

Aus dem Institut de Médecine légale et sociale de Lille  
(Directeur: Prof. MAURICE MULLER)

## Identifizierung von biologischen Produkten durch immunchemische Methoden\*

Von

PIERRE H. MULLER und GUY FONTAINE

Mit 16 Textabbildungen

Die immunchemischen Methoden, die sich der Antigen-Antikörper-Reaktion bedienen, werden seit 1901 in der gerichtlichen Medizin angewandt (UHLENHUTH, WASSERMANN u. SCHUTZE). Sie sind unter dem Namen „Methode der Immunsere“ bekannt und wurden von LECLERCQ u. DERVIEUX im Jahre 1912 in Frankreich erarbeitet.

Leider bildet das Ablesen der Reaktion, die sich in einer Hämolyse-Glasröhre vollzieht, zum großen Teil eine subjektive Beurteilung. Die Bildungszeit des Präcipitates und manchmal sogar sein Vorhandensein — wenn die Antigenlösung (Einweichung des Fleckes) nicht ganz durchsichtig ist oder wenn das Immuserum leicht milchartig ist — müssen berücksichtigt werden.

Bereits im Jahre 1946 kamen wir angesichts dieser Schwierigkeit auf den Gedanken, die Reaktionen mit verschiedenen Gelatinierungsmitteln zu untersuchen, wobei der Akaziengummi besonders zufriedenstellende Ergebnisse zeigte<sup>14-17</sup>). Das Verfahren ist einfach: man mischt die gleiche Quantität von 4%iger Akaziengummilösung und von Immuserum. Bevor man diese Mischung in eine gut gesäuberte Hämolyse-Glasröhre gießt, berichtigt man den  $p_H$ -Wert des Gels. Dann wird das Testserum oder die Einweichungsflüssigkeit des Fleckes hinzugesetzt. Die Reaktion zeigt sich nach ungefähr einer Viertelstunde. Wenn man die Röhre lang genug aufbewahrt, sieht man nach 12—24 Std unter der Trennungslinie zwischen dem Immuserum und der Lösung — die man untersuchen will — verschiedene deutliche Präcipitationszonen.

In den letzten Jahren haben wir unsere Forschungen auf diesem Gebiet fortgeführt und zur Identifizierung der Blutflecken die Ouchterlony-Methode<sup>21-26</sup> und die Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZ<sup>10</sup> angewandt.

Die schon erworbenen Resultate haben wir bereits in mehreren Mitteilungen veröffentlicht<sup>18-20</sup>. Wir möchten aber durch den hier vorge-

---

\* Vortrag auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in Zürich, September 1958.

tragenen Bericht besonders die Möglichkeit und Grenzen der Anwendung dieser Antigen-Antikörper-Reaktion in Gelose in der gerichtlichen Medizin präzisieren.

## I. Die angewandten Verfahren

### A. Ouchterlony-Makromethode

Man nimmt 1,5prozentige Gelose, die in einem kochenden Wasserbad geschmolzen wird, und bringt sie durch eine Pipette auf eine  $8,5 \times 10$  cm große Glasplatte. Diese Gelose verdichtet sich schnell und wird zu einer homogenen durchsichtigen Schicht von ungefähr 3 mm. Unter die Glasplatte wird eine geometrische Zeichnung gelegt. Diese Zeichnung besteht aus einem in der Mitte liegenden Kreis, der von 4 anderen peripheren Kreisen gleich weit entfernt liegt. Entsprechend den Kreisen wird die Gelose mit Hilfe eines kleinen metallischen Zylinders, der mit einer Gummiröhre verbunden ist, geschnitten und angesaugt. Der Durchmesser der Löcher beträgt  $\frac{1}{2}$  cm und der Abstand zwischen den peripher gelegenen Löchern und dem zentral gelegenen Loch 1 cm.

Das zentrale Loch wird mit Immenserum und die peripheren Löcher werden mit den verschiedenen zu untersuchenden Antigenlösungen gefüllt.

Es ist wichtig, die gleichen Mengen von Antigenen und Antikörpern in die verschiedenen Behälter zu gießen<sup>11</sup> [11].

Die Glasplatten werden in „Feuchtkammern“ aufbewahrt, um die Austrocknung der Gelose zu vermeiden. Die Wände dieser „Feuchtkammern“ werden mit Methylbenzol und einem organischen Quecksilberderivat gestrichen, um die Entwicklung von Schimmel zu verhindern<sup>12</sup>.

