

Untersuchungen zur Stabilität des β -HCG in gealterten Blutspuren

B. Seifert¹, U. Romanowski¹, B. Seifert² und P. Hofmann²

¹ Institut für gerichtliche Medizin der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, DDR-4020 Halle, Franzosenweg 1

² Universitäts-Frauenklinik, Klinikum Kröllwitz, der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, DDR-4020 Halle, Ernst-Grube-Straße 40

Studies on the Stability of β -HCG in Old Blood Stains

Summary. Pregnancy was diagnosed from old blood stains by means of radioimmunoassay of β -HCG. Up to 45 days, the age of the blood stains did not influence values, and extraction by ultrasound did not improve the results.

Key words: Blood stains, Diagnosis of pregnancy – β -HCG radioimmunoassay

Zusammenfassung. Es wurde radioimmunologisch der β -HCG-Gehalt in insgesamt 58 Abortblutspuren bestimmt. Das Spurenalter betrug bis 45 Wochen. Die Ergebnisse zeigen, daß aufgrund der Stabilität des β -HCG eine Schwangerschaftsdiagnostik aus älteren Blutspuren möglich ist. Eine Verbesserung der Nachweisbarkeit durch Elution mittels Ultraschall konnte nicht erreicht werden.

Schlüsselwörter: Blutspuren, Schwangerschaftsdiagnostik, β -HCG, Radioimmunoassay

Während der Schwangerschaft wird in der Plazenta das gonadotrope Hormon HCG (human chorionic gonadotropin) produziert, dem wegen seiner Schwangerschaftsspezifität große spurenkundliche Bedeutung beigemessen wird. Nachdem die Bestimmung des HCG anfangs auch in der Spurenkunde durch Bioassays erfolgte [5, 2, 3], wurden später immunologische Methoden das Mittel der Wahl [1, 10, 4, 9, 7]. Erst nach Einführung der Radioimmunoassays (RIA) konnte das Hormon auch quantitativ aus Blutflecken bestimmt werden [8].

Die Bestimmung des HCG zur Differenzierung von Schwangerenblutflecken bietet sich an, da dieses Hormon mit entsprechend empfindlichen Methoden

Sonderdruckenfragen an: B. Seifert¹ (Adresse siehe oben)

(RIA) bereits 10 Tage p.c. im Serum Schwangerer nachweisbar ist und sein Produktionsmaximum zwischen der 8.–12. Schwangerschaftswoche (SSW) erreicht [11, 6].

Durch das unterschiedliche Konzentrationsprofil dieses Hormons in der Früh- und Spätschwangerschaft kann mit der RIA-Methode unter günstigen Bedingungen Abort- und Retroplazentarblut gut unterschieden werden [8].

Ziel dieser Arbeit war es, die zeitliche Nachweisbarkeitsgrenze des HCG aus gelagerten Blutspuren unter Anwendung der RIA-Methode zu ermitteln. Weiterhin sollte überprüft werden, ob durch Ultraschallung die Elution des HCG aus der Spur zu verbessern ist.

Material und Methode

Von 58 Patientinnen im Alter von 14 bis 43 Jahren, die sich zwischen der 8. bis 12. SSW einer Interruptio unterzogen, wurde während des Eingriffes Abortblut gewonnen und auf Filterpapier getropft. Nach einer Lagerung von 4, 16, 20, 24, 31 und 45 Wochen wurden aus jedem Fleck jeweils zwei Proben einer definierten Größe (6 cm^2) ausgeschnitten. In Vorversuchen war getestet worden, daß diese Fleckengröße einer Vollblutmenge von ca. $0,2\text{ ml}$ entsprach. Dadurch war es möglich, die Proben im klinischen Labor ohne Abänderung der Routine-methode zu untersuchen. Die Elution des β -HCG aus dem in feine Streifen geschnittenen Spurenlagerer erfolgte parallel nach zwei Verfahren. In einer Serie wurden die Spuren lediglich für 24 h bei 4°C in aqua dest. gelöst. Eine zweite Serie aus dem gleichen Spurenmaterial wurde darüber hinaus einer 3minütigen Ultraschallung (800 kHz , 80 W cm^{-2} Ausgangsleistung) unterzogen. Die Stabilität des β -HCG gegenüber Ultraschall der aufgeführten Parameter war zuvor durch Beschallung von Blutseren Schwangerer getestet worden. Nach Zentrifugation aller Proben (3000 U/min , 10 min), wurde der Überstand eingefroren und dem RIA-Labor der UFK-Halle, Klinikum Kröllwitz, zur Weiterbearbeitung übergeben. Darüberhinaus wurden fünf 45 Wochen gelagerte Blutflecken von männlichen Verursachern auf gleiche Weise aufgearbeitet. Die Bestimmungen wurden mit dem β -HCG- $^{125}\text{ J}$ Kit, Code MJ-78 des Instituts für Nuklearforschung Swierk aus der VR Polen durchgeführt.

