

Aus dem Institut für gerichtliche und Versicherungsmedizin der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. med. W. LAVES)

Eine Schnellmethode zur artspezifischen Differenzierung menschlichen Blutes

Von

J. JUNGWIRTH

(Eingegangen am 21. Juli 1956)

WIENER wies 1949 auf die Möglichkeit des forensischen Nachweises von menschlichen Serumglobulinen aus Blutflecken mit Hilfe der Antiglobulinmethode (AG) hin. Er kam auf Grund quantitativer Versuche zu dem Ergebnis, daß menschliches Serumglobulin die Wirkung eines Kaninchen-Anti-Mensch-Globulinserums aufhob, während das Bluteiweiß verschiedener Tierarten diese Fähigkeit nicht besaß. Andere menschliche Körperflüssigkeiten wie Sperma, Urin und Speichel zeigten ein indifferentes Verhalten. Für eine routinemäßige Anwendung in der forensischen Spurenbegutachtung erschien dieses Verfahren wegen der umständlichen Versuchsanordnung wenig geeignet. Aus diesem Grund wurde versucht, durch eine entsprechende Modifikation der Untersuchungstechnik eine Schnellmethode zu entwickeln, welche die gleichzeitige Testung zahlreicher Blutspuren gestattete. Bei Verwendung von AG-Seren in bestimmten Verdünnungsbereichen konnte eine Steigerung der Empfindlichkeit beobachtet werden, wobei das zu testende Bluteiweiß selbst in hoher Verdünnung noch volle Wirksamkeit zeigte. Für den Reaktionsansatz genügen daher schon geringste Mengen des Ausgangsmaterials. Selbstverständlich kann auf diese Weise nur die Frage geprüft werden, ob eine Blutspur menschlicher oder nichtmenschlicher Herkunft ist. Zur Bestimmung der Artspezifität ist das UHLENHUTHsche Verfahren anzuschließen.

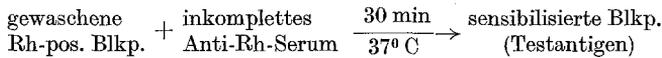
Die Anwendung stützt sich auf die Tatsache, daß mit Hilfe des AG-Tests menschliche Bluteiweißkörper aus der Globulinfraktion auf direkte Weise nachgewiesen werden können. Die an den Erythrocytenoberflächen fixierten Globulinmoleküle werden durch das AG-Serum präzipitiert. Das AG-Serum ist gegenüber Verunreinigungen durch menschliches Bluteiweiß mit seiner Globulinfraktion äußerst empfindlich und kann schon durch minimale Beimengungen neutralisiert werden. Dieses Verhalten kann für Nachweis und Differenzierung menschlicher Blutspuren herangezogen werden.

Zur Versuchsanordnung sind zwei bekannte Größen vorauszusetzen:

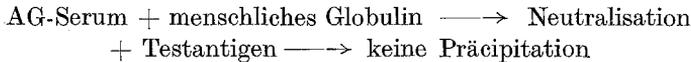
a) das eingestellte AG-Serum (optimale Gebrauchsverdünnung wie für Rh-Antikörper);

b) das Testantigen. Dieses gewinnt man durch Inkubation gewaschener Rh-positiver Blutkörperchen mit einem mittelstarken inkompletten Anti-Rh-Serum und nachfolgender Waschung zur Entfernung von freien Serumeiweißkörpern.

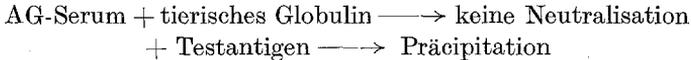
Herstellung des Testantigens:



Beim normalen Ablauf der AG-Reaktion werden die sensibilisierten Erythrocyten durch die Antiglobulinmoleküle präcipitiert, ein Vorgang, der als Agglutination sichtbar wird. Wird das AG-Serum mit gelöstem menschlichen Bluteiweiß vermischt, so verbinden sich die Wirkungsgruppen der Antiglobulinmoleküle mit den freien Globulinmolekülen und werden neutralisiert. Setzt man nun das Testantigen zu, so bleibt die Präcipitation aus; die sensibilisierten Erythrocyten werden nicht agglutiniert.