Das Ablesen der Reaktionen kann nach 24—36 Std erfolgen. Zu dieser Zeit sind tatsächlich bereits Präcipitationslinien zwischen dem Zentral- und den peripheren Löchern sichtbar. Allerdings ist ein Wiederauffüllen der Behälter empfehlenswert, um die Reaktionen klarer erscheinen zu lassen. Dieses Wiederauffüllen geschieht nach 24—48 Std. Man kann unter Umständen abermals ein Wiederauffüllen am dritten Tag vornehmen; wir haben hiervon jedoch nur ausnahmsweise Gebrauch gemacht.

Die Glasplatten werden 4—5 Tage aufbewahrt und photographiert.

Man kann außerdem nach Austrocknen und Waschen die Präcipitate durch Amidoschwarz 10 B, Blauschwarz Naphtol B, Blau-Bromophenol oder Azokarmin färben<sup>30, 31</sup>.

Diese Makromethode von OUCHTERLONY hat den Vorteil, eindeutige und genaue Resultate zu liefern. Andererseits aber erfordert sie große Mengen von biologischen Produkten (Immenserum und Einweichlösung

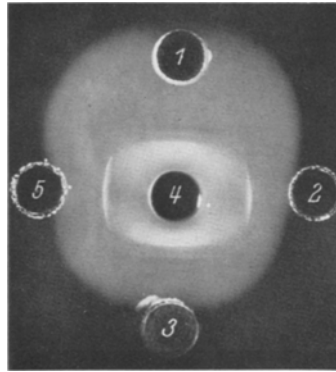


Abb. 1. Makromethode von OUCHTERLONY. 1—3 menschliches Serum zu  $\frac{1}{20}$  verdünnt; 2—5 Einweichungsflüssigkeit von Blutflecken; 4 Anti-Mensch-Kaninchenserum (A.M.K.S.)

des zu untersuchenden verdächtigen Fleckes), so daß seine Anwendung bei gerichtsarztlichen Gutachten begrenzt ist.

### B. Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZ<sup>10</sup>

Diese Methode besteht darin, daß man über eine hämatologische Glasplatte die in einem kochenden Wasserbad geschmolzene 1,5prozentige Gelose gießt. Nach Erkalten erhält man eine homogene und durchsichtige Geloseschicht; unter diese schiebt man eine geometrische Zeichnung, die einen Zentralpunkt und 2 oder 4 peripherische vom Zentrum gleich weit entfernte Punkte hat. Die Gelose wird mit einer intramuskulären Nadel von 16/10 mm ohne Spitze herausgestanzt. Das zentrale Loch wird mit Immunsérum gefüllt und die

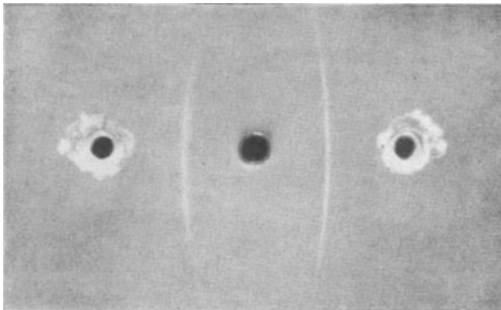


Abb. 2. Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZ. Das zentrale Loch enthält A.M.K.S. und die beiden peripheren Löcher enthalten eine Einweichungsflüssigkeit von Blutflecken

peripheren Löcher mit verschiedenen noch zu untersuchenden Antigenlösungen. In gleicher Weise wie bei der Makromethode werden die Glasplatten in „Feuchtkammern“ aufbewahrt.

Die Resultate zeigen sich nach 24 Std. Um die Präcipitationslinien zu präzisieren, füllt man die Löcher noch einmal. Nach Trocknen und Waschen in derselben Weise wie bei der Makromethode ist die Glasplatte nach 24 Std gefärbt.

Diese Mikromethode ist leicht durchzuführen und ihr großer Vorteil besteht darin, daß man für das Füllen der Löcher nur wenig biologische Flüssigkeit braucht.

### C. Immuno-Elektrophorese

Wir haben eine Mikromethode der Immuno-Elektrophorese entsprechend der Technik von SCHEIDEGGER<sup>28, 29</sup> angewandt, um die Bestandteile einer Antigenlösung festzustellen und sie gemäß ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit zu identifizieren.

Die einzigen Veränderungen, die wir bei der von SCHEIDEGGER beschriebenen Methode vorgenommen haben, betreffen einmal die Länge des zentralen Einschnitts, der das Immunsérum enthält; dieser Einschnitt beträgt 3,5 statt 3 cm; zum anderen die Dauer der Elektrophorese, die  $1\frac{1}{2}$  Std statt 45 min beträgt, mit einer potenziellen Differenz der Pole der Glasplatten von 20 statt 40 Volt.

