

## Beeinflussung des Blutnachweises durch Vorproben

W. Schwerd und H. Birkenberger

Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg  
Versbacher Landstr. 3, D-8700 Würzburg, Bundesrepublik Deutschland

### **Influencing Factors of Previous Testing on Blood Determination**

**Summary.** The demonstration of individual characteristics, especially those of the blood group types are substantially disturbed through the hydrogenperoxide- and the luminol spray procedure, which when it is previously employed, can cause changes in the blood spot. These changes are especially by very small blood spots to be expected, but even larger ones under intensive spraying can be effected. Only with great caution are such spray procedures to be used and then only if it is impossible any other way to gather information about the existence of blood spots.

**Zusammenfassung.** Das Wasserstoffperoxid- und Luminol-Sprühverfahren als Vorproben zum Nachweis können Veränderungen der Blutspuren hervorrufen, durch die der Nachweis individueller Eigenschaften, insbesondere der Gruppenmerkmale gestört wird. Diese Veränderungen sind insbesondere bei geringen Blutspuren zu erwarten, aber auch bei stärkeren Blutspuren, nämlich dann, wenn diese intensiv besprüht werden. Vorproben dieser Art sollte man daher nur mit größter Vorsicht anwenden und auch nur dann, wenn eine Orientierung über das Vorhandensein von Blutspuren anders nicht möglich ist.

**Key words:** Blutnachweis, Beeinflussung durch Vorproben – Blutspuren, Vorproben – Spurenuntersuchung, Blutnachweis

Der Einfluß von Vorproben auf das Ergebnis weiterer Untersuchungen an Blutspuren wurde schon mehrfach geprüft. Die Meinungen sind nicht einheitlich. Leers, Kratter, Merkel, B. Mueller, O. Schmidt, Strassmann, Walcher u.a. erklärten, daß Blutspuren durch Besprühen mit Wasserstoffperoxid-Lösung zerstört und Beweisproben dadurch vereitelt werden. Deshalb wurde z.B. empfohlen, das Wasserstoffperoxid sofort nach dem Aufschäumen mit Fließpapier abzutupfen (Ziemke). Auch Berg wies auf den schädigenden Einfluß von Wasserstoffperoxid hin, wenn es im Überschuß längere Zeit einwirkt. Wehrschütz u. O. Preidler untersuchten den Einfluß von Wasserstoffperoxid auf den Ausfall der Benzidin- und Leukomalachit-Probe, den mikrospektroskopischen Nachweis von Hämochrom, die Präcipitin-Reaktion sowie die Erfassung von Blutgruppenmerkmalen nach der Absorptions- und der Mischagglutinations-

Methode. Sie konnten keine Abschwächung dieser Reaktion nach Einwirkung von  $H_2O_2$  feststellen. Dagegen fanden sie einen geringen Einfluß auf die Intensität der Reaktionen nach vorheriger Besprühung der Blutspuren mit Luminol-Reagenz. Hier wiederum konnten B. Mueller, Schleyer u. Svensson keine Beeinträchtigung feststellen. Graf Westphalen u. J. Schmidt beobachteten nach Behandlung von Blutspuren mit  $H_2O_2$  ein Versagen der Gruppenbestimmung mit Hilfe des Absorptions-Verfahrens.

Angesichts dieser sehr voneinander abweichenden Ansichten über den Einfluß von Vorproben auf Blutspuren erschien es uns als notwendig, das Problem erneut aufzugreifen.

Untersucht wurde der Einfluß der *Wasserstoffperoxid*- und der *Luminol-Sprühprobe* auf folgende Reaktionen:

1. Porphyrin-Probe zum Hämoglobin-Nachweis,
2. Präcipitin-Reaktion zum Nachweis von menschlichem Eiweiß nach dem Agar-Gel-Diffusionstest nach Ouchterlony,
3. Nachweis der A- und B-Blutgruppenmerkmale mit dem Mischagglutinations-Verfahren und
4. Nachweis der A- und B-Blutgruppenmerkmale mit dem Absorptions-Verfahren.

Die Untersuchungen erfolgten an Blutflecken auf vorher gewaschener reiner Baumwolle. Das Gewebe wurde mit Blut durchtränkt. Die Blutspuren waren im Mittel 8 Tage alt. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß ein halber Quadratzentimeter Fleckenstoff bei einem Gesamtgewicht von 10 mg im Mittel 5 mg Trockenblut enthielt.

