

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Kiel.)

Über Spermakristalle.

Von

Prof. Dr. Ernst Ziemke, Kiel.

Mit 1 Textabbildung.

Jeder, der in die Lage kommt, Spermauntersuchungen machen zu müssen, weiß, daß dies eine mühevoll und zeitraubende Arbeit ist. Kommen Wäsche- oder Kleidungsstücke in Betracht, so kann man sich in der Regel darauf gefaßt machen, daß endlose Wiederholungen der Untersuchung an den verschiedensten Stellen der Objekte notwendig sind. Dazu sind die übersandten Wäschestücke, Bettlaken, Hosen usw. durch ihre Unsauberkeit oft so unappetitlich, daß schon eine gewisse Selbüberwindung dazu gehört, die unvermeidlichen Manipulationen an den Objekten vorzunehmen.

Da der exakte Spermanachweis zur Zeit allein durch die Feststellung der Spermazellen, sei es auch nur in einem einzigen unverletzten Exemplar, gebunden ist, hat man von jeher versucht, die Stellen der *wahrscheinlichen* Beschmutzung herauszufinden und hierzu die Spermakristallproben herangezogen.

Die in der Spermauntersuchung gebräuchlichsten Krystallproben sind die *Florensesche* Jodkrystallprobe und die *Barberiosche* Pikrinsäureprobe.

Kürzlich hat nun *W. Niederland*¹ über eine neue mikrochemische Spermareaktion Mitteilung gemacht, bei der es sich auch nicht um eine spezifische, sondern lediglich um eine Gruppenreaktion handelt. Bringt man zu einem Tropfen Sperma etwas Schwefelsäure, so entstehen nach kurzer Zeit zahlreiche stark lichtbrechende, glänzende Krystalle in Form von prismatischen Nadeln oder Stäbchen, die schon bei schwacher Vergrößerung, bei auffallendem Licht auch mit bloßem Auge oder mit einer Lupe gut erkennbar sind. Die Bildung der Krystalle schreitet in wenigen Stunden so weit fort, daß sie, teils einzeln und regellos nebeneinander liegend, teils in charakteristischen Drusen vereint sich über den ganzen Tropfen ausbreiten. Neben den Nadeln sieht man auch mehr flächenhafte rhombische Formen. Die Krystalle sind in kaltem und

¹ *W. Niederland*, Med. Welt **5**, 149 (1931).

heißem Wasser, in Äther, Alkohol, Chloroform unlöslich. *Niederland* vermutet, daß sie aus schwefelsaurem Kalk bestehen. (Abbildung.)

Für ihre Darstellung aus Spermaflecken wird der Fleck 3—4 Stunden in Wasser maceriert, von dem Macerationsextrakt 1 Tropfen auf einen Objektträger gebracht und 1 Tropfen einer 3proz. Schwefelsäure zugefügt, den man am besten aus einer Pipette mitten auf den Tropfen des Macerationsextraktes fallen läßt. Die Krystalle bilden sich oft schon nach wenigen Minuten, bei sehr dünnen Spermaextrakten erst nach einigen Stunden; zuweilen treten sie nicht überall im Tropfen, sondern gruppenweise am Rande des Tropfens auf. In solchen Fällen läßt man den Objektträger unberührt liegen und beobachtet nach 2—3 Stunden, wie weit die Krystallbildung vorgeschritten ist. Die Krystalle sind nach *Niederlands* Mitteilung sehr beständig und bleiben Wochen und Monate nahezu unverändert. Sie bilden sich auch in faulem Sperma, wo die *Florensesche* und die *Barberiosche* Spermakrystallprobe stets versagt. Die Reaktion ist sehr empfindlich, sie fällt noch in beträchtlichen Verdünnungen des Spermas positiv aus. Selbst nach

