der Frage der Identifizierung von Gewebstoffen stießen wir auf die Mannigfaltigkeit der hygroskopischen Eigenschaften von Stoffen. Während einige Gewebe das Wasser sehr rasch einsaugen und der Wassertropfen eine große Fläche ergreift, saugen andere den Tropfen überhaupt nicht auf, so daß er lange seine Halbkugelform bewahrt. Versuche mit reinem Blute, welches auf das Gewebe in einer Menge von 0,05 ccm aufgetragen wurde, ergaben gleiche Resultate.

Natürlich kann das Blut, selbst bei minimaler Menge, im 1. Falle, d. h. bei energischer Aufsaugefähigkeit des Stoffes, eine große Fläche einnehmen und dadurch sozusagen eine „Verdünnung“ der vorhandenen Agglutinine herbeiführen; im 2. Falle bildet das auf beschränkter Fläche

¹ Vorgetragen auf der Konferenz des Odessaer Wissenschaftlichen Instituts für Gerichtsexpertise am 8. II. 1930.

eingetrocknete Blut eine Kruste und die Agglutinine befinden sich infolgedessen in einem bedeutend konzentrierteren Zustande. Durch diese Verschiedenheit werden in vielen Fällen die unklaren Resultate, welche die unmittelbare Agglutination unter dem Deckglase ergibt, erklärt.

Laboratoriumsversuche zur Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit von 2 Wochen alten Blutflecken auf einem gewaschenen Stück Baumwollstoff und einem neuen Stück Wollstoff zeigten, daß auch der Stoff selbst einen wichtigen physikalisch-chemischen Einfluß auf die Blutagglutinine übt, der bei Adsorptionsversuchen beachtet werden muß. Daher lenkten wir unsere Aufmerksamkeit auf die Bearbeitungsprozesse, denen Gewebsstoffe unterworfen werden, ehe sie auf den Markt gelangen. Jeder Stoff wird, bevor er sein endgültiges Aussehen erlangt, einer ganzen Reihe von mechanischen und chemischen Arbeitsprozessen unterzogen. Die mechanischen Einwirkungen auf die Faser, das Gespinnst und das Gewebe außer acht lassend, wollen wir nur die chemische Bearbeitung der Gewebe in Betracht ziehen.

Zur Aufnahme des einen oder anderen Farbstoffes wird jeder Stoff einer Behandlung mit verschiedenen chemischen Substanzen, den sog. Beizen, unterworfen. Die Anzahl der Beizen ist sehr groß. Als Beizmittel werden Aluminium-, Eisen-, Chrom-, Nickel-, Mangan-, Blei-, Zinn-, Antimon- u. a. Salze verwandt. Bei Farben basischen Charakters ist die Anwendung von Gerbsäure weit verbreitet.

Zur Beschwerung, Verleihung von Dichtigkeit und äußerem Ansehen wird, namentlich bei undichten Gewebsstoffen, eine Appretur angewandt, die aus verschiedenen chemischen Substanzen besteht. Die Appreturmittelrezepte, z. B. für Baumwollstoffe, werden in mehrere Klassen geteilt und bei Zusammenstellung eines Appreturmittelrezeptes bieten sich die verschiedensten Möglichkeiten für die Wahl und Menge der Bestandteile.

Wir führen hier einige dieser Bestandteile von Appreturmitteln an:

1. Klebstoffe: Kartoffelmehl, Weizen-, Mais- und Reisstärke, Dextrin, Knochenleim, Gummi, Tragant.
2. Substanzen, die zur Verleihung von Dichtigkeit und zur Beschwerung der Stoffe dienen: Porzellanerde, Alabaster, Feldspat, Talkum.
3. Substanzen, die dem Gewebe Glanz verleihen: Wachs, Glycerin, Cocosöl, Cocosöl- und Spermazetseifen, Ozokerit, Paraffin.
4. Substanzen, die die Stoffe einfetten und sie elastisch machen: Alizarin-, Ricinus- und Baumöl, Oleinsäure, grüne Seife, tierische Fette, Naphtheinsäure.
5. Hygroskopische Substanzen: Glycerin-Magnesium, Zuckersirup.
6. Antiseptica: Kupfervitriol, Salicylsäure, Zinksalze u. a.

In dieser Zusammenstellung sind die Farbstoffe, die zum Färben der Gewebe dienen, nicht angegeben.

