

Der Einfluß von Reinigungsmitteln auf das Ergebnis der ABO-Blutgruppenbestimmung im Agglutinin-Bindungstest nach HOLZER bei Blutspuren an Kleidungsstücken

Lore GRAMER

Institut für Rechtsmedizin der Universität
des Saarlandes (BRD)

Eingegangen am 10. März 1975

The Influence of Cleaning Agents to the Result of ABO Blood-Group Determination by the Agglutinin-Binding Test (Holzer) at Blood Stain on Articles of Clothing

Summary: The blood-group determination in the ABO-system during blood stain testing on articles of clothing is very often affected by various factors. In this research project blood-traces were tested on many different textiles and after treatment of these textiles with some usual washing and cleaning agents by the Agglutinin-binding-test (HOLZER)

Zusammenfassung: Die Blutgruppenbestimmung im ABO-System bei spurenkundlichen Untersuchungen von Blutanhaftungen auf Kleidungsstücken ist häufig von Störfaktoren beeinflusst.

In vorliegender Arbeit wurden Blutspuren auf zahlreichen verschiedenen Textilien in neuem Zustand und nach Behandlung dieser Stoffe mit einigen gebräuchlichen Wasch- und Reinigungsmitteln im Agglutinin-Bindungsversuch n. HOLZER auf Blutgruppenzugehörigkeit getestet. Es zeigte sich einerseits durch die Struktur der verschiedenen Stoffe und durch eventuell vorhandene Appreturen ein unterschiedliches Verhalten der einzelnen Stoffarten hinsichtlich der Anzahl der erreichten Hemmstufen des Titers. Andererseits ergaben sich durch die getesteten Waschmittel -auch in Abhängigkeit von der Textilart- mehr oder weniger starke Störfaktoren.

Eine Interpretation der erhaltenen Ergebnisse wird zur Diskussion gestellt.

Die Arbeit soll deutlich machen, mit welchen Störmöglichkeiten die spurenkundlichen Untersuchungen behaftet sein können, was erneut die Forderung nach entsprechenden Richtlinien unterstreicht.

Key words: ABO-Blutgruppen - Agglutinin-Bindungsversuch, Störung durch Waschmittel - Spurenuntersuchung - Blutspuren, Störung des Nachweises durch Waschmittel - Spurenkunde, Agglutinin-Bindungsversuch

EINLEITUNG

Auf die häufig durch Spureenträger und zusätzliche biologische, physikalische oder chemische Einwirkungen bedingten Störungen bei spurenkundlichen Untersuchungen ist in einer Reihe von Veröffentlichungen wiederholt aufmerksam gemacht worden. Die meisten dieser Arbeiten wurden im Hinblick auf die verschiedenen Präzipitationsmethoden zum Blutnachweis vorgenommen.

So hat VOLLMER aus der Uhlenhuthschen Schule umfangreiche Untersuchungen über physikalische und chemische Störmöglichkeiten durchgeführt, in Anbetracht der vom Täter oft beabsichtigten Unkenntlichmachung von Blutflecken.

Aus der gleichen Schule stammt die Arbeit von SCHOENHERR über den Störeinfluß von modernen Waschmitteln auf die Präzipitinreaktion, und auch BURGER hat zu dieser Frage ausführlich Stellung genommen.

Mit denselben Problemen beschäftigten sich TESAR, ERBEN und BEDNAROVA. Sie stellen ebenfalls einen störenden Einfluß eines Waschmittels auf die klassische Uhlenhuth'sche Reaktion fest.

KLOSE führte entsprechend Untersuchungen mit einer großen Anzahl von Waschmitteln in verschiedenen Verdünnungen mit demselben Ergebnis der störenden Einwirkung auf die Blutartbestimmung durch.

Den Einfluß eines alkalischen Milieus (Persil) und zusätzlicher feuchter Hitze auf den unspezifischen und spezifischen Blutnachweis untersuchte MÜLLER. Auch er konnte dabei eine deutliche Abschwächung der Reaktion bei fast allen getesteten Methoden feststellen.

HIRSZFELD wies auf die Schwierigkeiten der Blutgruppenbestimmung an Blutflecken auf Kleidungsstücken hin, welche gleichzeitig auch Sekretanhaftungen enthalten können.

WERCKMEISTER-FREUND beobachtete bei Blutflecken auf Mörtel, Kalk, Kreide etc. eine unspezifische Bindung der Isoagglutinine.

Eine ähnliche Fragestellung wurde ausführlich behandelt von KLJEWski und von MÜLMANN, welche den Einfluß von verschiedenen Bodenproben auf die Bestimmung von Blutgruppenfaktoren untersuchten.

Eine umfassende Arbeit wird mit der Inaugural-Dissertation von BIRKENBERGER aus dem Institut für Rechtsmedizin in Würzburg vorgelegt. Es wurden vorwiegend chemische Störeinflüsse auf verschiedene spurenkundliche Nachweisverfahren untersucht, so u.a. der Einfluß des Spurenlalters und der chemischen Vorproben auf die Blutgruppenbestimmung im Absorptionsversuch nach HOLZER.

Die Störlwirkung von Appreturen und Beizen auf den Absorptionsversuch, die bei der Bearbeitung von Textilien Verwendung finden können, wurde schon von ZIPP in einer umfassenden Arbeit untersucht. Er fand Titerenkungen bei den Stoffkontrollen, z.T. auch Hämolyse der Testerythrocyten.

Erwähnt werden soll noch, daß WALTHER eine Inaktivierung der Sauren Phosphatase im Ejakulat durch einige moderne Waschmittel beobachtete, jedoch keine Störung des mikroskopischen Spermanachweises.