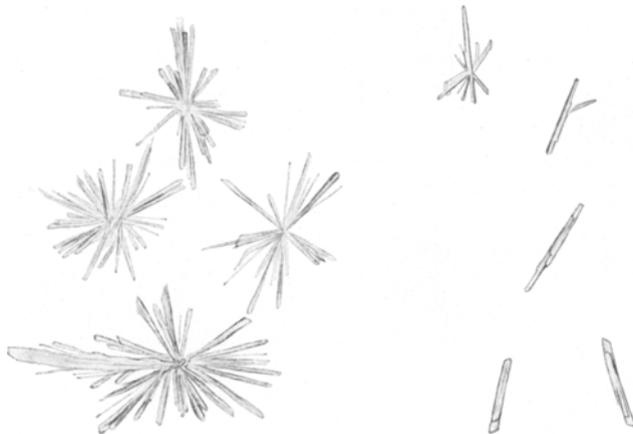


Abb. 1.

mehrfachem Aufkochen und anschließendem Abwaschen der Spermaflecke kamen noch immer reichliche Krystalle bei Versetzung der Macerationsflüssigkeit mit Schwefelsäure zustande, während die anderen mikrochemischen Proben negativ blieben.

Die Mitteilungen *Niederlands* gaben mir Veranlassung, das große von mir zu Kurszwecken seit Beginn meiner Lehrtätigkeit gesammelte Spermamaterial des Kieler Institutes für gerichtliche Medizin durchuntersuchen zu lassen. Es wurden Reihenuntersuchungen angestellt, und zwar, um ein Urteil über die Brauchbarkeit der gebräuchlichen Krystallproben zu gewinnen, unter Hinzuziehung der *Florenseschen* und der *Barberioschen* Spermakrystallprobe. Die Ergebnisse sind in den beigefügten Tabellen wiedergegeben.

Im ganzen wurden 76 Spermaspuren untersucht, bei denen die Schwefelsäureprobe stets positiv ausfiel, während die *Florensesche* Probe 20mal, die *Barberiosche* Probe sogar 52mal versagte (Tab. 1—3).

Tabelle 1.

Jahr	Probe mit H ₂ SO ₄	Florence	Barberio	Probe mit H ₂ SO ₄	Florence	Barberio
<i>Spermaflecke auf Leinwand mit Wasser 20 Stunden in der Kälte extrahiert.</i>				<i>Kontrollversuch: Sperma auf Leinwand mit Wasser in der Kälte 68 St. extrahiert.</i>		
1901	+	+	—	.	.	.
1902	+	+	—	.	.	.
1903	+	—	—	.	.	.
1903	+	—	—	.	.	.
1903	+	+	—	.	.	.
1903	+	+	—	.	.	.
1904	+	+	+	.	.	.
1904	+	—	—	.	.	.
1904	+	+	—	.	.	.
1904	+	+	—	.	.	.
1905	+	+	—	.	.	.
1905	+	+	—	.	.	.
1905	+	+	—	+	+	—
1905	+	—	—	+	—	—
1906	+	—	—	+	—	—
1907	+	+	—	+	+	—
1907	+	—	—	+	—	—
1908	+	—	—	+	—	—
1908	+	+	—	+	+	—
				<i>Nach 3 Tagen, davon 2 Tage in der Kälte, 24 Stunden in der Wärme.</i>		
1909	+	—	—	+	—	—
1910	+	—	—	+	—	—
1910	+	—	—	+	—	—
1911	+	+	—	+	—	—
1912	+	+	—	+	+	—
1912	+	+	—	+	+	—
1912	+	+	—	+	—	—
1912	+	+	+	+	—	—
1913	+	+	—	+	+	—
1914	+	+	—	+	—	—
1919	+	+	—	+	—	—
1920	+	—	—	+	—	—
1921	+	+	—	+	+	—
1921	+	—	—	+	—	—
1923	+	+	—	+	+	—
1924	+	+	—	+	+	—
1926	+	+	—	+	+	—
1926	+	+	—	+	+	—
1928	+	+	+	+	+	—
1930	+	+	—	+	+	—
1930	+	+	—	+	+	—
1931	+	+	—	+	+	—

Tabelle 2.

