

Ein weiterer Vorteil der beschriebenen Untersuchungsmethode gegenüber der bisher üblichen besteht darin, daß auch ein ausgedehnter Tatort oder ein großes Überführungsstück mit Schnelligkeit ohne Materialverlust auf etwa vorhandene Blutspuren überprüft werden können.

Schließlich wird erwähnt, daß die Lumineszenz der Blutspuren besonders deutlich im Dunkeln hervortritt. Das intensive, einheitlich blaue Licht gestattet ohne weitere Hilfsmittel die photographische Fixierung aufgefundenener Blutflecke.

Für die beigefügten Lichtbildaufnahmen der Lumineszenzen im Freien betrug die Belichtungsdauer durchschnittlich 5 Minuten, für den Modellversuch (Abb. 1) reichten bereits 5—6 Stunden Expositionszeit.

Über die Frage, inwieweit Blutspuren nach Durchführung der Leuchtreaktion noch zur Bestimmung der Blutgruppen und Faktoren geeignet sind, wird zu gegebener Zeit berichtet werden.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Gleu, K.*, u. *K. Pfannstiel*, J. prakt. Chem., N. F. **146**, 129, 137 (1936). —
² *Höber, R.*, Lehrbuch der Physiologie des Menschen. 4. Aufl. Berlin: Julius Springer. —
³ *Jeserich, R.*, Chemie und Photographie im Dienste der Verbrechensaufklärung. Berlin: Verl. Stilke 1930. —
⁴ *Pfannstiel, K.*, Die Photographische Industrie **1936**, Nr 1 — Z. angew. Chem. **48**, 57 (1935). —
⁵ *Scheller, H.*, Der Einfluß der Witterung auf den Nachweis von Blutspuren. Vortrag, gehalten auf der Tagung der Dtsch. Ges. f. gerichtl. u. soz. Med., September 1936 in Dresden.

(Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Innsbruck.
 Vorstand: Prof. Dr. *Karl Meixner*.)

Untersuchungen über die gerichtlich-medizinische Verwertbarkeit der Ausscheidung von Blutgruppensubstanzen¹.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

Dr. Franz Josef Holzer.

Mit 2 Textabbildungen.

Nachdem in den ersten Jahren nach der Entdeckung der Blutgruppen das Augenmerk nur auf die Blutkörperchen selbst gerichtet war, begannen bereits 1910 Untersuchungen über Gruppensubstanzen im Organismus außerhalb der roten Blutkörperchen (*v. Dungern* und *Hirschfeld, Halpern*).

¹ Auszugsweise vorgetragen auf der Ärzte- und Naturforscher-Tagung in Dresden im September 1936.

Yamakami, der mit *Shirai* Untersuchungen an Sperma und Speichel angestellt hatte, veröffentlichte ihre Ergebnisse im *Journal of Immun.* 12, 185 (1926). Im gleichen Jahr und in der gleichen Zeitschrift berichteten *Landsteiner* und *Levine* über ihre Untersuchungen an Sperma, nachdem sie sich lange mit dieser Sache beschäftigt hatten. Während diese beiden Autoren mit Hilfe gruppenspezifischer Immunsere von Kaninchen Samenzellen untersuchten, prüften die Japaner sowohl Spermien wie auch zellfreie Samenflüssigkeit mit Isoagglutininen. Die Untersuchungen zeigten einwandfrei eine gruppenspezifische Hemmung.

Es folgten dann Berichte über Blutgruppensubstanzen in Organzellen (*Kritschewsky* und *Schwarzmann*, *Witebsky*, *Witebsky* und *Okabe*, *Yosida Kan-Iti*), in Leukocyten und in Lymphocyten (*Thomsen*).

1924 hat *Schiff* Gruppensubstanzen auch in zellfreiem Serum durch gruppenspezifische Präcipitine nachgewiesen. Es wurden weitere Gruppenstoffe in Speichel, Harn, Spermaflüssigkeit, Magensaft, Fruchtwasser, Milch, in Tränenflüssigkeit u. a. nachgewiesen (*Yamakami*, *Yosida-Kan-Iti*, *Brahn* und *Schiff*, *Schiff*, *Thomsen*, *Putkonen*, *Hirszfeld*, *Hamburger*, *Lehre* u. a.). Auch in Vaginalsekret wurden Gruppenstoffe ermittelt (*Shirai*, *Yamakami*).

1931 erschien bei Fischer in Jena die Habilitationsschrift von *Schiff* „Über die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers“, worin er eigene, gründliche Untersuchungen über die Anwesenheit von Gruppenstoffen in Organen und Körperflüssigkeiten berichtet und vor allem die A-Substanz durch das empfindliche Hämolysehemmungsverfahren genau geprüft hat. Bei diesen Untersuchungen bestätigte *Schiff* auch Unterschiede zwischen dem starken und schwachen A, indem Extrakte aus Organen beim schwachen A viel schwächer waren als solche beim starken A (*Schiff* und *Akune*, *Schiff* [Zbl. Bakter. 98, 91 (1930)]. In Fortsetzung dieser Arbeiten hat *Schiff*, teils zusammen mit *Sasaki*, teils mit *Akune* und mit *Weiler* die Ausscheidung von Gruppensubstanzen weiter verfolgt und auch die Gruppenstoffe näher analysiert und kam zur Annahme, daß die Ausscheidung der serologischen Gruppenmerkmale O, A und B ohne Rücksicht auf die Blutgruppen von einem einfach mendelnden Faktorenpaar S und s abhängig ist. Zur Stütze dieser Annahme lagen Beobachtungen von *Schiff* und *Sasaki* an 144 Zwillingen und an 68 Familien mit 351 Personen vor. In derselben Arbeit bemerkten die beiden Autoren noch, daß Nichtausscheider in der Gruppe O zahlreicher sind und daß sie Typenunterschiede auch schon beim Säugling fanden. *Schiff* und *Sasaki* haben weiter festgestellt, daß die Ausscheidung über Nichtausscheidung dominiert.