## II. Die angewandten Seren

### A. Das Anti-Mensch-Kaninchen-Sérum (A.M.K.S.)

Das A.M.K.S. dient als Basis unserer Untersuchung. Wir präparieren es nach der Methode von DALLA VOLTA mit gekochtem Antigen<sup>17</sup> und injizieren dem Kaninchen im Bauchfell eine Emulsion von 1 g gekochten Antigens (menschliches Sérum) in 20 cm<sup>3</sup> physiologischer Kochsalzlösung. Nach 6 Tagen injizieren wir

intravenös ein 1 cg Antigen emulgiert mit 5 cm<sup>3</sup> physiologischer Kochsalzlösung, und nehmen 48 Std später einen Aderlaß vor. Wir erhalten auf diese Weise nahezu regelmäßig Immunsereen von  $\frac{1}{100\,000}$ .

### B. Das Anti-Mensch-Pferde-Serum (A.M.P.S.)

Das A.M.P.S. wird vom Institut Pasteur in Paris geliefert und stammt von Pferden, die mehrere Monate lang mit einer Mischung von normalen menschlichen Seren überimmunisiert wurden. Dieses Immunsereum dient uns ganz speziell für unsere immunochemischen Analysen; wir haben es aber auch für die Präzipitationsreaktionen in Gelose verwandt.

### C. Das Anti-Menschen-Eiweiß-Kaninchen-Serum (A.M.E.K.S.)

Um das A.M.E.K.S. zu erhalten, haben wir beim Kaninchen 3mal wöchentlich während der Dauer von 3 Wochen intravenöse Injektionen mit menschlichem Serumalbumin (Albumine Humaine POVIPE) vorgenommen, und zwar in progressiv steigenden Dosen. Bei der ersten Injektion beträgt die Dosis 0,5 mg, 1 mg bei der zweiten, 2 mg bei der dritten, 4 mg bei der vierten und bei jeder folgenden 8 mg.

Beim Kaninchen wird eine Woche nach der letzten Injektion ein Aderlaß vorgenommen, und sein Serum präzipitiert zu einem Zehntausendstel ( $\frac{1}{10\,000}$ ).

## III. Die Resultate

Wir haben durch die Immunochemie sukzessive die menschlichen Blutflecken, die verschiedenen menschlichen biologischen Flüssigkeiten und mehrere tierische Seren untersucht.

### A. Die menschlichen Blutflecken

Fragmente von mit Blutflecken imprägnierten Kleidungsstücken, die von früheren Gutachten stammten, wurden entnommen und während mehrerer Tage in eine physiologische Kochsalzlösung getaucht. Die so erhaltene Einweichungsflüssigkeit wurde — sowohl bei der Makro- als auch bei der Mikromethode — in die peripheren Löcher gegossen und gegenüber den verschiedenen in das Zentralloch gegossenen Immunsereen (A.M.K.S.—A.M.E.K.S.) untersucht.

Jedesmal, wenn der Blutfleck menschlichen Ursprungs ist, reagiert die Flüssigkeit der Einweichung gegenüber dem Immunsereum, und zwar sowohl bei der Makromethode (Abb. 1) als auch bei der Mikromethode (Abb. 2—4). Die genauere Untersuchung der Glasplatten 2, 3 und 4 erlaubt eine exakte Bestimmung der Substanz von gewissen Antigen-Komponenten der Einweichungsflüssigkeit des menschlichen Blutfleckens. Diese Flüssigkeit entwickelt tatsächlich gegenüber dem AMPS. wenigstens 3 Präzipitationslinien, von denen eine sehr klar erkenntlich ist, nahe dem Zentralloch liegt. Diese Linie bildet mit einer Linie, die zwischen dem A.M.P.S. und dem 1:20 ( $\frac{1}{20}$ ) verdünnten Testserum auftritt, eine positive Identifizierungsreaktion. Wenn man gegen-

über dem A.ME.KS. (Abb. 3) in gleicher Weise verfährt, bemerkt man nochmal diese Präcipitationslinie, aber vielleicht weniger gekennzeichnet. Der hauptsächlichste Bestandteil ist also ein Eiweiß; diese Erkenntnis wird durch die immuno-elektrophoretische Untersuchung der Einweichungsflüssigkeit des menschlichen Blutfleckens (Abb. 5) bestätigt. Diese Untersuchung zeigt wirklich das Vorhandensein eines Bestandteiles, der schnell und weit in Höhe des Eiweißes und des Voreiweißes wandert.

