

lichen Komponenten (Präzipitin und Präzipitinogen) unter Gegenwart von Normalserum dieses seiner komplementären Funktion beraubt wird. Das Phänomen ist ebenso wie der Präzipitationsvorgang an sich streng spezifisch, derart, daß das zugefügte Komplementserum nur dann unwirksam wird, wenn das für das betreffende Präzipitin homologe Eiweiß in der vorerwähnten Mischung als Präzipitinogen zugegen ist. Auf Grund dieser Spezifität haben Neisser und Sachs¹⁾ diese Methode zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes empfohlen „zur Kontrolle und Ergänzung der Präzipitierungsmethode“, indem sie hervorheben, „daß der gerichtsarztliche Sachverständige es willkommen heißen wird, seine verantwortungsvolle Entscheidung auf der Basis von zwei Methoden treffen zu können, welche sich gegenseitig kontrollieren und ergänzen.“

Im Prinzip handelt es sich ja bei der neuen Methode gleichfalls im Grunde wieder um die alte Präzipitationsmethode von Uhlenhuth-Wassermann. Nur dient als Indikator nicht mehr das Produkt der gegenseitigen Einwirkung von Präzipitin und Präzipitinogen aufeinander, also nicht mehr der Niederschlag als solcher, der immer, um für uns sinnlich wahrnehmbar zu sein, ein gewisses Volumen haben muß, es wird vielmehr als ein unendlich empfindlicheres Reagens die Einwirkung der Verbindung des Präzipitins und Präzipitinogens auf das zugefügte Komplement benutzt. Je nachdem sich dieses unter dem Einfluß der beiden vorerwähnten Komponenten dem Nachweis durch eine hämolysefähige Kombination (Immunserum + homologe Blutkörperchen) entzieht oder nicht, läßt sich auch ohne das Auftreten eines makroskopischen Präzipitates die Identität einer unbekannten Eiweißlösung mit Hilfe des homologen, spezifischen Serums diagnostizieren.

Es ist klar, daß diese neue Methode, bei der Vorgänge, die wir mit dem Auge nicht mehr wahrnehmen können, durch ihre eigentümliche Wirkung dem Nachweis erschlossen werden, an Empfindlichkeit der direkten Präzipitationsreaktion nach Uhlenhuth-Wassermann zum mindesten gleichkommt, ja, was Neisser und Sachs mit Recht hervorheben, ihr an Feinheit überlegen ist, indem sie „auch dann, wenn keine Präzipitatbildung wahrzunehmen war, oft noch ein deutliches positives Ergebnis der Ablenkungsreaktion zu verzeichnen hatte.“

In ihrer ersten Arbeit benutzten Neisser und Sachs als Indikator für die Ablenkung des Komplements hämolytisches Immunserum mit den homologen Erythrocyten, in der zweiten Arbeit empfehlen sie die Kombination eines Normalserums mit einer Blutart, für die das betreffende Serum normale Hämolyse enthält. Ein prinzipieller Unterschied zwischen beiden Verfahren dürfte kaum bestehen. Ich habe mit einer größeren Reihe von präzipitierenden Seris übereinstimmende Resultate mit Neisser und Sachs erhalten. Meine Versuchsanordnung schloß sich an die in der ersten Arbeit der beiden Autoren angegebene an, nur benutzte ich an Stelle einer Mischung von Erythrocyten mit Immunserum eine 10%ige Aufschwemmung von mit Immunserum (Kaninchen mit Ziegenblut vorbehandelt) beladenen und nach der Absorption dreimal gewaschenen Ziegenerythrocyten.

