

Originalarbeiten – Original Papers

Nachweis der Faktoren Gm (1,2,4,5,21) und In V(1) in menschlichen Sekreten: Speichel, Schweiß, Nasensekret und Sperma

G. Jorch und I. Oepen

Institut für Rechtsmedizin der Universität
Bahnhofstraße 7, D-3550 Marburg

Determination of the Factors Gm(1,2,4,5,21) and Inv(1) in Human Secretions: Saliva, Sweat, Nasal Secretion and Semen

Summary. If there is enough stain material available Gm and InV factors can be proved to be present in semen. Contamination by nasal or vaginal secretions should be taken into account. Sweat, however, does not interfere with the determination. In saliva, InV but no Gm properties were demonstrable. Stamp glue reacts unspecifically with InV antiserum and could therefore be a source of error. The conclusive value of Gm and InV findings as evidence in court was derived from the phenotype frequencies obtained in blood samples of 400 unrelated persons.

Zusammenfassung. Im Sperma sind bei genügend Substrat Gm- und InV-Faktoren nachweisbar. An Überlagerungen durch Nasen- oder Scheidensekret muß gedacht werden. Dagegen wirkt sich Schweiß als Verunreinigung nicht störend aus. Im Speichel können keine Gm-, wohl aber InV-Merkmale festgestellt werden. Die Gummierung der Briefmarken reagiert unspezifisch mit InV-Antiseren und kommt daher als Fehlerquelle in Betracht. Der Beweiswert von Gm- und InV-Befunden bei Spurenuntersuchungen ergibt sich aus den Phänotyp-Frequenzen, die im Serum von 400 nichtverwandten Personen festgestellt wurden.

Key words. Spurenuntersuchung, Gm und InV(1) in Sekreten – Sekretuntersuchung, Gm- und InV(1)-Nachweis – Gm, in Sekreten – InV(1), in Sekreten

Bei Spurenuntersuchungen spielen getrocknete Sekrete sowohl für sich allein als auch als Verunreinigung von Blutspuren eine wichtige Rolle. Daher war eine Ergänzung der bisher beschriebenen Befunde, die sich im wesentlichen auf den Nachweis von Gm(1) an Sperma beschränken (Klose und Schraven, Krämer, Leonhardt) dringend notwendig. Die zunehmende Verfügbarkeit von Antiseren gegen einzelne Gm- und InV-Faktoren gestattet eine weitgehende Zuordnung der Spuren zu bestimmten Personen und sogar Aussagen über die Rassenzugehörigkeit eines Spurenverursachers (Blanc u. Mitarb.).

Tabelle 1. Nachweis der Faktoren Gm(1,2,4,5,21) und InV(1) in menschlichen Sekreten. Angaben ihres Immunglobulin-Gehaltes nach Brandtzaeg u. Mitarb. sowie Blenk u. Mitarb.; n.u. = nicht untersucht

Sekret	SPEICHEL			SCHWEISS	NASENSEKRET	SPERMA
	Filterpapier	Zigaretten	Briefmarke / Umschlag			
Spurenträger						
InV (1)	in den meisten Fällen <u>sicher</u> nachgewiesen, keine Korrelation zur ABH-Sekretion	nachgewiesen	wegen unspezifischer Hemmung <u>nicht</u> nachweisbar	<u>nicht</u> nachgewiesen	Papiertaschentuch immer <u>sicher</u> nachgewiesen	Baumwolläppchen im <u>Blindversuch</u> nachgewiesen
Gm-Faktoren	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	Gm (1,2,4,5,21) <u>nicht</u> immer <u>sicher</u> nachgewiesen	Gm (4,5,21) <u>nicht</u> immer <u>sicher</u> nachgewiesen
Zahl der untersuchten Proben	35	5	5	6	10	22 bzw. 7
Unspezifische Hemmung	<u>nicht</u> beobachtet	<u>nicht</u> beobachtet	stark, durch die <u>Spurenträger</u>	geringfügig, durch verunreinigtes Sekret verursacht	<u>nicht</u> beobachtet	geringfügig, häufig, durch die <u>Spur</u> selbst
Stabilität	mindestens 5 Mo.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	mindestens 2 Mo.
	stimulierter Parotispeichel	unstimul. Gesamtspeichel				
IgG [mg/100ml]	< 1	~ 1,5		~ 3	~ 15	~ 20
IgA [mg/100ml]	~ 4	~ 20		~ 1	~ 150	~ 2
IgM [mg/100ml]	< 1	< 1		-	~ 1	-

Neue Literaturangaben über Konzentrationen von Immunglobulinen, den Trägern der Gm- und InV-Merkmale, in menschlichen Sekreten erleichterten die Planung und Auswertung der Versuche. In Tabelle 1 sind diese Konzentrationen unseren Befunden gegenübergestellt.