Während *Schiff* zu den Untersuchungen der Gruppe O größtenteils Anti-O-Agglutinine aus normalen Rinderseren nach Absorption mit

AB-Blut verwendete, berichtet alsbald *E. Eisler* in mehreren Arbeiten die Verwendung heterogenetischer Immunagglutinine, welche durch Immunisierung mit Shigaruhrbacillen von Ziegen gewonnen waren. Diese sind nach den Berichten und nach der Bestätigung von *Schiff*, der zwei solche Sera versuchte, viel wirksamer und brauchen überdies vor Anwendung nicht eigens absorbiert werden.

Diese wichtigen Ergebnisse waren an sich Anregung genug, ihre Anwendbarkeit für gerichtlich medizinische Fragestellungen zu prüfen, zumal bereits *Schiff* diese Seite gestreift hat.

Eigene Untersuchungen.

Unsere Untersuchungen verfolgen ein mehrfaches Ziel.

1. Sollte das Ausscheiden oder Nichtausscheiden von Gruppensubstanzen bei verschiedenen Personen durch längere Zeit hindurch beobachtet werden, um über die Beständigkeit dieser Eigenschaft ein Urteil zu gewinnen.

2. Sollte geprüft werden, ob bei Ausscheidern ständige Beziehungen zwischen der Menge der im Mageninhalt ausgeschiedenen Gruppensubstanzen und den seit der Aufnahme der Nahrung verstrichenen Zeiten bestehen.

3. Ob ausgeschiedene Gruppensubstanzen der Fäulnis besser widerstehen als im Blut und so die Blutgruppendiagnose an hochgradig faulen Leichen ermöglichen.

Verfahren. Um praktischen Aufgaben zu genügen ist unser Bestreben auf den Nachweis aller 4 Blutgruppen gerichtet. Es kam daher von vornherein nur das Agglutininhemmungsverfahren in Betracht. Auf die Komplementbindungsreaktion und auf das Hämolysehemmungsverfahren mußte trotz ihrer höheren Empfindlichkeit (*Schiff, Hirszfeld*) verzichtet werden, da mit ihnen nur die Eigenschaft A nachgewiesen werden kann.

Gemäß dem Bedürfnis in der gerichtlichen Medizin wurde unsere Untersuchungsart auf kleine Probemengen eingestellt und durfte dabei nicht allzu schwierig sein. Nach mehrfachen Versuchen erwies sich folgendes Vorgehen als zweckmäßig und allgemein anwendbar.

In Glasplatten mit Hohlschliffen, wie wir sie zu Serumauswertungen verwenden, wird die zu untersuchende Flüssigkeit mittels Capillarpipette fortlaufend verdünnt 1:2:4:8:16... Das letzte Nöpfchen erhält nur einen gleichgroßen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung und dient als Kontrolle. Hierauf wird in jede Höhlung ein Tropfen Prüfserum (Agglutinin) zugesetzt und verrührt (von links nach rechts, von den niedrigen zu den hohen Verdünnungen) und zuletzt wird der Tropfen Kochsalzlösung mit dem Serumtropfen verrührt. Nach 5 Minuten wird dann in jedes Nöpfchen ein gleich großer Tropfen 3proz.

Blutkörperchenaufschwemmung zugetropft und es werden alle Proben wieder in gleicher Weise verrührt.

Es hat sich bei zahlreichen Vergleichsuntersuchungen herausgestellt, daß es gewöhnlich nicht viel ausmacht, wenn der Probeblutkörperchenzusatz unmittelbar nach Zutropfen des Serums erfolgt. Man gewinnt dadurch Zeit, vermeidet dabei auch Eintrocknung. (Etwas empfindlicher freilich wird der Versuch, wenn man die Verdünnungen statt auf Platten in Röhren ansetzt und vor Zusatz der Blutkörperchen Flüssigkeit- und Serumgemisch stehen läßt.)

Abgelesen wurde beim Versuch auf Platten nach 10 Minuten. Dabei wurde beobachtet, ob und bis zu welcher Verdünnungsstufe eine Verklumpung ausgeblieben, d. h. gehemmt wurde. Die Verklumpung in der Kochsalzkontrolle diente als Vergleich. Als Prüfsera können A-, B-, aber auch O-Sera verwendet werden, zur Prüfung auf die O-Substanz in Bestätigung der Angaben von *Schiff, Sasaki, Eisler* auch Anti-O-Sera. Die Auswahl der Sera ist nicht ohne Einfluß auf das Maß der Hemmung. Sind die Sera nämlich sehr hochwertig, enthalten sie sehr reichlich Agglutinin, so werden ihnen diese mitunter auch durch die ersten Verdünnungen des zu prüfenden Stoffes nicht mehr in genügender Menge entrissen, um die Verklumpung der Prüfblutkörperchen zu hemmen. Bei zu schwachen Seren besteht andererseits die Gefahr einer unspezifischen Hemmung (vgl. *Schiff*, Die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers, Jena 1931). Man tut daher gut, Sera von mittlerer Wirksamkeit zu nehmen.

