

Originalarbeiten / Original Works

Fehlerquellen bei der Bestimmung von Transferrin aus gefrorenen Blutproben und aus Blutspuren

W. Schwerd und V. Müller

Institut für Rechtsmedizin, der Universität Würzburg, Verbacher Strasse 3,
D-8700 Würzburg, Bundesrepublik Deutschland

Sources of Error in Transferrin-Investigation from Frozen Blood Samples

Summary. Frozen or stored blood samples often show bands in the D-area of transferrin. These alterations can be misinterpreted as D-variants. The alterations do not appear in separated serum. Isoelectric focusing of dried blood traces shows changes in the Tf-subtype system that may lead to misinterpretations.

Key words: Transferrin, changes by freeze and storage – Blood traces, Transferrin

Zusammenfassung. Blutproben, die eingefroren waren (Posttransport im Winter) oder längere Zeit lagerten, weisen häufig im D-Bereich der Transferrine Banden auf, die zu Fehlbestimmungen führen können. Im abgetrennten Serum treten diese Veränderungen nicht auf. Angetrocknete Blutspuren weisen bei der Tf-Bestimmung durch Isoelektrofokussierung Veränderungen ihrer Muster auf, die Anlaß für Fehlinterpretationen sein können.

Schlüsselwörter: Transferrine, Veränderungen durch Einfrieren und Lagerung – Blutspuren, Transferrin

Einleitung

Im Jahre 1987 sind durch ein Versehen drei von auswärts übersandte Blutproben in den Außenbriefkasten des Instituts eingeworfen worden und kamen ganz oder teilweise gefroren in unsere Hände. Wir haben diese Proben, die von einem Kind, seiner Mutter und dem Putativ-Vater stammten, nach dem Auftauen informativ untersucht, aber erneute Blutentnahmen veranlaßt. Die Untersuchung erstreckte sich auf folgende Systeme: AB0, MNSs, Kell (K), Duffy (Fy a, b), CDE-(Rhesus), Haptoglobin (Hp), Gammaglobulin (Merkmale Gm1, Gm2), Inv (1), Gc (incl. Subtypen), acP, PGM₁ (incl. Subtypen), AK, ADA, GPT, EsD, PGD, GLO, Pi und Tf.

Die Befunde stimmten mit Ausnahme des Tf-Systems vollständig zwischen den gefrorenen und den Kontrollblutproben überein. Im Tf-System war bei Kind und Mann jeweils eine deutliche Bande im D-Bereich zu erkennen. Bei der Kindesmutter war dieser Befund nur schwach ausgeprägt. In den zur Kontrolle erneut entnommenen Blutproben war im D-Bereich des Tf-Systems keine Abzeichnung zu finden. Rand und Mitarbeiter (1986) berichteten vom gelegentlichen Auftreten von Zusatzbanden im B- und D-Bereich bei aufbewahrten Alkoholblutproben.

Weitere Untersuchungen

Die Tf-Untersuchungen führten wir mit Immobilinen nach der Vorschrift von Biedermann und Bär (1985), durch. Mit dieser Methode sind im C-Bereich klare Trennungen zu erreichen. Es kann auch das Merkmal C3 gut abgegrenzt werden.

1. Einfrieren von Blutproben

Frisch entnommene Blutproben von verschiedenen Personen, deren Tf-Typ uns bekannt war, wurden eingefroren. Nach dem Wiederauftauen fanden wir in der Mehrzahl der Fälle eine mehr oder weniger starke Bande im D-Bereich. Die Dauer des Einfrierens war nicht von Bedeutung. Mehrfach wurde diese Zusatzbande allein bei der Verwendung von Vollblut (oder hämolytischem Serum) ohne vorheriges Einfrieren der Proben beobachtet. Dieses Artefakt tritt nach Einfrieren von Serum nicht auf.

2. Blutspuren

Bei der Tf-Untersuchung von Blutspuren begegneten wir weiteren Fehlerquellen. Diese bestehen zunächst darin, daß nach dem Antrocknen von Vollblut oder Serum und späterer Elution, sowie isoelektrischer Fokussierung und Färbung die Banden grundsätzlich um mindestens eine Bandenbreite kathodwärts verschoben sind.

Hinzu kommt folgendes:

Wenn man die Spuren auf dem Trägermaterial (Leinen) antrocknen läßt, so verdoppeln sich die Bandenmuster; manchmal verdrei- oder vervierfachen sie sich. Dies gilt auch für Serum und ist unabhängig davon, ob die Spur bei Zimmertemperatur oder tiefgefroren (-20°C) aufbewahrt wird. Bei Verwendung von Vollblut tritt regelmäßig eine Bande im D-Bereich auf. Bei Eluat aus Blutstropfen ist dies dagegen nicht immer der Fall.

Unsere Versuchsergebnisse sind für die Tf-Typen: C1, C2/C1, C2/D, C3/C1 und C3/C2 dargestellt (Abb. 1). Die Ziffern bedeuten folgendes:

1. Serum gelagert bei 4°C ,
2. Serum tiefgefroren bei -20°C (über Nacht),
3. Eluat aus einem bei Zimmertemperatur angetrockneten Serumtropfen nach 24 Stunden,