Von 35 Probanden, deren *Speichel* nach Antrocknung auf Filterpapier auf das Merkmal InV(1) untersucht wurde, wiesen 18 diesen Faktor im Blutserum auf. Bei 12 dieser InV(1)-positiven Personen konnte das Merkmal im Speichel sicher festgestellt werden, 5mal war die Reaktion schwach oder zweifelhaft und einmal war sie falsch-negativ. Falschpositive Befunde traten in keinem Fall auf.

Dieses Ergebnis der InV-Bestimmung war wegen der geringen Immunglobulin-Konzentration im Speichel zu erwarten, die schon bei unverdünntem Speichel an der unteren Grenze für den Nachweis des InV-Merkmals liegt. Die Mindestmenge an Gammaglobulin für eine InV-Bestimmung (in 1 Tropfen Reaktionslösung) wurde mit 5 mg/100 ml ermittelt und entspricht einer Serumverdünnung von 1/200 bis 1/400. Von einem mit Speichel durchtränkten und getrockneten Filterpapier wurden dementsprechend für eine Bestimmung ca. 3 cm² (1–10 cm²) benötigt, die in möglichst geringer Menge NaCl-Lösung eluiert wurden. Die Empfindlichkeit des Nachweises wurde erhöht durch Verdünnung des Antiserums auf etwa 1/4 der für die Serumuntersuchung gebräuchlichen Konzentration, so daß die beladenen Erythrozyten gerade noch agglutiniert wurden. Auch die Absorptionstechnik mit dem verdünnten Antiserum ergab gute Resultate.

Im Gegensatz zum InV-Merkmal können Gm-Faktoren im Speichel gar nicht nachgewiesen werden, da sie nur auf den langen Ketten von IgG-Molekülen lokalisiert sind und diese Immunglobulinklasse im Speichel zu gering konzentriert ist. Das InV-Merkmal kann im Gegensatz dazu als Bestandteil der kurzen Kappa-Kette in allen Immunglobulinklassen gefunden werden.

5 Zigarettenmundstücke, die von 3 InV-positiven und 2 InV-negativen Personen geraucht worden waren, erlaubten den Nachweis bei den InV-positiven Proben. Die Reaktion war allerdings bei einer Ausgangsmenge von knapp 3 cm² Zigarettenpapier nur in einem Falle deutlich ausgeprägt, in den beiden anderen Fällen schwächer, aber noch eindeutig.

Die Untersuchung von bespichelten Briefmarken ergab den überraschenden Befund, daß die Gummierung unspezifisch mit dem Anti-InV-Serum reagierte, während der Nachweis im ABO-System nicht gestört war. Aus der Literatur sind uns nur zwei ähnliche Beobachtungen bekannt: Eine falschpositive Gm(1)-Reaktion durch das Insektizid Orthochlorophenol (Blanc u. Mitarb.) von der Gm(2) und Gm(5) nicht betroffen waren, und falschpositive Ergebnisse beim Nachweis der Faktoren Gm(1), Gm(2) und InV(1) an Erdproben (Kijewski und v. Mülmann).

Gegen die Vermutung von Klose und Schraven, daß der Gm-Nachweis in Sekreten in Zusammenhang mit dem Sekretorstatus im ABO-System stehe, spricht folgende Beobachtung an 3 InV-positiven Personen: bei den beiden Ausscheidern für ABO-Substanz wurden negative oder fragliche InV-Befunde im Speichel festgestellt, während der Nichtausscheider der Blutgruppe A eine deutliche positive InV-Reaktion im Speichel zeigte.

Die InV-Bestimmung von *Schweißproben* (6 Versuchspersonen) fiel wegen des niedrigen Gehaltes an Immunglobulinen erwartungsgemäß negativ aus (Ausgangsmenge 10 cm² Filterpapier mit getrocknetem Sekret). Die beobachteten unspezifischen Reak-

tionen waren zu geringfügig, um eine Fehlerquelle darzustellen. Daraus ergibt sich, daß Schweiß bei Überlagerung von Blut- oder Spermaspuren die Reaktionen nicht nennenswert beeinträchtigt.