Bei Prüfung nativen Speichels stört nicht selten seine zähe Beschaffenheit, die ein gleichmäßiges Mischen erschwert (oft macht sich diese Störung bis zu 16facher Verdünnung noch bemerkbar). Ferner wird dabei durch die Schlierenbildung eine falsche Agglutination vorgetäuscht oder eine Agglutination verschleiert. Ich bin deshalb dazu übergegangen, Speichel vor Ausführung der Proben zu erhitzen ($\frac{1}{2}$ Stunde in kochend heißem Wasser), wodurch er dünnflüssig wird. Dies kann man um so unbedenklicher tun, als ja die Gruppensubstanzen hitzebeständig sind und Speichel, wie *Schiff* gezeigt hat, ohne Einbuße der hemmenden Wirksamkeit 2 Stunden auf 120° oder 1 Stunde bei 150° gehalten werden kann. Das Erhitzen des Speichels hat noch einen weiteren besonderen Zweck, der hier betont werden muß; wie *Schiff* und *Weiler* [*Biochem. Z.* 225, 454 (1931)] fanden, haben Faeces, mitunter auch der Speichel, die Eigenschaft Blutgruppenstoffe zu zerstören. Durch Erhitzen (5 Minuten auf 100°) aber wird der Abbau verhindert, das Agens zerstört (*Schiff* und *Akune* [*Münch. med. Wschr.* 78, 657 (1931)]). In jüngster Zeit wurde auch wiederholt versucht, das sog. Blutgruppenferment näher zu charakterisieren. *Witebsky*, später auch *Sievers* ist es gelungen, das wirksame Prinzip „fortzuzüchten“. Während *Sievers* Isolierung oder Anreicherung von Bakterien mit fermentativer Wirkung nicht gelang, berichtet *Schiff* (*Klin.*

Wschr. 1935, 750), daß er mehrere Stämme von Gasbrandbacillen gefunden habe, welche sowohl A- wie B-Substanz im Speichel zerstören konnten. Schon aus diesem Grunde ist das Erhitzen des Speichels vollauf gerechtfertigt. Bei stark saurem Magensaft ist auch empfohlen worden, vorher zu neutralisieren. Einer Beeinträchtigung durch Hypotonie kann man durch entsprechenden Kochsalzzusatz begegnen.

Ein paar Worte über Anti-O-Sera. Anti-O-Sera können durch Immunisierung von Kaninchen mit Menschenblut der Gruppe O erzielt werden. Die Gewinnung solcher Sera ist zwar nicht einfach, ist aber schon wiederholt geglückt (*Landsteiner, Wiener, Schiff*). *Eisler* hat solche auch durch Immunisierung mit Schigabacillen erhalten, die noch den Vorteil haben, daß sie vor dem Gebrauch nicht erst gereinigt zu werden brauchen und überdies sehr wirksam sind. Leichter lassen sich Anti-O-Agglutinine aus gewissen Rinderseren gewinnen, wie dies *Schiff* und *Sasaki* empfohlen haben. Durch Absorption mit A₁B-Blutkörperchen verlieren die Rindersera das gegen die fremde Art (Menschenblutkörperchen im allgemeinen) gerichtete Agglutinin, sowie ein evtl. vorhandenes Anti-A oder Anti-B. Geeignete Rindersera aber besitzen nach dieser Behandlung noch ein Agglutinin gegen O- und A₂-Blutkörperchen, das allerdings oft nur schwach ist. Die Verwendung ist die gleiche wie bei Anti-A- und Anti-B-Seren. Unter den vom Schlachthof bezogenen Rinderseren fanden sich in Übereinstimmung mit den Angaben *Schiffs* reichlich brauchbare.

Versuche bei Anti-M- und Anti-N-Seren eine Hemmung durch Speichel oder Magensaft zu erzielen, fielen negativ aus. Die Abgüsse wurden in keiner Weise beeinflußt, was auch nach den meisten bisherigen Berichten über das Fehlen von M und N in Organen und Körperflüssigkeiten übereinstimmt¹.

Unsere Untersuchungen gliedern sich

1. in Untersuchungen von Ausscheidungen an Lebenden,
2. in Untersuchungen an Leichen.

An Ausscheidungen wurden in erster Linie Speichel, dann Harn, in einigen Fällen auch Samenflüssigkeit, ferner Magensaft von Ausbeurungen untersucht.

Speichel wurde von verschiedenen Personen, auch Personen gleicher Familien und von Mutter-Kind-Paaren geprüft. Die Gewinnung von Speichel bei Erwachsenen bietet keine Schwierigkeiten. Um nach Möglichkeit kein Blut und nicht zuviel Epithelbeimengungen zu erhalten, ersuchen wir die Leute, ohne zu saugen den Speichel bei etwas

¹ *Schiff* konnte durch Immunisierung von Kaninchen mit Menschenspeichel ein Anti-M-Agglutinin erzeugen und schloß daraus, daß die Eigenschaft M als echtes Antigen im Speichel auftritt. (*Schiff, F.*, Über die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers. Jena 1931. S. 42.)

geöffnetem Mund zu sammeln, auf einem gefalteten glatten Papier aufzufangen und in ein Röhrchen zu leiten.

Bei Kleinkindern und Säuglingen war die Speichelentnahme anfänglich erheblich schwieriger. Dann versuchte ich eine einfache Absaugvorrichtung (Abb. 1), mit der sich auch bei Neugeborenen mühelos Speichel in reichlicher Menge sammeln läßt. Den einen Schlauch gibt man in den Mund des Kindes und beginnt am andern Ansatz sanft zu saugen. Die Kinder sind durch Einführen des kleinen Schlauches geradezu beruhigt, hören auf zu weinen und beginnen zu lutschen, wodurch die Speichelabsonderung angeregt wird. Der Speichel sammelt sich in dem zwischengeschalteten Proberöhrchen und kann gleich in diesem ohne Umfüllung erhitzt und zur Untersuchung verwendet werden.

Eine geringe Beimengung von Blut hat, wie Untersuchungen zeigten, hinsichtlich einer Störung keine überragende Bedeutung (dies gilt für

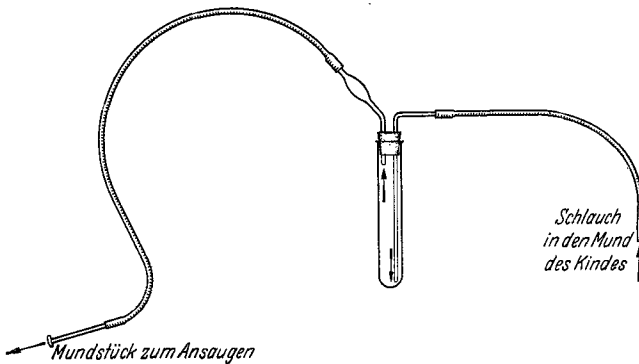


Abb. 1. Speichelentnahme bei Kindern.

