

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. jur. O. SCHMIDT).

Die Bestimmung der klassischen Blutgruppen mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion*.

Von
G. SCHNUG.

In der forensischen Praxis gelangen heute vornehmlich die Agglutination, die Absorption und die Präcipitation als serologische Untersuchungsverfahren zur Anwendung. Die Komplementbindungsreaktion hat bisher — wohl wegen der Umständlichkeit des Verfahrens — keine praktische Bedeutung erlangt, obwohl sie der Präcipitation in bezug auf Feinheit und Sicherheit — besonders beim Nachweis kleinster Eiweißmengen — überlegen ist (NEISSER-SACHS).

Über die Anwendungsmöglichkeit der Komplementbindungsmethode in der Blutgruppendiagnostik liegen Veröffentlichungen von SCHIFF und KRAH vor. SCHIFF konnte 1931 Gruppensubstanzen in verschiedenen Körperflüssigkeiten, Sekreten und Exkreten auffinden. KRAH gelang 1949 der Nachweis der Faktoren M und N. Über den Nachweis des ABO-Systems liegen bisher keine Ergebnisse vor.

Wir haben versucht, die klassischen Blutgruppen mit Hilfe der Komplementbindung zu bestimmen. Das Verfahren erschien uns besonders für die Blutfleckendiagnostik geeignet, da die heute allgemein angewandte HOLZERSche Methode bei unzureichenden Fleckenmengen versagt.

Die zu den Untersuchungen erforderlichen Antiseren wurden durch Immunisierung von je 2 Kaninchen mit Blutkörperchen der Gruppen A, B und 0 gewonnen. Die Seren wurden in inaktiviertem Zustand verbraucht. Als Antigen dienten Blutkörperchen der verschiedenen Blutgruppen oder deren Stromata. Die Blutkörperchen wurden in Verdünnungen von 1:100, 1:1000 und 1:10000 aufgeschwemmt, die Stromata auf die Ausgangsmenge des Blutkörperchensediments aufgefüllt (1:1) und auf 1:10 und 1:100 verdünnt. Als Komplement wurde natives Meerschweinchenserum verwandt. Den Amboceptor gewinnt man durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblutkörperchen. Amboceptor oder Komplement sind vor jedem Versuch neu einzustellen. Wir arbeiteten mit feststehenden Amboceptorlösungen, die etwa der vierfachen Menge der eben hämolysierenden Dosis entsprachen. Vom

* Herrn Professor Dr. KARL REUTER zum 80. Geburtstag in dankbarer Verehrung zugedacht.

Komplement gelangte die $2\frac{1}{2}$ -fache lösende Menge zur Anwendung. Die Hammelblutkörperchen sind vor jeder Untersuchung frisch zu entnehmen. Das Defibrinieren erfolgt zweckmäßig mit Glasperlen. Mehr als zweimaliges Waschen der Blutkörperchen beschleunigt die Hämolyse und führt leicht zu fehlerhaften Ergebnissen.

Die Versuchsanordnung entspricht der heute üblichen WASSERMANNschen Methode:

0,25 cm³ Antiserum wurden mit je 0,25 cm³ Antigen und Komplement versetzt. Nach 30 min Reifen im Wasserbad bei 37° C erfolgte Zusatz von 0,5 cm³ sensibilisiertem Hammelblut (0,25 cm³ Amboceptor + 0,25 cm³ 5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung). Die Ablesung erfolgt nach vollständiger Lösung der Kontrollen. Als Kontrollen sind stets mitzuführen: die Kontrollen des Antiserums und des Antigens in den jeweils entsprechenden Verdünnungen sowie, um eine unspezifische Eigenhemmung infolge Antigen- oder Antiserumüberschuß übersehen zu können, die Kontrolle des hämolytischen Systems.

Von 6 zur Untersuchung verwandten Antiseren *erwies sich lediglich ein Anti-A-Serum als brauchbar*. Es konnten Blutkörperchen der Gruppe A₁ und A₂ sowie deren Stromata nachgewiesen werden. Das Anti-A-Serum hatte seine optimale Wirkungsbreite bei Verdünnungen von 1:640 bis 1:2560. Der Nachweis gelang jedoch meist nur bei Vorliegen erheblicher Antigenmengen und zwar bei Blutkörperchenaufschwemmungen in einer Konzentration von 1:100 und Stromatasuspensionen, die der Ausgangsmenge des Blutkörperchensediments entsprachen. Bei Verdünnungen des Antiserums von 1:40 bis 1:320 war die Ablenkung unspezifisch.

