

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik (Direktor: Prof. Dr. E. FRITZ) und dem Institut für Physiologische Chemie der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. J. KÜHNAU).

## Fäulnis und Äthylalkohol.

Von

H. REDETZKI, K. JOHANNMEIER und G. DOTZAUER.

### *Einleitung.*

Für die spezifische Erfassung von Äthylalkohol in Leichenbluten, Körperflüssigkeiten und Blutproben unter Fäulnisbedingungen standen bisher keine beweiskräftigen Untersuchungsmethoden zur Verfügung. Die geübten interferometrischen und Reduktionsmethoden erleiden Störungen durch unspezifische Fäulnisprodukte, deren Ausschaltung auch mit Hilfe der sauren und alkalischen Destillation des Untersuchungsmaterials im Einzelfalle nicht eindeutig gewährleistet wird (ELBEL<sup>1, 2</sup>, WEINIG<sup>3, 4</sup>, SCHWARZ<sup>5</sup>). Darüber hinaus hat die Frage der Entstehung von Äthylalkohol unter den obigen Bedingungen keine zufriedenstellende Beantwortung gefunden.

Die in den Jahren 1948—1950 von BÜCHER und REDETZKI<sup>6</sup> entwickelte Fermentmethode ist praktisch erprobt und forensisch beweisfähig (DOTZAUER, REDETZKI, JOHANNMEIER und BÜCHER<sup>7</sup>). Wir haben diese Methode verwandt, um beurteilen zu können, in welchem Maße sich ein bestehender Alkoholgehalt — in corpore und in vitro — unter der Fäulnis verändert, und ob Äthylalkohol bei gleichen Bedingungen in alkoholfreien Bluten entsteht. Darüber hinaus konnten wir durch den Vergleich der Widmark-Werte mit den Fermentanalysen Anhaltspunkte für die Art und das Ausmaß der Fehldeutungen finden, die sich aus der Verwertung der Ergebnisse der ersteren resultieren.

Die Entstehung von Alkohol bei der Leichenfäulnis wie bei Blutproben konnten wir mit der Fermentmethode eindeutig verifizieren. Damit bestätigen sich ältere, viel diskutierte Anschauungen (LANDSBERG<sup>8</sup>). Die Feststellung, daß Äthylalkohol unter Fäulnisbedingungen auch abgebaut werden kann, erschwert die forensische Beurteilung. Eine konstante Relation zwischen Ferment- und Widmark-Werten konnten wir nicht finden.

### *Methodik und Material.*

Die Durchführung der Analyse nach der Fermentmethode ist niedergelegt<sup>6, 7</sup>. Das Prinzip der Methode liegt in der enzymatischen Überführung des Äthylalkohols in Acetaldehyd mittels Alkoholdehydrase. Das Co-Ferment dieser Reaktion, Diphosphopyridinucleotid (DPN),

dient als Wasserstoffacceptor. Die Messung erfolgt spektrophotometrisch nach dem Prinzip des optischen Testes von O. WARBURG<sup>9</sup> unter Ausnutzung der spezifischen Absorptionsbande des reduzierten DPN bei  $366\text{ m}\mu$  (Quecksilberlinie, Filter UG 2 und BG 2, Schott und Gen.). Aus der Höhe der Extinktion nach einer Inkubationszeit von 70 min ergibt sich über eine Eichkurve der Alkoholgehalt.

Die Eigenart des Materials erforderte folgende Variationen:

Die Proben wurden vor der Untersuchung kurzfristig zentrifugiert (10 min bei 3000 U/min). War eine stärkere Eindickung vorhanden, wurde der Enteiweißungsansatz zur Vermeidung von Koagulationen im Eisbad mit einem Glasstäbchen durchgerührt. Eine Pipettierung des Materials war in allen Fällen durchführbar, so daß wir von einer Einwaage absehen konnten.

*Harnuntersuchungen mit der Fermentmethode.* Es wird wie bei der Bestimmung im Blut vorgegangen, wenn es sich um hämolytisches und farbstoffreiches Material handelt. Klare Harne können dem Versuchsansatz direkt zupipettiert werden (0,02 ml). Bei merklichem Pigmentgehalt empfiehlt sich die Messung des Blindwertes im entsprechenden Verdünnungsverhältnis gegen die Testlösung.

Die Widmark-Analyse erfolgte in der Routinemethode mit jeweils drei Vergleichswerten. Ferment- und Widmark-Methode wurden durch gemeinsam getesteten Eichalkohol bei jeder Bestimmungsreihe überprüft.

Das Untersuchungsmaterial bildeten:

A. Blute und Körperflüssigkeiten von Leichen mit frühen und späten Leichenerscheinungen bei unterschiedlichen Todesursachen.

B. Feten verschiedener Lebensalter, die einer Fäulnis bei Zimmertemperatur ausgesetzt wurden.

C. Venülenblute mit unterschiedlichem Alkoholgehalt, die bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank bei  $37^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt wurden.