Die Absorptionsmethode von HOLZER zur Blutgruppenbestimmung hat in der rechtsmedizinischen Spurenkunde breite Anwendung gefunden. Mit Erfolg werden sowohl

die Originalmethode, als auch Modifikationen derselben wie weitere Verdünnung der Antiseren oder Verwendung von Testerythrocytenaufschwemmungen im unterschwelligem Antikörpermilieu (SCHULZ, KISSLING und NEUMANN, DRIESEN u. KELLER, BROCKE) angewendet. HOLZER selber hat jedoch schon auf mögliche Fehlerquellen, die im übrigen allen biologischen Methoden eigen sind, hingewiesen und die Fehlerbreite der Methode mit weniger als 10% angeben.

Angeregt durch eigene Begutachtungsfälle war es in vorliegender Arbeit unser Bestreben, mögliche Störfaktoren aufzuspüren, die durch den Spureträger bedingt sind. Wir untersuchten verschiedene häufig gebrauchte Wasch- und Reinigungsmittel, sowie den Einfluß verschiedener Stoffarten als solche in Verbindung mit den untersuchten Waschmitteln.

Eine grundlegende Arbeit zu dieser Frage wurde, soweit uns die Literatur zur Verfügung stand, lediglich von SIMON erbracht. Er hat das Spülmittel "FIT" und das Waschmittel "Persil" zusammen mit einer Blutspur an Stoffen im Absorptionsversuch nach HOLZER getestet. Es wurden jedoch lediglich diese beiden Mittel und nur 3 verschiedene Textilien, nämlich Leinen, Baumwolle und Baumwolle-Kunstfaser-Stoff in den Versuch miteinbezogen. Auch wurde die Blutgruppe 0 nicht mitbestimmt. Verfasser erhielt noch eindeutige Titerenkungen im Absorptionsversuch bei frisch aufgetropften Blutspuren in den ersten Tagen, jedoch ein kontinuierliches Nachlassen der Hemmwirkung im Laufe von 43 Tagen bei den behandelten Stoffproben. Ohne Waschmittelzusatz war ein solches Nachlassen der Hemmwirkung in dieser Zeit nicht feststellbar.

Eine systematische Ausdehnung dieser Untersuchungen erschien deshalb angezeigt.

MATERIAL UND METHODIK

Aus der Vielzahl der heute auf dem Markt befindlichen Waschmittel haben wir sowohl sogenannte "enzymatische" als auch enzymfreie Waschmittel ausgewählt und deren Einfluß auf die Blutgruppenbestimmung im Absorptionsversuch getestet. In die Untersuchungen wurde

ein Vorwaschmittel (X-tra^(R) der Böhme-Chemie GmbH),
ein Vollwaschmittel (Perisl^(R) der Fa. Henkel u. Cie. GmbH),
ein Feinwaschmittel (Perwoll^(R) der Fa. Henkel u. Cie. GmbH) und
ein Weichspülmittel (Lenor^(R) der Fa. Procter u. Gamble GmbH)
einbezogen.

Außerdem wurde der eventuelle Einfluß einer chemischen Reinigung geprüft.

Bei X-tra^(R) handelt es sich um ein enzymhaltiges, bei allen anderen um enzymfreie Waschmittel. Wie aus den Arbeiten von GLOXHUBER (1972, 1968) hervorgeht, sind die in den Waschmitteln verwendeten Enzyme Proteasen, die vorwiegend aus Kulturen von *Bacillus subtilis* gewonnen werden. Nach seinen Angaben enthalten die enzymhaltigen Waschmittel etwa 0,5 % Enzymkonzentrat. Als wesentlicher

Bestandteil fast aller Waschmittel nennt er anionaktive und nicht-ionogene Tenside (in den Voll-, Vor- und Feinwaschmitteln und in den meisten Reinigungsmitteln), kationaktive Tenside (in den Weichspülmitteln), weiterhin Silikate und Phosphate, außer in den Feinwaschmitteln auch Seife und teilweise Perborat als bleichender Zusatz. Bei der von uns benutzten chemischen Reinigung wurde Peravin (welches Perchloräthylen enthält) verwendet.

Da wir bei Blutflecken auf Kleidern die eventuelle Einwirkung häufig vorkommender Spurenträger ebenfalls mitprüfen wollten, wurden folgende Stoffarten, auch in etwa im Hinblick auf ihre Struktur für die Untersuchungen ausgewählt:

Tabelle 1.

Stoffart	Florhöhe	Webart	sonstige Bemerkungen
Seide	niedrig	eng	relativ glatte Oberfläche
Kunstseide	"	"	"
Popelin	"	"	"
Tricel	"	"	"
Nyltest	"	"	"
Batist	"	locker	
Trevira	mittelhoch	sehr locker	
Nylon-Velour	"	locker-eng	
Baumwolle	"	eng	
Jeansstoff	"	"	
Helanca	"	"	
Leinen	"	"	
Cordsamt	hoch	locker-eng	geriffelt
Wollstoff	"	sehr locker	
Dralon	"	"	

Die von uns verwendeten 15 verschiedenen Stoffe wurden sowohl in neuem, unbehandeltem Zustand in den Versuch einbezogen, als auch nach jeweils isoliert durchgeführten insgesamt 7 verschiedenen Wasch- bzw. Reinigungsvorgängen, und zwar nach Waschen

1. nur mit warmem Wasser (ca. 45 - 50 Grad);
2. mit Persil^(R);
3. mit Persil^(R) und Spülen mit Lenor^(R);
4. mit X-tra^(R);
5. mit X-tra^(R) und Spülen mit Lenor^(R);
6. mit Perwoll^(R);
7. nach chemischer Reinigung mit Peravin^(R).

