

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Akademie für Heilkunde  
in Poznań Polen (Leiter: Dozent Dr. E. CHRÓŚCIELEWSKI)

## Praktische Modifizierung der Lattesmethode

Von

**TADEUSZ MARCINKOWSKI**

(Eingegangen am 23. Juli 1958)

Der Nachweis von Isoagglutininen in Blutflecken ist in vielen Fällen mit großen Schwierigkeiten verbunden. Viele Verfasser haben darauf hingewiesen, daß Isoagglutinine im Gegensatz zu Antigenen sehr schnell in Blutflecken zerstört werden. Sie sind im allgemeinen empfindlicher gegenüber schädlichen Einflüssen als Isoagglutinogene und deshalb auch schwerer in Blutflecken zu ermitteln. OLBRYCHT weist auf den Einfluß von Blutbeimengungen hin, die die Aktivität der Seren beeinträchtigen. So werden auch in Blutflecken Isoagglutinine rasch zerstört, manchmal schon innerhalb einiger Tage, während sie sich in flüssigen Seren, ohne Blutvermischung, sehr lange erhalten und anfangs sogar ihre Titerwerte bewahren.

Es scheint, daß hier das *Eintrocknen* eine große Rolle spielt. Die Resultate, die man mittels des modifizierten Lattes-Verfahrens — von dem später die Rede sein wird — erzielt hat, lassen annehmen, daß der Eintrocknungsprozeß manchmal den Nachweis von Isoagglutininen erheblich erschwert. Das Eintrocknen des Blutfleckens verursacht jedoch nicht immer den Abbau der Agglutinine, sondern erschwert oft nur ihre Nachweisbarkeit.

Bei der Lattes-Probe wendet man gewöhnlich die Reagensglasmethode an (4 Tropfen 2%ige Blutkörperchen-Aufschwemmung A oder B + 2 Tropfen Auszug aus dem Blutflecken) oder die Objektträgermethode in folgenden Abarten:

1. Ein Tropfen 2%ige Probeblutkörperchen-Aufschwemmung A oder B + 2 Tropfen Auszug aus dem Blutflecken.
2. Zugabe eines Tropfens 2%iger Probeblutkörperchen-Aufschwemmung zum eingetrockneten, durch Zusetzen und Eintrocknen immer wieder neuer Tropfen entstandenen Blutfleckenauszug (sog. Isoagglutinin-Anreicherungsverfahren im Auszug).
3. Zugabe eines Tropfens 2%iger Probeblutkörperchen-Aufschwemmung zu einem Klümpchen Trockenblut unter dem Deckglas.

Vielmals habe ich auf diese Weise die Lattes-Methode angewandt, jedoch nur selten ganz sichere Resultate erzielt.

Außerdem gibt es noch das Agglutinin-Anreicherungsverfahren (MÜLLER), das jedoch eine größere Menge Blut, namentlich 50—100 mg, benötigt.

Von anderen Methoden zur Ermittlung von Isoagglutininen ist noch die von PONSOLD angegebene bemerkenswert<sup>5</sup>. Dieses Verfahren hat zwar viele Vorteile, ist aber nicht einfach in der Ausführung. PONSOLD stellt übrigens selbst fest, daß seine Methode nur bessere Vorbedingung zum Ablesen eines positiven Resultates gibt als die Objektträgermethode. Im Vergleich zu der von mir vorgeschlagenen Methode, die gerade auf der Serumverdichtung beruht, ist das also ein nicht geringer Unterschied. Demnach ist die vorgeschlagene Modifizierung, von der weiter die Rede sein wird, im gewissen Sinne dem oben angegebenen Verfahren von MÜLLER, das übrigens grundsätzlich auf der Lattes-Methode beruht, ähnlich.

Angesichts der in Kürze vorgestellten Schwierigkeiten habe ich den Nachweis von Isoagglutininen in Blutflecken auf eine in der Praxis sehr bewährte Art und Weise ausgeführt, die die Möglichkeit der Feststellung von Gruppen-Antikörpern erleichtert.