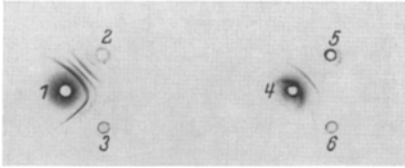


Abb. 3

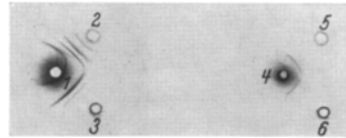


Abb. 4

Abb. 3. Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZ. 2—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum. 3—6 Einweichungsflüssigkeit von menschlichen Blutflecken. 1 Anti-Mensch-Pferd-Serum (A.M.P.S.); 4 Anti-Mensch-Eiweiß-Kaninchen-Serum (A.ME.KS.)

Abb. 4. Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZ. 2—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum. 3—6 Einweichungsflüssigkeit von Blutflecken. 1 A.M.P.S. 4 A.M.K.S.

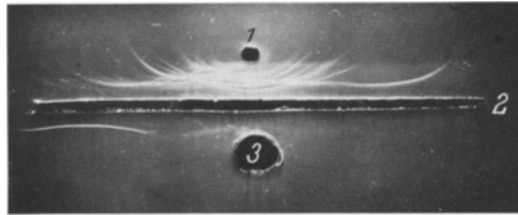


Abb. 5. Immuno-Elektrophorese (Mikromethode von SCHEIDEGGER). 1 reines menschliches Serum; 2 zentraler Schnitt mit A.M.P.S.; 3 unteres Loch von  $\frac{3}{10}$  mm mit Einweichungsflüssigkeit von menschlichen Blutflecken. Man stellt in Höhe des Eiweißes und des Voreiweißes einen großen Komponenten fest. Eine andere Präcipitationslinie ist auf der Höhe der  $\alpha$ -Globuline zu sehen

Außerdem existieren sicher eine oder mehrere andere Komponenten, die in der Höhe des  $\alpha_1$  und  $\alpha_2$ -Globulin wandert.

### B. Die biologischen menschlichen Flüssigkeiten

Wir haben gegenüber dem A.M.KS. eine gewisse Anzahl von menschlichen biologischen Produkten untersucht: normalen Urin, Einweichungsflüssigkeit von Spermaflecken, Magensaft (Abb. 6), Speichel (Abb. 7), Frauenmilch (Abb. 8 und 9), Cerebrospinalliquor.

Wir haben jedesmal ein positives Resultat in Form einer oder mehrerer Präcipitationslinien erhalten sowohl mit der Makro- als auch mit der Mikromethode. Bei diesem letztgenannten Verfahren stellt man — diesmal bei Verwendung eines A.M.P.S. und eines A.ME.KS. — die folgenden Reaktionen fest. Was die Einweichungsflüssigkeit des Spermafleckens betrifft, eine einzige Präcipitationslinie gegenüber dem A.M.P.S.

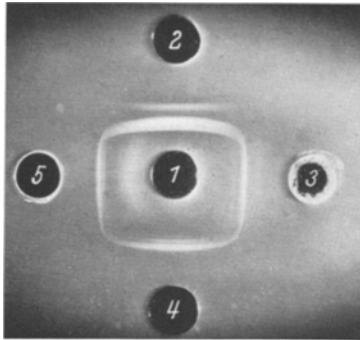


Abb. 6

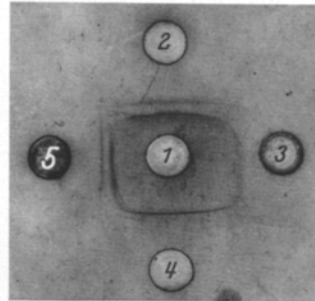


Abb. 7

Abb. 6. Makromethode von OUCHTERLONY. 1 A.M.K.S.; 2 menschliches 1:20 verdünntes Serum; 3 Magensaft; 4 normaler, nichtkonzentrierter Urin; 5 Einweichungsflüssigkeit von Spermaflecken

Abb. 7. Makromethode von OUCHTERLONY. 1 A.M.K.S.; 2 menschliches 1:20 verdünntes Serum; 3 Einweichungsflüssigkeit von Spermaflecken; 4 Einweichungsflüssigkeit von menschlichen Blutflecken; 5 menschlicher Speichel