### *Ergebnisse.*

*A. Leichenblute\*.* Bei 9 Leichen, deren Aufnahme und Verbringung in die Kühlzelle ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) innerhalb 12 Std p.m. erfolgte, wurde Blut aus der Vena cava im Verlaufe der ersten 3 Tage entnommen und mit der Widmark- und Fermentmethode untersucht. Die in sterilen Venüलगläsern aufgenommenen und verschlossenen Proben wurden künstlichen Fäulnisbedingungen bei einer Brutschranktemperatur von  $37^{\circ}\text{C}$  ausgesetzt und nach 24 Std mit beiden Methoden analysiert. Bei Fall Nr. 7, einer Wasserleiche, wurde in gleicher Weise verfahren (Wasserzeit: 41 Tage, Jahreszeit: November/Dezember).

Aus der Vorgeschichte war bei Fall 3 Alkoholgenuß unmittelbar vor dem Tode bekanntgeworden, in den anderen Fällen nicht eruierbar. — Es wird deutlich, daß bereits in einem Zeitraum von 3 Tagen p.m. recht erhebliche Erhöhungen der Widmark-Werte durch reduzierende Leichenprodukte auftreten können (Nr. 6 und Nr. 8). Die Ergebnisse lassen sich nur bedingt statistisch auswerten, da eine Reihe von endogenen und

\* Die Verhältnisse der frühesten Leichenzeit wurden aus erklärlichen Gründen nicht untersucht, sie werden diskutiert.

exogenen Faktoren, auf die wir später einzugehen haben, für die oft außerordentlichen Unterschiede verantwortlich zu machen sind. Man könnte den Eindruck haben, daß bei höheren Ausgangswerten eine Minderung, bei niederen oder Nullwerten ein Anstieg der Reduktions- und Äthylalkoholwerte zu sehen ist. Es bestehen sich überschneidende

Tabelle 1. *Leichenblute (Brutschrank)*.

Nr.	Ausgangswert		Nach 24 Tagen	
	Widmark ‰	Ferment ‰	Widmark ‰	Ferment ‰
1	0,02	0,01	0,53	0,14
2	0,08	0,04	1,03	0,39
3	1,44	1,49	1,42	1,06
4	0,36	0,36	0,85	0,60
5	0,50	0,31	0,70	0,61
6	2,22	0,64	1,45	0,47
7 <sup>1</sup>	3,20	2,33	2,84	2,14
8	1,98	0,71	0,50	—
9	1,93	—	2,44	2,06

<sup>1</sup> Die Diskussion berücksichtigt nur Nr. 1—6.

Tabelle 2. *Fäulnisleichen*.

Nr.	Blut bzw. Körperflüssigkeit gewonnen aus	Widmark	Ferment
		‰	‰
1	Oberschenkelvene . . .	0,15	0,15
	Re. Herzkammer . . .	2,49	0,58
	Herzbeutel . . . . .	3,38	0,10
	Brusthöhle . . . . .	2,63	0,56
	Alkalischer Urin . . .	1,80	0,10
2	Oberschenkelvene . . .	0,40	0,12
	Re. Herzkammer . . .	1,64	0,46
	Herzbeutel . . . . .	1,49	0,53
	Brusthöhle . . . . .	2,22	0,56
	Alkalischer Urin . . .	0,58	0,13
3	Unterschenkelvene . .	0,00	0,00
	Oberschenkelvene . . .	0,67	0,01
	Bauchhöhle . . . . .	1,64	0,44
	Brusthöhle . . . . .	0,80	0,40

Die Alkoholwerte im Bereich der großen Körperhöhlen sind gegenüber denen der Extremitäten erhöht. Dadurch wird die Abhängigkeit der Alkoholentstehung von den Entwicklungsbedingungen der vorhandenen Bakterienflora bzw. der sich entwickelnden Leichenflora bestätigt.

*B. Feten:* Zwei Gruppen von 4 und 8 Feten wurden 3 bzw. 4 Wochen in einem geschlossenen Gefäß bei Zimmertemperatur schwerster Fäulnis ausgesetzt. Die Widmark-Analyse der aus der Brustaorta gewonnenen frischen Leichenblute wurde (1—3 Tage p.m.) zuvor durchgeführt. Da jeweils Nullwerte gefunden wurden, erübrigte sich der Ansatz der Ferment-

Tendenzen: 1. Erniedrigung bzw. Abbau vorhandenen Äthylalkohols, 2. Entstehung, d. h. Produktion von Alkohol.