Durch Absorption des Anti-A-Serums mit B- und 0-Blutkörperchen lassen sich unspezifische komplementbindende Antikörper abschwächen bzw. entfernen. Der spezifische Wirkungsbereich unseres Serums erfuhr eine Ausdehnung nach oben bis zu einer Verdünnungsstufe von 1:80. Der Nachweis geringer Antigenmengen blieb jedoch auch bei Vorabsorption erfolglos. Die komplementablenkenden Antikörper sind gegenüber der Absorption sehr labil. Sie können, wie KRAH berichtet, durch geringfügige, der Beobachtung und Lenkung entzogene Änderungen des Absorptionsverfahrens leicht in Mitleidenschaft gezogen werden.

Anti-A-Seren von Kaninchen sind dem Typus Forssman einzuordnen. Wegen ihrer heterogenetischen Eigenschaft erschweren derartige Seren die Untersuchung. Unser Serum vermochte von sich aus — ohne Anwesenheit des Amboceptors — Hammelblutkörperchen zu hämolysieren. Diese Eigenschaft erschöpfte sich erst bei Serumverdünnungen über 1:640. Selbst unter Zusatz von erheblichen Antigenmengen behielt das Serum in Konzentrationen bis zu 1:20 seine hämolysierende Fähigkeit.

Absorption mit Hammelblutkörperchen befreit ein Anti-A-Serum von den Hämolysinen unter Erhaltung der spezifischen komplementablenkenden Antikörper. Die optimale Wirkung des Anti-A-Serums

erfuhr durch die Absättigung der unerwünschten Antikörper eine Verschiebung in einen günstigeren Konzentrationsbereich von 1:160 bis 1:640, der es ermöglichte, geringere Antigenmengen als vorher — nämlich Blutkörperchenaufschwemmungen in einer Konzentration von 1⁰/₁₀₀ — nachzuweisen. In Verdünnungen von 1:20 und 1:40 behielt das Serum seine unspezifische Wirkung.

Bei abschließenden Versuchen der M- und N-Bestimmung erwies sich von 3 untersuchten Seren nur ein Anti-M-Serum für die Anwendung der Komplementbindungsreaktion als brauchbar. Das Serum verhielt sich vor der Absorption völlig indifferent. Nach Absorption mit A₁-N-Blutkörperchen hatte es seine optimale Wirkungsbreite in Verdünnungen von 1:160 bis 1:640. Jedoch gelang der Faktorennachweis jeweils nur bei Vorliegen erheblicher Antigenmengen.

Die Untersuchungsergebnisse besagen, daß nur wenige Antiseren spezifische komplementbindende Eigenschaften aufweisen. Die Bildung solcher Antikörper ist, wie auch KRAH mitteilt, von der wechselnden Bereitschaft der Kaninchen, spezifische komplementbindende Körper zu entwickeln, abhängig. Im Gegensatz zu den Hämagglutininen sind die komplementbindenden Antikörper gegenüber der Absorption sehr labil.

Der Blutgruppennachweis an Hand der Komplementbindungsmethode ist bei Verwendung geeigneter Seren durchaus möglich. Auch zur Identifizierung von Blutflecken und -spuren erscheint die Anwendung dieses Verfahrens erfolgversprechend. Zum spezifischen Nachweis bedarf es jedoch meist erheblicher Antigenmengen. Aus diesen Gründen erscheint die Methode wenig geeignet, in der Blutspurendiagnostik das HOLZERSche Verfahren zu ersetzen.

Literatur.

GRAETZ: Z. Immun.forsch. **6**, 627 (1910); **13**, 329 (1912). — KRAH: Z. Immun.forsch. **106** (1949). — NEISSER u. SACHS: Berl. klin. Wschr. **1905**, Nr 44; **1906**, Nr 3. — Dtsch. med. Wschr. **1906**, Nr 39. — Klin. Jb. **19**, 28 (1908). — SCHIFF: Über die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers. Jena: Gustav Fischer 1931.

Dr. G. SCHNUG, Göttingen,
Institut für gerichtliche Medizin der Universität.