Bei den Waschvorgängen haben wir in etwa die Verhältnisse im Haushalt nachvollzogen, was Menge des Waschmittels, Waschvorgang und jeweils nachfolgendem Spülvorgang mit warmem Wasser betrifft.

Nach Trocknen der Stoffe wurden Flecken in einer Größe von etwa 1 cm Durchmesser ausgeschnitten, auf welche jeweils 0,06 ml Blut, das allenfalls ein bis zwei Tage alt aus der Blutbank stammte, häufig jedoch auch frisch entnommenes Blut aufgetropft.

Wir haben Blut der Gruppe A₁, A₂, B, O, A₁B und A₂B auf sämtlichen 15 Stoffen in neuem Zustand und nach den oben angeführten Wasch- und Reinigungsvorgängen getestet.

Nach Auftropfen zahlreicher verschiedener Blutproben dieser 6 Blutgruppen ließen wir die Flecken 3 Tage lang bei Zimmertemperatur liegen. Hernach wurden die Blutflecken in passende Röhrchen mit flachem Boden gegeben und mit Antiseren beschickt.

Wir tropften sowohl das homologe Antiserum als auch die heterologen Antiseren und natürlich auch immer Anti-H auf die verschiedenen Flecken der jeweiligen Blutprobe auf, um auch festzustellen, ob die verschiedenen Waschmittel eine Störung im Sinne eines falsch positiven Ergebnisses vortäuschen können. Wir verwendeten Anti-A- und Anti-B-Seren der Firmen Molter, Spectra oder Ortho mit einem Anfangstiter von 1:256 bis 1:512 (gegenüber Testerythrocyten in NaCl-Aufschwemmung, nicht mit Rinderalbumin oder Promelase versetzt), und Anti-H Phyttagglutinin von Behring mit einem Titer von 1:32 bis 1:64. Beim A₂B-Blut hatten wir nur Anti-H-Serum mit einem Titer 1:16 bis 1:32 zur Verfügung. Anti-A- und Anti-B-Seren wurden für den Ansatz verdünnt auf einen Titer von 1:128, Titerwerte, die sich uns schon in früheren Untersuchungen als für die Praxis bei Blutflecken auf Stoffen günstig erwiesen haben; Anti-H wurde unverdünnt angesetzt.

SCHWERD verwendet Titer nicht über 1:32. Diesbezügliche eigene Untersuchungen haben auch bei geringfügigen Blutspuren auf Textilien keine besseren Ergebnisse erbracht. Die Erklärung dafür wurde deutlich gemacht in den unter 1a) gebrachten Ergebnissen vorliegender Untersuchungen und den unter zu 1a) gebrachten Erläuterungen.

Die Antiseren wurden jeweils gegen die homologen Testerythrocyten, die auch im Versuch verwendet wurden, auf Titerstärke getestet, weiterhin mit diesen Antiseren auch die aufzutropfenden Blutproben bezüglich der Stärke ihrer antigenen Eigenschaften geprüft. Blut mit ausgesprochen schwacher Antigenität wurde nicht in den Versuch einbezogen; Blutproben mit besonders starken antigenen Eigenschaften wurden jedoch nicht eigens ausgesucht.

Bei allen unseren Ansätzen liefen als Leerwerte immer die selben Stoffproben mit, welche der gleichen Prozedur im Hinblick auf Waschvorgänge, Größe der Flecken, Menge und Konzentration der Antiseren, Zeit und Dauer des Ansatzes und Rücktitration unterzogen worden waren.

Die Inkubation mit den Antiseren erfolgte im Kühlschrank bei 4-6 Grad Celsius auf die Dauer von 24 - 48 Stunden, wobei sich innerhalb der angegebenen Inkubationsdauer kein Unterschied ergab.

Die Titerhöhe des zurückpipettierten Antiserums von der Blutspur und von dem Leerwert = Stoffkontrolle wurde mit einer 2 %igen Testerythrocytenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung bestimmt. Abgelesen wurde immer nur gegen den Stoff-Leerwert und nur eine von HOLZER bei diesem Ausgangstiter geforderte Titer senkung um 3 Stufen als forensisch gesichert angesehen, worauf auch SCHWERD erneut hinwies. Eine Abschwächung der Agglutinationen allein gegenüber den Leerwerten wurde zwar vermerkt, aber nicht als gesichert bewertet.

ERGEBNISSE

1. a) Fast alle untersuchten Stoffe zeigten in neuem, unbehandeltem Zustand und nach Waschen mit verschiedenen Waschmittel bei der Stoffkontrolle gegenüber dem Serumtiter Titer senkungen um 1-2 Stufen und schwächere Agglutinationen.
- b) Nach Waschen nur mit warmem Wasser (Temperatur ca. 45 - 50 Grad Celsius) glichen sich die Stoffkontrollen = Leerwerte meistens den Serumtiterwerten an mit Ausnahme der festgedrehten Seide- und synthetischen Fasern.
- c) Der von uns benutzte Jeansstoff zeigte im neuen, unbehandelten Zustand und nach der chemischen Reinigung immer eine fast völlige bis völlige

Hemmung der Leerwert-Stoffkontrolle, teilweise auch Hämolyse der Testerythrocyten im Leerwert.

2. Die heterologen Antiseren zeigten bei Blutflecken der Gruppe A₁, A₂, B und O keine Titerensenkungen gegenüber den Leerwert-Stoffkontrollen.
3. Untersuchungen von Blutflecken der Gruppe A₁, B und O auf neuen, ungewaschenen und ungereinigten Stoffen zeigten hinsichtlich der erreichten Titerhemmstufen gegenüber den Leerwert-Stoffkontrollen folgendes Ergebnis:

Tabelle 2.