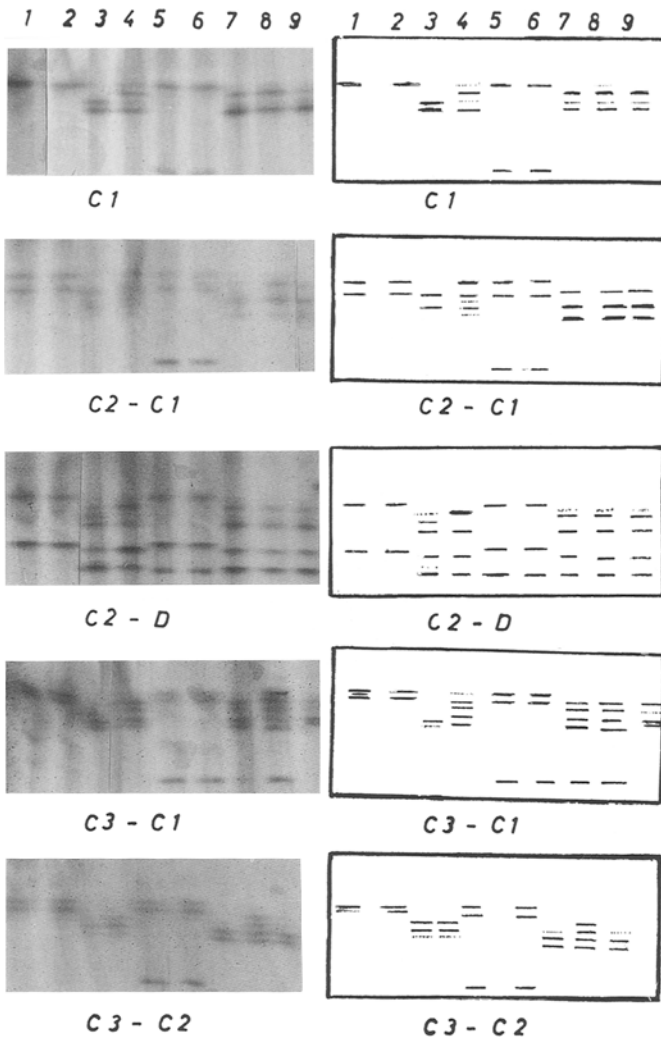


Abb.1

4. Eluat aus einem angetrockneten und über Nacht tiefgefrorenen Serumtropfen,
5. Vollblut bei 4°C aufbewahrt,
6. Vollblut bei -20°C aufbewahrt,
7. Eluat aus einem angetrockneten und bei Zimmertempertur 24 Stunden lang aufbewahrten Blutstropfen,
8. Eluat aus einem nicht vollständig angetrockneten und dann über Nacht tiefgefrorenen Blutstropfen,
9. Eluat aus einem angetrockneten und über Nacht tiefgefrorenen Blutstropfen.

Diskussion

Die artefiziell durch Einfrieren von Blutproben unter Umständen auftretende Bande im D-Bereich kann zu Fehlinterpretationen führen, wenn es sich um ein im C-Bereich des Tf-Systems reinerbiges Kind handelt. In allen anderen Fällen wird man wohl durch das Vorhandensein einer „überzähligen“ Bande vor einer Fehlbeurteilung gefeit sein.

Da eine auf dem Transport partiell oder vollständig eingefrorene Blutprobe bis zum Eintreffen in der Untersuchungsstelle, bzw. bis zum Auspacken bereits wieder aufgetaut sein kann, und nicht unbedingt eine auffällige Hämolyse als Zeichen vorangegangener Einfrierung vorhanden sein muß, ist hier eine Fehlerquelle gegeben, die beachtet werden muß. Auch in aufbewahrten Blutproben ist eine solche Zusatzbande als Fehlerquelle zu beachten, wie schon Rand und Mitarbeiter angegeben haben. Beim Aufbewahren von Serum tritt sie nicht auf. In den anderen oben genannten Blutgruppensystemen waren keine abweichenden Befunde aufgetreten, die eine Signalwirkung zur Erkennung des Artefaktes gehabt hätten.

Die Typisierung des Tf-Musters aus Blutspuren kann bei Nichtbeachtung der durch Antrocknung bedingten Veränderungen leicht zu Fehlergebnissen führen. Andererseits ist bei Kenntnis dieser Veränderungen, die bei „normaler“ Trocknung anscheinend typisch sind, eine Zuordnung möglich. Dabei wäre daran zu denken, künstliche Blutspuren von einem Verdächtigen oder vom Opferblut herzustellen und in gleicher Weise wie die Originalspur auszuwerten.

Um festzustellen, ob die „verschobenen“ Banden ihre Spezifität als Transferrine verloren haben, wurden bei mehreren Proben die Proteine nach Trennung durch Isoelektrofokussierung noch mit einem Elektrobloetter auf Nitrocellulosemembranen transferiert und mit einem spezifischen Tf-Antikörper behandelt. Es zeigte sich, daß die Tf-Spezifität der in ihrer Lage veränderten Banden erhalten geblieben war.

Danksagung. Frau H. Brückner und Fräulein U. Hofmann danken wir für die technische Assistentz.

Literatur

- Berg ST, Ladiges O, Ladiges ML (1979) Über die Nachweisbarkeit der Tf^c- und PGM₁-Subtypen in gealterten Blutproben. *Archiv Kriminol* 164:101
- Biedermann V, Bär W (1985) Simultane Darstellung der Transferrin(Tf)- und Group-specific Component(GC)-Subtypen mittels isoelektrischer Fokussierung in immobilisierten pH-Gradienten. *Ärztl Lab* 31:224
- Hoste B (1979) Group-specific component (GC) and transferrin (Tf) subtypes ascertained by isoelectric focusing. *Hum Genet* 50:75
- Rand ST, Kofahl A, Brinkmann B (1986) Observations on the use of isoelectric focusing for subtyping in the transferrin (Tf) system. *Advances in Forensic Haemogenetics*. Springer, Berlin Heidelberg New York S.111