Zunächst wurde 0,02 des präzipitierenden Serums mit 1,0 der Verdünnung des homologen Eiweißes (in der Regel präzipitierendes Serum von einem mit Menschenserum vorbehandelten Kaninchen und Verdünnung von Menschenserum) versetzt. Dazu kam die vorher mit den beladenen Blutkörperchen festgestellte, etwa zweifache Dosis minimalis des Komplementserums vom Meerschweinchen (in der Regel 0,05). Die Mischungen wurden auf 1,5 ccm aufgefüllt, eine Stunde in den 37°-Schrank gebracht und dann je mit 1 ccm der beladenen Erythrocyten versetzt. Ueberall, wo ein dem zugesetzten Präzipitin homologer Eiweißkörper als Präzipitinogen vorhanden war, blieb bis zu einem gewissen Grade der Verdünnung die Hämolyse aus. Als Kontrollversuch wurde an Stelle des homologen Serums eine Verdünnung artfremden Serums von $\frac{1}{1000}$ benutzt.

Ferner wurde eine Reihe der Eiweißverdünnungen mit Komplement allein, ohne Präzipitinserum, angesetzt. In diesen Versuchen trat natürlich durchgehend die Hämolyse ein.

Was nun die Wirkungsbreite dieser Methode anlangt, so gelang Moreschi sowie Neisser und Sachs die Identifizierung

Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.)

Zur forensischen Eiweißdifferenzierung auf Grund der hämolytischen Methode mittels Komplementablenkung nebst Bemerkungen über die Bedeutung des Präzipitates für dieses Phänomen.

Von Priv.-Doz. Dr. E. Friedberger, I. Assistenten am Institut.

Gengou¹⁾ sowie Moreschi²⁾ bei seinen Studien über Antikomplemente haben die Beobachtung gemacht, daß beim Zusammentreffen der beiden für die Präzipitation erforder-

1) Annales Inst. Pasteur 1902, Bd. 16. — 2) Berliner klinische Wochenschrift 1905, No. 37. 1906, No. 4.

1) *ibid.* 1905, No. 44 und 1906, No. 3.

rung des Eiweißes noch in einer Verdünnung von $\frac{1}{100000}$ bis $\frac{1}{1000000}$. Auch meine Sera zeigten diesen Verdünnungen gegenüber meist die Grenze ihrer Wirksamkeit. Mit einem von Herrn Prof. Puppe mir freundlichst überlassenen Serum aber, das von einem mit Menscheneiweiß vorbehandelten Kaninchen stammte und von dem 0,1 nach der alten Uhlenhuthschen Methode bereits einer homologen Eiweißverdünnung von $\frac{1}{1000}$ gegenüber versagte, das also für die direkte forensische Blutidentifizierung unbrauchbar gewesen wäre, konnte man mit 0,02 noch bis zu einer Verdünnung des Menschenserums auf $\frac{1}{1000000000}$ vollständige Hemmung der Hämolyse erzielen. Das Serum ist also nach der hämolytischen Methode mindestens 50 Millionen Mal wirksamer als bei direkter Präzipitation.

Das ist eine Empfindlichkeit der Reaktion, die theoretisch unser größtes Interesse erheischt. Es erscheint mir aber fraglich, ob eine derartig gesteigerte Empfindlichkeit der Probe für die Praxis überhaupt noch einen Vorteil bietet oder ob sie nicht vielmehr die Quelle schwerer Irrtümer bei der Deutung des Ausfalls der Reaktion bilden kann. Ich benutzte bei Versuchen mit diesem Serum unter sonst gleichen quantitativen Versuchsbedingungen an Stelle von Menschenserumverdünnungen den Schweiß verschiedener normaler Individuen, der in einem elektrischen Lichtbad direkt von der Haut gesammelt war.

Es ergab sich, daß dieser Schweiß selbst noch in einer Verdünnung von $\frac{1}{100000}$ die gleiche antihämolytische Wirkung bei Gegenwart des betreffenden Präzipitins entfaltete wie das Serum. Nur in dem Röhrchen, in dem der Schweiß in einer Menge von 1,0 unverdünnt zugesetzt war, trat eine leichte Rötung der oben stehenden Flüssigkeit ein, die vielleicht auf eine geringe hämolytische Wirkung des Schweißes an sich zurückzuführen ist. Bei der Verdünnung von $\frac{1}{10}$ fehlte sie bereits vollständig. Wurde der Schweiß vorher mit einem artfremden Serum gemischt, so trat gleichfalls bei Zusatz von Präzipitin die Hemmung der Hämolyse auf. Ohne Zusatz von Antiserum aber zeigte der Schweiß, einerlei ob er mit artfremdem Serum gemischt war oder nicht, keinerlei Hemmung.