		Titerhemmstufen				Anzahl d. Unters.
		keine	eine	zwei	drei u. mehr	
A	1*	2	9	3	15	
B	1*	-	2	12	15	
O	1*	3	3	8	15	
		3=6,7%	5=11,1%	14=31,1%	23=51,1%	n = 45

* Jeansstoff

Nach Waschen der Stoffe nur mit warmem Wasser wurden fast immer 3 und mehr Hemmstufen erzielt.

4. Alle untersuchten Waschmittel haben einen mehr oder weniger starken Störeinfluß auf die Blutgruppenbestimmung im Agglutinin-Bindungstest. Besonders Blutflecken auf Stoffen, die mit enzymatischen Waschmitteln gewaschen und mit Lenor^(R) nachgespült oder der chemischen Reinigung unterzogen worden waren, erreichten häufig nicht mehr die drei geforderten Hemmstufen gegenüber den gleichermaßen bearbeiteten Leerwert-Stoffkontrollen.

Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen mit Blutflecken der Gruppe A₁, B und O auf den verschiedenen Stoffen, die den einzelnen Wasch- bzw. Reinigungsvorgängen unterzogen worden waren, zeigt

Tabelle 3.

		Titerhemmstufen				Anzahl d. Unters.
		keine	eine	zwei	drei u. mehr	
A	6	10	25	55	96	
B	5	3	9	28	45	
O	5	14	29	32	80	
		16=7,3%	27=12,2%	63=28,5%	115=52,0%	n = 221

Dabei entfielen auf die enzymatischen Waschmittel mit 75 der insgesamt 221 Untersuchungen:

Tabelle 3a.

	Titerhemmstufen				Anzahl d. Unters.
	keine	eine	zwei	drei u. mehr	
A	2	7	10	11	30
B	-	-	3	12	15
O	4	5	11	10	30
	6=8,0%	12=16,0%	24=32,0%	33=44,0%	n = 75

Ein falsch positives Ergebnis wurde bei Blut der Gruppe A, B und O mit der angegebenen Arbeitsweise nie abgelesen.

5. A₂-Blutproben wurden auf allen nur mit warmem Wasser gewaschenen Stoffen geprüft. Nach den angegebenen Waschvorgängen wurde nur vereinzelt und stichprobenweise untersucht, so daß hier die Zahl der Untersuchungen zu gering ist, um Prozentzahlen angeben zu können. Jedoch fanden sich hier die gleichen Störwirkungen, sowohl an neuen Stoffen, als auch nach den Waschvorgängen, wie wir sie bei den anderen Blutgruppen ebenfalls sahen. Nach Waschen nur mit warmem Wasser (Temperatur ca. 45 - 50 Grad Celsius) wurden überall drei und mehr Hemmstufen erzielt. Außerdem fanden wir bei Blut der Gruppe A₂ häufig außer der Anti-A-Hemmung eine Titerhemmstufe und Abschwächung der Agglutinationen mit Anti-H; jedoch war der Titer hier nie mehr als eine Stufe gesenkt. Teserythrocyten der Gruppe A₂ statt O brachten nach unseren Erfahrungen keine besonderen Vorteile.
6. Der Faserstruktur der Stoffe kommt als mechanischer Faktor möglicherweise insoweit eine Bedeutung zu, als einerseits beim Spülvorgang infolge der Florhöhe bzw. Webstruktur die Waschmittel mehr oder weniger stark zurückgehalten werden und andererseits beim Ansatz die Antiseren mehr oder weniger stark in die teilweise festgedrehten Fasern einzudringen vermögen.
7. a) Die Blutgruppe A₁B verhält sich im Hinblick auf die erreichten Hemmstufen bei unseren Untersuchungen insgesamt in etwa so wie die Einzelfaktoren A, B und O sowohl bei neuen, unbehandelten Stoffen, als auch nach den angewandten Wasch- und Reinigungsvorgängen. Bei 41 Untersuchungen von A₁B-Blut auf neuen und mit Wasch- bzw. Reinigungsmitteln behandelten Stoffen erzielten wir folgende Ergebnisse:

Tabelle 4. 41 Versuche mit A₁B-Blutproben

Anti-	Zahl der Hemmstufen			
	keine	eine	zwei	drei u. mehr
A	2	8	18	13
B	3	6	15	17

In den zwei Fällen, in denen Anti-A nicht gehemmt wurde, zeigte auch Anti-B keinerlei Hemmstufe; es handelte sich dabei einmal um ungewaschenen Jeansstoff und einmal um chemisch gereinigten Jeansstoff. In dem dritten Fall, in welchem Anti-B nicht gehemmt war, handelte es sich um mit X-tra^(R) und Lenor^(R) gewaschenen Dralonstoff. Hier zeigte Anti-A lediglich eine Titerhemmstufe.

- b) Bei der Blutgruppe A₂B ist die Möglichkeit einer Fehlablesung am größten, und zwar sowohl an neuen Stoffen, als auch nach Behandlung mit den angegebenen Wasch- und Reinigungsmitteln (s. Tab. 5)

Tabelle 5. 84 Versuche mit A₂B Blutproben

Anti-	Zahl der Hemmstufen			
	keine	eine	zwei	drei u. mehr
A	62	15	6	1
B	5	4	13	62
H	70	14	-	-

In den 5 Fällen, in denen Anti-B nicht gehemmt wurde, zeigte auch Anti-A und Anti-H keinerlei Hemmstufen; hierbei handelte es sich zweimal um Stoffe, die mit Perwoll^(R) gewaschen waren, zweimal um chemisch gereinigte Stoffe und einmal um mit X-tra^(R) gewaschenen Stoff.