Bei einer zweiten Gruppe wurde das Untersuchungsmaterial (Blut und Körperflüssigkeiten) von 3 Leichen mit fortgeschrittener Fäulnis aus unterschiedlichen Körperregionen gewonnen und Bestimmungen mit beiden Methoden durchgeführt. Fall 1 und 2 waren Wasserleichen mit einer Wasserzeit von 41 und 37 Tagen, Jahreszeit: Januar—März. Bei Fall 3 handelte es sich um eine Leiche, die bis etwa 48 Std p.m. unter einem Federbett liegend der Einwirkung eines eingeschalteten, auf dem Oberbauch befindlichen Heizkissens ausgesetzt war. Die unteren Extremitäten waren unbedeckt.

methode. Nach Ablauf der angegebenen Zeit nahmen wir vergleichende Untersuchungen mit beiden Methoden vor. Das Material bestand aus hämolytischer Fäulnisflüssigkeit der Brusthöhle. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 und 4 dargestellt.

Bei 3wöchiger Fäulnis stehen hohe Reduktionswerte von 2,10 bis 3,95<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Fermentwerten von 0,19 bis 0,66<sup>0</sup>/<sub>100</sub> gegenüber. Diese Werte liegen bei 4wöchiger Fäulnis zwischen 1,25—4,47<sup>0</sup>/<sub>100</sub> (Widmark) und 0,06 bis 1,36<sup>0</sup>/<sub>100</sub> (Ferment). Nach den Nullwerten des Ausgangsmaterials entwickelte sich unter der Fäulnis in corpore Äthylalkohol. Die verantwortlichen Fäulniserreger sind exogener Herkunft, da der fetale Darm keimfrei ist.

*C. Venülenblute.* Im Gegensatz zu den vorausgegangenen Untersuchungen lagen primär Frischblute vor, die durch Polizeiarzte (Verkehrsbeanstandungen usw.) mit fluoridbeschickten Venülen der Behring-Werke entnommen waren. Die Ausgangswerte wurden innerhalb 12 bis 14 Std nach der Blutentnahme mit der Widmark-Methode gewonnen. Um die Gefahr zusätzlicher bakterieller Verunreinigung zu vermindern und den Füllungszustand nicht stark zu reduzieren, verzichteten wir auf die Kontrolle der Ausgangswerte mit der Fermentmethode. Die Übereinstimmung der Ergebnisse ist bei Frischbluten gesichert und liegt innerhalb der Fehlerbreite beider Methoden<sup>7</sup>.

Tabelle 5 gibt die Werte von 10 Blutproben wieder, die 4 Wochen bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nach dieser Zeit mit beiden Methoden gemeinsam analysiert wurden; Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse von 10 Bluten, die nach 4 und 7 Wochen bei Aufbewahrung im *Brutschrank* (37° C) zur Untersuchung kamen.

Tabelle 3. *Feten (3 Wochen).*

Nr.	Ausgangswert	Nach 3 Wochen	
	Widmark °/100	Widmark °/100	Ferment °/100
1	0,0	3,95	0,19
2	0,0	2,75	0,66
3	0,0	2,10	0,58
4	0,0	2,98	0,62

Tabelle 4. *Feten (4 Wochen).*

Nr.	Ausgangswert	Nach 4 Wochen	
	Widmark °/100	Widmark °/100	Ferment °/100
1	0,0	4,47	1,24
2	0,0	2,88	0,09
3	0,0	3,81	1,36
4	0,0	4,71	1,36
5	0,0	1,25	0,06
6	0,0	3,38	0,92
7	0,0	3,01	0,25
8	0,0	2,22	0,89

Tabelle 5. *Fluorid-Frischblute, 4 Wochen bei Zimmertemperatur.*

Nr.	Ausgangswert	Nach 4 Wochen	
	Widmark °/100	Widmark °/100	Ferment °/100
1	3,22	2,49	2,51
2	1,96	1,77	1,49
3	1,94	2,14	2,02
4	1,15	1,09	1,00
5	0,47	0,55	0,54
6	0,17	0,21	0,19
7	0,14	0,22	0,10
8	0,69	0,85	0,81
9	0,89	1,07	0,99
10	3,39	2,87	2,15

Tabelle 6. *Fluorid-Frischblute, 4 und 7 Wochen im Brutschrank (37° C).*

Nr.	Ausgangs- wert	Nach 4 Wochen		Nach 7 Wochen	
	Widmark ‰	Widmark ‰	Ferment ‰	Widmark ‰	Ferment ‰
1	1,00	0,77	0,72	0,61	0,60
2	1,33	1,10	1,06	0,88	0,84
3	1,11	0,81	0,72	0,65	0,60
4	2,11	2,00	1,90	1,76	1,70
5	2,43	2,10	1,94	1,90	1,81
6	1,38	1,26	1,16	0,90	0,85
7	1,97	2,10	1,94	1,90	1,79
8	1,19	1,15	1,05	1,02	1,00
9	0,85	0,73	0,64	0,60	0,58
10	2,00	2,62	2,33	2,70	2,30

Deutlich fallen die hohen Ausgangswerte nach 4wöchigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur ab. Die mittleren und niederen Werte sind konstant oder lassen einen geringeren Anstieg erkennen.

Im Brutschrank aufbewahrte Blute — mit Ausnahme von Nr. 10 — sinken schon nach 4 Wochen merklich ab.