Jahr	Probe mit H ₂ SO ₄	Florence	Barberio	Probe mit H ₂ SO ₄	Florence	Barberio
<i>Spermaflecke auf Hosentuch 20 Stunden mit Wasser kalt extrahiert.</i>				<i>Kontrollversuch: Spermaflecke auf Hosentuch nach 4 Tagen, davon 1 Tag in Wärme extrahiert.</i>		
1919	+	+	+	+	—	—
1919	+	+	—	+	—	—
1920	+	—	—	+	—	—
1920	+	+	—	+	—	—
1921	+	+	+	+	—	—
1921	+	+	+	+	—	—
1923	+	+	—	+	+	—

Auch aus Samenblasenflüssigkeit, Prostata-saft und Hodensubstanz, die von Leichen entnommen wurden, war die Schwefelsäurereaktion in 23 Untersuchungen stets positiv, während hier die *Florence*sche Probe nur 1 mal positiv, die *Barberio*sche Probe stets negativ ausfiel (Tab. 4).

Andere Körperflüssigkeiten, wie Nasenschleim, Sputum, Gonokokkeneiter, Vaginalsekret und Vernix caseosa-Flecke gaben gleichfalls immer eine positive Schwefelsäurereaktion; *Florence* und *Barberio* blieben hier immer negativ (Tab. 4).

Wie *Niederland* bereits angegeben hat, ist die Schwefelsäurereaktion gegen Fäulnis sehr beständig. Dies konnte durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Beginnende Fäulnis nach eintätiger Aufbewahrung des Macerationsextraktes im warmen Raum hatte nicht den geringsten Einfluß auf den positiven Ausfall der Schwefelsäurereaktion, bei der *Florence*schen Probe wurden von 22 positiven Fällen 9 negativ; bei der *Barberio*schen Probe wurden dagegen die 5 positiven Fälle unter den 29 untersuchten Flecken sämtlich negativ (Tab. 1 u. 2).

Besonders deutlich war die Einwirkung der beginnenden Fäulnis auf die *Florence*sche und *Barberio*sche Probe bei Spermaflecken auf Hosentuch. Während auch hier die Schwefelsäurereaktion völlig unbeeinflusst blieb, verlor die *Florence*sche Probe ihre Reaktionsfähigkeit unter 6 Fällen 5 mal, die *Barberio*sche Probe unter 3 Fällen 3 mal (Tab. 2).

Bei *Florence* und *Barberio* war der Eintritt der Reaktion auch von dem Material abhängig, auf dem das Sperma eingetrocknet war. Dickes Hosentuch gab bei beiden relativ häufiger einen positiven Ausfall als Leinwand. Bei Leinwandflecken war *Florence* 13 mal negativ unter 41 Fällen, dagegen bei Hosentuchflecken nur 1 mal unter 7 Fällen. *Barberio* fiel bei 41 Leinwandflecken 38 mal negativ aus, bei 7 Hosentuchflecken 4 mal. Hier fiel die besonders reichliche Bildung der Kristalle auf. Das verhältnismäßig sichere Eintreten der *Florence*schen

Tabelle 3.

Jahr	Probe mit H ₂ SO ₄	Florence	Barberio
<i>Spermaflecke auf Papier mit Wasser 44 Stunden in der Kälte extrahiert.</i>			
1903	+	+	—
1903	+	—	+
1904	+	—	—
1906	+	+	+
1906	+	+	—
1906	+	+	+
1907	+	+	+
1909	+	+	+
1914	+	+	+
1915	+	+	+
1915	+	+	+
<i>Extraktion nach 72 Stunden.</i>			
1914	+	—	—
1914	+	—	—
1914	+	—	—
1915	+	—	—
1921	+	+	—
1922	+	+	+
1922	+	+	—
1922	+	+	—
<i>Sperma eingetrocknet in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.</i>			
?	+	+	+
1922 (Cond.)	+	+	+
1923 C-Watte	+	+	+
<i>Sperma flüssig unter Chloroform aufbewahrt.</i>			
1908	+	+	+
1914	+	+	+
1930	+	+	+
1930	+	+	+
1931	+	+	+
1931	+	+	+

Reaktion bei Antrocknung des Spermas auf dickem Hosentuch ist wohl darauf zurückzuführen, daß der Macerationsextrakt hier konzentrierter war als bei den Leinwandflecken (Tab. 1 u. 2).