Je nach Art des Gewebes wird das Appreturmittel nach bestimmter Vorschrift zusammengesetzt und nach dem Auskochen auf das Gewebe gebracht. Je undichter das Gewebe, desto mehr Porzellanerde, Talkum und Alabaster wird hinzu getan. Diese Substanzen verleihen einerseits dem Gewebe Dichtigkeit (Porzellanerde), Elastizität und Geschmeidigkeit (Talkum), andererseits dienen sie als Mittel zur Anfüllung der Maschenöffnungen lockerer Gewebe.

Die Schwankungen in quantitativer Hinsicht bei Zusammenstellung der Appreturen sind aus den zwei folgenden Vorschriften zu ersehen (nach *Burow*):

1. *Rezept.*

Kartoffelmehl	52 kg
Reisstärke	12 „
Talkum	12 „
Kaolin	12 „
Feldspat	48 „
Cocosöl	4 „
Alizarinöl	2 „
Stearin	800 g
Wachs	800 g
Ultramarin	200 g
Wasser	720 l

2. *Rezept.*

Kartoffelmehl	56 kg
Stärke	14 „
Kaolin	40 „
Talkum	12 „
Cocosöl	3,2 kg
Soda	3,2 „
Glycerin	1,6 „
Ultramarin	210,0 g
Wasser	900 l

Die Beizen und Appreturmittel müssen unbedingt auf die Blutagglutinine in den Flecken, ebenso wie auf die Manipulationen, welche bei der Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit des Blutes in Geweben angewandt werden, eine Einwirkung haben. Einige dieser Substanzen sind imstande, die Agglutinine zu zerstören, andere adsorbieren sie, die dritten können zerstörend auf die Erythrocyten wirken.

Bei unseren Versuchen, den Einfluß der Gewebe auf die Agglutinine festzustellen, stießen wir auf einige Schwierigkeiten in der Wahl der Methode. Eine einheitliche Methodik für die Arbeit mit Agglutininadsorption im Sinne einer Anwendung von Sera bestimmter Konzentrationen, ist nicht vorhanden. *Syrakusa* benutzt Sera in einer Verdünnung von 1 : 4, *Schiff* wendet ein Gemisch von α - und β -Sera, jedes davon in einer Verdünnung von 1 : 5, an, so daß nach der Mischung jedes 1 : 10 verdünnt ist. *Schiff* empfiehlt für praktische Zwecke, zur Feststellung der vollkommenen Aufsaugung der Agglutinine, mit stark verdünntem Serum zu arbeiten. *Kraïnskaja-Ignatowa* und *Hecker* wenden das Titrierverfahren an. Sie titrieren vorerst das Serum und wählen für ihre Versuche diejenige Verdünnung, welche die Agglutination nicht später als in 5 Min. ergibt. Diese letzte Methode wählten wir, da sie am besten geeignet ist, uns anschauliche Resultate zu geben.

Wir arbeiteten mit dem Gemisch von α - + β -Serum, in einigen Fällen auch mit jedem Serum einzeln. Die Erythrocytenaufschwem-

mung war 5proz. Es wurde das Vincentsche Verfahren angewandt. Der Untersuchung wurden die verschiedensten Gewebearten, farbige wie auch ungefärbte (ungewaschen), unterworfen. Insgesamt untersuchten wir 65 Proben, davon 34 baumwollene, 18 wollene und 13 seidene.

Die Versuche wurden folgendermaßen durchgeführt: Es wurden aus den Stoffproben kleine Stückchen von 1 qcm ausgeschnitten, auf Glas zerfasert und in Reagensgläschen gebracht. Ins Gläschen wurden 0,2 ccm $\alpha + \beta$ -Serum gegossen, der Inhalt mit einem Glasstäbchen gut durchgerührt und das Gläschen für 24 Std. in den Eisschrank gestellt. Darauf wurde das Serum abgesaugt und auf das Vorhandensein von Agglutininen geprüft.

Die Ergebnisse waren sehr verschieden. In einigen Sera waren die Agglutinine vollständig erhalten, andere zeigten Agglutinine — im Vergleich mit dem Kontrollserum — mit Verspätung, d. h. die Agglutination trat erst nach 10—15—20 Min. ein, während das Kontrollserum die Agglutination in der 4. bzw. 5. Min. zeigte, eine III. Gruppe ergab eine teilweise Agglutination, d. h. der Titer der Agglutinine sank dermaßen, daß die Agglutination sich nur mikroskopisch feststellen ließ, und schließlich gab es einige Sera, welche ihre Agglutinine vollkommen verloren hatten, so daß mikroskopisch nur freiliegende Erythrocyten sichtbar waren.