#### *Technik des Verfahrens*

Filtrierpapier wird in Streifen zu 3—5 cm Länge und 3—5 mm Breite zerschnitten. Empfehlenswert ist Filtrierpapier von höchster Qualität (benutzt wurde Filtrierpapier „Selecta“ der Fa. Schleicher & Schüll, das nach Verbrennen eines Saugfleckens von 5,5 cm Durchschnitt 0,00002 g Asche ergibt).

Die Papierstreifen steckt man in Probierröhrchen mit Auszügen aus Blutflecken (in 0,1—0,3% NaCl-Lösung), und zwar so, daß das eine Ende des Streifens in der Flüssigkeit steht. Die Streifen halten sich längere Zeit ganz leicht in dieser senkrechten Stellung. An dem aus der Flüssigkeit herausragenden Teil des Streifens erfolgt eine langsame Verdunstung der Flüssigkeit. Auf diese Weise entsteht eine Konzentration der im Auszug enthaltenen Substanzen an der am weitesten von der Oberfläche der Flüssigkeit entfernten Stelle des Streifens, d. h. an der Öffnung des Röhrchens. Ich habe bemerkt, daß diese Reaktion sich schneller vollzieht, wenn die oberen Enden der Streifen scharf abgeschnitten oder gezackt sind. Benutzt habe ich Röhrchen von 6—7 cm Länge und 1 cm Durchmesser.

Um Streifen, die an einem Ende mit angehäuftem Isoagglutininen getränkt sind, zu erhalten, braucht man nicht besondere Auszüge aus den Blutflecken vorzubereiten (in 0,1—0,3% NaCl-Lösung), sondern man kann die Extrakte auch mit Hilfe isotonischer NaCl-Lösung herstellen. Nach Erhalt eines solchen Auszuges steckt man noch zusätzlich einen Filtrierpapierstreifen in das Probierröhrchen und stellt dieses auf die Dauer von einigen bis zu 14 Tagen in den Eisschrank (Temperatur +4° C). Die Papierstreifen in den Auszügen müssen nur dann längere Zeit im Eisschrank aufbewahrt werden, wenn die Blutflecken nicht sehr frisch oder sehr klein sind.

Wenn die Konzentration der Isoagglutinine an den freien Enden der Streifen genügend stark ist, was an der intensiven Färbung mit Hämoglobin zu erkennen ist, schneidet man von den angefärbten Enden der Streifen kleine Stückchen von 2—4 mm Länge ab und legt sie flach auf die, mit 0, A und B (den Blutkörperchen entsprechend) bezeichneten und mit der Nummer des Probierröhrchens, d. h. des zu prüfenden Beweisgegenstandes, versehenen Objektträger und bedeckt sie, mit leichtem Druck, mit dem Deckglas. Man muß dabei zu verhindern suchen, daß die Streifenausschnitte vor dem Zusetzen der betreffenden 0,5%igen Testblut-

körperchen-Aufschwemmung, eintrocknen. Die Probekörperchen 0, A und B tropft man am besten erst unter die eine Randpartie des Deckglases und, wenn dieses an dieser Stelle gut anliegt, unter die entgegengesetzte Randpartie.

Die Testblutkörperchen-Aufschwemmung wird nicht unmittelbar auf die Papierstreifen getropft, sondern man läßt sie unter das Deckglas einströmen. Auf diese Weise verhindert man, daß die Blutkörperchen auf die Oberfläche des Papierstreifenausschnittes geraten und sich so an dieser Stelle mit den Isoagglutininen verbinden. Derart erhält man ein deutlicheres Hervortreten der Agglutination an den Randpartien, und zwar an dem unmittelbaren Berührungspunkt der Blutkörperchen-Aufschwemmung mit dem, an den Enden mit dem Auszug getränkten, Papierausschnitt.

Das Ablesen des Resultates beginnt man am besten nach 10 min und wiederholt es einige Male, nach je 10 min.

Auf einem Objektträger kann man zwei Ausschnitte mit verschiedenen Auszügen, die selbstverständlich mit zwei verschiedenen Ziffern versehen und mit verschiedenen Deckgläsern bedeckt sind, unterbringen, was bei einer größeren Anzahl von Prüfungen von gewisser Bedeutung ist, denn zum Nachprüfen von zwei Auszügen, kann man sich mit drei, für drei verschiedene Aufschwemmungen der Blutkörperchen A, B und 0 bestimmten, Objektträgern begnügen.