Bei der Auswahl der Proben haben wir darauf gesehen, möglichst alle Konzentrationsbereiche zu erfassen und auf eine maximale Füllung der Venülen Wert gelegt. Hierbei ist zu beachten, daß die in Tabelle 6 aufgeführten Blute gegenüber denen von Tabelle 5 durch die Entnahme des Materials bei der Zwischenuntersuchung um 1 ml verringert wurden, wodurch sich die überstehende Luftsäule entsprechend vergrößerte. BENNER<sup>10</sup> fand in ähnlichen Untersuchungen bei vollständig gefüllten Röhren — bei 37° — eine Zunahme, bei nur zu einem Viertel gefüllten Röhren dagegen Abnahme des Alkoholgehaltes. Die jüngsten Untersuchungen von SCHLEYER<sup>11</sup> lassen diesen Einfluß nicht deutlich erkennen.

#### *Diskussion.*

Zwei Fragen leiteten unsere Untersuchungen:

1. Bieten sich Vorteile für die forensische Beurteilung von Fäulnisbluten durch die Anwendung der Fermentmethode.

2. Welche Relationen ergeben sich aus der Gegenüberstellung von Widmark- und Fermentwerten.

Getestet wurden die Fäulnisbedingungen an Leichenmaterial sowie an Blutproben, die bei Zimmer- bzw. Brutschranktemperatur über längere Zeit aufbewahrt wurden. Da in diesem Zusammenhang zu klären war, ob in faulem, primär alkoholfreiem Leichenmaterial Äthylalkohol entstehen kann, wurden Peten zur Analysierung der Fäulnisvorgänge in corpore verwandt.

Diese Probleme haben eine Bearbeitung mit interferometrischen und Reduktionsmethoden gefunden. Ihre Ergebnisse werden nicht wiederholt, wir verweisen auf die Übersichten von WIDMARK<sup>12, 13</sup>, WAGNER<sup>14, 15</sup>, WEINIG<sup>3, 4</sup>, ELBEL<sup>1, 2</sup>, SCHWARZ<sup>5</sup> und SCHLEYER<sup>11</sup>.

Bei Beginn unserer Arbeit waren wir uns darüber im klaren, daß die Erwartungen, aus der Untersuchung einer gegebenen Fäulnisphase zu Rückschlüssen auf den Ausgangszustand zu gelangen, nicht sehr groß sein durften. Die Ergebnisse verdeutlichen das hohe Maß der Unspezifität der einfachen Widmark-Analyse bei der vorliegenden Fragestellung. Die Fermentmethode gestattet uns, über die unterschiedlichen bei der Fäulnis einwirkenden Faktoren zu berichten. Wir diskutieren im folgenden Autolyse, Temperatur, Gewebsreaktion ( $p_H$ ) und schließen Betrachtungen über Alkoholabbau und -neubildung unter bakterieller Einwirkung an.

#### *Autolyse.*

Der abakterielle Vorgang der Autolyse bietet die Möglichkeit des fermentativen Umsatzes von Alkohol für die Zeitspanne noch erhaltener Fermentaktivität. Das verantwortliche körpereigene Ferment ist die in den letzten Jahren sehr genau charakterisierte Alkoholdehydrase. BATTELLI und STERN<sup>16</sup> fanden 1910, daß tierische Gewebe in der Lage sind, Alkohol zu oxydieren und nannten das entsprechende Enzym Alkoholoxydase. Diese Bezeichnung war insofern irreführend, als später gezeigt werden konnte, daß bei diesem Enzym DPN Co-Fermentnatur besitzt (QUIBELL<sup>17</sup>) und durch die Oxydation, im Sinne einer Dehydrierung, Acetaldehyd entsteht (LUTWAK-MANN<sup>18</sup>). 1950 gelang BONNICHSEN und WASSEN<sup>19</sup> die Kristallisation des Fermentproteins (Apodehydrase) aus Leber.

Das kinetische Gleichgewicht der Katalyse ist  $p_H$ -abhängig und begünstigt die Alkoholentstehung aus Acetaldehyd. Da dieser jedoch unmittelbar durch ein weiteres Ferment, die Aldehyddehydrase, in Essigsäure überführt wird, kann sich der Reaktionsablauf nur in letzterer Richtung vollziehen.

Diese autolytische Oxydation des Äthylalkohols besitzt kaum größere Bedeutung. Außer der Leber als dem fermentreichsten Organ sind nur noch in Niere und Darm geringe Aktivitäten nachzuweisen. Die zumeist einsetzende postmortale Ansäuerung des Blutes und der Gewebe erschwert die fermentative Oxydation. Man muß annehmen, daß die Verfügbarkeit des oxydierten DPN schon unter dem Tode infolge der erlahmenden bzw. aussetzenden Zirkulation gering ist und seine Regenerierung auf Grund des sich steigernden  $O_2$ -Defizits schnell abbricht. Das Ferment selbst unterliegt einer zunehmenden Inaktivierung.