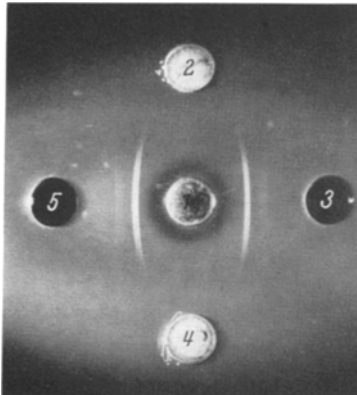


Abb. 8

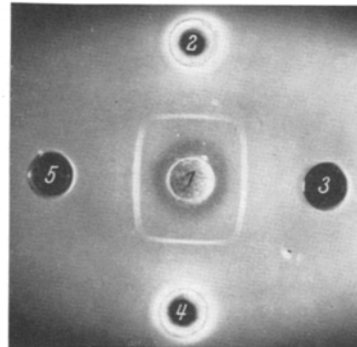


Abb. 9

Abb. 8. Makromethode. 1 A.M.K.S.; 3—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum; 2—4 reines Milchserum von der Kuh

Abb. 9. Makromethode. 1 A.M.K.S.; 2—4 Frauenmilchserum; 3—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum



Abb. 10

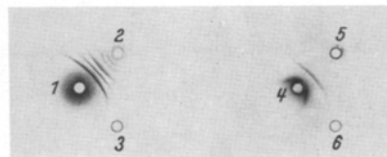


Abb. 11

Abb. 10. Mikromethode. 2—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum; 3—6 Einweichungsflüssigkeit von Spermaflecken; 1 A.M.P.S.; 4 A.M.E.K.S.

Abb. 11. Mikromethode. 2—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum; 3—6 menschlicher Speichel; 1 A.M.P.S.; 4 A.M.E.K.S.

und keine Trübung gegenüber dem A.ME.KS. (Abb. 10). Der Speichel verhält sich nahezu in derselben Weise gegenüber dem gleichen Immuns-  
serum (Abb. 11).

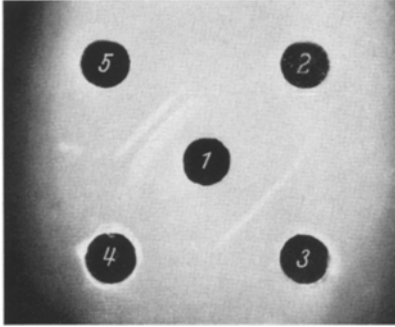


Abb. 12. Makromethode. 1 A.M.K.S.; 2 1:20 verdünntes Schweineserum; 3 Einweichungsflüssigkeit von menschlichen Blutflecken; 4 1:20 verdünntes Hammelserum; 5 menschliches 1:20 verdünntes Serum

### C. Die tierischen Seren

Die Untersuchungen, die wir mit tierischen Seren durchgeführt haben, müssen unserer Ansicht nach in zwei verschiedenen Gruppen zusammengefaßt werden:

1. Eine erste Gruppe von Experimenten hat uns gestattet, das Serum verschiedener Tiere (Schweine, Schafe, Rinder und Pferde) gegenüber dem A.M.K.S. zu prüfen. Sowohl bei der Makro- als auch bei der Mikromethode waren die Resultate wiederholt

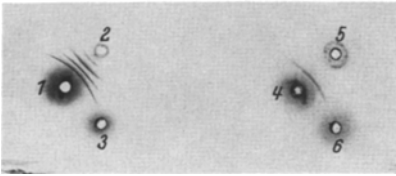


Abb. 13

Abb. 13. Mikromethode. 2—5 menschliches 1:20 verdünntes Testserum; 3—6 1:20 verdünntes Pferdeserum; 1 A.M.P.S.; 4 A.ME.KS.

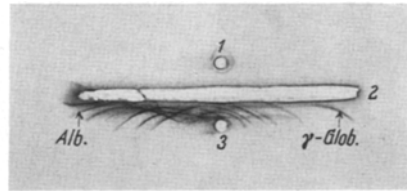


Abb. 14

Abb. 14. Immuno-Elektrophorese (Mikromethode von SCHEIDEGGER). 1 reines Pferdeserum; 2 Zentralschnitt mit A.M.P.S. gefüllt; 3 reines Menschenserum

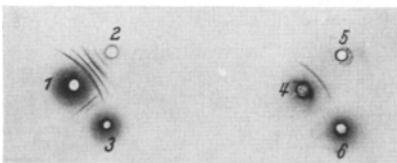


Abb. 15

Abb. 15. Mikromethode. 2—5 menschliches 1:20 verdünntes Serum; 3—6 1:20 verdünntes Rinderserum; 1 A.M.P.S.; 4 A.ME.KS.

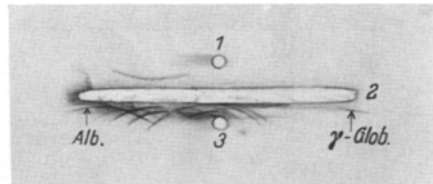


Abb. 16

Abb. 16. Immuno-Elektrophorese. 1 reines Rinderserum; 2 Zentralschnitt mit A.M.P.S. gefüllt; 3 menschliches reines Testserum. Man merkt 2 Präcipitationslinien: eine auf der Höhe des Eiweiß — die andere auf der Höhe des  $\alpha$ -Globulins

negativ (Abb. 12). Das Milchserum der Kuh zeigt ebenfalls keine Reaktion gegenüber dem A.M.K.S., während das menschliche Milchserum besonders klare Präcipitationslinien zeigt (Abb. 8).