Dagegen kann *Nasensekret* bei Verunreinigungen sowohl an der Gm- als auch an der InV-Reaktion teilnehmen. Das kommt in Frage, wenn mit einem bereits benutzten Taschentuch Blut oder Sperma abgewischt wird. Bei 10 Versuchspersonen, von denen 4 InV-positiv waren, wurde hinsichtlich des Merkmals InV(1) ein mit dem Serumbefund identisches Ergebnis gewonnen. Dabei waren für je eine Bestimmung ca. 2–10 cm² der obersten Schicht eines aus 4 Lagen bestehenden Papiertaschentuchs mit angetrocknetem Nasensekret für den Absorptionsversuch mit verdünntem Antiserum angesetzt worden. Die Gm-Befunde waren dagegen bei dieser Ausgangsmenge nicht so kräftig, und einmal falschnegativ. Falschpositive Ergebnisse kamen jedoch nicht vor.

Von besonderer Bedeutung sind die Befunde an *Spermaspuren*. Wegen des ausreichenden Gehalts an IgG lassen sich nicht nur InV- sondern auch die Gm-Merkmale gut erfassen. Dabei sind die Chancen, die Merkmale Gm(1), Gm(2) und Gm(4) sicher nachzuweisen größer, da sie auf der IgG₁-Unterklasse lokalisiert sind, die etwa 70% der gesamten IgG-Fraktion ausmacht. Die Faktoren Gm(5) und Gm(21) können dagegen gelegentlich schwächer reagieren, da sie der Unterklasse IgG₃ angehören, die nur 8% der IgG-Fraktion beträgt (Natvig und Kunkel). Eine solche schwache, aber noch eindeutige Reaktion beobachtet wird aber nur bei 1 von 7 Spermaproben, die auf Baumwollstoff getrocknet worden waren. Für die Bestimmung aller untersuchten Merkmale im Absorptionsversuch waren zunächst 4 cm² des Spurenstoffs mit verdünnten Antiseren inkubiert worden. Später erwiesen sich auch kleinere Mengen (ca 1–2 cm²) als ausreichend, wenn ein Kochsalzelnat verwandt wurde. Außer diesen 7 Proben, die im Blindversuch bestimmt wurden – da zuerst die Spermaproben und dann die Seren der Versuchspersonen analysiert worden waren – wurden noch 15 weitere Spermaproben ebenfalls im Blindversuch nur auf den Faktor InV(1) untersucht. Die 3 InV-positiven Personen dieser Gruppe waren durch die Spermareaktion sicher von den InV-negativen zu unterscheiden.

Zwei Gutachtenfälle zeigten, daß auch im *Scheidensekret* InV- und Gm-Merkmale nachweisbar sind, so daß ein Mischbild von Scheidensekret- und Spermaproben entstehen kann.

Wie nach den Erfahrungen an alten Blutproben und an Blutspuren zu erwarten war, erwiesen sich die Gm- und InV-Merkmale auch an Sekretspuren als stabil. Speichelproben von 6 InV-positiven Personen ergaben noch nach einer Lagerung von 5 Monaten bei Zimmertemperatur richtige Ergebnisse. An 7 Spermaproben konnten nach einer Lagerung von 2 Monaten bei Zimmertemperatur ebenfalls die früher erhobenen Gm- und InV-Befunde bestätigt werden.

Es sei noch erwähnt, daß Entzündungen keine Fehlerquelle darstellen, da sie mit einem Anstieg des Immunglobulingehalts in allen Sekreten einhergehen (Brandtzaeg u. Mitarb., Blenk u. Mitarb.) und dann sogar günstigere Untersuchungsbedingungen bieten.

Zur Ermittlung des Beweiswertes von Gm- und InV-Bestimmungen bei Spurenuntersuchungen wurde die *Frequenz der Phänotypen* festgestellt, die bei der Untersuchung der Merkmale Gm(1,2,4,5,21) und InV(1) vorkommen (Tab. 2 und 3). Bei 400 nicht verwandten Personen traten 15 Typen auf. Die seltene Kombination Gm(1+, 21–) wurde 14mal, die ebenfalls seltene Formel Gm(1–, 21+) wurde 4mal beobachtet.

Tabelle 2. Phänotyp-Frequenzen der Merkmalskombinationen im Gm- und InV-System bei 400 nicht verwandten Personen. Vergleich mit Frequenzen aus Norwegen. (Gedde-Dahl u. Mitarb. n=168)

