

Über die Zuverlässigkeit von AB0-Befunden in gelagerten Blutproben

Wolfgang Schwerd und Angela Noll

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

Dependency of AB0 Reports in Stored Blood Samples

Summary. Report on the occurrence of “acquired” A or B in stored blood samples. This bacterial alteration is of importance when an indirect experimental investigation with the absorption-elution technique is needed in advanced cases of hemolysis. One has to consider this disturbing factor in identification tests (alcoholic blood samples). In dried blood stains we did not notice this problem, but it has to be taken into account in genitals stains.

Key words: Stored blood samples, AB0 system – Characteristics of blood groups, B-like-antigens

Zusammenfassung. Bericht über das Auftreten von „erworbenem“ A bzw. B in gelagerten Blutproben. Diese bakteriell bedingte Veränderung spielt vor allem dann eine Rolle, wenn infolge von fortgeschrittener Hämolyse eine indirekte Untersuchung mit der Absorptions-Elutions-Methode erfolgt. Bei Identitätsuntersuchungen (Alkoholblutproben) ist diese Störungsquelle zu beachten. Bei getrockneten Blutspuren haben wir Abweichungen dieser Art bisher nicht festgestellt, bei Genitalsekretspuren ist dagegen damit zu rechnen.

Schlüsselwörter: AB0-Befunde, in gelagerten Blutproben – „erworbene“ Blutgruppensubstanz

Die Änderung von Blutgruppeneigenschaften in Blutproben wurde erstmals von Thomsen und Friedenreich 1926 beschrieben. Eine Blutprobe, bei der tags zuvor die Blutgruppe 0 festgestellt wurde, reagierte nun mit AB-Serum und sogar mit dem eigenen Serum. Man sprach von einer Panagglutinabilität und nahm an, daß an der Oberfläche der Erythrozyten ein T (wie Thomsen)-Agglutinin freigelegt wurde. Die agglutinierenden Seren mußten dementspre-

chend ein homologes T-Agglutinin aufweisen. 1946 isolierten Burnet et al. aus Choleravibrionen ein Enzym, dem die Bezeichnung RDE (receptor destroying enzyme) gegeben wurde und das Klenk und Uhlenbruck 1960 als Neuraminidase identifizierten. Durch dieses Enzym wird T-Agglutino-gen freigelegt.

Über die klinische Bedeutung von „erworbener“ Blutgruppensubstanz B („B-like-Antigen“) berichteten 1959 Cameron et al. Sie fanden es bei 7 Patienten der Gruppe A₁. Diese Patienten hatten schwere Darmstörungen. Das gleiche Phänomen beobachteten Marsh et al. (1959) bei einem Patienten mit Darm-Karzinom. Auch andere Autoren teilten ähnliche Beobachtungen mit (Giles et al. 1959; Stratton und Renton 1959). Auffälligerweise hatten alle Patienten die Blutgruppe A.

In mehreren Publikationen referierten Springer et al. (1963) über blutgruppenaktive Polysaccharid-Strukturen bei gram-negativen Bakterien mit A-, B- und H-(0-)Aktivitäten. Sie stellten die Sensibilisierung von Erythrozyten durch diese Bakterienprodukte nicht nur in vitro, sondern auch in vivo durch Verfütterung von Gramm-Mengen toter Coli(086)-Keime an Säuglinge (!) unter Beweis.

Postmortal wurde erworbene B-Blutgruppeneigenschaft zuerst von Moureau et al. (1963) in einer Wasserleiche festgestellt. Dies wurde durch das Vorhandensein von Proteus- und Clostridium-Keimen erklärt. Jenkins et al. (1972) fanden ebenfalls in mehreren Wasserleichen B-Antigen, das offensichtlich erst postmortal aufgetreten und durch Colikeime bedingt war.