Die durch die Autolyse bedingte Lockerung der Zwischenzellsubstanz mindert einen bestehenden Blutalkoholgehalt; sie schafft die Voraus-

setzung einer verstärkten Diffusion von Äthylalkohol aus dem Blut in die Gewebe, solange das Diffusionsgleichgewicht noch nicht eingetreten ist.

Wenn man in der Literatur wiedergegebene Befunde der frühesten Leichenzeit berücksichtigt, wird es schwer, die mit unspezifischen Methoden und verschiedenen Versuchsanordnungen erhaltenen Werte zu beurteilen. Unsere Ergebnisse der ersten 3 Tage p.m. lassen die Verwendbarkeit der Widmark-Methode an der Leiche schon zu diesem Zeitpunkt zweifelhaft erscheinen, da wir Differenzen bis zu 1,58<sup>0</sup>/<sub>100</sub> sehen konnten. Das gewiß nicht häufige Auftreten einer solchen Abweichung schon zu diesem Zeitpunkt dürfte künftig in der Gutachterpraxis nicht unbeachtet bleiben.

Weiter darf der Einfluß einer Diffusion aus dem Magen- und Darmtrakt in die Umgebung bei unresorbiertem Alkohol im Augenblick des Todes nicht vernachlässigt werden. Dadurch können differente ‰-Werte im Blut der einzelnen Gefäßgebiete wie auch in den Körperflüssigkeiten bedingt sein<sup>20</sup>. ELBEL<sup>2</sup> weist jedoch darauf hin, daß die anfänglich postmortale Erniedrigung des Alkoholspiegels gegen diese Ansicht spricht. Entscheidend werden stets der Zeitpunkt der Untersuchung und der Entnahmeort des Blutes sein.

#### *Gewebsreaktion.*

Während die Oxydation von Äthylalkohol zu Acetaldehyd unter der Katalyse durch Alkoholdehydrase bei alkalischen  $p_H$  begünstigt wird, erfolgt die Bildung von Äthylalkohol vorwiegend bei saurer Reaktion (RACKER<sup>21</sup>), BONNICHSEN<sup>22, 23</sup>). Da sämtliche Proben (Feten) bei der Überprüfung mit der Glaselektrode saures  $p_H$  aufwiesen, wird die Äthylalkoholneubildung durch Bakterien und Schimmelpilze, von denen eine große Zahl mit dem gleichen Ferment ausgestattet ist, begünstigt. Das Reaktionsmilieu von Leichengewebe und -flüssigkeiten kann somit für den Abbau wie für die Neubildung von Bedeutung sein.

#### *Temperatur.*

Die Autolyse — in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur — wird in der supravitalen Periode bzw. in der frühesten Leichenzeit, durch die Angleichung der Körper- an die Umgebungstemperatur beeinflusst.

Die unter den späteren Leichenerscheinungen zu beobachtenden Veränderungen des Blutalkoholspiegels sind dagegen Auswirkungen bakteriellen Stoffwechsels. Für die Wachstumsbedingungen der Bakterien ist die Umgebungstemperatur sowie die Eigentemperatur der Leiche — in ihrer Beziehung zum endogenen und exogenen Keimbefall und den Leichenzehrern — von Bedeutung.

A. In den Brutschrank verbrachte Leichenblute hatten bei Berücksichtigung von Nr. 1—6 in den Ausgangsuntersuchungen im Durchschnitt einen um 34,2% ( $s = \pm 25,6\%$ ) höherliegenden Widmark-Wert. Nach 24 Tagen überstieg der Durchschnittswert der Widmark-Analyse die Fermentbestimmung um 45,1% ( $s = \pm 23,8\%$ ). In diesem Zeitraum wurde Zu- und Abnahme der ‰-Werte beobachtet. Da keine Gleichsinnigkeit gegeben ist, und die Entwicklung von vielfältigen, nicht-isolierbaren Faktoren abhängt, muß eine statistische Auswertung entfallen. Als Anhalt ergibt sich aus der Widmark-Bestimmung ein durchschnittlicher Anstieg um 0,22‰, aus der Fermentanalyse um 0,07‰.

B. Nach 3wöchiger Fäulnis bei Zimmertemperatur waren in der Brusthöhlenflüssigkeit der Feten Alkoholkonzentrationen von durchschnittlich 0,51‰ entstanden. Der entsprechende Widmark-Wert betrug 2,94‰.

Die 4wöchige Fäulnisperiode ergab im Durchschnitt einen Fermentwert von 0,77‰, während der Reduktionswert 3,21‰ ausmachte. Für diese Bewertungen ist derselbe Vorbehalt wie unter A zu erheben.

C. Die primär sterilen Fluorid-Frischblute sanken im Brutschrank (Tabelle 6) nach 4 Wochen um  $D = 6,6\%$  ( $s = \pm 15,8\%$ ) [Widmark] und um  $D = 15,1\%$  ( $s = \pm 13,8\%$ ) [Fermentmethode] ab.