Speichel wie für Mageninhalt¹). Dies wurde auch durch Untersuchungen an 2 Leichen, die reichlich Blut verschluckt und auch eingeatmet hatten, bestätigt. Es war dadurch nur eine verhältnismäßig geringe Hemmung verursacht worden.

Speicheluntersuchungen.

Von 116 Personen, deren Speichel untersucht wurde, waren nach der geschilderten Methode 97 als Ausscheider befunden, 19 als Nichtausscheider. In der überwiegenden Mehrzahl stammte der Speichel von A-Personen. Eine Übersicht gibt Tab. I. Die meisten Speichelproben waren noch bei einer Verdünnung von 1:128 bis 1:256 wirksam, was ebenfalls aus Tab. I hervorgeht. Es zeigen diese wenigen Untersuchungen, wie auch die Wiederholung der Untersuchung an Speichelproben bei ein und derselben Person, daß in der Regel wohl eine Unterscheidung zwischen S und s bei der ersten Untersuchung gelingt, daß es aber auch Fälle gibt, in denen die Schwäche der Hem-

¹ Vergleiche auch die Untersuchungen von *Matson* und *Brady* [J. of Immun. 30, 444 (1936)].

Tabelle 1. Übersicht der Speichelproben.

	Blutgruppe	Aus- scheider S	Verdünnung													Nicht- auschei- der		
			1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2000	4000		8000	
O	O	6	—	—	—	2	1	1	—	1	—	—	1	—	—	—	—	3
A	A	74	—	2	—	6	9	7	13	15	8	8	4	2	—	—	—	12
B	B	12	—	—	—	—	1	1	—	4	4	—	1	1	—	—	—	1
AB	AB	5	—	—	—	—	2	—	1	—	2	—	—	—	—	—	—	3

mung Zweifel begründet, ob man es noch mit einem Ausscheider zu tun hat oder ob die geringe Hemmung vielleicht nur auf zelligen Beimengungen beruht.

Es wurden deshalb bisher 17 Personen, die verschiedenen Blutgruppen angehören, wiederholt (einzelnen bis zu 60mal) an verschie-

Tabelle 2. Übersicht wiederholter Speichelproben.

	Blutgruppe	Aus- scheider S	Verdünnung													Nicht- auschei- der		
			1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2000	4000		8000	
V. S.	O	16	2	3	—	1	2	1	3	2	2	—	—	—	—	—	—	1
M. S.	A	35	1	1	2	16	2	3	9	1	—	—	—	—	—	—	—	—
K. T.	A	26	2	1	4	9	8	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K. L.	A	23	—	1	1	4	2	5	6	3	1	—	—	—	—	—	—	3
K. V.	A ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	34
Ho.	A ₂	54	4	1	3	12	13	8	6	6	1	—	—	—	—	—	—	6
Sche.	A ₁	15	1	1	—	1	—	2	1	3	4	—	2	—	—	—	—	—
Ki.	A ₁	23	—	1	—	1	1	3	5	4	4	4	—	—	—	—	—	—
Me.	B	19	—	—	2	2	1	1	2	3	3	3	1	—	1	—	—	—
Frl. E.	A ₁ B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	27
Lä.	AB	7	—	—	—	—	—	1	1	2	2	—	1	—	—	—	—	—
K. Ge.	A ₁	6	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1	—	1	1	1	1	—
Pan.	O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10
V. Bi.	A ₂	5	—	—	—	1	2	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
M. Bi.	A ₂ B	5	—	1	—	—	—	3	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
K. Bi.	B	5	2	—	—	—	—	—	—	2	—	1	—	—	—	—	—	—
Mü.	O	2	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—

denen Tagen über eine längere Zeitspanne hin Speichelproben entnommen und untersucht. Dabei ergab sich in der Wirksamkeit eine ziemlich weite Streuung. Eine Übersicht über diese Versuche zeigt Tab. 2. Bemerkenswerterweise befinden sich in dieser Reihe auch bei Ausscheidern negative Proben. Hingegen fällt auf, daß bei Nichtausscheidern trotz der zahlreichen Wiederholungen (bis 34) und weiter bei stündlicher Speichelentnahme niemals Hemmung gefunden wurde. Bei einem Ausscheider, bei dem durch 24 Stunden stündlich Speichel

entnommen wurde, waren drei aufeinanderfolgende Proben negativ, worauf wieder ziemlich unvermittelt deutliche Hemmungen festzustellen waren (vgl. Abb. 2). Obgleich die Versuche noch gering an Zahl sind und durch weitere Untersuchungen zu prüfen ist, wieweit Gruppenfermente hierbei mitspielen, drängt sich bereits die Frage auf, ob es nicht zwischen beständigen Ausscheidern und Nichtausscheidern noch eine andere Gruppe von Menschen gibt, die bald ausscheiden, bald nicht¹.

Mitunter machte es uns auch den Eindruck, als hätte die Nahrungsaufnahme und die seit derselben verfllossene Zeit etwa Einfluß, ohne daß sich dies an den bisherigen Versuchen ziffernmäßig erfassen ließ. Über einen Zusammenhang mit verschiedenen physiologischen und mit krankhaften Zuständen sind weitere Untersuchungen erforderlich².

Vielleicht gelänge es mit feineren Methoden bei manchen Proben, die nach dem beschriebenen Verfahren negativ zu werten sind, noch eine Hemmung nachzuweisen.

Es ist ferner, wie oben angedeutet, bei der Beurteilung der Schwankungen des Gehaltes an Gruppensubstanz im Speichel an eine Zerstörung durch Blut-

gruppenfermente, wie sie im Darm vorkommen, zu denken. Um dies nach Möglichkeit von vornherein auszuschalten, wäre es zweckmäßig, die Erhitzung des Speichels unmittelbar nach seiner Gewinnung vorzunehmen.