Selbstverständlich wurden sämtliche Versuche unter sonst gleichen Bedingungen durchgeführt, d.h., daß die Kontrollstellen und diejenigen, die mit Wasserstoffperoxid oder Luminol besprüht worden waren, jeweils mit dem gleichen Anti-Serum, der gleichen Anti-Serummenge und der gleichen Inkubationszeit etc. behandelt wurden.

Die Inkubation mit dem Anti-Serum erfolgte jeweils für 24 Stunden im Kühlschrank ( $4^{\circ}C$ ). Die Testerythrozyten-Konzentration war 0,1 bis 0,5 %ig. In Vorversuchen hatten wir festgestellt, daß diese Konzentrationen im Vergleich zu den meist verwendeten 2 %igen Suspensionen im Absorptions-Versuch bis zu 2 Stufen höhere Titer und klarer beurteilbare Agglutinate ergaben.

Für die *Porphyrin-Probe* wurde jeweils eine 1 cm lange Faser aus dem blutdurchtränkten Stoff verwendet und im filtrierten ultravioletten Licht nach Benetzung mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure beurteilt.

Die *Präcipitin-Reaktion* im Agar-Gel-Diffusionstest erfolgte unter Verwendung von jeweils  $1/4\text{ cm}^2$  der besprühten bzw. unbesprühten Blutflecken. Sie wurden nach Befeuchtung mit einem Tropfen NaCl fein zerschnitten, in Zwergreagenzgläser gebracht und nach Zugabe von 4 weiteren Tropfen NaCl im Kühlschrank 24 Stunden lang ausgelaugt. Die Untersuchung erfolgte im Agar-Gel auf Objektträgern. Das Eluat wurde in ausgestanzte Löcher mit 1,5 mm Durchmesser gebracht. Das Anti-Humanserum brachten wir in gleich-große Stanzlöcher, die von den anderen 5 mm entfernt waren. Die Ablesung erfolgte nach maximal 24-stündiger Inkubation der in feuchten Kammern bei  $37^{\circ}C$  im Brutschrank gehaltenen Objektträger.

Für das *Absorptions-Verfahren* wurden Flecken von  $1/2\text{ cm}^2$  verwendet, die wiederum fein zerschnitten wurden und in Zwergreagenzgläsern mit 2 Tropfen Anti-Serum und 2 Tropfen NaCl versetzt bei  $4^{\circ}C$  24 Stunden lang inkubiert wurden. Nach kurzem Zentrifugieren wurde jedem Gläschen 1 Tropfen des Überstands entnommen und auf der Tüpfelplatte eine geometrische Verdünnungsreihe angelegt. Jeder Verdünnungsstufe wurde sodann 1 Tropfen der Erythrozyten-Suspension zugefügt und das Ergebnis nach 20 Minuten langem Rotieren auf dem Schwenktisch bei Raumtemperatur abgelesen.

Für die *Mischagglutination* wurde schließlich jeweils eine 1 cm lange Faser des blutgetränkten Stoffes verwendet, 10 Minuten in Methanol fixiert, fein zerzupft, in Zwergreagenzgläsern mit 1 Tropfen Anti-Serum bei  $4^{\circ}C$  60 Minuten lang inkubiert und nach mehrfachem Waschen mit NaCl wurden die Proben mit 3 Tropfen ca. 0,5 %iger Erythrozytenaufschwemmung versetzt, 30 Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen und dann nach Herstellen von mit Deckgläsern versehenen Präparaten mikroskopisch abgelesen.

Vor Beginn der Untersuchungsreihen wurden von dem verwendeten Stoff Kontrollproben zum Ausschluß von unspezifischen Reaktionen mit den gleichen Methoden geprüft.

Um eine Vorstellung davon zu bekommen, welche Menge an Reagenz auf die Spuren beim Besprühen gelangte, wurden jeweils 10 gleichergröße, 8 Tage alte Blutflecken vor und nach dem Besprühen gewogen. Bei einem Abstand des Sprühgeräts von 10 cm ergab sich, daß im Mittel folgende Mengen der Reagenzlösung ( $H_2O_2$  bzw. Luminol) auf  $1\text{ cm}^2$  Stoff gelangten:

Sprühdauer	
0,5 sec =	8 mg
1 sec =	12 mg
3 sec =	20 mg
4 sec =	44 mg.

