

Zur AB0-Blutgruppenbestimmung an Haaren

Lore Gramer und Dieter Tausch

Institut für Rechtsmedizin der Universität des Saarlandes (BRD)

Eingegangen am 11. September 1972

ABO Blood-Groups in Hairs

Summary. Published results on ABO bloodgroups determinations in hairs were re-tested. This resulted in some significant technical improvements, which lowered the margin of error and also shortened and simplified the testing.

Zusammenfassung. Bisher erschienene Arbeiten über ABO-Blutgruppenbestimmung in Haaren wurden nachgeprüft. Dabei konnten einige wesentliche technische Verbesserungen erbracht werden, die einerseits die Fehlerquote deutlich senkten und andererseits die Durchführung der Untersuchung schneller und einfacher gestalteten.

Key words: ABO-Blutgruppen, Haare — Blutgruppenbestimmung, an Haaren.

Die ersten grundlegenden Arbeiten über die Blutgruppenbestimmungen an Haaren erschienen in den 50er Jahren [2, 5, 7, 11]. In der Zwischenzeit waren diese Ansätze etwas in Vergessenheit geraten. In neuerer Zeit sind nun einige weitere interessante Arbeiten veröffentlicht worden [3, 4, 6, 8, 10].

Gestützt auf diese Arbeitsanleitungen führten wir Blutgruppenbestimmungen an Haaren durch. Im Rahmen dieser Untersuchungen ergaben sich einige Verbesserungen und technische Vereinfachungen, mit denen wir die Fehlerquote weiter senken konnten. Eine Mitteilung halten wir deshalb für angebracht.

Überprüft wurden mit dieser modifizierten Technik die Haare von insgesamt 43 zufällig ausgewählten Personen, deren Blutgruppen den Untersuchern in 30 Fällen zunächst nicht bekannt waren. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen mit Seren verschiedener Firmen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden später mit den in den Blutproben festgestellten Blutgruppen verglichen.

Methodik

Im einzelnen gehen wir bei den Blutgruppenbestimmungen an den Haaren folgendermaßen vor:

Etwa 15 mg Haare werden zuerst mit Wasser gewaschen und danach ohne Zwischentrocknung 10 min lang in Äther gelegt und mehrfach geschwenkt. Nach dem Lufttrocknen der Haare auf einer Petrischale werden sie in etwa 0,5 cm lange Stücke geschnitten, in einen Achatmörser mit Achatpistill gebracht und mit einer dazugehörigen Schwingmühle der Firma Retsch, Grindomat MM, „gemahlen“ (Einstellung 70 während 5 min). In der Regel sind die Haare nach dieser Zeit aufgespalten bzw. abgeplattet. Sie dürfen nicht so lange gemahlen werden, daß sie als Staub vorliegen. Eine Kontrolle erfolgt jedesmal unter dem Stereomikroskop. Nach dieser Aufarbeitung der Haare geben wir dieselben zu gleichen Anteilen in Glasröhrchen von 5 cm Länge und 0,9 cm innerem Durchmesser und tropfen aus gleich großen Pipetten je 5 Tropfen eines Anti-A-, Anti-B- und Anti-H-Serums darauf. Bei jeder Serum-Charge wird vorher eine Titerbestimmung vorgenommen. Die von uns verwandten Seren hatten einen Titer von 1:256.

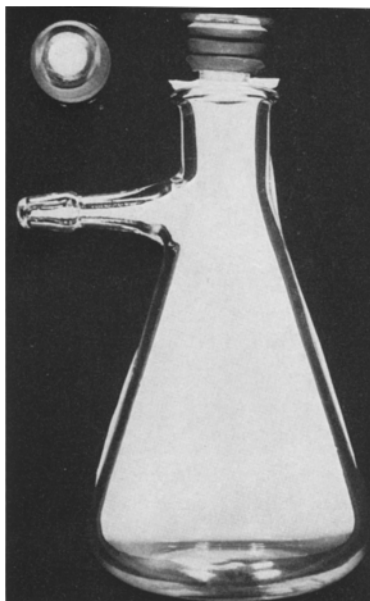


Abb. 1. Waschflasche mit Fritte

Die Röhrchen werden daraufhin mit Parafilm verschlossen und über Nacht im Kühlschrank bei 4°C zur Inkubation stehengelassen. Danach werden die Haare gründlich mit eiskalter 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen. Angeregt durch die Arbeit von Wynbrandt u. Chisum haben wir ein Waschsystm konstruiert, das das lange und arbeitsaufwendige Abpipettieren erspart. Es handelt sich dabei um eine kleine Fritte mit einem Durchmesser von 1,2 cm und einer Höhe von 1,7 cm, die auf einer Waschflasche sitzt (Abb. 1).