2. Eine zweite Gruppe, von augenblicklich noch laufenden Experimenten, ist bei Verwendung von A.M.P.S. und A.ME.K.S. durchgeführt worden.

Das Pferdeserum reagiert gegenüber diesen beiden Immunsereen nicht (Abb. 13) und bei der Immuno-Elektrophorese läßt sich keine Präcipitationslinie feststellen (Abb. 14).

Demgegenüber liefert das Serum vom Rind eine irrtümliche Reaktion gegenüber dem A.M.P.S. und eine schwache Präcipitationslinie gegenüber dem A.ME.K.S. (Abb. 15). Bei der Immuno-Elektrophorese beobachtet man 2 Komponenten: die eine identifiziert sich mit dem Eiweiß, hat aber eine geringere Bewegungsgeschwindigkeit — und die andere liegt auf der gleichen Höhe wie die  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Globuline (Abb. 16).

#### IV. Diskussion

Die Präcipitationsreaktionen in Gelose bilden einen unbestreitbaren Fortschritt in der Immunitätsforschung. Für die gerichtsarztliche Praxis bedeutet die Verwendung der Makromethode von OUCHTERLONY, und noch mehr der Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZG eine beachtliche Verbesserung gegenüber der Methode in Hämolyseröhren oder sogar in Uhlenhuth-Röhren, selbst nach Hinzuführung von Akaziengummi.

Die Frage, die man sich von der Verwendung zu forensischen Gutachten stellen kann ist die, ob die genannte Methode spezifisch ist?

Zunächst gestattet die Reaktion keine Präzisierung der Herkunft des untersuchten biologischen Produktes, da wir nachweisen konnten, daß alle menschlichen biologischen Flüssigkeiten gegenüber den Immunsereen reagieren. Die Spezifität der Methode bleibt also eine Artspezifität und das war schon bekannt.

Darüber hinaus scheint es — und das ist gefährlich — daß irrtümliche positive Reaktionen zwischen Immunsereen und heterologen Seren auftreten. Diese Tatsachen werden auf Grund einer bedeutenden experimentellen Untersuchung von FRAU KAMINSKI<sup>12</sup>, von FINE<sup>6</sup> und von DESPIEDS u. Mitarb.<sup>5</sup> bestätigt. Wir selbst haben unspezifische Reaktionen (gekreuzte Reaktionen) festgestellt, indem wir mit Hämolyseröhren unter Beifügung von Akaziengummi<sup>17</sup> arbeiteten; allerdings erschienen die Präcipitationsscheiben später und diese manchmal bedeutende Zeitspanne gestattete eine leichtere differenzierte Diagnose zwischen homologen und heterologen Seren. Bei Verwendung von Gelose stimmen die erzielten Ergebnisse nicht überein, da wir niemals eine irrtümliche Reaktion feststellen konnten, wenn wir A.M.K.S., entsprechend der Methode von DALLA VOLTA präpariert, verwandten. Im Gegensatz dazu sind derartige irrtümlichen Reaktionen bei Verwendung von A.M.P.S. sehr klar erkenntlich, was sich mit den Resultaten von FRAU KAMINSKY und von FINE deckt.



Wie läßt sich dieser Unterschied erklären ?

Höchstwahrscheinlich beruht er darauf, daß infolge einer fortdauernden Immunisierung sich die Spezifität der Antikörper verringert. Die überimmunisierten Seren liefern im allgemeinen eine größere Anzahl von irrtümlichen Reaktionen als die armen Immunseren. Wenn Frau KAMINSKY selbst bei Verwendung von armen Immunseren irrtümliche Reaktionen feststellt, beruht das bekanntlich darauf, daß die Periode der Immunisierung wenigstens 4—6 Wochen gedauert hatte. Das von uns angewandte Herstellungsverfahren für A.M.K.S. besteht lediglich aus 2 Injektionen: die erste auf intraperitonealem, die zweite auf intravenösem Wege, und es scheint, daß ein nach kürzerer Immunisierung erhaltenes Antiserum spezifisch ist.