Ergebnisse

Der Nachweis des β -HCG gelang in allen von Frauen stammenden Spuren. In den bis 20 Wochen alten Flecken war die Konzentration des Hormons nahezu gleichbleibend hoch. Nach der 20. Woche kam es zu einem Abfall auf etwa die Hälfte der Ausgangswerte. Danach konnte bis zur 45. Woche die Konzentration des Hormons in nahezu gleichbleibender Höhe aus den Flecken bestimmt werden, so daß die Nachweisbarkeitsgrenze nicht erreicht wurde.

Die Verbesserung der Fleckenelution durch Ultraschallung war nur unwesentlich (Abb. 1, Tab. 1). In den von Männern verursachten Blutflecken wurde in keinem Fall β -HCG nachgewiesen.

Diskussion

Die eingangs aufgeführten Vorteile, die die Bestimmung des HCG für den Schwangerschaftsnachweis aus Blutflecken bietet, konnten in unseren Unter-

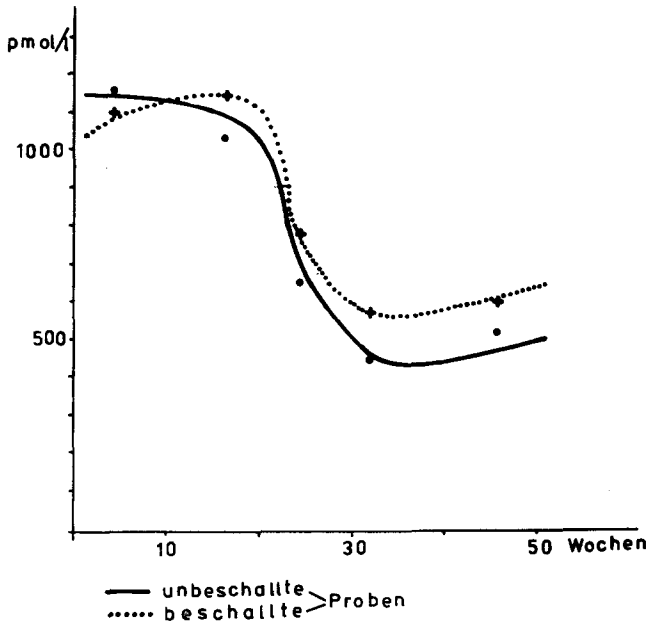


Abb. 1. Mittelwerte der β -HCG-Konzentrationen aus gelagerten Blutspuren

Tabelle 1. Mittelwerte und Standardabweichungen der β -HCG Konzentration (p mol/l) aus Blutflecken nach unterschiedlicher Lagerungszeit