Eines der Sera verhielt sich im Vergleich mit den übrigen ganz besonders. Der Gewebsstoff (Wolle), mit dem der Versuch angestellt wurde, gab an das Serum hämolytische Substanzen ab. In diesem Falle war es uns ganz unmöglich, eine An- oder Abwesenheit von Agglutininen im Serum festzustellen. Wiederholte Versuche in dieser Richtung ergaben immer die gleichen Resultate. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1.

Gesamtzahl	Baumwolle Proben	Wolle Proben	Seide Proben	Ergebnisse der Untersuchung
34	19	7	8	Agglutination unverändert
12	5	5	2	Verspätete Agglutination.
11	7	3	1	Agglutination nur mikroskop. sichtbar
7	3	2	2	Fehlen von Agglutination
1		1		Hämolyse.

Nachdem wir das vollkommene Verschwinden der Agglutinine in Sera, in denen einige Gewebsstoffe angesetzt waren, festgestellt hatten, unterzogen wir diese Frage einem speziellen Studium, und zwar in quantitativer Hinsicht, d. h. wir untersuchten, in welchem Maße die Gewebsstoffe imstande sind, den Titer der Agglutinine im Serum zu senken.

Der Titer des Mischserums, das wir bei unserem Versuche gebrauchten, war 1 : 25, d. h., daß es bei einer 25fachen Verdünnung die Agglutination nicht später als in 5 Min. bewirkte. Aus diesem Serum bereiteten wir eine Reihe von Verdünnungen von 1 : 4 bis 1 : 24 und verteilten je 0,2 ccm einer jeden Verdünnung in Reagenzgläsern, in welche Stoffstückchen von 1 ccm hineingebracht wurden. Eine Reihe von Reagenzgläsern wurde mit dunkelgrünem Tuch, eine andere mit schwarzer Seide (Atlas), eine 3. mit Baumwollstoff (Kaliko) beschildert. Darauf wurden alle Gläser 24 Std. in den Eisschrank gestellt und nach Ablauf dieser Zeit das Serum auf seinen Gehalt an Agglutininen untersucht. Die Ergebnisse dieses Versuchs sind aus Tab. 2 zu ersehen. Die + - Zeichen bedeuten Vorhandensein der Agglutination. Die Reaktion wurde mikroskopisch abgelesen.

Tabelle 2.

Verdünnung	Tuch	Seide	Baumwollstoff	Kontrolle
1 : 4	+	+	+	+
1 : 6	+	+	+	+
1 : 8	+	+	+	+
1 : 10	+	+	+	+
1 : 12	+	+	+	+
1 : 14	+	+	+	+
1 : 16	+	+	—	+
1 : 18	+	+	—	+
1 : 20	—	+	—	+
1 : 22	—	—	—	+
1 : 24	—	—	—	+

Dieser Versuch beweist, wie vorsichtig man beim Bestimmen der Gruppzugehörigkeit des Blutes in Flecken auf Gewebstoffen und im besonderen in der Wahl des Verfahrens vorgehen muß. Der Stoff kann, je nach seiner technologischen Bearbeitung, entweder den Gang der Agglutination verlangsamen (z. B. bei Beizung mit $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$) oder den Titer der Agglutinine durch deren Adsorption herabdrücken. Die Möglichkeit einer teilweisen Zerstörung der Agglutinine, durch Chemikalien, die sich im Gewebstoffe befinden, ist auch nicht ausgeschlossen.

Leider standen uns keine Stoffe zur Verfügung, deren genaue chemische Bearbeitung uns bekannt gewesen wäre. Daher konnten wir die von uns berührte Frage nicht eingehender beleuchten. Das Studium in dieser Richtung wird fortgesetzt. In der vorliegenden Arbeit stellen wir nur die Tatsache der Titersenkung infolge der Einwirkung einiger Gewebstoffe und die Möglichkeit schwerer Fehler bei Verwendung von Serum in großen Verdünnungen und geringen Mengen im allgemeinen fest. Um solche Fehler zu vermeiden, muß neben dem Grund-

versuch ein Kontrollversuch gemacht werden, d. h. ein besonderes Reagensglas mit Serum und einem Stückchen vom gleichen aber blutfreien Gewebstoff beschickt und das Resultat aus beiden Versuchen ermittelt werden.

Bei der Arbeit mit Sera, welche sich dem Endtiter ihrer Agglutinine nähern, muß zunächst der Einfluß des Gewebstoffes selbst auf das Serum geprüft und im Falle der Abnahme des Agglutinationstiters das Serum konzentrierter genommen werden.

Der unten folgende Fall aus unserer Praxis zeigt mit besonderer Anschaulichkeit die Notwendigkeit eines solchen Verfahrens bei der Untersuchung.