Wie wir bereits im Jahre 1952 schreiben: der Ablauf ist derartig, als wenn das Tier sich zunächst gegen das heterogenste und das differenzierteste und die stärkste Antigenkraft besitzende Antigen immunisiert. Danach, wenn die Immunisierung sich mit Hilfe dieser Zusammensetzung von Antigen fortsetzt, erzeugt das überimmunisierte Tier ähnliche Antikörper, die immer zahlreicher werden und immer schwieriger durch immunologische Verfahren zu unterscheiden und festzustellen sind<sup>17</sup>. Sicherlich kann — im Falle einer irrtümlichen Reaktion mit einem heterologen Serum, die immuno-Elektrophoretische Analyse eine gewisse Hilfe leisten, indem sie die unterschiedliche Beweglichkeit, daß heißt die Unterschiede der Position zwischen den analogen Proteinen der verschiedenen Arten vom Tier<sup>5</sup> aufzeigt.

Deshalb erscheint uns dieses Verfahren als eine unbedingt notwendige Ergänzung der Antigen-Antikörper-Reaktion in Gelose.

### V. Zusammenfassung und Schlußfolgerung

Die Einführung der immunochemischen Methoden (Makromethode von OUCHTERLONY, Mikromethode von HARTMANN u. TOILLIEZ, Immuno-Elektrophorese durch die Mikromethode von SCHEIDEGGER) in die gerichtsmedizinische Praxis bedeutet einen Fortschritt gegenüber der älteren Methode der Immunseren in Hämolyseglasröhren, selbst bei Berücksichtigung der Verbesserung, die durch die Hinzunahme von Akaziengummi zu den Immunseren erzielt wurde.

Die spezifische Beschaffenheit der Reaktion hängt vom Immunserum ab. Das nach kurzer Immunisierung erhaltene Immunserum ist spezifischer als das überimmunisierte Immunserum.

Schließlich scheint uns ein schnelles Ablesen der Reaktionen (3 Tage für die Makromethode, 36—48 Std für die Mikromethode) wünschenswert. Auf diese Weise vermeidet man das Erscheinen und die Entwicklung von Präcipitationslinien, die unbedingt auftreten, wenn man die Reaktion zwischen einem Immunserum — sogar wenn es arm ist — und heterologen Antigenen vergehen läßt.

