

Die Anwendung des Gravimun-Testes in der forensischen Schwangerschaftsdiagnostik aus Blut- und Urinspuren*

HANS-DIETER GÖRING

Institut für gerichtliche Medizin der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. MILAN VÁMOŠI)

HEINZ RADZUWEIT

Frauenklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. WALTER HELBING)

Eingegangen am 26. Juli 1967

Der Gerichtsarzt hat bei der Beurteilung von Kindestötungs- und Abtreibungsfällen häufig zu der Frage Stellung zu nehmen, ob am Tatort gesicherte Blut- und Urinspuren von einer Schwangeren stammen oder nicht. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist von großer kriminalistischer Bedeutung.

1913 prüfte VOLLHARDT die Abderhaldensche Schwangerschaftsreaktion auf ihre diesbezügliche Anwendbarkeit, erhielt jedoch keine verwertbaren Resultate. LAVES (1940) hob die besonderen Vorteile des Hogben-Testes gegenüber anderen Schwangerschaftstesten in der forensischen Diagnostik hervor. BERG (1947) gelang es mit Hilfe der Schwangerschaftsreaktion nach WERLE und EIFFKEMANN Schwangerenblut auch in Spuren zu erkennen. In einer anderen Untersuchungsreihe wandte BERG den Friedmann-Test an. Bei fünf Spurenuntersuchungen aus Retroplacentalblut war das Ergebnis in vier Fällen positiv. Die Blutmenge betrug jeweils 3 cm³. In einem Fall von nur 1 cm³ Retroplacentalblut fiel der Friedmann-Test negativ aus. Für eine positive Friedmann-Reaktion mit Abortusblut sind nach BERG (1947) größere Mengen (mindestens 10 cm³) erforderlich. Alterungsprozesse an Blutspuren und UV-Strahleneinwirkung scheinen nach Meinung desselben Verfassers den Ausfall der Reaktion nicht wesentlich zu beeinflussen. BLIZNAKOV und AVRAMOVA (1963) empfehlen den Schwangerschaftstest nach GALLI-MAININI zur Feststellung einer stattgehabten Fehlgeburt. Sie untersuchten Abortusblut von 33 Frauen, das sie vorher auf Karton, Porzellan und Baumwollgewebe antrocknen ließen und bei Zimmertemperatur an der Luft, im Schatten und im Sonnenlicht bis zu über 200 Tagen aufbewahrten. Die Reaktion war in allen Fällen positiv, wenn die Spuren in den ersten Wochen untersucht wurden. An 100 Tage alten Spuren konnte eine positive Reaktion nur noch in 61,5% erzielt werden.

1960 entwickelten WILDE und GEMZELL sowie SWIERSCZYNSKA und SAMOCHOWIEK einen brauchbaren immunbiologischen Schwangerschaftstest. Immunbiologische Schwangerschaftsreaktion beruhen auf der Tatsache, daß das schon frühzeitig in der Placenta gebildete Humanchoriongonadotropin (HCG) als Protein im Serum von Versuchstieren Antikörper bilden kann (APOSTOLAKIS und VOIGT, 1965). Diese

* Auszugswise vorgetragen auf der VII. Fortbildungstagung der gerichtsmedizinischen Institute der Universitäten Jena, Leipzig und Halle/Saale am 8. Juni 1967 in Halle/Saale.

Antigen-Antikörperreaktion kann in Form der Hämagglutinationshemmungsreaktion (WIDE und GEMZELL, 1960; SWIERSCYNKA und SAMOCHOWIEK, 1960), des Agglutinationstrübungstestes (FENNER, 1962; GARDEN et al., 1963), des Komplementbindungstestes (BRODY und CARLSTRÖM, 1960, 1961) und des Präzipititestes (McKEAN, 1960) sichtbar gemacht werden.

In der Klinik haben sich die immunbiologischen Schwangerschaftstests sehr gut bewährt. Leider fanden sie bisher in der forensischen Schwangerschaftsdiagnostik noch wenig Beachtung. CARELLA et al. (1963) untersuchten mit Hilfe eines immunologischen Testserums die Choriongonadotropinkonzentration des Urins von Frauen post partum und post abortum. Sie kamen zu dem Resultat, daß man an Hand einer Durchschnittskurve aus einem bestimmten HCG-Gehalt auf den Tag der Schwangerschaftsunterbrechung schließen könne. Die Empfindlichkeit ihres Testserums lag bei 600 IE HCG/l.