DISKUSSION

zu 1. a)

Die Titerensenkungen der Leerwerte = Stoffkontrollen gegenüber dem Serumtiter waren besonders deutlich an synthetischen Stoffen und zwar sowohl vor dem Waschen, als auch nach Behandlung mit Waschmitteln, wobei sich Perwoll^(R) als Feinwaschmittel, X-tra^(R) als enzymatisches Waschmittel in Verbindung mit Lenor^(R) als Weichmacher und die chemische Reinigung mit Peravin^(R) als besonders störend bemerkbar machte.

Auch aus diesem Grunde halten wir eine Verdünnung der Antiseren auf 1:128 für günstig, um auf jeden Fall noch eine genügende Spanne für 3 Titerhemmstufen von der Blutspur zur Verfügung zu haben.

zu 1. b)

Wie der Störmechanismus von Appreturen und Imprägnierungsmitteln bei neuen, ungewaschenen Stoffen auf die Antiseren vor sich geht und ob außer einem eventuellen hämolysierenden Einfluß auf die Testerythrocyten (s. Jeansstoff) noch andere Faktoren an letzteren angreifen, bleibe dahingestellt. Fest steht jedoch, daß nach Waschen der Stoffe nur mit warmem Wasser die Antiserentiter der Stoffkontrollen sich häufig dem Serumtiter nähern.

zu 1. c)

Bei dem von uns benutzten Jeansstoff ist die Störung durch Appreturen oder Imprägnierungsmittel bei dem neuen Stoff und die Wirkung von Peravin^(R) bei dem chemisch gereinigten besonders deutlich. Hier zeigen die vom Stoff-Leerwert zurücktitrierten Antiseren zumeist keine Agglutinationen, höchstens einmal in den mittleren Konzentrationen bei 1:32. Häufig ist auch eine Hämolysse der Testerythrocyten im Leerwert zu beobachten. Die Antiseren von der Blutspur jedoch zeigen nie dieses Verhalten, was man vielleicht dadurch erklären kann, daß die Blutspur eine gewisse Barriere zwischen dem Antiserum und dem Stoff bildet, so daß chemische Substanzen aus dem Stoff nicht so intensiv mit dem Antiserum und den Testerythrocyten in Kontakt kommen. Nach gründlichem Waschen nur mit warmem Wasser verhält sich der in unsere Untersuchungen einbezogene Jeansstoff jedoch genau so wie alle anderen Stoffe, d.h. er zeigt in der Leerwertkontrolle Agglutinationen bis zu einer Titerverdünnung ähnlich der Serumkontrolle.

Die Konzentration der Appreturen oder Imprägnierungsmittel, Faserstruktur der Stoffe, Dicke der Blutspur und Antigenität, Avidität und Konzentration der Antiseren sind gleichermaßen von Bedeutung.

Bei dem von uns benutzten neuen und dem chemisch gereinigten Jeansstoff war daher eine Blutgruppenbestimmung mit allen aufgetropften Blutproben mit dem Hemmversuch nicht möglich. Es sei noch kurz erwähnt, daß in diesem Fall mit der Mischzellagglutination am neuen, ungewaschenen Stoff deutliche Agglutinationen erzielt werden konnten.

Aufgrund dieser klar erkennbaren Störeinflüsse *darf eine Blutspur nie gegen den Serumtiter abgelesen werden, sondern immer nur gegen die in gleicher Weise behandelte Stoffkontrolle*. Bei einem solchen Vorgehen kann es zwar allein aufgrund einer Titer senkung durch den Stoff selbst nie zu einem falschen positiven Ergebnis kommen. Es wird jedoch nicht selten kein verwertbares Ergebnis erzielt.

zu 2.

Eine Titer senkung eines heterologen Antiserums wurde nie beobachtet. Bei den Stoffen, welche schon im Leerwert weniger Agglutinationen aufwiesen als die

Serumkontrolle, wurde bei der Blutspur mit den heterologen Antiseren sogar eine stärkere Agglutination und manchmal eine Agglutinationsstufe mehr abgelesen als beim entsprechenden Stoffleerwert. Hier spielen wohl auch dieselben Faktoren eine Rolle, wie sie bereits unter 1.c) hinsichtlich des Jeansstoffes angedeutet wurden.

zu 3.

Durch vorliegende Arbeit wurde deutlich, daß Appreturen, Imprägnierungsmittel oder sonstige bei der Stoffherstellung angewandte chemische Mittel sowohl auf das Antiserum der Stoffkontrollen = Leerwerte bzw. auf die Testerythrocyten störend wirken können, als auch auf die Blutspur selbst. Die negativen oder die forensisch als nicht gesichert anzusehenden Ergebnisse sind hier zahlenmäßig in etwa so groß wie diejenigen nach Einfluß von Wasch- und Reinigungsmitteln.

zu 4.

Daß bei letzteren nicht eventuelle noch vorhandene und nicht herausgewaschene Appreturen etc. ursächlich anzuschuldigen sind, sondern daß die Waschmittel selber als Störfaktoren angesehen werden müssen, geht daraus hervor, daß nach Waschen der Stoffe lediglich mit warmem Wasser die Anzahl der Titerhemmstufen sich fast immer deutlich steigerte, d.h. daß durch alle folgenden Waschvorgänge die Appreturen wenigstens zum größten Teil herausgewaschen waren.

Hinsichtlich der eigentlichen Störwirkung der benutzten Wasch- und Reinigungsmittel lassen unsere Untersuchungen erkennen, daß das enzymatische Waschmittel X-tra^(R) auf fast allen Stoffen eine deutliche Minderung der Hemmstufen verursacht. Diese Störwirkung wird noch ganz besonders verstärkt durch Nachspülen mit Lenor^(R).