## Literatur

- <sup>1</sup> BURTIN, P., et P. GRABAR: Etude de sérums anti-sérumalbumine humains. IIème Congr. Internat. de Biochimie (Paris, 21—27 Juillet 1952). Résumé des communications, Masson Ed. I vol., p. 385. — <sup>2</sup> BURTIN, P.: Les méthodes de diffusion immuno-chimiques en milieu gélifié. Rev. int. Hépat. 4, 641 (1954). — <sup>3</sup> BURTIN, P.: Application de la méthode d'Ouchterlony au système précipitant sérumalbumine humaine—immunsérum de cheval. Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris) 36, 1021 (1954). — <sup>4</sup> BURTIN, P.: Utilisation d'anticorps précipitants dans l'analyse immuno-électrophorétique des protéines sériques. Sem. Hôp. (Path. et Biol.) 32, 1099 (1956). — <sup>5</sup> DEPIEDS, R., J. RANQUE et A. MELLE FAURE: Parenté antigénique entre les protéines sériques humaines et les protéines sériques de divers mammifères. C. R. Acad. Sci. (Paris) 246, 189 (1958). — <sup>6</sup> FINE, J. M.: Apport des méthodes immunologiques récentes au problème de l'identification du sang humain. Ann. Inst. Pasteur 93, 592 (1957). — <sup>7</sup> GRAPAR, P., et C. A. WILLIAMS jr.: Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéines. Biochim. biophys. Acta 10, 193 (1953). <sup>8</sup> GRABAR, P.: Etudes sur les protéines à l'aide des méthodes immuno-chimiques, Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 36, 65 (1954). — <sup>9</sup> GRABAR, P., et C. A. WILLIAMS jr.: Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigéniques. Biochim. biophys. Acta 17, 67 (1955). — <sup>10</sup> HARTMANN, L., et M. TOILLIEZ: Micro-méthode d'étude en gélose de la réaction antigène-anticorps (Variante du procédé d'Ouchterlony). Rev. franç. Et. clin. biol. 2, 197 (1957). — <sup>11</sup> KAMINSKI, M.: Quelques observations sur la technique de précipitation spécifique en milieu gélifié d'Ouchterlony. I. Influence de la recharge en antigène. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 36, 279 (1954). — II. Etude du rôle des concentrations respectives en antigènes et en anticorps et du coefficient de diffusion de l'antigène dans le cas d'un mélange de deux systèmes précipitants. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 36, 289 (1954). — <sup>12</sup> KAMINSKI, M.: Studies on egg white and its constituents by immunochemical technique in gelified media: specific precipitation by double diffusion and immunoelectrophoretic analysis. J. Immunol. 75, 367 (1955). — <sup>13</sup> KAMINSKI, M.: Relations immunologiques entre les protéines sériques de quelques mammifères. IVèmes Journées Biochimiques Franco-Helvetico-Hispano-Italiennes (Montpellier, 13—16 Mai 1957). Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 39, Suppl. 1, 85 (1957). — <sup>14</sup> MULLER, M., P. MICHAUX, G. FONTAINE, M. DELECOUR et M. M. DEREN: Nouvelle technique pour la lecture des réactions précipitantes. Ann. Méd. lég. 6, 384 (1950). — <sup>15</sup> MULLER, M., P. MICHAUX, M. DELECOUR, G. FONTAINE et M. M. DEREN: Recherches de matériaux nouveaux applicables à la technique d'Oudin pour la lecture de la réaction précipitante. Réunion biologique de Lille (19 Mai 1950). Echo méd. Nord 22, 183 (1951). — <sup>16</sup> MULLER, M., P. MICHAUX, M. DELECOUR et G. FONTAINE: Premiers résultats de la technique d'Oudin modifiée pour la lecture des réactions précipitantes Réunion biologique de Lille (19 Mai 1950). Echo méd. du Nord 22, 183 (1951). — <sup>17</sup> MULLER, M., P. MICHAUX, M. DELECOUR et G. FONTAINE: Recherches sur les applications médico-légales des sérums précipitants. Acta Med. leg. soc. (Liège), 3—4, 131 (1952). — <sup>18</sup> MULLER, M., P. MULLER, G. FONTAINE et M. DONAZAN: Note sur l'emploi des sérums précipitants en milieu gélifié, Comm. au 28 ème congrès de Méd. Lég. de langue française, Lyon, Oct. 1957. — <sup>19</sup> MULLER, M., G. FONTAINE, P. MULLER et M. DONAZAN: Application médico-légale de la réaction antigène-anticorps en milieu gélifié. Lille méd. 3, 218 (1958). — <sup>20</sup> MULLER, M., G. FONTAINE et P. MULLER: Identification médico-légale des différentes liquides biologiques par des réactions immunologiques en milieu gélifié, Société de Médecine du Nord (27 Juin 1958). Lille méd. (12, 773, 1958). — <sup>21</sup> OUCHTERLONY, O.: In vitro method for testing the toxin producing capacity of diphtheria bacteria. Acta path. microbiol. scand. 25, 186 (1948).

<sup>22</sup> OUCHTERLONY, O.: Antigen-antibody reactions in gels. Ark. Kemi, Mineral. Geol. **26**, Nr 14, 1 (1948). — <sup>23</sup> OUCHTERLONY, O.: Antigen-antibody reactions in gels. II. Factors determining the site of the precipitate. Ark. Kemi, Mineral. Geol. **1**, Nr 7, 43 (1949). — <sup>24</sup> OUCHTERLONY, O.: Antigen-antibody reactions in gels. III. The time factor. Ark. Kemi, Mineral. Geol. **1**, Nr. 9, 55 (1949). — <sup>25</sup> OUCHTERLONY, O.: Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reactions in coordinated systems of diffusion. Acta path. microbiol. scand. **32**, 231 (1953). — <sup>26</sup> OUCHTERLONY, O.: Antigen-antibody reactions in gels. Acta path. microbiol. scand. **26**, 507 (1949). — <sup>27</sup> OUDIN, J.: L'analyse immuno-chimique par la méthode des gels. Moyens et technique d'identifications des antigènes. Ann. Inst. Pasteur **89**, 531 (1955). — <sup>28</sup> SCHEIDEGGER, J.: Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse. Int. Arch. Allergy **7**, 103 (1955). — <sup>29</sup> SCHEIDEGGER, J. J.: L'analyse immuno-électrophorétique des liquides biologiques, Rapport aux IVèmes journées Biochimiques Franco-Helvetico-Hispano-Italiennes (Montpellier, 13—16 Mai 1957). Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **39**, Suppl. I, 45 (1957). — <sup>30</sup> URIEL, J., et J. J. SCHEIDEGGER: Electrophorèse en gélose et coloration des constituantes. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 165 (1955). — <sup>31</sup> URIEL, J., et P. GRABAR: Emploi de colorants dans l'analyse électrophorétique et immuno-électrophorétique en milieu gélifié. Ann. Inst. Pasteur **90**, 428 (1956).

Dr. PIERRE H. MULLER und Dr. GUY FONTAINE,  
Lambersart-Lille, 20 avenue Doumer, Nord-Frankreich