THOMA (1965) untersuchte Abortus- und Geburtsblutspuren sowie eingetrocknete Urinspuren Schwangerer mit dem Objektträger-Schnelltest „Gravindex“. Extrakte aus bis zu 8 Wochen alten angetrockneten Urinspuren zeigten positive Ergebnisse, mit Blutspuren fiel der Test negativ aus.

ABELLI et al. (1964) wiesen besonders darauf hin, daß Spuren, die bei einer Temperatur von +4° C aufbewahrt wurden, mehr positive Resultate ergaben, als die bei höherer Temperatur aufbewahrten. Bei 60° C wird das HCG zerstört (BERG, 1947; ABELLI et al., 1964).

Ziel unserer Untersuchung ist es, den 1965 vom Sächsischen Serumwerk Dresden in den Handel gebrachten Gravimun-Test auf seine Anwendbarkeit in der forensischen Schwangerschaftsdiagnostik aus Blut- und Urinspuren zu prüfen.

Der Gravimun-Test ist auf dem Prinzip der Hämagglutinationshemmungsreaktion aufgebaut. Als Antigen wirkt das im Serum Schwangerer vorhandene und im Urin ausgeschiedene Choriongonadotropin. Als Antikörper dient ein durch Immunisierung vom Kaninchen mit Choriongonadotropin gewonnenes Antiserum. Diesem Antigen-Antikörpersystem werden HCG-beladene Hammelerythrocyten zugegeben. Wenn durch das HCG des Schwangerenserums bzw. -urins sämtliche Antikörper gebunden werden, kann eine Agglutination der Hammelerythrocyten nicht eintreten. Auf dem Boden des Reaktionsgefäßes bilden die Erythrocyten einen sog. Sedimentationsring oder -knopf als Zeichen der positiven Reaktion. Fehlt das HCG, gehen die freibleibenden Antikörper eine Bindung mit den HCG-beladenen Hammelerythrocyten ein. Es kommt zur Agglutination, und am Boden des Reaktionsgefäßes bildet sich eine gleichmäßige Erythrocytenmatte aus. Der Test ist negativ.

ROHDE und DÖRNER (1967) haben erst kürzlich über klinische Erfahrungen mit dem Gravimun-Test berichtet. Die Testergebnisse wurden mit dem seit vielen Jahren bewährten Rattenabstrichtest verglichen. Es wurden insgesamt 182 Untersuchungen mit dem Gavimun-Test parallel

zum Rattenabstrichtest durchgeführt. Eine eindeutige Übereinstimmung zwischen den Testen wurde in 88% der Fälle gefunden. Nach Ausschluß der zweifelhaften Fälle ergab sich sogar eine Übereinstimmung in 94,6% der Fälle.

Die untere Empfindlichkeitsgrenze des Rattenabstrichtestes liegt bei 0,75 IE HCG/ml Urin bei Injektionen von 1 ml Harn. Die Empfindlichkeit des Gravimun-Testes beträgt nach denselben Verfassern 2—3 IE HCG/ml.

Methodik

Als Material dienten bei unseren Untersuchungen Urin und Blut von Frauen mit intakter und gestörter Schwangerschaft im 2.—10. Lunarmonat. Die Gravidität war durch klinische Untersuchung und positive Galli-Mainini-Reaktion diagnostiziert worden. 2—5 ml Urin und Blut wurden auf Filterpapier aufgebracht und getrocknet. Das Papier wurde Temperaturen von —5° C bis +30° C ausgesetzt. Nach ein bis maximal 31 Tagen schnitten wir das Filterpapier in kleine Stücke und eluierten bei einer Temperatur von +4° C 12 Std lang mit Aqua bidest. Das gewonnene Eluat aus den Urinflecken wurde filtriert und mit Gravimun getestet. Die weitere Aufarbeitung des Eluates aus den Blutflecken erfolgte nach der von ABELLI et al. (1964) angegebenen Methode: Durch Zugabe von Aceton im Verhältnis 1:2 wird das gesamte Eiweiß ausgefällt. Den Eiweißniederschlag reinigt man mit Alkohol ansteigender Konzentration und Äthyläther und trocknet ihn im Vakuumexsiccator. Die HCG-tragende Proteinfraktion wird in SÖRENSENS Puffer (pH 6,4) gelöst. Mit dieser Lösung wird die Gravimun-Testampulle beschickt. Nach dem Ansatz darf die Testampulle nicht mehr berührt werden. Die Ablesung des Ergebnisses kann schon nach 3 Std erfolgen.