								n = 400		n = 168 GEDDE- DAHL u.a.	
Typ	Gm	1	2	4	5	21	InV 1	Eigene Befunde n	%	%	
1 a		-	-	+	+	-	-	171			
b		-	-	+	+	-	+	20	48	38	
2 a		+	-	+	+	+	-	94			
b		+	-	+	+	+	+	15	27	29	
3 a		+	+	+	+	+	-	41			
b		+	+	+	+	+	+	11	13	17	
4 a		+	-	-	-	+	-	14			
b		+	-	-	-	+	+	3	4	6	
5 a		+	-	+	+	-	-	9			
b		+	-	+	+	-	+	3	3	1	
6 a		+	+	-	-	+	-	7			
b		+	+	-	-	+	+	3	2.5	9	
7 a		-	-	+	+	+	-	4			
b		-	-	+	+	+	+	-	1	-	
8 a		+	+	+	+	-	-	1			
b		+	+	+	+	-	+	1	0.5	-	
9 a		-	-	-	-	+	-	-			
b		-	-	-	-	+	+	-	-	-	
2 d		+	-	-	+	+	+	1			
5 c		+	-	-	+	-	-	1	1	-	
5 d		+	-	-	+	-	+	1			
								342	58	100	
									100	100	

Tabelle 3. Häufigkeit der Einzelmerkmale, Vergleich mit Frequenzen aus Norwegen (Natvig n = 100)

	Gm	1	2	4	5	21	InV	1
Eigene Befunde n = 400	205 51%	64 16%	373 93%	370 93%	193 48%	58 15%		
NATVIG n = 100	52%	25%	91%	91%	49%	-		

Nur bei 3 Blutproben wurde der Befund Gm(4–,5+) erhoben; dabei handelte es sich mindestens einmal um einen schwarzen Probanden. (Abgesehen von diesem einen Fall, in dem die Blutentnahme im Institut diese Feststellung ermöglichte, kann über die Bevölkerungszugehörigkeit unserer Probanden nichts ausgesagt werden, da über 90% der Proben unseres Untersuchungsguts mit der Post geschickt werden und das Blutentnahmeprotokoll bisher keine entsprechende Rubrik enthält.) Die gefundenen Werte zeigen geringe Abweichungen gegenüber Frequenzen aus Norwegen und betreffen vor allem das Merkmal Gm(2).

Literatur

- Blanc, M., Görtz, R., Ducos, J., Madrange, R.: Pouvoir inhibiteur d'un support de tache sur le serum anti-Gm(1) au cours d'une expertise medico-legale. *Med. Leg. Domm. Corpor.* 4, 15–18' (1971)
- Blanc, M., Görtz, R., Ducos, J.: The value of Gm typing for determining the racial origin of blood stains. *J. forens. Sci.* 16, 176–182 (1971)
- Blenk, H., Hofstetter, A., Böwering, R., Buttler, R., Hartmann, M., Marx, F.: Immunelektrophorese des Ejakulats. *Münch. med. Wschr.* 116, 35–38 (1974)
- Brandtzaeg, P., Fjellanger, I., Gjeruldsen, S.: Human secretory immunoglobulins. I. Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunoglobulins. *Scand. J. Haemat. Suppl.* 12, 1–83(1970)
- Gedde-Dahl, T., Natvig, J., Gundersen, S.: Inheritance of Gm(g) and a gene complex Gm^a Gm^g weak. *Clin. Genet.* 2, 356–366 (1971)
- Jorch, G.: Untersuchungen über den Nachweis der Faktoren InV(1), Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21) in Speichel, Schweiß, Nasensekret und Sperma. Diss. Marburg 1976, s. dort weitere Literatur.
- Kijewski, S., Mühlmann, U.v.: Der Einfluß pedologischer Unterschiede auf die Mengenbestimmung und Erfäßbarkeit serologischer Eigenschaften von Blutspuren im Erdboden. *Z. Rechtsmedizin* 75, 253–263 (1975)
- Klose, I., Schraven, J.: Die Bestimmung von Gm^a im Sperma. *Z. ges. gerichtl. Med.* 52, 610–614 (1961/62)
- Krämer, K.: Untersuchungen über das Vorkommen von Gm(a)-Substanz in menschlichen Geweben und extravasalen Körperflüssigkeiten. *Z. ges. gerichtl. Med.* 53, 131–141 (1963)
- Leonhardt, H.: Untersuchungen über optimale Verfahren zum Nachweis von Blut- und Serumgruppenmerkmalen in Spermaflecken. Diss. Marburg 1968
- Natvig, J.: Gm(g), a new human γ -globulin factor determined by a gene behaving as allele of Gm⁵ in Caucasians. *Proc. 11th Congr. int. Soc. Blood Transf.* Sydney 1966. *Bibl. haemat.*, No 29, Part 1, 294–298, Basel New York: Karger, 1968
- Natvig, J., Kunkel, H.: Genetic markers of human immunoglobulins. The Gm and Inv systems. *Ser. Haemat.* 1, 66–96 (1968)

Eingegangen am 28. Oktober 1975

Angenommen am 18. Februar 1976