

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin Würzburg.
Vorstand: Prof. Dr. K. Walcher.)

Ausführung der Präzipitinreaktion mit kleinsten Blutspuren¹.

Von

Dr. Oswald Huber,

Assistent am Institut.

Mit 3 Textabbildungen.

Bei der im Institut durchgeführten Untersuchung eines Taschenmessers auf Blutspuren konnte nur ein so kleines Blutschüppchen in der Rille vorgefunden werden, daß die Ausführung der *Uhlenhuths*chen Reaktion mit der *Hausers*chen Capillarmethode von vornherein ganz aussichtslos erschien. Wir versuchten deshalb den Ablauf der Reaktion im Mikroskop bei Dunkelfeldbeleuchtung zu verfolgen. Bei dieser Untersuchung und an zahlreichen Kontrollversuchen erwies sich die angewandte Methode als gut brauchbar.

Im Schrifttum wird die mikroskopische Beobachtung der Präcipitinreaktion schon bald nach Bekanntwerden derselben erwähnt. *Tchistovitsch* beobachtete die Reaktion im hängenden Tropfen. Er sah kleine Körnchen, die sich allmählich zu Flocken vereinigten, die ähnlich aussahen wie agglutinierte Bakterien. Nach ihm erwähnen noch von *Dungern* und *Biondi* die mikroskopische Beobachtung der Reaktion; letzterer weist besonders auf die Spezifität dieser Methode hin.

Die Beobachtung im Mikroskop bei gewöhnlicher Beleuchtung bereitet, wie eigene Versuche zeigten, ziemlich große Schwierigkeiten. Viel besser und einwandfreier läßt sich die Beobachtung im Dunkelfeld, wie sie erstmalig von *Jakobsthal* angegeben wurde, durchführen. *Fornet* und *Müller* sind allerdings der Meinung, daß die mikroskopische Beobachtung im Dunkelfeld keine befriedigenden Ergebnisse liefert; sie bevorzugen die *Hausers*che Capillarmethode und weisen auf die durch Anwendung der Überschichtung erreichte Empfindlichkeitssteigerung hin. Nur bei *A. M. Marx* und *Oelze* ist etwas näher darauf eingegangen. *Marx* überprüfte in mehreren Versuchen die Dunkelfeldmethode und kam zu dem Ergebnis, daß die Differenzierung selbst der kleinsten Blutspuren mit dieser spezifischen Methode gelinge. Nach seinen Angaben können Fehler entstehen bei Verunreinigung von Antiserum und Blutextrakt, sowie auch bei starker Trübung des Antiserums. Er beobachtete bei mittelstarker Vergrößerung und mischte Antiserum und Blutextrakt gut durch. *Oelze* verwendete den Dunkelfeldkondensor

¹ Herrn Hofrat Prof. Dr. *Karl Meixner* (Innsbruck) anlässlich seines 60. Geburtstages in dankbarer Verehrung zugeeignet.

nach *Siedentopf*, der sich besonders für schwache und mittelstarke Vergrößerungen eignet. Die Beobachtung erfolgt im hängenden Tropfen oder Flüssigkeitszylinder. Eine positive Reaktion wurde noch bei Serumverdünnungen von 1:10000 beobachtet. Anscheinend setzte sich die mikroskopische Beobachtung der Präzipitinreaktion niemals recht durch. *G. Strassmann* meint, die *Hausersche* Capillarmethode werde durch die Dunkelfeldmethode weder ersetzt noch verdrängt. Er glaubt auch nicht, daß man mit kleineren Mengen von Antiserum und Extrakt auskommen kann als bei der *Hauserschen* Capillarmethode. Auch *Leers* erwähnt die Untersuchung im hängenden Tropfen nur ganz kurz, er rät die Untersuchung nur dem Geübten. *Pfeiffer* glaubt, daß vielleicht die Methode nach *Oelze* eine Verbesserung darstelle, im übrigen äußert er sich wie *Leers*.