Ergebnisse

Insgesamt führten wir 75 Untersuchungen durch; in 42 Fällen untersuchten wir Blutspuren, in 33 Fällen Urinspuren. In 29 Fällen bekamen wir von jeweils derselben Schwangeren Blut und Urin zur Testung. Elfmal wurden nur Blutspuren und sechsmal nur Urinspuren untersucht.

Bei den 42 Blutspuren fiel der Test in 36 Fällen (85,7%) positiv und in 6 Fällen (14,3%) negativ aus. Die Untersuchung der 33 Urinspuren ergab in 29 Fällen (87,9%) ein positives und in 4 Fällen (12,1%) ein negatives Ergebnis. In 27 Fällen (93,2%) war eine Übereinstimmung der Ergebnisse von Blut- und Urinspurenuntersuchung zu verzeichnen, in 2 Fällen (6,8%) wichen sie trotz Wiederholung des Testes voneinander ab.

Eine vergleichende Untersuchung von Blut und Urin bei einer Kontrollgruppe von 20 Nichtschwangeren im gebärfähigen Alter mit dem Gravimun-Test ergab in allen Fällen negative Ergebnisse.

Diskussion

Der HCG-Spiegel ist, wie quantitative Untersuchungen ergeben haben, zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft unterschiedlich hoch (CARELLA et al., 1963; WIDE, 1962; BRODY und CARLSTRÖM, 1962;

CANNON, 1964). Nach CARELLA et al. (1963) ist ein erster deutlicher Anstieg im 2.—3. Monat zu erwarten. Die Werte liegen hier bei 100000 IE/l. Nach Angaben derselben Verfasser beträgt der HCG-Spiegel am Ende einer ausgetragenen Schwangerschaft 9800 IE/l. Bei gestörter Schwangerschaft liegt der Wert bei 32000 IE/l am 1. Tag post abortum. Für die Schwangerschaftsdiagnostik aus Spuren in der von uns untersuchten Größenordnung bedeutet das, daß in jedem Schwangerschaftsmonat mit großer Wahrscheinlichkeit ein positives Ergebnis erwartet werden kann. Diese theoretischen Erwägungen wurden durch unsere Ergebnisse bestätigt (s. Tabelle 1). Auffallend ist, daß bei der Untersuchung von Blut- und Urinspuren Schwangerer im 10. Monat bei 6 Fällen (einschließlich Retroplacentarblut) nur 4 positiv reagierten. Allerdings lassen sich bei einer so geringen Anzahl keine bindenden Schlüsse ziehen.

Tabelle 1. Abhängigkeit des Reaktionsergebnisses vom Schwangerschaftsalter

Schwangerschaftsmonat	Anzahl		
	der Fälle	der positiven Reaktionen	der negativen Reaktionen
bis Ende 1. Monat	—	—	—
bis Ende 2. Monat	3	3	—
bis Ende 3. Monat	18	15	3
bis Ende 4. Monat	19	18	1
bis Ende 5. Monat	12	9	3
bis Ende 6. Monat	1	1	—
bis Ende 7. Monat	3	2	1
bis Ende 8. Monat	9	9	—
bis Ende 9. Monat	4	4	—
bis Ende 10. Monat	6 ^a	4	2
1. bis Ende 10. Monat	75	65	10

^a Einschließlich Retroplacentarblut.

Interessant ist ein Vergleich der klinischen Befunde mit unseren Ergebnissen (s. Tabelle 2). Erwartungsgemäß findet man bei Spuren, die von Frauen mit intakter Schwangerschaft stammen, in überwiegender Zahl positive Ergebnisse. Tabelle 3 zeigt, daß bei unseren Untersuchungen von 48 intakten Schwangerschaften in 43 Fällen (89,6 %) der Gravimunt-Test positiv ausfällt. In einem Fall untersuchten wir das Blut einer an akuter Kohlenmonoxydvergiftung verstorbenen Schwangeren im dritten Monat. Die Liegezeit der Leiche hatte bei Zimmertemperatur 2 Tage betragen. Alle fünf von uns gesetzten Spuren ergaben mit Gravimun ein positives Ergebnis.