Eine der zahlreichen und völlig übereinstimmenden Versuchstabellen möge die Verhältnisse illustrieren.

Tabelle I.

1 Stunde 37°				
Präzipitierendes Kaninchen-serum für Mensch	Verdünnung der eiweißhaltigen Flüssigkeit in 1 ccm	Normalmeerserum als Komplement, 2 dos. minimal	mit hämolytischem Ziegenamboceptor vom Kaninchen beladene 10%ige Ziegenblutkörper	Resultat
0,02	1,0 Menschenserum $\frac{1}{100000}$	0,05	1 ccm	0
"	" $\frac{1}{1000000}$	"	"	0
"	" Million	"	"	0
"	" $\frac{1}{10}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{100}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	0
"	"	"	"	0 (leichte Rötung der obenstehenden Flüssigkeit)
0,02	1,0 Hühnerserum $\frac{1}{1000}$	"	"	komplett
"	"	"	"	0
0,02	1,0 Schweiß	0,05	"	Spürchen
"	" $\frac{1}{10}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{100}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	0
"	1,0 Schweiß	"	"	komplett
"	" $\frac{1}{10}$	"	"	"
"	" $\frac{1}{100}$	"	"	"
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	"
"	" $\frac{1}{10000}$	"	"	"
0,02	1,0 Schweiß + Hühnerser. $\frac{1}{1000}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{10}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{100}$	"	"	0
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	0
"	1,0 Schweiß + Hühnerser. $\frac{1}{1000}$	"	"	komplett
"	" $\frac{1}{10}$	"	"	"
"	" $\frac{1}{100}$	"	"	"
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	"

Ob der Schweiß, wie das Leclerc und Smith¹⁾ vom Pferde und Gaube²⁾ vom Menschen behaupten, regelmäßig Eiweiß enthält und ob die antihämolytische Wirkung des Schweißes auf diesen

geringen Eiweißgehalt zurückzuführen ist oder ob hier ein anderes Moment in Frage kommt, sei zunächst gänzlich dahingestellt.

Es erübrigt nur noch, auf die Wichtigkeit dieses Verhaltens des Schweißes für die forensische Praxis kurz hinzuweisen. Da die des Mordes Angeklagten sich keineswegs ausschließlich, ja nicht einmal vorzüglich aus jenen Kreisen rekrutieren, in denen man das Hemd mehrfach die Woche zu wechseln pflegt, ein lange getragenes Hemd aber oder sonstiges Kleidungsstück sich naturgemäß stark mit Schweiß imprägnieren muß, so ist es wohl denkbar, daß ein aus einem derartigen, stark durchschwitzten Kleidungsstück ausgelaugter Blutfleck die Reaktion auf Menscheneiweiß geben kann, ohne daß der Fleck aus Menschenblut zu bestehen braucht.

So gelang mir denn in der Tat die Aufhebung der Hämolyse mit dem Waschwasser eines etwa markstückgroßen Stückchens aus einem nur einen Tag getragenen Wollstrumpf einer allerdings an Schweißfüßen leidenden Person. Ebenso fiel die Reaktion mit dem Waschwasser eines mit Menschenschweiß getränkten und mit geringen Mengen von Hühnerblut versetzten Leinwandläppchens positiv für Menschenblut aus.

Diese Tatsachen, so wichtig sie zunächst für die Praxis sein können, sind doch keineswegs dazu geeignet, den hohen Wert und die praktische Bedeutung der Methode von Neisser und Sachs herabzusetzen. Sie sollen uns nur vor der Verwendung allzu wirksamer Sera warnen, die wir bei der großen Empfindlichkeit der Methode an sich natürlich leichter als bei dem direkten Präzipitationsverfahren antreffen. Auf jeden Fall sollen vorher die Präzipitinsera, wie das ja auch Neisser und Sachs empfehlen, mit einer bestimmten Menge des Menscheneiweiß ausgewertet werden, und es sollten nur solche Mengen in Anwendung kommen, bei denen diese störende Ueberempfindlichkeit nicht mehr zutage tritt. Eine Einschränkung erfährt die Wirkungsbreite der Methode nicht nur durch die Verringerung der Präzipitindosis, sondern auch durch Erhöhung der Komplementmenge.