Nach Aufbringen der Haare auf die Fritte wird mittels einer großen Tropfpipette kontinuierlich eiskalte NaCl-Lösung darüber gespült und gleichzeitig mit einer Wasserstrahlpumpe über die Saugflasche abgesaugt. Die Röhrchen stehen in einem Gefäß mit Eiswasser und werden nur kurz zur Waschprozedur entnommen. Aus der Fritte lassen sich die kleinen Haarmengen

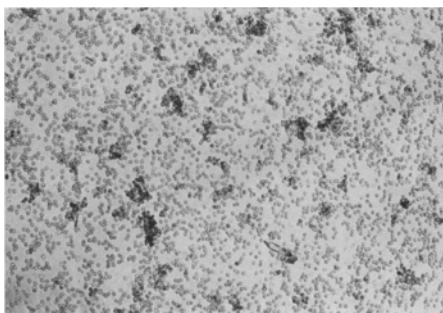


Abb. 2

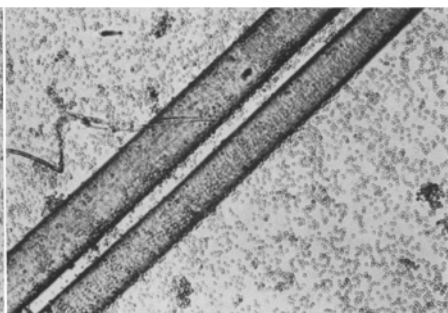


Abb. 3

Abb. 2. Beispiel eines positiven Befundes mit freien Agglutinaten bei einem Haar mit der Blutgruppeneigenschaft B. Vergrößerung 800fach

Abb. 3. Beispiel eines positiven Befundes mit freien und zum Teil an Haaren angelagerten Agglutinaten der Blutgruppeneigenschaft A. Vergrößerung 800fach

mit einer feinen Pinzette oder Nadel leicht in neue gleich große Röhrchen zurückbringen, die wieder etikettiert werden. Jetzt gibt man noch einmal 2—3 Tropfen der eiskalten NaCl-Lösung auf die Haare und läßt die Röhrchen im Eisbad stehen, bis alle Ansätze gewaschen sind.

Das letzte „Waschwasser“ wird dann mit einer 1%igen Erythrocyten-NaCl-Bromelin-Aufschwemmung auf Agglutination geprüft. Tritt keinerlei Agglutination mehr auf, versetzt man die gewaschenen Haare mit je 6 Tropfen aus gleich großen Pipetten (0,06 ml Pasteurpipetten) der entsprechenden Erythrocyten-Bromelin-Aufschwemmungen (1%ige Aufschwemmung in 0,9%iger NaCl-Lösung gemischt mit Bromelin der Firma Behring im Verhältnis 2:1). Diese Erythrocyten-Bromelin-Aufschwemmung muß die Haare völlig bedecken und bleibt 1 Std lang bei Zimmertemperatur zur Elution stehen. Nach vorherigem leichten Schütteln und Abgießen der Aufschwemmung auf normale Objektträger erfolgt die mikroskopische Ablesung.

Die Agglutinate liegen sowohl an als auch vorwiegend außerhalb der Haarstückchen und bilden deutliche dicke farbintensive Klumpen (s. Abb. 1 u. 2). Sie sind nicht zu verwechseln mit gelegentlichen kleinen zusammengelaufenen helleren Erythrocytenhäufchen. Einen negativen Befund zeigt zum Vergleich die Abb. 3. Ungeübte gehen sicher, wenn sie die Stärke der Agglutination in Rechnung setzen, da die Agglutinate meist so stark sind, daß Klümpchen bestehen.

Ergebnisse

Bei den bisher 43 Untersuchungen erzielten wir 42 richtige Ergebnisse und nur einmal ein falsches.