Unsere Untersuchungen an Familien sprechen in Übereinstimmung mit *Schiff* und *Sasaki* für eine dominante Vererbung des Ausscheidens gegenüber dem Nichtausscheiden. Die Bezeichnung „Sekretionstyp“ S ist von *Schiff* sehr zweckmäßig eingeführt worden.

Vor einer übereilten Verwendung dieser Tatsache für Vaterschaftsachen muß aber angesichts der erhobenen Befunde eindringlich gewarnt werden. Ein Rückschlag nach Übereilung könnte bei den Gerichten auch zu einer folgenschweren Schmälerung des Vertrauens auf die klassischen Blutgruppen und die Faktoren M und N führen. Bereits 1928 sagt *Cuboni* in seiner Zusammenfassung, daß das Ausscheiden

¹ Ähnlich etwa wie *Hirsfeld* die Organe in „absolute“, „fakultative“ und „negative“ Gruppenträger einteilt.

² In *Thomsens* Laboratorium wurde von *Fog-Möller* [*Z. Immunforsch.* 84, 359 (1935)] die Ausscheidung von Gruppensubstanz bei krankhaften Zuständen, namentlich bei perniziöser Anämie, untersucht und dabei keine Abweichung von der Norm gefunden.

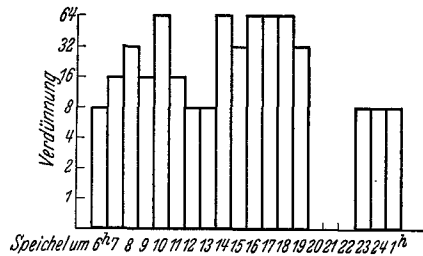


Abb. 2.

nicht beständig auftritt, daß eine systematische Verwendung in der gerichtlichen Medizin unwahrscheinlich sein dürfte.

Indessen dürften sich durch wiederholte Untersuchungen Fehlbestimmungen sehr einschränken lassen, so daß, wenn sich die Dominanz von S weiter bestätigt, ein hoher Grad von Unwahrscheinlichkeit der Abstammung zur Unterstützung anderer Beweise wertvoll sein könnte. Doch wird dieses Beweismittel schon aus dem Grunde für Vaterschaftssachen keine allzugroße Bedeutung gewinnen, weil der Ausscheidungstyp S gegenüber dem Nichtausscheider in hohem Maße überwiegt, dadurch die Möglichkeit einer Ausschließung herabgesetzt ist.

Unbestritten aber ist die Anwendung der Ausscheidung von Gruppensubstanzen zur Gruppendiagnose an menschlichen Ausscheidungen, wie Harn, Speichel, Erbrochenem, Samenflüssigkeit, an feuchten wie an getrockneten Spuren. Hier ist die Brauchbarkeit auch wiederholt von verschiedenen Autoren (*Schiff, Lattes* u. a.) bestätigt worden. Auch wir haben die Untersuchung von Speichelflecken in gerichtlichen Fällen schon mit Erfolg verwenden können.

Unsere Untersuchungen an Samenflüssigkeit in Parallele zu den Speicheluntersuchungen ergaben, daß tatsächlich Gruppensubstanzen in der Samenflüssigkeit vorkommen, und zwar auch bei Mangel von Samenfäden. Es scheinen aber diese Substanzen in der Hemmung hinter der Wirksamkeit des Speichels zurückzustehen. Auch im Harn wurde in Übereinstimmung mit dem bisher Bekannten bei Ausscheidern Gruppensubstanz nachgewiesen, allerdings beträchtlich weniger als im betreffenden Speichel. Im Zuge dieser Untersuchungen wurde auch wiederholt A- und B-Speichel mit Anti-O-Flüssigkeit geprüft. Dabei zeigte sich, daß auch manche A- und B-Speichel eine deutliche Hemmung ergeben, nicht aber AB-Speichel, gleichgültig, ob dieser von Ausscheidern oder Nichtausscheidern stammt.

Die Tab. 3 (29. II. 1936) bringt Beispiele solcher Reaktionen an Speichelproben aller Gruppen und, daß bei A- und B-Personen eine Ausscheidung von O niemals ohne Ausscheidung von A oder B gefunden wurde¹. Dies könnte die Vermutung nahelegen, daß die Ausscheidung von O neben A oder B auf einem genotypischen O beruht. Während die Hemmung gegenüber Anti-O-Seren bei A-Ausscheidern auch durch ein A₂ bedingt sein könnte, fällt dies bei B-Ausscheidern weg. Möglicherweise öffnet sich hier einmal ein Weg homozygote und heterozygote A und B zu unterscheiden, was in Hinblick auf Abstammungsfragen von großer praktischer Bedeutung wäre. Nun ist wohlbekannt, daß auch A- und B-Blutkörperchen Anti-O-Sera zu absorbieren vermögen. So ließen sich nach *Schiff* [Z. Immun.forsch. 82, 302 (1934)] bei Unter-

¹ Ähnliche Ergebnisse lieferten Untersuchungen an Magensaft (siehe später).

Tabelle 3.