In flüssigem Sperma traten alle 3 Proben in allen 6 untersuchten Fällen ein, ebenso waren die Schwefelsäureprobe, die *Florence*sche und die *Barberio*sche Probe in den 3 Fällen von eingetrockneter Spermaflüssigkeit positiv (Tab. 3).

Endlich hat das Alter der Spermaspuren auf den Ausfall der Schwefelreaktion gleichfalls gar keinen Einfluß. Alle Spuren, die im Institut

Tabelle 4.

Fall	Probe mit H ₂ SO ₄	Florence	Barberio
<i>Samenblasenflüssigkeit, frisch entnommen, untersucht bis 24 Stunden nach Entnahme.</i>			
1	+	—	—
2	+	—	—
3	+	—	—
4	+	—	—
5	+	—	—
6	+	—	—
7	+	—	—
8	+	—	—
9	+	—	—
10	+	+	—
11	+	—	—
<i>Hodensubstanz, frisch entnommen, untersucht bis 24 Stunden nach Entnahme.</i>			
1	+	—	—
2	+	—	—
3	+	—	—
4	+	—	—
<i>Prostatast, frisch entnommen, untersucht bis 24 Stunden nach Entnahme.</i>			
1	+	—	—
2	+	—	—
3	+	—	—
4	+	—	—
5	+	—	—
6	+	—	—
7	+	—	—
8	+	—	—
<i>Körperflüssigkeiten auf Leinwand 3 Tage mit Wasser kalt extrahiert.</i>			
Vern. caseosa	+	—	—
Nasenschleim	+	—	—
”	+	—	—
Sputum. . .	+	—	—
Go.-Eiter . .	+	—	—
Vaginalsekret	+	—	—

seit dem Jahre 1901 alljährlich zu Kurszwecken nur mit Ausfall der Kriegsjahre und einiger Jahre der Nachkriegszeit angelegt wurden, ergaben einen positiven Ausfall. Ebensovienig war ein solcher hemmender Einfluß bei der *Florenceschen* Probe nachzuweisen; gerade die alten Spermaspuren von 1901 und 1902 bei den Leinwandflecken, von 1903 bei den Papierflecken gaben völlig eindeutige positive Reaktionen (Tab. 1).

Tabelle 5.

Es wurden untersucht:

1. Spermaflecke auf Leinwand	41 Fälle
2. „ „ „ Papier	19 „
3. „ „ „ Hosentuch	7 „
4. Eintrocknetes Sperma in Substanz	3 „
5. Flüssiges Sperma, konserviert	6 „
Insgesamt Spermaspuren	76 Fälle

1. Samenblasenflüssigkeit	11 Fälle
2. Prostataaft	8 „
3. Hodensubstanz	4 „
4. Körperflüssigkeiten	6 „

Ausfall der Krystallproben:

	Schwefel-äure	Florence	Barberio	
1. Leinwand	+41	+28 -13	+ 3	-38
2. Papier	+19	+13 - 6	+ 9	-10
3. Hosentuch	+ 7	+ 6 - 1	+ 3	- 4
4. Eintrocknetes Sperma	+ 3	+ 3	+ 3	
5. Flüssiges Sperma	+ 6	+ 6	+ 6	
Insgesamt	+76	+56 -20	+24	-52
1. Samenblasen	+11	+ 1 -10		-11
2. Prostataaft	+ 8	- 8		- 8
3. Hodensubstanz	+ 4	- 4		- 4
Insgesamt	+23	+ 1 -22		-23
Körperflüssigkeiten	+ 6	- 6		- 6

Sucht man auf Grund dieser Reihenuntersuchungen ein Urteil über die Brauchbarkeit der 3 Spermakrystallproben zum Nachweis der Anwesenheit von Sperma zu gewinnen, so ergibt sich, daß von allen drei Proben die Schwefelsäureprobe die zuverlässigste ist; sie hat bisher in keinem Falle versagt, wo Sperma vorhanden war. Weniger zuverlässig, aber immerhin noch gut brauchbar ist die *Florence*sche Probe, die in etwa 70% der Fälle positiv ausgefallen ist. Am unzuverlässigsten und deswegen am wenigsten brauchbar ist die *Barberio*sche Probe. Bei ihr ist nur in 26,3% der Fälle mit einem Erfolg zu rechnen.