Wir wandten bei unseren Versuchen folgende Technik an:

Ein kleiner Tropfen Antiserum sowie ein gleich großer Tropfen des Blutextraktes werden nebeneinander in einer Entfernung von einigen Millimetern auf einen Objektträger gebracht. Durch Darauflegen eines Deckglases, das möglichst gleichzeitig beide Tropfen berühren soll, erreicht man, daß sich die Tropfen berühren ohne sich stark zu mischen. (Dasselbe Verfahren, wie es auch bei der *Florence-schen* Probe angewendet wird.) Die Reaktion tritt nun nicht mehr unter dem Deckglas diffus verteilt auf, sondern sie ist nur in der schmalen Berührungszone beider Tropfen sichtbar. Die Unterscheidung von Verunreinigungen, bzw. Trübungen des Antiserums von einer positiven Reaktion wird dadurch sehr erleichtert. Die Anwendung eines Dunkelfeldkondensors erwies sich als nicht unbedingt notwendig; eine Dunkelfeldbeleuchtung, die für schwache Vergrößerungen (30 bis 50fach) ausreichend ist, läßt sich mit einiger Übung gut durch entsprechendes Einstellen des Konkavspiegels, mäßiges Ablenden und seitliche Verschiebung des Blendenträgers erreichen. Ein Nachteil dieses Dunkelfeldes ist nur die etwas ungleiche Ausleuchtung des Blickfeldes. Als Lichtquelle eignet sich am besten eine Bogenlampe. Sehr wichtig ist die Verwendung nicht zerkratzter, möglichst neuer und peinlichst gereinigter Deckgläser und Objektträger, die nur mit der Pinzette angefaßt werden sollen. Wenn nur außerordentlich kleine Mengen zur Verfügung stehen, etwa nur stecknadelkopfgroße Tropfen des Extraktes, verwendet man mit Vorteil kleinste Deckgläser, welche man sich durch Zerschneiden gewöhnlicher Deckgläser herstellt, da sonst zu viel störende Luftblasen auftreten.

Der Ablauf der Reaktion kann bei Verdünnungen bis zu etwa 1:2000 meist im Mikroskop verfolgt werden. Schon nach ganz kurzer Zeit bildet sich an der Grenze zwischen Antiserum und Extrakt ein mehr oder weniger breites Band, das aus kleinsten Körnchen, die sich in Bewegung befinden, besteht. Die anfangs ziemlich gleichmäßige Verteilung dieser Körnchen gibt dem Band ein milchstraßenähnliches Aussehen; nach 1—2 Minuten tritt allmählich eine Zusammenballung der Körnchen auf, die schließlich ihren höchsten Grad in der Bildung von mehr oder weniger großen Flocken, die zum Teil bandförmig zusammenhängen, erreicht (Abb. 1). Bei stark verdünntem Extrakt bleibt die Ausflockung entweder vollständig aus oder sie tritt erst nach länge-

rer Zeit, etwa nach 5—10 Minuten ein. Bei negativem Ablauf der Reaktion werden die Körnchen diffus verteilt beobachtet, die Bildung eines Trübungsbandes bleibt aus. Die Form und Breite des Trübungsbandes ist wechselnd. Größe und Entfernung der 2 Tropfen, vielleicht auch die Größe des Deckglases dürften darauf nicht ohne Einfluß sein (vgl. Abb. 2 und 3). Die Probe erwies sich als absolut spezifisch, sofern es sich nicht um Verwandtschaftsreaktionen handelte. Gelegentlich kann am Rande des Deckglases, wohl infolge Eintrocknung, eine leichte Trübung beobachtet werden, eine Verwechslung mit einer positiven Reaktion ist jedoch wegen der Lage der Trübung kaum möglich.

Bei einem Versuch: Hühner-Antiserum mit Gänseblut-Extrakt konnte bis zu einer Verdünnung von etwa 1:500 noch eine schwache Reaktion festgestellt werden. Das Band erschien jedoch weniger scharf begrenzt wie bei der Vergleichsreaktion mit Hühnerblutextrakt derselben Konzentration. Auch bei Taubenblut gab das Hühnerantiserum noch die Andeutung eines allerdings kaum sichtbaren Trübungsbandes. Die *Hausersche* Capillarmethode blieb bei diesem letzteren Versuch negativ.

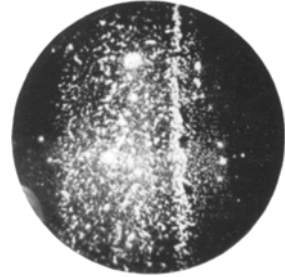


Abb. 1. Starke Reaktion.
Hühnerserum 1:100.
Bandförmige Ausflockung.