Eigene Beobachtungen

Wir beobachteten bei der Überprüfung von Blutproben, die wochen- bis monatelang im Kühlschrank (4°C) gelagert waren, bei der AB0-Bestimmung mit der Absorptions-Elutions-Methode (Kind) Abweichungen vom Ergebnis der direkten Prüfung der Erythrozyten mit der üblichen Agglutinationsmethode nach Landsteiner. In zwei Fällen ergab sich ein Verhalten, das für das Vorhandensein des Merkmals B sprach. In diesen beiden Fällen lag ursprünglich die Blutgruppe 0 bzw. A vor. In einem weiteren Fall (Gruppe 0) ergaben sich Befunde, die für das Vorhandensein des Merkmals A sprachen, und schließlich beobachteten wir in einer anderen Blutprobe einer Person mit der Blutgruppe A sowohl im Agglutinations-Test (Landsteiner) als auch mit der Absorptions-Elutions-Methode Reaktionen, die neben dem Merkmal A das Merkmal B anzeigten.

Nach den Befunden bei den drei zuerst genannten Fällen wäre die Erkennung der „erworbenen“ Eigenschaften nicht sehr problematisch, wenn sie nur bei der Absorptions-Elutions-Methode, nicht dagegen bei der direkten Testung der Erythrozyten aufträte, sofern Erythrozyten noch darzustellen sind. Der Fall jedoch, bei dem die erworbene Eigenschaft bei beiden Methoden in Erscheinung trat, stellt die Erwartung, durch Testung nach beiden Methoden das Vorhandensein von bakteriellen Zersetzungsprodukten auf einfache Weise zu erkennen, in Frage.

Daran, daß die erworbenen Blutgruppenmerkmale durch bakterielle Einwirkung zustande gekommen waren, bestand von Anfang an kein Zweifel.

In 3 Fällen wurden vom Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg¹ bakteriologische Untersuchungen durchgeführt und folgende Bakterien nachgewiesen:

Blut 1. Enterobacter hafniae, Serratia spez., Streptokokken, Clostridium spez.

Blut 2. Citrobacter, Serratia spez., Streptokokken der Gruppe D, Clostridium cochlearum.

Blut 3. Klebsiella, Serratia, Moraxella, Streptokokken der Gruppe D.

Wir haben nun A-, B- und 0-Proben mit kleinen Mengen (jeweils 1 Tropfen auf 5 ml) von den keimhaltigen Blutproben, die falsche Blutgruppenbefunde zeigten, beimpft.

Bei 0-Blut, das bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, zeigte sich nach 9 Tagen die B-Eigenschaft mit der Absorptions-Elutions-Methode. Bei erneuter Untersuchung, 3 Tage später, war dieser Befund wieder verschwunden, ein Phänomen, das wir auch bei anderen Versuchen hin und wieder beobachteten und darauf zurückführen, daß die bakterielle Einwirkung in verschiedenen Schichten der Blutproben unterschiedlich war. Eine A-Blutprobe, die mit dem gleichen Blut beimpft worden war, wies im gleichen Zeitraum keine Veränderungen auf.

Die Beimpfung mit einer anderen Blutprobe, die ein „erworbenes“ B aufwies, ergab folgendes: (Die Proben wurden bei 21° und 37°C aufbewahrt und am 1., 4., 5., 6., 7., 39. und 62. Tag nach der Entnahme mit der Absorptions-Elutions-Methode untersucht).

1. Frischblutprobe einer Person der Gruppe A

In einem Beobachtungszeitraum von 62 Tagen keine Veränderungen, außer einer geringen Reaktion bei B am 5. und 6. Tag.

2. Frischblutproben einer Person der Gruppe B

In der bei 21°C asservierten Probe trat am 4. Tag ein positiver Befund für A auf, der 3 Tage lang nachweisbar war. Am 39. und 62. Tag war A nicht mehr festzustellen.

Die bei 37°C aufbewahrte Probe zeigte keine Veränderungen.

3. Frischblutprobe einer Person der Gruppe 0

Die bei 21°C aufbewahrte Probe zeigte am 1., 5. und 6. Tag schwache Reaktionen bei A und eine deutliche Reaktion bei B am 6. Tag.

In der bei 37°C aufbewahrten Probe trat am 5. Tag ein positiver Befund bei A und am 7. Tag ein positiver Befund bei B auf. Sonst ergaben sich keine Veränderungen.