Das prompte Eintreten der Schwefelsäurereaktion bei Anwesenheit von Sperma wird verständlich, wenn man bedenkt, daß die entstehenden Krystalle nichts anderes darstellen als Krystalle aus schwefelsaurem Calcium und daß ihr regelmäßiges Auftreten in Spermaspuren auf dem reichlichen Gehalt des Spermas an Calcium beruht. Ihre Identität mit den Krystallen aus schwefelsaurem Calcium läßt sich leicht nachweisen; wenn man zu einer Chlorcalciumlösung 3proz. Schwefelsäure hinzusetzt, so erhält man die gleichen Krystalle, wie in spermahaltigen Flüssigkeiten.

Das Sperma enthält bekanntlich auf 900 Teile Wasser 100 Teile feste Stoffe, davon sind wieder 60 Teile organische und 40 Teile anorganische Substanzen. In den 40 Teilen anorganischer Substanz entfallen 30 Teile auf Calciumphosphat. Der Calciumgehalt des Spermas ist so reichlich, daß sich das Calcium selbst noch in sehr verdünnten Spermalösungen mit Chlorammonium nachweisen läßt. Deswegen kann man auch erwarten, daß die Schwefelsäureprobe in Spermaspuren immer positiv ausfallen wird.

Darin liegt sicherlich ihre Bedeutung für das Auffinden *wahrscheinlicher* Spermabeschmutzungen und der Vorzug, der ihr gegenüber der *Florenseschen* Probe zukommt. Indessen wird der Wert der Schwefelsäureprobe zweifellos dadurch sehr wesentlich eingeschränkt, daß das Calcium nicht nur ein regelmäßiger Bestandteil fast aller Körpersäfte ist, sondern auch sonst in der Natur sehr häufig vorkommt. So führten alle möglichen untersuchten Körperausscheidungen, Nasenschleim, Auswurf, Gonokokkeneiter, Vaginalsekret, Vernix caseosa-Flecke, die im Kieler Institut mit der Schwefelsäureprobe untersucht wurden, zur Bildung der Krystalle aus schwefelsaurem Kalk (Tab. 4). Bei dem häufigen Vorkommen des Kalkes ist die Aussicht, in den fraglichen Flecken einmal eine negative Schwefelsäurereaktion zu erhalten, wohl sehr gering, jedenfalls viel geringer als bei der *Florenseschen* Probe. Erhält man mit der Schwefelsäurereaktion keine Krystallbildung, so wird daraus wohl geschlossen werden dürfen, daß in der Tat kein Sperma vorliegt. Fällt dagegen die Probe positiv aus, so wird immer noch die *Florensesche* Probe zur weiteren Untersuchung herangezogen werden müssen, bei deren positivem Ausfall die Wahrscheinlichkeit, daß wirklich Sperma in den untersuchten Flecken vorhanden ist, doch recht groß ist. Die Schwefelsäureprobe wird also bei der Auffindung *wahrscheinlicher* Spermabeschmutzungen als ein willkommenes Hilfsmittel angesehen werden können, wird aber die *Florensesche* Probe nicht entbehrlich machen.

Auffällig ist es, daß die *Barberiosche* Probe mit Samenblasenflüssigkeit, Hodensubstanz und Prostata-saft aus Leichen, die 24—48 Stunden alt waren, niemals positiv ausfiel. Auch die *Florensesche* Probe gab unter den 11 Versuchen mit Samenblasenflüssigkeit nur einmal ein positives Ergebnis, während sie mit Hodensubstanz und Prostata-saft gleichfalls immer versagte. Die Ursache für dieses Versagen hat sich bisher nicht aufklären lassen, ist aber vielleicht in der beginnenden Zersetzung der Eiweißbestandteile nach dem Tode zu suchen (Tab. 4).