Bei dieser einen Fehlbestimmung, bei der bei 5maliger Kontrolle immer wieder statt der Blutgruppe 0 die Blutgruppe A vorgetäuscht wurde, handelt es sich um ein Haar, das schon seit über 2 Jahren laufend mit Clairol (einem Haarfärbemittel der Fa. Clairol) behandelt worden war. Die Frage des Einflusses von Clairol auf weitere Haarproben soll noch geprüft werden; die Untersuchungen darüber sind noch nicht abgeschlossen.

Mit Anti-H trat bei einigen Haaren der Gruppe A und B ebenfalls eine Agglutination unterschiedlicher, jedoch wesentlich geringerer Stärke auf als der der vorliegenden Blutgruppe entsprechende. Bei den Haaren der Blutgruppe 0 waren die Agglutinate teilweise nicht stärker ausgebildet. Bei Abwesenheit einer Agglutination bei A und B wurde dann in diesen Fällen die Blutgruppe 0 angenommen.

Eine Schwierigkeit ergab sich bei der Differenzierung zwischen der Blutgruppe 0 und A₂. Eine Blutgruppe A₂ zeigte mit Anti-H deutliche Agglutinate, nicht aber mit dem sonst verwendeten Anti-A.

Haarfärbemittel wurden in 3 Fällen über Jahre angewandt. Es zeigt sich keine Störung der Blutgruppenbestimmung, übereinstimmend mit den Ergebnissen von Borra.

In 3 Fällen wurden parallel zum Kopfhaar auch Schamhaare untersucht. Es fanden sich die gleichen mit den Blutuntersuchungen übereinstimmende Ergebnisse.

Tabelle 1

Blutgruppe	Zahl der Untersuchungen	Richtig	Falsch
A	23	23	—
0	11	10	1
B	5	5	—
AB	3	3	—
A ₂	1		

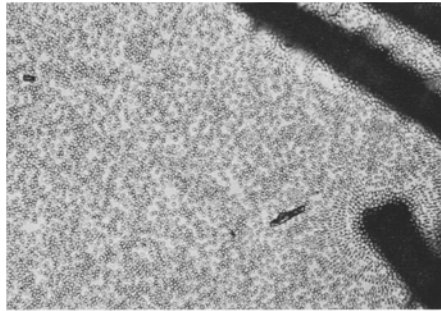


Abb. 4. Beispiel eines negativen Befundes. Vergrößerung 800fach

Über Untersuchungen an länger unter der Erde liegenden Leichenhaaren können noch keine endgültigen Aussagen gemacht werden im Hinblick darauf, ob unsere Untersuchungsmethode ohne weiteres auf solche Leichenhaare zu übertragen ist. In einem Fall einer nach über 1 Jahr exhumierten Leiche mit der bekannten Blutgruppe 0 fanden wir bei mehrfachen Bestimmungen immer wieder die Blutgruppeneigenschaft AB. Diesbezügliche weitergehende Untersuchungen müssen noch durchgeführt werden.

Diskussion

Im Vergleich mit den bisher erschienenen Arbeiten sind wir der Meinung, daß die jetzt entwickelte Arbeitsweise einmal durch die Art der Zerkleinerung der Haare und des Waschvorganges, weiterhin durch die nach Versuchen als optimal erkannten Zeiten für Inkubation und Elution sowie durch die erprobte Konzentration der Erythrocyten-Bromelin-Suspension und die Verwendung normaler Objektträger an Stelle von Hohlobjektträgern deutliche Vorteile im Hinblick auf größere Sicherheit und niedrigere Fehlerquote bietet. Dabei möchten wir darauf hinweisen, daß, wie vergleichende Untersuchungen gezeigt haben, die guten Ergebnisse nur durch das Zusammenwirken dieser verschiedenen Faktoren und nicht durch eine der Verbesserungen allein erzielt werden konnten.

Was die Einzelheiten betrifft, so ist vor allem die Art der Zerkleinerung der Haare bedeutungsvoll. Sie dürfen nicht zu lange und nicht zu kurze Zeit gemahlen werden, weil in ersterem Falle die Agglutination sonst in bzw. von den Staubansammlungen mikroskopisch nicht mehr eindeutig zu unterscheiden und weil im zweiten Falle die Haare nicht aufgespalten sind. Die Blutgruppensubstanz könnte somit in letzterem Falle nicht mit dem Antikörper in Berührung kommen. Weiterhin halten wir das Belassen der Ansätze im Eiswasser zwischen den einzelnen Waschvorgängen für wichtig, um jeder vorzeitigen Elution vorzubeugen.