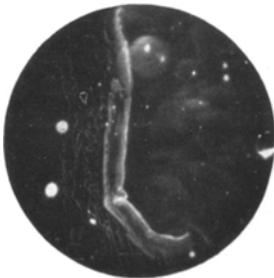


Abb. 2. Schwache Reaktion ohne Ausflockung.
Menschenserum 1:10 000.

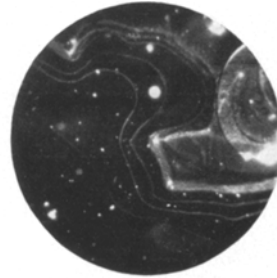


Abb. 3. Schwache Reaktion. Menschenserum
1:15 000. Mehrere parallele Bänder.

Die Empfindlichkeit der mikroskopischen Probe wurde durch Vergleiche mit der *Hauserschen* Capillarmethode festgestellt (vgl. folgende Tabelle S. 232).

Die Empfindlichkeit wurde auf diese Weise mit 9 verschiedenen Antisera geprüft. Sie ist fast immer gleich groß wie die der *Hauserschen* Capillarmethode, manchmal ist sie noch etwas höher. So konnte mit dem Antihühnerserum in einer Verdünnung 1:20000 noch eine schwache Reaktion ausgelöst werden; während die *Hausersche* Capillarmethode nur bis 1:15000 noch eine schwache Reaktion zeigte. Die

Anti-Menschen-Serum Nr. 125.

Verdünnung des Extraktes	Reaktion nach ... Minuten	Reaktion nach ... Minuten (Hausersche Capillarmethode)
1:1000	+++ 3	++ 1/2
1:2000	+++ 3	++ 1 1/2
1:4000	++ 4	++ 2 1/2
1:5000	++ 4	++ 3
1:10000	+ 5	+ 15
1:15000	+ 8	negativ

Blutextrakt- und Antiserummengen, die für die mikroskopische Reaktion notwendig sind, sind außerordentlich klein. Mit der für die Hausersche Capillarmethode notwendigen Extraktmenge lassen sich etwa 2—4 mikroskopische Reaktionen durchführen. Zweckmäßig erwies es sich, an Stelle von größeren und stark verdünnten Tropfen, kleine, etwas konzentriertere zu verwenden (Einengen des Blutextraktes durch teilweises Verdunstenlassen).

Die vorliegend beschriebene mikroskopische Methode der Uhlenhuthschen Präzipitinreaktion soll die Hausersche Capillarmethode nicht verdrängen; sie bleibt für jene Fälle vorbehalten, bei welchen zu wenig Material für die Capillarmethode vorhanden ist.

Mit Vorteil kann die mikroskopische Reaktion auch dann angewendet werden, wenn die Capillarmethode nicht mehr ganz eindeutige Ergebnisse liefert. Gegenüber der Beobachtung der Capillarreaktion mit Lupenvergrößerung (Medinger) stellt die mikroskopische Beobachtung einen Vorteil dar. Erwähnt soll noch werden, daß die Anfertigung von Lichtbildern bei der mikroskopischen Reaktion viel leichter gelingt als bei der Capillarreaktion.

Literaturverzeichnis.

- Biondi, Vjschr. gerichtl. Med. **23**, Suppl., 20 (1902). — v. Dungern, Zbl. Bakter. I Orig. **34**, 357 (1903). — Fornet u. Müller, Z. Hyg. **97**, 217 (1910). — Jakobsthal, Münch. med. Wschr. **1910**, Nr 4, 215. — Leers, Die forensische Blutuntersuchung. Berlin 1910. S. 142. — A. M. Marx, Vjschr. gerichtl. Med. **1920**, 161. — Medinger, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, 78 (1933). — Oelze, Dtsch. med. Wschr. **1921**, Nr 45, 1357. — Pfeiffer, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden von Abderhalden **1**, Abt. IV, Teil 12, 1. Hälfte. — Strassmann, G., Dtsch. med. Wschr. **1921**, Nr 2, 556. — Tschistovitsch, Ann. Inst. Pasteur **1899**, 413.