Der Siebenwochenwert war gegenüber dem Durchschnitt der Ausgangsuntersuchungen um  $D = 22,9\%$  ( $s = \pm 22,6\%$ ) [Widmark] und um  $D = 23,3\%$  ( $s = \pm 12,4\%$ ) [Fermentmethode] verringert.

Bei Zimmertemperatur aufbewahrte Blute stiegen nach 4 Wochen um  $D = 9,8\%$  ( $s = \pm 23,8\%$ ) [Widmark] an. Die Fermentwerte fielen um  $D = 6,5\%$  ( $s = \pm 20,6\%$ ) ab.

Während sich bei den im Brutschrank aufbewahrten Bluten nur in einem Falle der Äthylalkoholgehalt erhöhte, zeigten die bei Zimmertemperatur gehaltenen Blute — neben stärkeren Abnahmen — in 4 Fällen geringe Anstiege.

Die Abweichung des Fermentwertes vom Widmark-Ergebnis (Brutschrankblute) betrug nach 4 Wochen  $D = -8,1\%$  ( $s = \pm 2,82\%$ ), nach 7 Wochen  $D = -5,2\%$  ( $s = \pm 3,7\%$ ), der entsprechende Vierwochenwert bei Zimmertemperatur  $D = -12,7\%$  ( $s = \pm 16,3\%$ ).

WILLEKE und NIGMANN<sup>24</sup> untersuchten Blute ohne Fluoridzusatz mit der Widmark-Methode, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden und innerhalb von 40 Tagen bis zu Nullwerten abfielen. Diese Ergebnisse lassen sich mit unseren Befunden nicht in Einklang bringen. Wahrscheinlich kommt hier dem Zusatz von NaF, das als Fermenthemmstoff bei der Glykolyse (Enolasehemmung<sup>25</sup>) eingreift und eine bakteriostatische Wirkung besitzt, Bedeutung zu. Wir haben die Untersuchungen nicht über den Zeitraum von 7 Wochen ausgedehnt, da uns die praktische Verwertung fraglich erscheint.

#### *Alkoholabbau und -neubildung durch Bakterien.*

Daß Bakterien Alkohol über eine DPN-spezifische Dehydrase abbauen, wurde für *Acetobacter suboxydans* (LUTWAK-MANN<sup>18</sup> und Esch. coli (STILL<sup>26</sup>) aufgeklärt. Die Oxydation führt über Acetaldehyd und Essigsäure zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O. Einer Reihe von Bakterien dient Acetylalkohol darüber hinaus zum Aufbau wichtiger Stoffwechselprodukte (Buttersäure, Capronsäure, Fumarsäure und Milchsäure).



Unter den bei der Leichenflora anzutreffenden Bakterien — Hefen und Schimmelpilzen — finden sich viele, die in der Lage sind, Äthylalkohol zu produzieren. Als Ausgangsmaterial stehen Kohlehydrate zur Verfügung. Außerdem kann aus der Eiweißfäulnis und dem Fettabbau über intermediäre Zwischenstufen Äthylalkohol entstehen.

Für die Alkoholbildung durch Mikroorganismen sind vorzüglich drei Wege bekannt:

1. Gemäß dem Embden-Meyerhof-Parnass-Schema der Glykolyse über Brenztraubensäure, die durch Carboxylase zu Acetaldehyd decarboxyliert wird. Seine Reduktion zu Äthylalkohol erfolgt unter Mitwirkung der Alkoholdehydrase. Diese Fähigkeit besitzen verschiedene Fäulniserreger, sowie Hefen und Schimmelpilzarten (GALE<sup>27</sup>).

2. Aus  $\alpha$ -Glycerophosphat bzw. Glycerin bei Bakterien, die keine Carboxylase besitzen. Im Gegensatz zu den Pilzen ist dieses Ferment bei der Mehrzahl der Bakterien nicht nachweisbar. Die Zwischenstufen des Reaktionsablaufes sind im einzelnen unbekannt (TIKKA<sup>28</sup>, KLUYVER<sup>29</sup>). Der am genauesten untersuchte Vertreter dieser Gruppe ist *B. coli*.

Es muß weiter erwähnt werden, daß NEUBERG und NORD<sup>30</sup> bei der Coligärung die Entstehung von Acetaldehyd nachgewiesen haben. STILL<sup>26</sup> isolierte aus *B. coli* eine Alkoholdehydrase, die reversibel mit DPN red. und Acetaldehyd reagiert. Es scheint also noch ein anderer, bisher unbekannter Weg zu bestehen, durch den Alkohol gebildet werden kann.

3. Über einen sogenannten „Zwischenfermentshunt“ aus Glucose-6-Phosphat. GIBBS und DE MOSS<sup>31, 32</sup> fanden für *Leuconostoc mesenteroides* und *Pseudomonas Lindneri*, daß der Phosphatester nach Überführung in Phosphohexonsäure durch das WARBURGSche Zwischenferment und Decarboxylierung zur Pentose in einen C<sub>2</sub>- und C<sub>3</sub>-Körper gespalten wird. Das C<sub>2</sub>-Fragment bildet eine Molekül Äthylalkohol, während das C<sub>3</sub>-Fragment in Brenztraubensäure verwandelt wird, aus der über den unter 1. geschilderten Ablauf ein weiteres Molekül Alkohol entsteht.