Nach 24-stündiger Lufttrocknung wurden dann diese Stoffproben mit den bereits genannten weiteren Verfahren untersucht.

## Ergebnisse

Der Ausfall der *Porphyrin-Probe* ergab keine Unterschiede, ob nun die Stoffproben besprüht oder nicht besprüht worden waren.

Bei der *Präcipitinreaktion* im *Agar-Gel-Diffusionstest* nach Ouchterlony fiel auf, daß die 3 bis 4 Sekunden lang besprühten Spuren zum Unterschied von den nicht besprühten bzw. den nur 0.5 bis 1 Sekunde lang besprühten Spuren nicht mehr 2 bis 3 hintereinanderliegende, sondern nur noch einen, jedoch scharf begrenzten Präcipitationsbogen zeigten.

Mit der *Mischagglutination* war in allen Fällen ein der Blutgruppe entsprechendes Ergebnis zu erzielen. Bei den länger besprühten Blutflecken waren jedoch im ganzen weniger Agglutinate zu beobachten.

Im *Absorptions-Versuch* war bei den Proben, die 3 bis 4 Sekunden lang mit  $H_2O_2$  besprüht worden waren, eine Titer-Abschwächung um 1 Stufe, bei den mit Luminol benetzten Spuren sogar um 2 bis 3 Stufen festzustellen.

In weiteren Versuchen wurde geprüft, welche Bestandteile des Luminol-Reagenz für die Beeinträchtigung der Nachweisbarkeit von Blutgruppensubstanzen verantwortlich ist. Dabei wurde festgestellt, daß offensichtlich die Einwirkung der Natronlauge in Kombination mit  $H_2O_2$  die stärkste Schädigung hervorruft.

Weitere Versuche wurden gemacht, um die *Bedeutung des Alters von Blutspuren* zu prüfen. Dabei wurden Spuren untersucht, die bis zu 90 Tage alt waren. Die Ergebnisse wurden verglichen mit Spuren, die 1/2, 1, 2, 3, 4, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80 und 85 Tage alt waren. Ein sicherer Einfluß des Spurenalters auf den Ausfall der Reaktionen vor oder nach Besprühung mit  $H_2O_2$  bzw. Luminol-Reagenz konnte nicht sicher erwiesen werden.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß selbst intensive Blutspuren durch stärkeres Besprühen mit  $H_2O_2$  und insbesondere mit Luminol-Reagenz Schädigungen erfahren können, durch welche die Feststellung von Individualeigenschaften an Blutspuren gestört werden. Je geringer die Blutspur ist, desto stärker können diese Schädigungen sein.

Vorproben sollten deshalb vermieden werden, wenn schon der äußere Aspekt einer Spur darauf hinweist, daß es sich um eine Blutspur handelt.