Bezüglich der Testerythrocyten erwies sich eine 1%ige Erythrocytenaufschwemmung am günstigsten. Bei dickeren Aufschwemmungen ist die Gefahr der Pseudoagglutination größer, bei dünneren Aufschwemmungen sind die Agglutinate jedoch nicht so eklatant und gut zu erkennen. Anfangs wurde statt dem Bromelin der Firma Behring die Bromelase einer anderen Firma benutzt und eine dickere

Aufschwemmung versucht; damit wurden zahlreiche Fehlbestimmungen erzielt. Auch die angegebenen Zeiten erwiesen sich am günstigsten, zumindest darf die Einwirkungszeit des Antiserums von 10 bis 24 Std nicht überschritten werden. Bei längerer Einwirkungszeit wurden gleichfalls Fehlbestimmungen erzielt. Auch sollte das Belassen der Testerythrocytenaufschwemmung über 2 Std nicht überschritten werden. Gleichfalls schlechtere Ergebnisse erzielten wir bei der Elution im Brutschrank oder im Wasserbad bei 56°C. Die Absprengung bei Zimmertemperatur erbrachte bessere Ergebnisse. Im Gegensatz zu anderen Arbeitsanleitungen bevorzugen wir beim Ablesen normale Objektträger und keine Hohlschliffobjektträger, da die Ablesung durch die unterschiedliche dicke Schicht und durch das Zusammenlaufen der Erythrocyten erschwert wird.

Abschließend weisen wir darauf hin, daß es unabdingbar ist, Doppelbestimmungen mit Seren verschiedener Firmen durchzuführen, um Fehlbestimmungen zu vermeiden.

Literatur

1. Borra, G.: Assorbimento-eluzione ed accertamenti gruppo-specifici su capelli sot posti à trattamenti chimico-fisci particolari quali quelli abitualmente impiegati cosmetologia. Arch. Soc. lombarda Med. leg. **4**, 225—238 (1968).
2. Coombs, R., Bedford, C.: The A and B antigens on human platelets demonstrated by means of mixed erythrocyteplatelet agglutination. Vox Sang. (Basel) **5**, 111 (1955).
3. Heifer, U.: Zum Beweiswert von AB0-Bestimmungen an Einzelhaaren. Referat auf der 46. Tagung d. Dtsch. Gesellschaft f. gerichtl. Med., Kiel 1967.
4. Kirst, R.: Über die AB0-Gruppeneigenschaft der Haare. Kriminal. forens. Wiss. **1**, 169—177 (1970).
5. Krefft, S.: Über das Vorkommen von Gruppensubstanzen in menschlichen Haaren. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **42**, 395—408 (1953).
6. Mackerle, S., Loyka, S., Bartková, A.: Determination of group properties in hairs. Soud. Lék. **15**, 49—52 (1970).
7. Sakai, T.: Studies on bloodgroup substances of human hairs. Jap. J. Leg. Med. **5**, 19—41 (1951).
8. Schaidt, G., Specht, I.: Untersuchungen zur Blutgruppenbestimmung am menschlichen Einzelhaar. Arch. Kriminol. **143**, 82—86 (1969).
9. Wynbrandt, F., Chisum, W. J.: Determination of the AB0 blood group in hair. Forens. Sci. Soc. **11**, 201—204 (1971).
10. Yada, S., Mori, M., Okane, M.: Photographic illustration of the technique of grouping single human hairs. Acta Crim. Med. leg. Jap. **34**, 87—89 (1968).
11. Yada, S., Okane, M., Sano, Y.: Blood grouping of a single human hair by means of elution technique. Acta Crim. Med. leg. Jap. **32**, 1 (1966).
12. Yasuda, N., Shoji, M., Yamada, S.: On the blood grouping of human hairs. J. Leg. Med. & Crime Invest. Technol. **1/2**, 31—45 (1958).

Dr. L. Gramer
 Dr. D. Tausch
 Institut für gerichtliche Medizin
 der Universität des Saarlandes
 D-6650 Homburg/Saar
 Bundesrepublik Deutschland