Nummer	Speichel gekocht	Gruppe	Anti-	Verdünnung																NaCl-Kontrolle							
				1	2	3	4	8	16	32	64	128	256	500	1000	2000	4000	8000	16000								
				1	2	4	8	16	32	64	128	256	500	1000	2000	4000	8000	16000									
1	V. Sch. 22. II. 1936	O	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
2	M. 22. II. 1936	A	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3	K. T. 22. II. 1936	A	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4	K. L. 22. II. 1936	A	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5	K. V. 22. II. 1936	A	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6	Kirch.	A	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7	Merkl	B	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8	M. H.	B	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9	K. H. El.	AB	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10	Lä.	AB	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
11	Ho.	A	A B O	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

O-Serum 13. II. 1936
 O-Serum
 Anti-O-Serum 5. II. 1936

4 (8)
 4 (8)
 2 (4)

suchungen mit einem Shigaziegenimmunserum die A- und B-Ausscheider durch die Hemmung der O-Agglutination von den „Nichtausscheidern“ fast stets unterscheiden, die Hemmung war aber häufig ganz merklich geringer als bei den Speicheln der O-Gruppe. *Schiff* meint deshalb, man muß den Blutkörperchen A₁ (und ebenso wohl auch den übrigen Gruppen) einen gewissen Anteil des sogenannten O-Faktors zuschreiben. *Morzycki* [Z. Immunforsch. 84, 80 (1935)] nimmt an, daß die Anti-O-Sera mit solchen Elementen reagieren, die bei sämtlichen Individuen, wenn auch in verschiedener Menge, vorhanden sind. Daher faßt er mit *Hirszfeld* diese sogenannten O-Receptoren vorerst als Artreceptoren auf und nimmt an, daß sie bei manchen Individuen nur in ganz geringer Menge vorhanden sind oder ganz fehlen.

Wenn man sich nach alledem nur mit größter Zurückhaltung äußern und nicht allzuviel Hoffnung machen darf, so scheint es doch erwünscht, in der eingeschlagenen Richtung weiter zu untersuchen.

Nachdem unsere Untersuchungen über die Ausscheidung der Gruppenstoffe im Magensaft die Angaben früherer Autoren (*Schiff* und *Akune*, *Hirszfeld*) vollauf bestätigt hatten, wurden, ausgehend von der naheliegenden Frage nach ständigen Beziehungen zwischen der seit der Nahrungsaufnahme verstrichenen Zeit und der Menge ausgeschiedener Gruppenstoffe im Mageninhalt bisher folgende Versuche angestellt.

Einmal wurden von Magenausheberungen kurz nach einem Probebrühstück Magensaftproben und gleichzeitig zur Kontrolle auch Speichel untersucht. Hier verfügte ich allerdings bis heute nur über eine bescheidene Zahl von Versuchen. Die Hemmung war hier auch bei den Ausscheidern gering, was möglicherweise mit der kurzen Dauer der Einwirkung (Ausheberung nach 20 Minuten) zusammenhängt. Weitere Untersuchungen und vor allem Selbstversuche mit dem Magenschlauch sollen hier die Beobachtungen erweitern. Mit einer Ausnahme war in den bisher untersuchten Fällen der Speichel wirksamer als der Magensaft.

Eine zweite Serie von Untersuchungen wurde bisher an 26 Leichen angestellt. Darunter befanden sich 2 sichere Nichtausscheider und ein fraglicher Ausscheider. Die Ausscheider überwiegen hier ganz bedeutend. Bei diesen Leichen wurde Mageninhalt, wenn möglich auch Speichel, Serum, Harn, Galle, Zwölffingerdarm-Dünndarm-Dickdarmwand geprüft. Um zu sehen, wieviel Gruppensubstanz in der Magen- und Darmwand enthalten ist, wurden die Stücke mit Kochsalzlösung ausgezogen. Das Verfahren war einheitlich folgendes: Nach Abwaschen wurde ein fast 1 qcm großes Stück ausgestanzt (die Methode des Herausstanzens ist sehr einfach, zudem befriedigend genau), in kleine Proberröhrchen gebracht, mit $\frac{1}{2}$ ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt, geschüttelt und längere Zeit, gewöhnlich über Nacht, manchmal auch durch Tage unter mehrmaligem Aufschütteln stehengelassen,

hernach ausgeschleudert. Mit der überstehenden Flüssigkeit wurde in üblicher Weise die Agglutininhemmungsreaktion angestellt. Gewöhnlich stellte sich heraus, daß trotz der ziemlich starken Verdünnung durch die zugesetzte Kochsalzlösung die Auszüge noch eine deutliche Hemmung gaben, oft bis zu Verdünnungen von 1:16, daß also in der Wand, namentlich in der Magenwand (Schleimhaut), reichlich Gruppenstoffe enthalten waren. Dabei scheint die Wahl der Stelle auf der Magenschleimhaut ziemlich gleichgültig. Während der Auszug aus der Magenwand in seiner Wirksamkeit zwischen den Verdünnungen 8 und 32 schwankt, hemmte der Mageninhalt mehrmals noch bei 2000facher Verdünnung deutlich.

Es ergeben sich aber merkliche Spannungen zwischen dem Hemmungsbereich des Mageninhaltes und dem der Auszüge aus der Magenwand. Ebenso wie sich aus den einzelnen Wandstückchen Gruppenstoffe auslaugen lassen, gibt der Leichenmagen auch an Flüssigkeit, mit der er angefüllt wird, solche Stoffe ab. Es wurden bei Leichenöffnungen aus dem herausgeschnittenen Magen der Inhalt gesammelt, der Magen gut gespült, dann mit einer dem gewonnenen Mageninhalt gleichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gefüllt und nun zu verschiedenen Zeiten durch Probepunktion Flüssigkeit entnommen. Hierbei ergab sich, daß tatsächlich eine sehr beachtliche Menge Gruppensubstanz an die Kochsalzlösung abgegeben wurde, und zwar schon nach kurzer Zeit. Nach 6 Stunden beispielsweise wirkte die Flüssigkeit schon bis zu einer Verdünnung von 1:16 bis 1:32 hemmend. Nach 40 Stunden hatte der Gehalt allerdings noch etwas zugenommen und nach 70 Stunden war eine hemmende Wirkung zwischen 1:64 bis 1:128 festzustellen. Natürlicher im Magen belassener Mageninhalt reichert, wie durch Punktion entnommene Proben ergaben, vom Zeitpunkt der Leichenöffnung Gruppenstoffe noch etwas an, doch werden Versuche in dieser Hinsicht noch fortgesetzt. Es zeigen die Auslaugversuche nach dem Tode, daß Gruppenstoffe zwar noch reichlich übergehen, daß aber die Flüssigkeit nicht mehr den Sättigungsgrad der ursprünglichen Magenflüssigkeit erreicht. Weitere Untersuchungen an Menschen, die kurz nach Anfüllung des Magens gestorben sind, sind in Aussicht genommen.