**Literatur**

- Adler, O., Adler, R.: Über das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. *Z. physiol. Chem.* **41**, 59 (1904)
- Ascareoli: Der Nachweis von Blutspuren mittels der Benzidinprobe in forensischer Beziehung. *Dtsch. med. Wschr.* **53**, 2307 (1908)
- Berg, S.: Nachweis von Blut in Blutflecken. In: Ponsold, Lehrb. d. gerichtl. Med., Stuttgart: G. Thieme 1957
- Birkenberger, H.: Beeinflussung der biologischen Blutnachweise durch Vorproben. Inaug.-Diss. Würzburg 1973
- Coombs, R., Dodd, B.: Possible Application of the principle of mixed agglutination in the identification of blood stains. *Med. Sci. Law.* **1**, 359 (1961)
- Coombs, R., Bedford, D., Rouillard, L.: A and B Blood Group Antigens on Human Epidermal Cells Demonstrated by Mixed Agglutination. *Lancet* **11**, 461 (1956) zit. nach Maresch u. Wehrschütz
- Fiori, A.: Detection and Identification of Blood Stains. In: *Methods of Forensic Science Vol. 1*. New York-London: Interscience Publishers 1962
- Holzer, Fr.J.: Ein einfaches Verfahren zur Gruppenbestimmung an vertrocknetem Blut durch Agglutininbindung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **16**, 445 (1931)
- Kratter, J.: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Stuttgart: F. Enke 1921
- Kind, S. S.: Absorption-Elution grouping of dried blood smears. *Nature (Lond.)* **185**, 397 (1960)
- Landsteiner, K., Richter, M.: Über die Verwertbarkeit individueller Blutdifferenzen für die forensische Praxis. *Z. Medizinalbeamte* **16**, 85–89 (1903)
- Leers, O.: Die forensische Blutuntersuchung. Berlin: Springer 1910
- Lochte, Th.: Gerichtliche und polizeiärztliche Technik. Wiesbaden: J. F. Bergmann 1914
- Lundquist, F.: Detection and Identification of Bloodstains, *Methods of Forensic Science*. Interscience Publishers (New York), **1**, 240, 243 (1962)
- Maresch, W., Wehrschütz, H.: Moderne Methoden der Blutfleckendiagnostik. *Arch. Krim.* **132**, 5–8 (1963)
- Merkel, H.: Benzidinprobe. *Münch. med. Wschr.* **46** (1909). Über Wert und Technik der Vorproben, besonders der Benzidinprobe beim forensischen Blutnachweis. In: Zangger, H., Festschrift I, 121 ff Zürich: Rascher-Verlag 1935
- Mueller, B.: Gerichtliche Medizin. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953
- Mueller, B.: Beeinträchtigen Kälte und Quarzlicht die Bestimmbarkeit der Blutgruppen an eingetrocknetem Blut. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **23**, 40 (1934)
- Nickolls L., Pereira, M.: A Study of Modern Methods of Grouping Dried Blood Stains. *Med. Sci. Law* **2**, 172 (1962)
- Schleyer, F.: Leitfaden der gerichtlich-medizinischen Blutspurenuntersuchung. Lübeck: Verlag Schmidt-Römhild 1966
- Schnug, G.: Beitrag zur serologischen Blutspurendiagnostik unter Berücksichtigung alter und neuer Blutgruppensysteme sowie Serummerkmale. *Naturwiss. Kriminal.* **4**, 219 (1967)
- Schulz, E.: Experimentelle Untersuchungen zum Nachweis von Substanzen des ABO-Blutgruppensystems und deren medizinisch-kriminalistische Bedeutung. *Habilitationsschrift* 1972
- Schulz, E.: Absättigungsversuch und Mischagglutination. Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis der Ausscheidereigenschaft. *Z. Rechtsmedizin* **74**, 87–98 (1974)
- Schwerd, W.: Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate. Lübeck: Verlag Schmidt-Römhild 1962
- Schwerd, W., Spies, G.: Der Einfluß des Spurenalters bei der Eiweißdifferenzierung nach Uhlenhuth-Ouchterlony. *Arch. Krim.* **143**, 170–171 (1969)
- Specht, W.: Die Chemielumineszenz des Hämin, ein Hilfsmittel zur Auffindung und Erkennung forensisch wichtiger Blutspuren. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **28**, 225 (1937)
- Strassmann, F.: Die Bedeutung der Blutgruppenbestimmung für die gerichtliche Medizin. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **5**, 184 (1925)
- Strassmann, F.: Der Gruppennachweis von Flecken verschiedener Herkunft. *Ärztl. Sachverst. Ztg.* **39**, 199–206 (1933)
- Uhlenhuth, P.: Eine Methode zur Untersuchung der verschiedenen Blutarten, im besonderen zum

- differentialdiagnostischen Nachweis des Menschenblutes. Dtsch. med. Wschr. 27, 82–83 (1901)
- Uhlenhuth, P.: Über die Entwicklung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens im Dienst der gerichtl. Med. unter Berücksichtigung eigener Forschungsergebnisse. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 39, 309–319 (1948)
- Walcher, K.: Gerichtlich-medizinische und kriminalistische Blutuntersuchung. Berlin: Springer 1939
- Wehrschütz, H., Preidler, O.: Zur Brauchbarkeit der Wasserstoffperoxid- und Lumineszenzprobe. Z. Kriminalistik 17, 468 (1963)
- Werkmeister-Freund, R.: Gruppenbestimmung an verunreinigtem und physikalischen Einflüssen ausgesetztem Blut. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 19, 239 (1932)
- Graf Westphalen, Schmidt, J.: Beeinflussung von Blutspuren durch Wasserstoffperoxid. Z. Kriminalistik 7, 363 (1969)
- Ziemke, E.: In Lochte: Gerichtliche und polizeiärztliche Technik

*Eingegangen am 27. Mai 1977*