Die Beobachtung der Alkoholbildung durch bakterielle Fäulnis geht auf FORD<sup>33</sup> zurück. Sie bleibt bei steriler Autolyse aus und soll auf bakterieller Grundlage Werte bis zu 1,5<sup>0</sup>/<sub>00</sub> aufweisen (VIELLEDENT<sup>34</sup>, SIMONIN<sup>35</sup>, BALTHAZARD und LAMBERT<sup>36</sup>).

Das von uns zur Untersuchung dieser Frage herangezogene Material (Feten) bestätigt die Ergebnisse mit Hilfe der Fermentmethode. Auffällig bleibt die außerordentlich unterschiedliche Alkoholbildung bei den unter gleichen Bedingungen aufbewahrten Feten. Dieses Verhalten läßt sich für den Einzelfall aus dem Befall mit einer differenten Bakterienflora erklären. HENNEBERG<sup>37</sup> weist auf das verschiedenartige Gärvermögen einzelner Stämme der Proteus- und Coligruppe hin, die sich

außerdem noch in ihrer Entwicklung gegenseitig stören können (KOCH-MANN<sup>38</sup>). Darüber hinaus ist bekannt, daß gewisse Grenzkonzentrationen an Äthylalkohol im Nährmedium nicht überschritten werden.

*Forensische Auswertung unserer Untersuchungen.*

Das analysierte Fäulnismaterial läßt beide Möglichkeiten: Alkoholverlust und Alkoholneubildung erkennen.

Die Widmark-Methode erfaßt nur in wenigen Fällen den wahren Alkoholgehalt. Die Störung durch flüchtige, reduzierende Zersetzungsprodukte kann ein derartiges Ausmaß erlangen, daß jeder Anhalt über eine angenommene Relation zunichte wird. Die Feststellung, daß auch die Fermentwerte — wobei wir annehmen dürfen, in ihnen absolute Alkoholwerte zu besitzen — bei der von uns gewählten Gruppierung des Untersuchungsgutes keine Einheitlichkeit aufweisen, zeigt die Schwierigkeiten auf, die sich bei der Beurteilung von Alkoholwerten unter Fäulnisbedingungen ergeben.

Die Zahl unserer Untersuchungen ist klein. Aus der Vielfalt von Fäulnisbedingungen und -vorgängen wurde nur ein Ausschnitt kontrolliert. Es ist nicht gelungen, innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen zu einem Ergebnis zu gelangen, das uns bei ähnlichen oder gleichen Voraussetzungen zu einer bestimmten Erwartung berechtigt. Die Vorgänge des Alkoholverlustes und der Alkoholneubildung sind nicht voneinander zu trennen. Beide können, sich überschneidend, ablaufen. Ausschlaggebend für die Richtung, in der sich die Vorgänge bewegen, sind unkontrollierbare Stoffwechseleinflüsse durch Bakterien, Hefen und Schimmelpilze.

Eine ausreichende und zufriedenstellende Bakteriologie der Leiche bzw. des Leichenblutes liegt bis auf wenige Ansätze noch nicht vor. RASSFELD<sup>39</sup> hat vor Jahren unter ZEISSLER 400 Prosekturleichen untersucht und im Herzblut schon innerhalb der ersten 48 Std p.m. in 50% der Fälle Keime nachgewiesen. Bei 14% aller Leichen fanden sich Erreger, die intra vitam apathogen sind. Wir nehmen an, daß auch eine gründliche bakteriologische Durchforschung keine andere Beantwortung dieses Fragenkomplexes ermöglicht.

Abschließend können wir feststellen, daß die Fermentmethode für die Untersuchung gefaulter Blute eine Ergänzung der bestehenden Alkoholanalysen-Methoden darstellt. Sie gibt zuverlässige Werte vorhandener Alkoholkonzentrationen; diese sind aber wegen des möglichen Alkoholabbaues bzw. der Alkoholproduktion unter der Fäulnis, nur bedingt beweiskräftig. Verläßlichste Aussagen bietet die Analyse des Blutes der Gliedmaßengefäße. Die Fermentwerte werden dabei dem wahren Alkoholgehalt am ehesten entsprechen. Unsere Ergebnisse bestätigen hierzu die Widmark-Analysen von WAGNER<sup>14, 15</sup>.

Die Verwertung von Harnanalysen nach WIDMARK — unter der Vorstellung, daß hier die Fäulnis zurückgehalten wird — besitzt keine generelle Gültigkeit. Nach unseren Erfahrungen aus weiteren Untersuchungen wird man mit ähnlichen Unterschieden rechnen müssen, wie sie bei den Blutbefunden diskutiert wurden.