Manchmal ist es vorteilhaft, unter einem Deckglas nicht ein, sondern zwei Papierstreifenausschnitte, die mit demselben Auszug benetzt sind, unterzubringen, und zwar derart, daß sie ungefähr 2 mm voneinander entfernt sind. Bei einer solchen Lage ist die Verdichtung der Isoagglutinine, die auf die Blutkörperchen einwirken, auf dem engen Raum zwischen den beiden Ausschnitten größer und infolgedessen das Hervortreten der Agglutination an dieser Stelle deutlicher. Diese Methode kann man anwenden, wenn die Dichte der Agglutinine im Auszug schwach ist.

Dem freien Ende des Papierstreifens, d. h. der Stelle, die am stärksten mit dem Auszug benetzt ist, muß man nicht allzu große Ausschnitte entnehmen, damit der Rest des übriggebliebenen Materials für etwaige weitere Kontrollprüfungen zur Verfügung steht. Zu diesem Zwecke, und auch falls man das erstmal ein negatives Resultat erhält, steckt man dieselben Streifen wieder in die Probierröhrchen (die stärker gefärbten Enden oben, die anderen in den Extrakt) und stellt diese noch einmal in den Eisschrank (Temperatur  $+4^{\circ}\text{C}$ ), wonach man die Prüfung nach längerer Zeitspanne wiederholt. Positive Resultate geben solche Proben manchmal erst nach 3—4 oder selbst mehr Wochen Aufbewahrung im Eisschrank. Die Probierröhrchen bleiben im Eisschrank immer offen. Wenn uns an einem schnellen Ergebnis gelegen ist, kann man sich der Verdunstung im luftleeren Raum bedienen (z. B. Trocknungsapparat von Leitz-Bergmann).

Die *Vorzüge* der oben angegebenen Prüfungsmethode sind folgende:

a) Falls man einen kleinen Blutfleck zur Prüfung erhält, braucht man ihn nicht zum Nachweis von Isoagglutinogenen und Isoagglutininen zu teilen, sondern es genügt eine Lösung für den Nachweis beider.

b) Die Vorbereitung der Filtrierpapierstreifen zum Ermitteln des Vorhandenseins von Isoagglutininen ist sehr einfach. Die Papierstreifen kann man gleich beim Aufziehen der Verdünnungsflüssigkeit in die Probierröhrchen stecken.

c) Die Intensität der Färbung am freien Ende des Filtrierpapierstreifens ist im allgemeinen proportional der Dichte der Aufschwemmung

der Gruppen-Antikörper auf diesem Abschnitt. Sie gibt somit gute Hinweise für den Beginn der weiteren Prüfung.

d) Falls die Probe auf Isoagglutiningehalt ein negatives Resultat gibt, kann man sie nach längerer Zeit wiederholen, indem man sich des von den früheren Proben übriggebliebenen Materials bedient.

e) Positive Ergebnisse wurden auch in Fällen erzielt, in denen die Lattes-Methode negative Resultate ergeben hatte.

### Literatur

<sup>1</sup> BRONNIKOWA, M. A.: Gerichtlich-Medizinische Prüfung von Beweisgegenständen. Übers. von S. LAGUNA. S. 64. 1956. — <sup>2</sup> MARCINKOWSKI, T.: Bequeme Gebrauchsanweisung zum Ermitteln des Hämoglobins in manchen Fällen. <sup>3</sup> MUELLER, M. A.: Das Agglutinin-Anreicherungsverfahren zur Blutgruppenbestimmung an altem, eingetrocknetem Blute. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **11**, 120—128 (1928). — <sup>4</sup> OLBRYCHT, A.: Über Methoden der Blutfleckenprüfungen. Arch. Med. Sąd. Psych. Sąd. i Kriministyki **1** (1951). — <sup>5</sup> PONSOLD, A.: Eine Mikromethode zur quantitativen Auswertung kleinster Serummengen. Die Bestimmung des Agglutiningehaltes mittels Capillarröhrchen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **23**, 46—60 (1934).

Dr. TADEUSZ MARCINKOWSKI,  
Poznań-Junikowo (Polen), ul. Dziewinska 23