Lagerung in Wochen	4 (n = 8)	16 (n = 19)	20 (n = 9)	24 (n = 6)	31 (n = 9)	45 (n = 7)
Unbeschaltete Proben	1206 ± 555	1025 ± 616	1136 ± 552	633 ± 297	450 ± 182	554 ± 232
Beschaltete Proben	1092 ± 847	1173 ± 600	1329 ± 993	757 ± 293	577 ± 357	601 ± 264

suchungen durch den Nachweis einer außerordentlich hohen Lagerungsstabilität des Hormons ergänzt werden. Diese Tatsache ist von großer spurenkundlicher Bedeutung, da in der gerichtsmedizinischen Praxis nur selten frische Spuren zur Untersuchung gelangen. Abelli et al. [1] sowie Raszeja und Miscicko [7], die mit immunologischen Methoden arbeiteten, konnten das HCG mit Sicherheit bis zu einem Spurenalter von 20 bis 30 Tagen nachweisen. Tesar [9] gelang der Nachweis in Einzelfällen bis zu 3 Monaten. Demgegenüber fanden Göring und Radzweit [4], daß das Spurenalter keinen Einfluß auf die Nachweisbarkeit des Hormons hat. Diese Feststellung wird auch durch unsere mittels RIA geführten Untersuchungen unterstrichen. Mit Sicherheit konnte das Hormon aus 45 Wochen alten Blutflecken in genügender Konzentration nachgewiesen werden, wobei die zeitliche Nachweisbarkeitsgrenze noch nicht erreicht wurde. Die hohe Stabilität des HCG im Spurenmaterial unterstreicht deshalb einmal mehr seine Bedeutung für spurenkundliche Untersuchungen.

Unsere Ergebnisse bestätigen und ergänzen unsere 1981 beschriebenen Untersuchungen [8], in denen wir aus einem umfangreichen bis vier Wochen alten Spurenmaterial das HCG als Gesamtmolekül zuverlässig nachweisen konnten. Weder in den 1981 noch in den jetzt durchgeführten Untersuchungen waren falsch positive oder falsch negative Resultate zu verzeichnen. Obwohl die RIA-Methode verhältnismäßig aufwendig ist, kann sie dennoch zur Sicherung der Schwangerschaftsdiagnostik, insbesondere einer Frühschwangerschaft aus Blutspuren empfohlen werden.

Literatur

1. Abelli G, Viterbo B, Falagario M (1964) The immunological diagnosis of pregnancy with specimen of blood stains. *Med Sci Law* 4:115–118
2. Berg ST P (1948/49) Der Nachweis von Geburts- und Abortusblut bei der Untersuchung von Spuren. *Dtsch Z Ges Gerichtl Med* 39:199–206
3. Bliznakow CH, Avramova P (1963) Constataion de la grossesse an moyen des faches de sang seches. *Arch Union Méd Balkan* 1:641–646
4. Göring HD, Radzuweit H (1968) Die Anwendung des Gravimun-Testes in der forensischen Schwangerschaftsdiagnostik aus Blut- und Urinspuren. *Dtsch Z Ges Gerichtl Med* 62:32–38
5. Goroncy H (1932) Untersuchungen von Blutflecken mit der Aschheim-Zondekschen Reaktion. *Dtsch Med Wochenschr* 17:662–663
6. Landesman R, Saxena BB (1976) Results of the first 1000 radioreceptorassays for the determination of human chorionic gonadotropin: a new rapid, reliable and sensitive pregnancy test. *Fertil Steril* 27:357–368
7. Raszeja ST, Mišćicka D (1979) Eigene Erfahrungen über die Anwendung des immunologischen Schwangerschaftstestes bei Blutspurenuntersuchungen. *Kongreß und Tagungsberichte d MLU Halle-Wittenberg* 50:93–97
8. Seifert B (1981) Zur Schwangerschaftsdiagnostik aus Blutflecken durch HCG – Radioimmunoassay. *Med Diss Halle*
9. Tesař J (1968) Důkaz těhotenství ve skvrnach krevních imunologicky. *Soud lék* 13:17–19
10. Thoma K (1965) Ist „Gravindex“ zum Nachweis von Abortus- und Geburtsblutspuren geeignet? *Arch Kriminol* 135:114–117
11. Werth G (1956) Die gonadotropen Hormone. *Arzneimittelforsch* 6:79–94

Eingegangen am 21. Mai 1985