Dem Institute wurden das Hemd des eines Mordes verdächtigen Bürgers und ein aus dem Rock des Ermordeten ausgeschnittenes Stück Stoff zur Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit beider Blutproben eingesandt.

Am rechten Ärmelaufschlage des Hemdes befanden sich drei Blutflecken, welche das Gewebe durchtränkt hatten. Die Untersuchung zeigte, daß die Flecken von menschlichem Blut herrührten. Auf dem Stoffausschnitt vom Rocke des Ermordeten waren Blutflecken, die den Stoff durchtränkt hatten. Auf einem der Flecken befand sich eine kleine Blutschuppe. Zuerst wurde ein Versuch mit Hilfe der direkten Agglutination, mit dem Flecken am Hemde und der Blutschuppe vom Stofflappen des Rocks nach dem Verfahren von *Lattes* unter dem Deckglas angestellt, wobei sich feststellen ließ, daß das Blut am Hemde der Gruppe A, und das Blut auf dem Rocke der Gruppe O angehört. Darauf schnitten wir Stückchen vom blutbefleckten Stoffe des Hemdes und auch des Rockes aus und stellten mit denselben einen Adsorptionsversuch an. Da erwies es sich, daß das Blut vom Hemde wiederum die Gruppe A ergab, während das Blut am Rock der Gruppe AB angehörte. Die Serumverdünnung, die hierbei benutzt wurde, betrug 1 : 32.

Nunmehr fügten wir von sechs verschiedenen Serumverdünnungen, und zwar 1 : 22, 1 : 24, 1 : 26, 1 : 28, 1 : 30, 1 : 32, je 0,2 ccm zu den Reagensgläsern hinzu, in denen sich 1 ccm aufgelockerter Stoff vom blutbefleckten Rock befand. Nach 24stündigem Abstehen auf Eis zeigte die Prüfung auf Agglutiningehalt, daß die Verdünnung 1 : 32 keine Agglutination ergab, 1 : 28 ergab eine verspätete Agglutination, 1 : 26 eine Agglutination nach 4 Minuten.

Für den Grundversuch wurden 2 Stoffproben mit Blut vom Rock, die eine in ein Reagensglas mit 0,2 ccm Serum in einer 1 : 32 Verdünnung, die andere in ein Reagensglas mit 0,2 ccm in 1 : 26 Verdünnung gelegt. Außerdem wurde durch Ausreiben und Abschaben gesammeltes Blut in Pulverform von den Flecken an der Rockprobe erhalten und in ein Reagensglas gebracht, welches 0,2 ccm Serum in 1 : 32 Verdünnung enthielt. Nach 24stündigem Stehen auf dem Eise wurde das Serum auf Agglutiningehalt untersucht.

Auf Tabelle 3 sind die Ergebnisse dieser Untersuchung angegeben.

Tabelle 3.

Serumverdünnung	Beim Versuche verwendetes Material	Ergebnisse	Gruppenzugehörigkeit
1 : 32	Blutpulver	Agglutinine erhalten	O
1 : 32	Blutbeflecktes Gewebe	Agglutinine fehlen	AB
1 : 26	Blutbeflecktes Gewebe	Agglutinine erhalten	O

Der obige Fall zeigt in anschaulicher Weise, daß die Anwendung von Serum mit geringem Agglutiningehalt bei der Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit von Blut auf Geweben mittels Adsorption — wenn nicht ein Studium des Gewebsstoffs vorhergegangen ist — zu irrtümlichen Schlußfolgerungen führen kann. In unserem Falle erhielten wir anstatt der Gruppe O in der Blutprobe vom Rock bei Verwendung von stark verdünntem Serum die ganz entgegengesetzte Gruppe AB.

Schlußfolgerungen.

1. Substanzen, die zur Bearbeitung von Geweben benutzt werden, wie z. B. Beiz- und Appreturmittel, können auf die Agglutinine des Serums einen Einfluß ausüben.

2. Dieser Einfluß kann durch die adsorbierende und zerstörende Wirkung der Appretur- und Beizmittel auf die Agglutinine des Serums erklärt werden.

3. Einige Gewebsstoffe, welche zwecks Adsorption der Agglutinine eine Zeitlang im Serum gehalten wurden, schieden in das letztere Substanzen aus, welche die Kontrollerythrocyten zerstörten.

4. Bei Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit des Blutes in Flecken auf Gewebsstoffen ist es notwendig, den Einfluß des Stoffes selbst auf die Agglutinine aufzuklären.