Nach Behandlung mit X-tra^(R) und Lenor^(R) wurden somit die schlechtesten Ergebnisse erzielt.

Da sowohl in Persil^(R) als auch in X-tra^(R) anionaktive und nicht ionogene Tenside, weiterhin Phosphate enthalten sind, die Werte mit den mit Persil^(R) behandelten Stoffen jedoch besser waren, als mit den mit X-tra^(R) behandelten, ist anzunehmen, daß das Enzym zusätzlich als Störfaktor in Frage kommt. Der Sodaanteil des Vorwaschmittels X-tra^(R) erscheint uns für dieses Ergebnis nicht bestimmend zu sein.

Wir haben das sodahaltige Spülmittel Dor^(R), das im allgemeinen nicht als Waschmittel Verwendung findet, in einigen Versuchen mitgeführt und fanden hier eine weniger starke Erniedrigung der Hemmstufen im Vergleich zu X-tra^(R).

Persil^(R) bewirkt unter den üblichen Waschbedingungen keinen sehr großen Störeinfluß auf die Blutgruppenbestimmung n. HOLZER. Vorwiegend bei Popelin, Nyltest, Wollstoff tritt jedoch die Störwirkung stärker hervor, offenbar aufgrund der Faserstruktur (s. zu 5).

Lenor^(R)-Nachspülung in Verbindung mit Persil^(R) verschlechtert aber das Ergebnis bei fast allen nichtsynthetischen Fasern, während bei fast allen synthetischen Fasern die Lenor^(R)-Nachspülung nach Waschen mit Persil^(R) das Ergebnis deutlich verbessert, vielleicht infolge seiner am Schluß des üblichen Waschprozesses einsetzenden weichmachenden Wirkung (kationaktive Tenside) und dadurch bedingten besseren Eindringbarkeit des Antiserums.

Perwoll^(R) als Feinwaschmittel wirkt sich störend vorwiegend an einigen synthetischen Fasern aus, während es bei Wolle und Baumwollstoffen das Ergebnis gegenüber den ungewaschenen Stoffen eher noch verbessert. Besonders deutlich zeigt sich die Störwirkung bei Nylonvelours, wo wir keinerlei Hemmung, nicht einmal eine Abschwächung der Agglutinationstärke erzielen konnten.

In diesem Zusammenhang sei kurz ein Fall aus unserer Praxis angeführt, bei welchem uns in einem Mordfall ein stark mit Blut beflecktes Nylonveloursnachtschemd zur Untersuchung überbracht worden war. Eine Blutgruppenbestimmung war trotz mehrfacher Wiederholung an verschiedenen Stellen mit dem Hemmversuch nicht möglich. Die Blutgruppe einer aufgetropften bekannten Blutprobe auf diesen Nylonveloursstoff konnte ebenfalls nicht mehr nachgewiesen werden. Erst nach gründlichem Waschen des Stoffes mit heißem Wasser und erneutem Auftropfen einer bekannten Blutgruppe war ein eindeutiges Ergebnis zu erzielen. Retrospektiv könnte man vermuten, daß dieses Nachthemd offenbar mit einem Feinwaschmittel, beispielsweise Perwoll^(R) gewaschen worden war.

Hinsichtlich der chemischen Reinigung ergaben sich zwar bessere Ergebnisse als bei den enzymatischen Waschmitteln, jedoch keine besseren als bei den übrigen Waschmitteln im allgemeinen.

Wollstoff und Cord brachten hingegen eine völlige Hemmung bzw. auch Hämolyse des Leerwertes, so daß ein Ergebnis an diesen beiden Stoffen nicht abzulesen war. Hier könnte man eventuell dieselben Überlegungen anstellen wie bei dem Leerwert der unbehandelten Jeansstoffe.

Aus den oben dargelegten Untersuchungsergebnissen geht auch eindeutig hervor, daß beim Fehlen einer Titersenkung bei Anti-A- und Anti-B-Serum nie auf das Vorliegen von O-Blut geschlossen werden darf. Anti-H muß immer in gleicher Weise mitgeführt werden. Da eine Reihe von Störfaktoren eine Titersenkung verhindern können, würde man bei einem solchen Vorgehen häufig zu völlig falschen Beurteilungen kommen.

zu 5.

Trotz Homozygotie der Blutgruppe O beobachteten wir im allgemeinen weniger Titerhemmstufen mit Anti-H als bei einer A- oder B-Blutspur mit den homologen Antiseren, worauf schon KISSLING hingewiesen hat. Ob diese Tatsache durch geringere Antigenität von O-Blut oder stärkere Avidität der Testseren bedingt ist, oder ob sonstige biologische Faktoren maßgebend sind, bleibe dahingestellt. Wir beobachteten jedoch auch bei gleicher Titerstärke von Anti-A und Anti-B-Seren vielfach nicht die gleiche Anzahl von Agglutinationshemmstufen auf der homologen Blutspur, d.h. nicht die gleiche Anzahl von Titerhemmstufen. Die antigene Eigenschaft der A-Erythrocyten sind im allgemeinen stärker als die der B-Erythrocyten und naturgemäß ist die Avidität der Anti-A-Seren meist stärker als die der Anti-B-Seren bei gleicher Titerstärke. Die ebenfalls im allgemeinen stärkere Antigenität unserer A-Blutspur und der damit verbundene stärkere Anti-A-Serumverbrauch kommt deshalb offenbar bisweilen bei der Endablesung nicht voll zur Geltung. Es ist naheliegend anzunehmen, daß das der Grund ist, warum zuweilen die Anzahl der Titerhemmstufen im Anti-A-Serum auf der A-Blutspur geringer ist als im Anti-B-Serum auf der B-Blutspur.