In den meisten unserer Fälle wurde auch auf das Verhalten der Galle geachtet. Es werden darin Gruppenstoffe in ziemlich reichlicher Menge ausgeschieden, in der Regel allerdings weniger als auf der Magenschleimhaut. Als Kontrolle, ob es sich um einen Ausscheider handelt, ist die Galle um so wichtiger, als manchmal die Gewinnung von Speichel bei Leichen auf Schwierigkeiten stößt. Nur stört mitunter ihre fadenziehende Beschaffenheit und Viscosität recht beträchtlich, desgleichen auch Hämolyse. Man muß hier Hämolyse und Agglutinations-

hemmung wohl auseinanderhalten, auch scheinen bei der Galle unspezifische Hemmungen leichter vorzukommen.

Bezüglich Serum und Harn ergaben unsere Untersuchungen an Leichen gewöhnlich auch bei Ausscheidern recht niedrige Werte, so daß man die Ausscheider am Leichenharn häufig nicht erkennen kann. Auch die Herzbeutelflüssigkeit, die gelegentlich mituntersucht wurde, ergab nur sehr schwache Hemmung. Außer der Magenwand wurde auch Zwölffingerdarm-, Dünn- und Dickdarmschleimhaut untersucht. Hier bestätigen unsere Protokolle die Abnahme nachweisbarer Gruppenstoffe gegen das Ende des Verdauungsschlauches zu. Schon im Dünndarm ist gewöhnlich eine merkliche Abnahme zu gewahren. Der Dickdarm und der Mastdarm werden gewöhnlich frei von Gruppensubstanzen gefunden. Es besteht die Möglichkeit, daß die ausgeschiedenen Stoffe wieder rückresorbiert werden. Erwiesen aber ist, daß der Darminhalt Gruppensubstanzen zerstört, und zwar durch ein Agens, dessen wirksames Prinzip, wie schon erwähnt, durch Kochen vernichtet wird (*Schiff* und *Weiler*), ein Ferment, das auch in keimfreien Filtraten wirksam ist (*Schiff* und *Akune*, vgl. *Witebsky* und *Satoh*). Der Befund von reichlich hemmender Substanz im Dünn- und auch im Dickdarm bei einer neugeborenen, macerierten 40 cm langen Frucht bestätigt die Annahme von *Witebsky* und *Satoh* (l. c.), daß sich dieses Abbauferment erst in den ersten Lebensmonaten bildet. Weitere Untersuchungen hierüber sind geplant. Gruppensubstanzen werden schon im Fruchtleben ausgeschieden (*Schiff*, *Witebsky* und *Satoh*). Auch die Ausscheidung von O ließ sich an unseren Leichen feststellen. Wie bei den oben beschriebenen Speichelversuchen sprechen auch an Magensaft, Galle, Samenflüssigkeit usw. manche Beobachtungen für eine spezifische Hemmung gegenüber Anti-O-Seren. Dies ließ sich auch bei Ausscheidern mit A und B feststellen.

Die Ausscheidung von Gruppensubstanzen im Magen kann bei hochgradig faulen Leichen zur Sicherung der Gruppendiagnose mit Vorteil herangezogen werden.

Als Beispiel einer solchen Untersuchung diene folgender Fall: Bei einer hochgradig faulen Leiche eines alten Mannes, die über 40 Tage im Wasser gelegen hatte, war das Blut vollkommen hämolysiert, Blutkörperchen überhaupt nicht mehr vorhanden. Die *Landsteiner-Lattes*-Probe gab mit A-Blutkörperchen eine unsichere Verklumpung. Die Bestimmung nach dem Absorptionsverfahren gab ganz einwandfreie Absorption von Anti-B. Gleichsam zur Kontrolle wurde Galle, Mageninhalt, Magenwand und Darm nach dem Agglutininhemmungsverfahren untersucht. Es wurde tatsächlich in Übereinstimmung mit der Blutuntersuchung eine eindeutige spezifische Hemmungsreaktion durch B-Substanz erwiesen, die beim Magensaft bis hinauf zu einer Verdünnung von 1:4000 reichte.

Im Hinblick auf diese Ergebnisse scheint uns in allen ähnlichen Fällen eine solche Untersuchung als Ergänzung wertvoll. Selbstredend

kann nur ein positiver Befund, d. h. eine deutliche Hemmung verwertet werden, da wir es bei negativem Befund ja mit einem Nichtausscheider zu tun haben können. Es sei noch darauf verwiesen, daß nach Möglichkeit auch Rachenschleim und Speichel gesammelt und aufbewahrt werden soll.

Zusammenfassung.

Um die Verwendbarkeit der Ausscheidung von Gruppensubstanzen für gerichtlich medizinische Zwecke zu prüfen, wurden verschiedene Untersuchungen nach dem Agglutininhemmungsverfahren angestellt.

Dabei hat sich herausgestellt, daß im großen ganzen eine Unterscheidung zwischen Ausscheidern und Nichtausscheidern sehr wohl möglich ist, daß aber gelegentlich auch ein Ausscheider nicht ausscheidet oder nur so wenig ausscheidet, daß dies der Untersuchung entgeht.

Die Untersuchungen bestätigen die bisherigen Befunde einer dominanten Vererbung des Ausscheidungstyp. Für die Anwendung in Vaterschaftssachen ist der Ausscheidungstyp aber vorläufig nur mit allergrößtem Vorbehalt und nach wiederholter Untersuchung verwendbar.