Eine Wirkung des präzipitierenden Serums auf eine Eiweißverdünnung von über $\frac{1}{100000}$ erscheint für die Praxis unnötig und kann nur zu leicht zu den vorerwähnten Irrtümern führen. Bei der trägeren direkten Präzipitationsmethode nach Uhlenhuth-Wassermann besteht diese Gefahr nicht, da man wohl nur selten Sera findet, die in einer Menge von 0,1 mit Eiweißverdünnung von über $\frac{1}{100000}$ positive Reaktion geben. Aber auch diejenigen präzipitierenden Sera, deren Grenze für die Neisser und Sachssche Methode in der verwandten Menge von 0,02 bereits bei einer Eiweißverdünnung von $\frac{1}{100000}$ bis $\frac{1}{1000000}$ lag, zeigten auf Schweiß nur eine minimale Wirkung, höchstens in der Verdünnung von $\frac{1}{10}$, wie sich aus der folgenden Tabelle ergibt, in der gleichzeitige Versuche mit drei verschiedenen präzipitierenden Seris (No. III, IV, V) aufgeführt sind.

Tabelle II.

1 Stunde 37°						
Präzipitierendes Kaninchen- serum für Mensch	Verdünnung der eiweiß- haltigen Flüssigkeit in 1 ccm	Normalmeerserum als Komplement, 2,5 dos. minimal mit hämolytischen Ziegenambo- ceptor vom Kaninchen beladene 10% ige Ziegenblutkörper	Resultat			(Kon- trolle)
			mit			ohne
						präzip.
						Serum
			Serum III	Serum IV	Serum V	
0,02	1,0 Menschenserum $\frac{1}{100000}$	0,05 1 ccm	0	0	0	komplett
"	" $\frac{1}{1000000}$	"	Kuppe	0	0	"
"	" Million	"	0	0	0	"
"	" $\frac{1}{10}$	"	fast kompl.	Kuppe	0	"
"	" $\frac{1}{100}$	"	komplett	fast kompl.	Kuppe	"
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	komplett	fast kompl.	"
0,02	Taubenserum $\frac{1}{1000}$	"	komplett	komplett	komplett	komplett
"	"	"	0	0	0	0
"	1,0 Menschenschweiß	0,05	Kuppe	Kuppe	Spur Kuppe	komplett
"	" $\frac{1}{10}$	"	fast kompl.	"	"	"
"	" $\frac{1}{100}$	"	kompl.	"	"	"
"	" $\frac{1}{1000}$	"	"	komplett	komplett	"
"	" $\frac{1}{10000}$	"	"	"	"	"

Ich bin mit Neisser und Sachs der Ansicht, daß das Präzipitat als solches keineswegs allein die Ursache der Komplementablenkung ist, wenn auch im Tierkörper, wie Pfeiffer und Moreschi¹⁾ zeigen konnten, gerade unter den Bedingungen der maximalen Präzipitation die beste antikomplementäre Wirkung zustande kam. Auch Moreschi selbst hat nicht, wie das Neisser und Sachs in ihrer ersten Arbeit irrtümlich annahmen, das Präzipitat für die Ursache der Komplementablenkung gehalten, sondern ausschließlich einen Zusammenhang derart angenommen, daß die Komplementablenkung mit der Präzipitation „vergesellschaftet“ sei.