In weiteren Versuchen haben wir Frischblutproben mit Bakterienstämmen beimpft, die im Hygiene-Institut der Universität Würzburg isoliert worden waren. Die Beimpfung erfolgte mit Enterobacter hafniae, Serratia und Streptokokken.

1 Herrn Professor Döll sind wir für seine Unterstützung herzlich dankbar

Die Proben wurden jeweils bei 21°C und 7°C aufbewahrt und nach 1, 2, 3, 5, 27, 49 und 55 Tagen untersucht.

Ergebnisse

1. Blutproben von einer Person der Gruppe A

In dem genannten Beobachtungszeitraum war in keiner der 6 Proben eine Veränderung festgestellt worden.

2. Blutproben von einer Person der Gruppe B

Die mit *Enterobacter hafniae* und *Serratia* beimpften und bei 7°C gelagerten Proben ergaben am 3. und 27. Tag eine positive Reaktion bei A. Die mit *Serratia* beimpfte Probe, die bei 21°C gelagert wurde, wies am 5. und 49. Tag eine positive Reaktion A auf, und die mit Streptokokken beimpfte Probe, die bei 7°C gelagert wurde, zeigte am 49. Tage eine positive A-Reaktion.

3. Blutproben von einer Person der Gruppe 0

Hier ergaben sich verschiedentlich schwache Reaktionen bei A und deutlich positive Reaktionen in der mit *Enterobacter hafniae* beimpften Probe mit B am 1. Tag (7°C), mit *Serratia* am 27. Tag (21°C), mit Streptokokken am 5. Tag B und am 27. Tag A (7°C).

Da wir den Eindruck hatten, daß die Unregelmäßigkeit in den Ergebnissen darauf zurückzuführen sein könnte, daß in den einzelnen Proben die Keime ungleichmäßig verteilt waren, haben wir zahlreiche weitere Versuche mit Blutproben gemacht, die durch Zusatz von Liquoid (polyanetholsulfosaures Natrium) ungerinnbar gemacht wurden. Das Ergebnis war aber ähnlich wie bei den anderen Versuchen, d. h., es traten hin und wieder, manchmal auch mehrere Tage hintereinander positive Reaktionen bei A auf. Nur in einer mit *Serratia* beimpften Probe trat einmal (am 8. Tag) B auf.

Weitere Untersuchungen wurden bei 7°C mit Blutproben der Gruppe A, B und 0 über einen Zeitraum von 9 Tagen durchgeführt. Die Proben wurden täglich untersucht. Die eine Hälfte der Proben war mit Liquoid versetzt worden, die andere Hälfte enthielt keinen gerinnungshemmenden Zusatz. Den Proben wurde entweder *Enterobacter hafniae* oder *Serratia* zugesetzt. Die Ergebnisse waren ähnlich wie oben beschrieben. Bei den B- und 0-Bluten trat unregelmäßig das Merkmal A auf. Bei der A-Blutprobe war nur ein einziges Mal (am 5. Tag bei der mit *Serratia* versetzten Probe, die kein Liquoid enthielt) ein „falsches“ B nachzuweisen.

Schließlich haben wir Versuche unter Zusatz von *Candida lipolytica* (die aus einer früheren Blutprobe isoliert worden war) gemacht. Hier trat bereits nach einem Tag sowohl bei A- als auch bei 0-Blut eine kräftige Reaktion bei „B“ auf, die über einen Beobachtungszeitraum von rund 6 Wochen konstant blieb. Übrige

gens kam es im Absorptions-Elutions-Versuch mit B-Blutkörperchen auch dann zu einer stark positiven Reaktion, wenn der *Candida-lipolytica*-Stamm direkt verwendet wurde.