Die Feststellung, daß auch in der frühen Leichenzeit erhebliche Differenzen zwischen Widmark- und Fermentbestimmung auftreten, berechtigt zu der Forderung, der Fermentmethode den Vorzug zu geben.

Das für die Versuche benötigte DPN wurde freundlicherweise von der Firma C. F. Boehringer u. Söhne, Mannheim-Waldhof, zur Verfügung gestellt.

### Literatur.

- <sup>1</sup> ELBEL, H.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **30**, 218 (1938). — <sup>2</sup> ELBEL, H.: Die wissenschaftlichen Grundlagen der Beurteilung von Blutalkoholbefunden. Leipzig: Georg Thieme 1936. — <sup>3</sup> WEINIG, E.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 293 (1936). — <sup>4</sup> WEINIG, E.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **40**, 318 (1951). — <sup>5</sup> SCHWARZ, F.: Die Alkoholfragen in der Schweiz. Basel: Benno Schwabe & Co. 1949. — <sup>6</sup> BÜCHER, TH., u. H. REDETZKI: Klin. Wschr. **1951**, 615. — <sup>7</sup> DOTZAUER, G., H. REDETZKI, K. JOHANNMEIER u. TH. BÜCHER: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **41**, 15 (1952). — <sup>8</sup> LANDSBERG, G.: Hoppe-Seylers Z. **41**, 505 (1904). — <sup>9</sup> WARBURG, O.: Erg. Enzymforsch **7**, 210 (1938). — <sup>10</sup> BENNER, H.: Diss. Göttingen 1937. — <sup>11</sup> SCHLEYER, F. L.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **39**, 638 (1948/49). — <sup>12</sup> WIDMARK, E.: Die theoretischen Grundlagen usw. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1932. — <sup>13</sup> WIDMARK, E.: ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 12/II. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1938. — <sup>14</sup> WAGNER, K.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 276 (1936). — <sup>15</sup> WAGNER, K.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 302 (1936). — <sup>16</sup> BATELLI, F., u. L. STERN: Biochem. Z. **28**, 145 (1910). — <sup>17</sup> QUIBELL, T. H.: Hoppe-Seylers Z. **251**, 102 (1938). — <sup>18</sup> LUTWAK-MANN, C.: Biochem. J. **32**, 136 (1938). — <sup>19</sup> BONNICHSEN, R. K., and A. M. WASSÉN: Arch. of Biochem. **18**, 361 (1948). — <sup>20</sup> HANZLICK, P. J., and R. J. COLLINS: J. of Pharmacol. **5**, 185 (1913). — <sup>21</sup> RACKER, E.: J. of Biol. Chem. **184**, 313 (1950). — <sup>22</sup> BONNICHSEN, R. K.: Acta chem. scand. (Copenh.) **4**, 714 (1950). — <sup>23</sup> BONNICHSEN, R. K., and H. THEORELL: Scand. J. clin. laborat. Investig. **3**, 58 (1951). — <sup>24</sup> WILLEKE, H., u. G. NIGMANN: Angew. Chem. **62**, 119 (1950). — <sup>25</sup> LOHMANN, K., u. O. MEYERHOF: Biochem. Z. **273**, 60 (1934). — <sup>26</sup> STILL, J. L.: Biochem. J. **34**, 1177 (1940). — <sup>27</sup> GALE, E. F.: Chemical Activities of Bacteria. New York: Acad. Press Inc. 1948. — <sup>28</sup> TIKKA, J.: Biochem. Z. **279**, 264 (1935). — <sup>29</sup> KLUYVER, A. J.: Erg. Enzymforsch. **4**, 230 (1935). — <sup>30</sup> NEUBERG, C., u. F. F. NORD: Biochem. Z. **96**, 133 (1919). — <sup>31</sup> GIBBS, M., and R. D. DE MOOS: Federat. Proc. **10**, 189 (1951). — <sup>32</sup> GIBBS, M., and R. D. DE MOSS: Arch. of Biochem. a. Biophysics **34**, 478 (1951). — <sup>33</sup> FORD, H.: J. Elliot Soc. etc. **1**, 43 (1859). — <sup>34</sup> VIELLEDENT: Ann. Méd. lég. etc. **6**, 215 (1926), zit. bei <sup>2</sup>. <sup>35</sup> SIMONIN: J. Physiol. et Path. gén. **28**, 596 (1930), zit. bei <sup>2</sup>. — <sup>36</sup> BALTHAZARD et LAMBERT: Ann. Méd. lég. etc. **1**, 82 (1922), zit. bei <sup>2</sup>. — <sup>37</sup> HENNEBERG, W.: Gärungs-bakteriologisches Praktikum. Berlin: P. Parey 1909. — <sup>38</sup> KOCHMANN, M.: Biochem. Z. **16**, 391 (1909). — <sup>39</sup> RASSFELD, L.: Z. Hyg. **93**, 393 (1923).