Die von mir in Uebereinstimmung mit Neisser und Sachs beobachtete Tatsache, daß Sera, die keine oder nur geringe Präzipitatabildung lieferten, deutliche Ablenkungsreaktion zeigten, demonstriert, daß für das Zustandekommen des Phänomens wohl die Gegenwart beider Komponenten, nicht aber eine sichtbare gegenseitige Beeinflussung in der Gestalt eines Präzipitats erforderlich ist. Auch Wassermann und Bruck²⁾ konnten zeigen, daß bei Verwendung eines nicht mehr fällbaren Präzipitins die Komplementbindung bei Gegenwart von Präzipitin also auch ohne Möglichkeit der Präzipitatabildung stattfand.

Ich konnte einen weiteren Beweis hierfür erbringen. Mit erhitztem Präzipitin-Serum gelang es mir, bei Hinzufügen von Präzipitinogen (obwohl infolge des vorherigen Erhitzens die Möglichkeit einer Präzipitatabildung ausgeschlossen war) gleichfalls antikomplementäre Wirkung zu erreichen.

Ein durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit Hammelserum gewonnenes wirksames Hammeleiweißpräzipitin wurde über eine Stunde bei 67° im Wasserbade erhitzt. Das Präzipitin hatte nun seine fällende Gruppe eingebüßt.

Beweis: 0,1 Hammelkaninchenserum + 1 ccm Hammelserum $\frac{1}{1000}$ gab keine Präzipitatabildung. Die bindende Gruppe war aber noch erhalten.

Beweis: Zusatz von 0,1 frischen, unerhitzten Hammelkaninchenserums, das an sich starke Präzipitation hervorruft, bewirkt nunmehr nicht mehr Präzipitatabildung, weil die Gruppen des Präzipitinogens von dem inaktivierten Präzipitoid besetzt sind.

Nunmehr wurden folgende beide Parallelversuche angestellt:

Röhrchen A 0,1: Hammelkaninchenserum auf 67° erhitzt + 1 ccm Hammelserum $\frac{1}{1000}$ + 2 dosis minim. Komplement (0,02 Meerschweinchen Serum).

Röhrchen B 0,1: unerhitztes Hammelkaninchenserum + 1 ccm Hammelserum $\frac{1}{1000}$ + 2 dosis minim. Komplement.

Beide Röhrchen kommen auf $\frac{1}{2}$ Stunde in den Brutschrank bei 37°. In Röhrchen A ist keine, in Röhrchen B deutliche Präzipitation eingetreten. Zusatz von je 1 ccm mit Immunsorum beladenen Ziegenerythrocyten zu jedem Röhrchen; nach zwei Stunden Aufenthalt bei 37° fehlt gleichmäßig in beiden Röhrchen die Hämolyse.

Daraus ergibt sich also, daß die Komplementablenkung auch ohne Präzipitatabildung zustande kommen kann, sofern nur die beiden für dieses Phänomen nötigen Komponenten vorhanden sind.

Fassen wir die Resultate dieser Arbeit kurz zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Die von Neisser und Sachs angegebene, auf dem Gengou-Moreschischen Phänomen basierende Methode zur forensischen Differenzierung von Blut ist als eine willkommene Ergänzung der Uhlenhuth-Wassermannschen Probe anzusehen.

2. Es gelingt mittels des Komplementablenkungsverfahrens bei Verwertung wirksamer Sera auch mit Schweiß bis zu einer Verdünnung von $\frac{1}{10000}$ die typische Eiweißreaktion zu erhalten, wodurch Irrtümer bei der Beurteilung der Probe entstehen können.

3. Es empfiehlt sich deshalb keineswegs, Sera, bzw. Quantitäten der einzelnen in Betracht kommenden Komponenten zu wählen, bei denen die Empfindlichkeit der Reaktion über die für den Nachweis einer Eiweißmenge von $\frac{1}{10000}$ erforderliche Grenze hinausgeht.

4. Für das Zustandekommen der Komplementablenkung ist nicht die Bildung eines sichtbaren Präzipitats, sondern nur die Gegenwart der beiden für die Präzipitation erforderlichen Komponenten notwendig.

Meinem hochverehrten Chef Herrn Prof. Dr. Pfeiffer danke ich für das Interesse, das er meinen Versuchen entgegengebracht hat.