Obwohl A_2 im Hemmversuch das Anti-A-Serum nach unseren Erfahrungen im allgemeinen um die erforderlichen Titerstufen senkt, dürften hier jedoch bei Vorhandensein von Störwirkungen durch Waschmittel die Überlegungen hinsichtlich Antigenität, Avidität etc. besonders anzustellen sein.

Weiterhin spielt auch Homozygotie und Heterozygotie der Blutgruppenfaktoren eine wesentliche Rolle, was besonders bei AB-Blut (s.7.) augenscheinlich wird und Probleme aufwerfen kann.

zu 6.

Insgesamt ist hinsichtlich der Rolle der Faserstruktur der Stoffe aufgrund unserer bisherigen Untersuchungen folgendes festzustellen:

Stoffe mit niedriger Florhöhe und lockerer Webart, wie z.B. Batist, bringen bessere Ergebnisse als beispielsweise hochflorige Stoffe, wie der von uns benutzte Wollstoff, Dralon, Cord etc. Weiterhin zeigten festgedrehte Seiden- und Kunstfasern mit die meisten Schwierigkeiten, was wir im übrigen auch schon bei unseren spurenkundlichen Untersuchungen in der Praxis festgestellt haben. Offenbar hängt es u.a. auch von der Beschaffenheit der Faser ab, inwieweit das Antiserum bei der Inkubation einzudringen vermag. Daß die zum Teil schlechten Untersuchungsergebnisse bei den von uns benutzten Seiden-, Kunstseide- und Helan-castoffen nicht allein auf die verwendeten Waschmittel oder Imprägnierungs-

mittel zurückzuführen sind, geht daraus hervor, daß nach gründlichem Waschen dieser Stoffe mit warmem Wasser ohne Waschmittelzusatz zwar bessere aber of noch keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden konnten.

zu 7. a)

Bei Forderung von 3 Hemmstufen hätte man bei unseren 41 Untersuchungen mit A₁B-Blut lediglich 13mal ein forensisch gesichertes Ergebnis gewinnen können. Selbst wenn man für einen der Faktoren A oder B 2 Hemmstufen gelten lassen würde, wäre lediglich in 17 Fällen eine Aussage möglich gewesen. 4mal hätten wir statt A B die Blutgruppe A oder B allein abgelesen.

zu 7. b)

Insgesamt standen nur 3 verschiedene A₂Blutproben zur Verfügung. Das Blut war jeweils frisch entnommen. Es kamen verschiedene Antiseren, wie oben ausgeführt, zur Anwendung, die auf einen Titer von 1:128 gegen käuflich erworbene A₁- und B-Testerythrocyten eingestellt worden waren. Mit diesen vorverdünnten Seren wurden auch die A₂B-Blutkörperchen aus dem Versuch zuerst getestet. Dabei erreichten wir Agglutinationen bis zu einer Titerverdünnung (des vorverdünnten Serums) von 1:32 bei Anti-B und 1:64 bei Anti-B. Die Agglutinationen bei Anti-A waren hier naturgemäß schwächer. Anti-H von verschiedenen Firmen hatte jeweils einen Ausgangstiter von 1:16 bis 1:32; es wurde unverdünnt verwendet und ebenfalls auch gegen die A₂B-Blutkörperchen getestet; dabei sahen wir jeweils Agglutinationen bis 1:16.

Obwohl also beim Austitern des vorverdünnten Serums mit den A₂B-Blutproben der Faktor A bis zu einer weiteren Titerverdünnung von 1:32, und mit dem ursprünglich unverdünnten Anti-A-Serum in der Verdünnungsreihe bei 1:128 noch eindeutig gefunden wurde, haben wir beim Hemmversuch in der angegebenen Weise bei 84 Untersuchungen 62 mal den Faktor A nicht gefunden, d.h. keine Titer-senkung mit Anti-A erreicht, und somit die Blutgruppe B statt AB abgelesen. In 21 Fällen hätten wir zwar AB vermutet, bei der Forderung von drei Hemmstufen jedoch auch kein forensisch gesichertes Ergebnis abgeben können.

Bei den 14 Untersuchungen, bei denen Anti-H um eine Titerhemmstufe gesenkt war, war 12mal Anti-A nicht gehemmt.

Wenn auch die Überprüfung von lediglich drei verschiedenen A₂B-Blutproben noch keine endgültigen Schlüsse erlaubt über die mögliche Fehlerbreite speziell bei dieser Blutgruppe, so muß doch das Ergebnis unserer Untersuchungen bedenklich stimmen.

Zu den biologisch gegebenen Tatsachen (Heterozygotie, schwächeres Antigen, evtl. stärkere Avidität des Antiserum) gesellen sich bei spurenkundlichen Untersuchungen auf Stoffen noch die Störfaktoren aus den Stoffen selber und durch Wasch- und Reinigungsmittel.

Während wir bei den Blutgruppen A₁, A₂, B und O beim Hemmversuch in der angegebenen Weise bei Ablesung gegenüber der Stoffkontrolle = Leerwert und Mitteltesten von Anti-H durch die angegebenen Störfaktoren evtl. einmal kein Ergebnis erlangen können, so werden wir jedoch, wie aus den Untersuchungen hervorgeht, nie ein falsch positives Ergebnis ablesen.

Anders verhält es sich hingegen bei A₁B- und A₂B-Blutproben. Hier ist es durchaus möglich, ein falsches Ergebnis, d.h. die Blutgruppe A oder B statt A₁B und die Blutgruppe B statt A₂B abzulesen.