Diskussion

Bei gelagerten Blutproben muß, auch dann, wenn sie im Kühlschrank aufbewahrt wurden, mit falschen Ergebnissen bei der AB0-Bestimmung gerechnet werden. Die Gefahr einer Fehlbestimmung ist zwar gering, sie ist jedoch bei Identitätsuntersuchungen an Alkoholproben als mögliche Fehlerquelle zu beachten. Es überrascht, daß in diesem Zusammenhang auf diese Fehlerquelle bisher noch nicht aufmerksam gemacht wurde, obwohl bakteriell bedingte Fehlreaktionen bei Untersuchungen im AB0-System seit Jahrzehnten bekannt sind. Osterhaus und Birkner betonten zwar das Auftreten von Fehlreaktionen bei Identitätsuntersuchungen, hatten jedoch im AB0-System lediglich Schwierigkeiten bei der A-Untergruppenbestimmung.

Auffällig ist, daß wir zwar das Auftreten von nicht präformiertem A und B festgestellt haben, aber bisher in keinem Fall den Verlust von A- oder (und) B-Substanz, was unter bakterieller Einwirkung ebenfalls denkbar wäre. Nach unserer bisherigen Erfahrung ist in erster Linie mit Fehlergebnissen bei der indirekten Blutgruppenbestimmung mit der Absorptions-Elutions-Methode zu rechnen. Aber in einem Fall war auch in der Agglutinations-Reaktion (Landsteiner) eine entsprechende Abweichung festzustellen. Hier sollte man daran denken, mit AB-Serum zu testen (was wir leider versäumt haben), um aufgrund einer evtl. vorhandenen Panagglutination den Fehler zu erkennen.

In Übereinstimmung mit Jenkins et al. (1972) haben wir an getrockneten Blutspuren bisher keinen Fehlbefund entdeckt. Dies käme allerdings in Betracht, wenn die Blutspur nicht rasch nach ihrer Entstehung getrocknet ist.

Bei Sperma- und Vaginalsekretflecken ist dagegen, wie auch Jenkins et al. (1972) erwähnen, schon eher mit einer solchen Veränderung zu rechnen, weil sie oft nicht so rasch trocknen und bakterieller Einwirkung in stärkerem Maße ausgesetzt sind.

Literatur

- Burnet FM, MacCrea JF, Stone JD (Zit. nach Prokop und Uhlenbruck, S 97)
Cameron C, Graham F, Dunsford I, Sickels G, MacPherson CR, Cahan A, Sanger R, Race RR (1959) Acquisition of a B-like antigen by red blood cells. *Br Med J* II: 29
Giles CM, Mourant AE, Parkin DM, Horley JF, Tapson KJ (1959) A weak B antigen probably acquired. *Br Med J* II: 32
Jenkins GC, Brown J, Lincoln PJ, Dodd BE (1972) The problem of the acquired B antigen in forensic serology. *J Forensic Sci Soc* 12: 597
Klenk E, Uhlenbruck G (Zit. nach Prokop und Uhlenbruck, S 97)
Marsh WL, Jenkins WJ, Walther WW (1959) Pseudo B: An acquired group antigen. *Br Med J* II: 63
Moureaux P, André A, Warin J, Joiris J (1968) B-like antigen in blood-A of decomposed body. *Proc 3rd International Meeting of Forensic Immunology Medicine, Pathology and Toxicology Excerpta Medica (Int Congress Series)*, 80, 55

- Osterhaus E, Birkner B (1982) Erfahrungen aus Blutgruppenuntersuchungen zur Identitätsbestimmung. Proceedings XII. Kongreß der Internat Akademie für Gerichtliche und Soziale Medizin, Wien, S 539
- Prokop O, Uhlenbruck G (1963) Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen. Edition Leipzig
- Prokop O (1982) Wechselwirkungen zwischen Bakterien, Blut- und Serumgruppen. Proceedings XII. Kongreß der Internat Akademie für Gerichtliche und Soziale Medizin, Wien, Supplementheft, S 1125
- Springer GF (1963) Beladung menschlicher Erythrozyten mit blutgruppenaktiven Substanzen bakterieller Herkunft. Methods of immunohaematologic research. Karger, Basel
- Stratton F, Renton PH (1959) Acquisition of B-like antigen. Br Med J II:244
- Thomsen O, Friedenreich V (Zit. nach Prokop und Uhlenbruck, S 94)

Eingegangen am 21. März 1984