Tabelle 2. Vergleich der Reaktionsergebnisse mit klinischen Angaben

Klinische Angaben	Anzahl		
	der Fälle	der positiven Reaktionen	der negativen Reaktionen
Graviditas intacta	48	43	5
Abortus imminens	11	8	3
Abortus incipiens	8	8	—
Abortus incompletus	4	3	1
Missed abortion	1	—	1
Partus praematurus	2	2	—
Vorzeitiger Blasensprung	1	1	—
	75	65	10

Tabelle 3. Abhängigkeit des Reaktionsergebnisses vom Spurenalter

Alter der Spur in Tagen	Anzahl		
	der Fälle	der positiven Reaktionen	der negativen Reaktionen
1—5	17	15	2
6—10	9	8	1
11—15	26	23	3
16—20	4	4	—
21—25	13	10	3
26—30	6	5	1
1—30	75	65	10

Darüber hinaus zeigen aber auch die verschiedenen Grade einer gestörten afibrilen und febrilen Schwangerschaft viele positive Resultate. In unseren 24 Fällen war der Gravimun-Test in 19 Fällen (79,1%) positiv (s. Tabelle 3). Temperatureinwirkungen von —5 bis +30°C und das Alter der Spuren innerhalb der 30 Tage-Grenze hatten auf das Ergebnis des Gravimun-Testes keinen Einfluß (s. Tabelle 3).

Fehlermöglichkeiten

Der HCG-Spiegel ist nicht nur in der Schwangerschaft, sondern auch beim Vorliegen einer Blasenmole und eines Chorionepithelioms erhöht. CARELLA et al. (1963) fanden hierbei Werte bis zu 100 000 IE HCG/l bzw. 300 000 IE/l. In diesen Fällen ist auch außerhalb der Schwangerschaft ein positiver Ausfall des Gravimun-Testes möglich.

Außerdem besteht die Möglichkeit der Kreuzreaktion des HCG-Anti-HCG-Systems mit hypophysärem Gonadotropin, insbesondere LH,

welches in der Postmenopause in höheren Konzentrationen im Urin ausgeschieden wird (ROHDE und DÖRNER, 1967). Als Ursache für falsch-positive Ergebnisse werden unspezifische Antigen-Antikörperreaktionen durch „verunreinigende Eiweiße“ angenommen (MIDGLEY et al., 1961; KEELE et al., 1962; BORDY und CARLSTRÖM, 1962; FULTHORPE et al., 1963; HIRKIN, 1965; ROHDE und DÖRNER, 1966, 1967). Die falschnegativen und der größte Teil der zweifelhaften immunologischen Ergebnisse werden auf eine geringe Empfindlichkeit des Gravimun-Testes (2—3 IE HCG/ml) gegenüber dem besonders empfindlichen Rattenabstrichtest (0,4—0,8 IE HCG/ml) zurückgeführt. Durch sachgemäße Lagerung der Testampullen bei + 4 bis + 10° C kann der Prozentsatz der zweifelhaften Fälle gesenkt werden (ROHDE und DÖRNER, 1967).

Zusammenfassung

Es wurden 42 Blut- und 33 Urinspuren Schwangerer mit dem Gravimun-Test untersucht. Die Untersuchung der Blutspuren ergab in 85,7 % positive Ergebnisse, die der Urinspuren in 87,9 %. Bei Untersuchung der Blut- und Urinspuren, die jeweils von einer Schwangeren stammten, war eine Übereinstimmung der Resultate in 93,2 % der Fälle zu verzeichnen. Die Untersuchung der Spuren, die von intakten Schwangerschaften stammten, war mit dem Gravimun-Test in 89,6 % positiv, die von gestörten Schwangerschaften in 79,1 %.

Kontrolluntersuchungen an Blut und Urin von 20 Nichtschwangeren ergaben negative Ergebnisse.

Spurenalter und das Alter der Schwangerschaft sowie Temperatur-einwirkungen von —5 bis + 30° C auf die Spuren hatten auf das Ergebnis keinen Einfluß.

Als hauptsächliche Fehlermöglichkeiten werden eine falschpositive Reaktion durch einen erhöhten hypophysären Gonadotropinspiegel in der Postmenopause und durch verunreinigende Eiweiße diskutiert.

In der forensischen Spurenuntersuchung von Schwangerschaftsmaterial dürfte der Gravimun-Test anderen biologischen und immunbiologischen Schwangerschaftstests gleichwertig sein und kann für Routineuntersuchungen in der gerichtsärztlichen Praxis empfohlen werden.