Wird dem AG-Serum Bluteiweiß tierischer Herkunft zugesetzt, so bleiben die Wirkungsgruppen der Antiglobulinmoleküle unbeeinflusst. Beim Zusatz des Testantigens verläuft die AG-Reaktion positiv (Präzipitation):



Der praktische Vorteil dieses Verfahrens liegt vor allem in seinem kurzzeitlichen Ablauf. Die Neutralisation des AG-Serums ist 5 min nach Vermischung mit der Blutlösung vollzogen. Die AG-Reaktion selbst benötigt weitere 10 min, also insgesamt 15 min. Besteht die Aufgabe, zahlreiche Blutspuren zu untersuchen, so ist eine rasche Differenzierung von Blutspuren menschlicher und tierischer Herkunft möglich.

Das Arbeiten mit Tropfenvolumina beim AG-Test erlaubt selbst bei minimalem Spurenmaterial eine zuverlässige Beurteilung. Bei alten oder geschädigten Spuren kann die Methode durch weitere Verdünnung des AG-Serums beliebig verfeinert werden. Die mitzuführenden Kontrollreaktionen mit Kochsalzlösung und Blutseren tierischer Herkunft zeigen auch in solchen Fällen die Wirksamkeit der verwendeten AG-Serumverdünnung an. Bei alten Spuren ist zu berücksichtigen, daß sie längere Zeit zur Lösung benötigen als frische.

Der Testserumverbrauch ist äußerst gering, da bei einer Gebrauchsverdünnung von 1:50 mit einem Tropfen eines unverdünnten AG-Serums 50 Reaktionsansätze herzustellen sind.

Zur praktischen Durchführung empfiehlt sich folgende Versuchsanordnung:

Die zu testenden Spuren werden nebst der Spureträgerleerkontrolle ausgeschnitten und mit Kochsalzlösung beschickt. Die Menge der zugesetzten Lösungsflüssigkeit hängt von der Beschaffenheit der Spuren ab. Bei deutlicher Verfärbung des Lösungsmittels kann die Reaktion angesetzt werden. Vor Entnahme der zu prüfenden Lösung werden die Röhrchen scharf zentrifugiert.

Bei geeigneten Spureträgern mit glatter Oberfläche wie Messerklingen, Glasplatten usw. kann das Lösungsmittel direkt auf die Spur aufgetragen werden.

Die zu testenden Lösungen werden zweckmäßig nebeneinander auf einer sorgfältig gereinigten Milchglasplatte aufgetragen. Am Ende werden zur Kontrolle jeweils gleiche Volumina Kochsalzlösung, unverdünntes tierisches Mischserum und menschliches AB-Serum (1:100 verdünnt) angesetzt. Das AG-Serum wird nun gleichzeitig auf sämtliche Ansätze getropft und gut vermischt. Nach 5 min wird das Testantigen dazugegeben. Nach leichtem mehrmaligen Neigen der Platte wird der Reaktionseintritt schon wenige Sekunden später sichtbar. Ausbleiben oder Hemmung der Reaktion nach Ablauf von 10 min spricht für die Anwesenheit menschlicher Bluteiweißkörper. Die Reaktionsbilder sind weitgehend vom jeweiligen AG-Serum und dem Testantigen abhängig. Eine einwandfreie Beurteilung wird in jedem Fall durch die Kontrollreaktionen ermöglicht.

Der Überstand in den Teströhrchen kann für weitere zusätzliche Untersuchungen (Spektroskopie, Blutgruppen, Uhlenhuth usw.) verwendet werden.

Die angegebene Methode erlaubt besonders bei der Prüfung eines umfangreichen Spurenmaterials eine schnelle Orientierung und stellt daher eine große Erleichterung dar. Die Verlässlichkeit ihrer Anwendung konnten wir bei zahlreichen Untersuchungen im Laufe der letzten Jahre unter Beweis stellen.

Zusammenfassung

Die hemmende Wirkung menschlicher Serumglobuline auf Anti-globulinseren kann zum Nachweis menschlichen Bluteiweißes in Blutflecken herangezogen werden. Es wird ein Verfahren beschrieben, welches die gleichzeitige Testung zahlreicher Blutspuren gestattet. Als besondere Vorzüge sind neben dem kurzzeitlichen Ablauf (15 min) der äußerst geringe Testserumverbrauch hervorzuheben.

Literatur

WIENER, A. S., M. A. HYMAN and LILLIAN HANDMAN: Inhibition test for human gamma globulin. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 1949, 71, 96.

Dr. J. JUNGWIRTH, München 15, Frauenlobstr. 7, Inst. f. ger. Med.