Bei Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen der Menge im Magen ausgeschiedener Gruppensubstanzen und der Zeit der letzten Nahrungsaufnahme bzw. der Todeszeit wurden bemerkenswerte Ergebnisse nicht erzielt.

Die Ausscheidung von Gruppensubstanzen kann zur Erhärtung der Gruppendiagnose an hochgradig faulen Leichen dienen.

Die Hemmung von Anti-O-Seren durch Speichel von Ausscheidern nach der Gruppe A und B gibt vielleicht einen Hinweis auf die Möglichkeit ein genotypisches O zu erkennen und so reinerbige und gemischterbige A- und B-Träger zu unterscheiden.

Literaturverzeichnis.

- Brahn, B.*, u. *F. Schiff*, *Klin. Wschr.* **1929**, 1523 — *Zbl. Bakter. I Orig.* **95**, 43 (1929). — *Cuboni, E.*, *Boll. Ist. sieroter. Milan.* **1** (1928). — *v. Dungern u. L. Hirschfeld*, *Z. Immun.forsch.* **8**, 554 (1910). — *Eisler, E.*, *Z. Immun.forsch.* **67**, 39 (1930); **73**, 37 (1931); **73**, 392, 546 (1932). — *Fog-Möller, B. J.*, *Z. Immun.forsch.* **84**, 359 (1935). — *Halpern, L. O.*, *Z. Immun.forsch.* **11**, 609 (1911). — *Hamburger, Chr.*, *Z. Rassenphysiol.* **3**, 67 (1930). — *Hirszfeld, L.*, *Konstitutionsserologie und Blutgruppenforschung*. Berlin: Julius Springer 1928. — *Hirszfeld, L., W. Halber u. Laskowsky*, *Z. Immun.forsch.* **64**, 61 (1929). — *Kritschewsky u. Schwarzmann*, *Klin. Wschr.* **1927**, 2081; **1928**, 896. — *Landsteiner, K.*, u. *Ph. Levine*, *J. of Immun.* **12**, 415 (1926). — *Lattes, L.*, *The individuality of the Blood*. Oxford 1932. — *Lehrs*, *Inaug.-Diss.* Berlin 1929. *Zit. nach Schiff*, *Z. Immun.forsch.* **66**, 175 (1930). — *Matson u. Brady*, *J. of Immun.* **30**, 444 (1936). — *Matson, J.* *of Immun.* **30**, 459 (1936). — *Morzycki, J.*, *Z. Immun.forsch.* **84**, 80 (1935). — *v. Oettingen u. Wittebsky*, *Münch. med. Wschr.* **1928**, 385. — *Puikonen, T.*, *Acta path. scand.* (Köbenh.) **64** (1930) — *Acta Soc. Medic. fenn. Duodecim* **14**, 107 (1931). — *Sasaki*,

Z. Immun.forsch. **77**, 101 (1932). — *Schiff, F.*, Klin. Wschr. **1924**, 679; **1927**, 303; **1935**, 750 — Zbl. Bakter. I Orig. **98**, 91 (1930) — Die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers. Jena 1931 — Z. Immun.forsch. **82**, 46, 302 (1934). — *Schiff, F.*, u. *Akune*, Münch. med. Wschr. **1931**, 657. — *Schiff u. Sasaki*, Klin. Wschr. **1932**, Nr 34 — Z. Immun.forsch. **77**, 129 (1932). — *Schiff, F.*, u. *G. Weiler*, Biochem. Z. **235**, 454; **239**, 489 (1931). — *Shirai, S.*, zit. nach *Yamakami, K.*, J. of Immun. **12**, 185 (1926). — *Sievers, O.*, Z. Immun.forsch. **85**, 163; **86**, 130 (1935). — *Thomsen, O.*, Acta path. scand. (Köbenh.) **7**, 250 (1930) — C. r. Soc. Biol. Paris **104**, 499 (1930). — *Witebsky, E.*, Z. Immun.forsch. **49**, 1 (1927) — Klin. Wschr. **1928**, 118. — *Witebsky u. Okabe*, Z. Immun.forsch. **52**, 359 (1927). — *Witebsky, E.*, u. *Satoh*, Klin. Wschr. **1933**, Nr 24. — *Yamakami, K.*, J. of Immun. **12**, 185 (1926). — *Yosida-Kan-Iti*, Bult. jurmed. Inst. Nagasaki (esper.) **2**, Nr 1 — Z. exper. Med. **1928**, 331.

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Halle a. d. S.)

Ein Mikroabsorptionsverfahren zum Nachweis der Blutuntergruppen A₁ und A₂.

Von
Albert Ponsold,
Dozent.

Die Bestimmung der Untergruppen ist zur Zeit noch nicht Allgemeingut geworden. Der Grund liegt darin, daß die üblichen Methoden als zu umständlich angesehen werden und ferner darin — und das ist die Folge der Umständlichkeit der Methodik —, daß der Erbgang noch nicht als hinreichend geklärt erachtet wird, weil die Anzahl der bisherigen Untersuchungen zu gering ist, um als beweiskräftig genug angesehen werden zu können.

Die Umständlichkeit der zur Zeit üblichen Methoden.

Absorptionsmethoden.

Die klassische Methode, der sog. quantitative Bindungsversuch, nimmt *eine* Arbeitskraft *einen* Arbeitstag für *eine* Bestimmung in Anspruch.

Die zur Zeit sonst üblichen Absorptionsmethoden stellen eine Vereinfachung dieses Bindungsversuches dar, wobei zwar die Stufenfolge verringert, aber die *quantitative* Bestimmung der durch die Absorption erfolgten Titerreduktion beibehalten wird.

Daß neben der quantitativen Auswertung auch die qualitative möglich ist, ist dem Prinzip nach (*v. Dungern* und *Hirszfeld, Lattes*) bekannt, methodisch jedoch nicht verwertet, was seinen Grund darin hat, daß eine Einstellung der Menge der Absorptionsblutkörperchen im