Literatur

- ABELLI, G., B. VITERBO, and M. FALAGARIO: The immunological diagnosis of pregnancy with specimen of blood stains. Med. Sci. Law 4, 115—118 (1964).
APOSTOLAKIS, M., u. K. D. VOIGT: Gonadotropine. Stuttgart: Georg Thieme 1956.
BERG, St. P.: Der Nachweis von Geburts- und Abortusblut bei der Untersuchung von Spuren. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 39, 199—206 (1948/49).
BLIZNAKOV, CHR., et P. AVRAMOVA: Constatation de la grossesse au moyen des taches de sang seches. Arch. Un. méd. balkan (Bucarest) 1, 641—646 (1963).

- BRODY, S., and G. CARLSTRÖM: Estimation of human chorionic gonadotropin in biological fluids by complement fixation. *Lancet* **1960 II**, 99.
- , and G. CARLSTRÖM: Clinical application of a serological method for the determination of human chorionic gonadotropin. *Nature (Lond.)* **189**, 841 (1961).
- — Immuno assay of human chorionic gonadotropin in normal and pathologic pregnancy. *J. clin. Endocr.* **22**, 564 (1962).
- CANNON, A. F. (1964): Zit. nach W. ROHDE u. G. DÖRNER (1966).
- CARELLA, A., P. FUCCI e A. CHIINI: La reazione siero-immunologica di gravidanza nelle sue applicazioni medicolegali. *Zacchia* **38**, 313—333 (1963). Ref.: *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **56**, 488 (1965).
- FENNER, O.: Vergleichende Untersuchungen einer immunologischen Schwangerschaftsreaktion zum Krötenschwangerschaftstest. *Münch. med. Wschr.* **104**, 2216 (1962).
- FULTHORPE, A. J., A. C. PARKE, J. E. TOVEY u. J. C. MONCKTON: Zit. nach W. ROHDE u. G. DÖRNER (1967).
- GARDEN, N. R., H. MILLER, and J. A. DURANT: Serological pregnancy test using latex particles. *Brit. med. J.* **1963 I**, 480.
- HIPKIN, L. J. (1965): Zit. nach W. ROHDE u. G. DÖRNER (1967).
- KEELE, D. K., J. REMPLE, J. BEAN, and J. WEBSTER: Immunologic reactions to human chorionic gonadotropin. *J. clin. Endocr.* **22**, 287 (1962).
- LAVES, W.: Über den Hogben-Test zum biologischen Schwangerschaftsnachweis. *Dtsch. med. Wschr.* **1**, 5 (1940).
- McKEAN, C. M.: Preparation and use of antisera to human chorionic gonadotropin. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **80**, 596 (1960).
- MIDGLEY jr., A. R., G. B. PIERCE jr., and W. O. WEIGLE: Immunological identification of human chorionic gonadotropin. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **108**, 85 (1961).
- ROHDE, W., u. G. DÖRNER: Zur Spezifität der immunologischen Bestimmung von Choriongonadotropin in der Hämaggelutinationshemmung. *Acta biol. med. germ.* **16**, 683 (1966).
- — Erste Erfahrungen mit Gravimun, einem neuen immunologischen Schwangerschaftstest. *Medicamentum* **1**, 1 (1967).
- SWIERCZYNSKA, Z., u. E. SAMOCHOWIEC: Zit. nach W. ROHDE u. G. DÖRNER (1966). *Pol. Tyg. lek.* **15**, 1217 (1960).
- THOMA, K.: Ist „Gravindex“ zum Nachweis von Abortus- und Geburtsblutspuren geeignet? *Arch. Krim.* **135**, 114 (1965).
- VOILLHARDT, W.: Die Bedeutung neuerer Methoden zur Unterscheidung mütterlichen und fetalen Blutes für die gerichtliche Medizin. *Vjschr. gerichtl. Med.* **48**, 1—2 (1914).
- WIDE, L.: An immunological method for the assay of human chorionic gonadotropin. *Acta endocr. (Kbh.)* **41**, Suppl. 70 (1962).
- , and C. A. GEMZELL: An immunological pregnancy test. *Acta endocr. (Kbh.)* **35**, 261 (1960).

Dr. med. HANS-DIETER GÖRING
Institut für gerichtliche Medizin der
Martin-Luther-Universität
X 402 Halle/Saale, Franzosenweg 1

Dr. med. HEINZ RADZUWEIT
Frauenklinik der Martin-Luther-
Universität
X 402 Halle/Saale, Leninallee 24