Ziel der Arbeit war, aufzuzeigen, welche Textilien an sich und welche häufig verwendeten Waschmittel zusammen mit den gebräuchlichsten Stoffarten eine Blutgruppenbestimmung im ABO-System mit dem Hemmversuch besonders schwierig gestalten. Daß ohnehin immer mindestens 2 verschiedene Verfahren zur Anwendung kommen müssen (sofern das Spurenmaterial reicht) versteht sich von selbst.

Die auch mit diesen Untersuchungen dokumentierten Störfaktoren, die bei spurenkundlichen Untersuchungen immer wieder beobachtet werden, lassen es im Interesse der Sicherheit dieser verantwortungsschweren Überprüfungen angezeigt erscheinen, erneut auf die bereits von WAGNER auf dem Kongreß für forensische Blutgruppenkunde in Amsterdam vom 14.10. 1973 vorgetragene Forderung zur Erstellung von Richtlinien bei spurenkundlichen Untersuchungen hinzuweisen in Parallele zu den vom Bundesgesundheitsamt bei Vaterschaftsuntersuchungen herausgegebenen Richtlinien.

Frau I. SEICHTER, Frä. G. MÜLLER, Frä. M.L. SONNTAG und Frä. U. REDENBACH sei an dieser Stelle für ihre freundliche Mitarbeit herzlich gedankt.

LITERATUR

- BIRKENBERGER, H.: Beeinflussung der biologischen Blutnachweise durch Vorproben. Med. Inaugural-Dissertation aus dem Institut f. Rechtsmedizin der Julius-Maximilians-Univ. Würzburg v. 17.12.1973
- BROCKE, J.: Zur Diagnostik der Blutgruppen aus nahezu ausgewaschenen Blutflecken. Kriminalstatistik 8, K. Wiss. 124 (1954)
- BURGER, E.: Störung der Präzipitin-Reaktion durch moderne Waschmittel und Verhinderung dieser Störung. Arch. Kriminol. 117, 140-144 (1956)
- DRIESEN, H., KELLER, M.: Beitrag zur Erfassung der Antigene M und N in ange-trockneten Blutspuren. Arch. Kriminol. 151, 180-183 (1973)
- GLOXHUBER, CHR., BRAIG, S.: Enzymhaltige Waschmittel. Med. Welt 23, (N.F.) 244-245 (1972)

- GLOXHUBER, CHR.: Über die Behandlung nach Einnahme von Wasch- u. Reinigungsmitteln. *Med. Welt* 19, (N.F.) 351-357 (1968)
- HIRSZFELD, L.: Über die Anwendung der Blutgruppenforschung bei den Untersuchungen der Blutflecke. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 27, 189-193 (1937)
- HOLZER, F.J.: Ein einfaches Verfahren zur Gruppenbestimmung an vertrocknetem Blut durch Agglutininbindung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 16, 445-458 (1931)
- KISSLING, E., NEUMANN, W.: Beitrag zum Nachweis von H-Substanzen an Trockenblutspuren im Absorptionsverfahren und zur Erfassung schwacher Agglutinine im Agglutininwirkungsversuch n. Lattes. *Arch. Kriminol.* 150, 141-145 (1972)
- KIJEWSKI, S., MÜLMANN, U., von: Der Einfluß pedologischer Unterschiede auf die Mengenbestimmung und Erfäßbarkeit serologischer Eigenschaften von Blutspuren im Erdboden (im Druck)
- KLOSE, I.: Störungen der Blutart-Bestimmungen durch Eigenheiten des Substrates und deren Vermeidung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 52, 267-272 (1962)
- MÜLLER, R.K.: Störungsmöglichkeiten beim Blutnachweis in Spuren. *Z. ärztl. Fortbild.* 14, 814-815 (1964)
- SCHOENHERR, E.: Neue Untersuchungen zur Frage des Waschens von Laborgeräten mit modernen Waschmitteln, Einfluß auf die Präzipitinreaktion? *Arch. Kriminol.* 119, 132-135 (1957)
- SCHULZ, E. Ein Beitrag zur Durchführung der Mischagglutination in der Spurendiagnostik. *Arch. Kriminol.* 146, 95-98 (1970)
- SCHWERD, W.: Blutspuren. Handwörterbuch der Rechtsmedizin für Sachverständige und Juristen Band I, S. 263-269 Stuttgart: Enke 1973
- SIMON, A.: Der Einfluß der gebräuchlichen Waschmittel "FIT" u. "PERSIL" auf die Gruppenspezifität angetrockneter Blutspuren. *Arch. Kriminol.* 133, 12-19 (1964)
- VOLLMER, O.: Über die Beeinflussung des Ablaufs der Eiweißdifferenzierung nach UHLENHUTH durch beabsichtigte Behandlung von Blutspuren zum Zwecke der Unkenntlichmachung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 39, 628-637 (1949)
- TESAR, J., ERBEN, J., BEDNAROVA, H.: Untersuchung von Blutflecken an mit Saponat-Waschmitteln gewaschenen Stoffen. *Soud. Lek.* 8, 17-20 (1963) Referat in *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 56, 202 (1965)
- WALTHER, G.: Die Beeinflussung des Spermanachweises durch einige moderne Waschmittel. *Arch. Kriminol.* 140, 163-171 (1967)
- WERCKMEISTER-FREUND, R.: Gruppenbestimmung an verunreinigten und physikalischen Einflüssen ausgesetztem Blut. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 19, 239 ff. (1932)
- ZIPP, W.N.: Über den Einfluß von Gewebsstoffen auf den Verlauf der Isohämagoagglutination. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 18, 66-72

Dr. Lore GRAMER
Inst. f. Rechtsmedizin
d. Univ. d. Saarlandes
D-6650 Homburg/Saar
Bundesrepublik Deutschland