

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. BERTHOLD MUELLER)

Inwieweit beeinflußt ein hämolytisches Serum die Blutalkoholbestimmung

Von

EBERHARD BURGER

(Eingegangen am 18. Dezember 1962)

Während WIDMARK für die Berechnung des Blutalkoholgehaltes die Werte aus Untersuchungen von Vollblut gewonnen hatte, sind heute die meisten Untersucher auf die Bestimmung des Alkoholgehaltes im Serum übergegangen. Dies hängt damit zusammen, daß mit einer Venüle, ohne gerinnungshemmenden Zusatz, das Blut entnommen wird. Es hat sich gezeigt, daß Serum wesentlich genauer einpipettierbar ist als Vollblut. Wenn die Blutentnahme bereits einige Tage zurückliegt, wird sich klares Serum abgesetzt haben und eine Wiederaufschüttelung zu Vollblut wird nicht immer vollkommen gelingen. Es ist jedoch bei der Untersuchung von Serum zu berücksichtigen, daß die Alkoholkonzentration darin höher ist als im Vollblut.

Für die Berechnung Alkoholkonzentration Serum:Vollblut hat ELBEL den Faktor 1,2 vorgeschlagen, welcher heute allgemein von den Untersuchern angewendet wird. Bei diesem Faktor handelt es sich um einen Mittelwert, der im Einzelfalle nach ELBEL von 1,05—1,25 schwanken kann. In neueren Arbeiten kommt ILLCHMANN-CHRIST zu einem Faktor von 1,17 und GRÜNER zu einem Faktor von 1,16. Nach den Untersuchungen von GRÜNER ist dieser Faktor allein vom Wassergehalt der Blutbestandteile abhängig. Der Einfluß des Wassergehaltes auf den Serumfaktor liege jedoch innerhalb der Fehlerbreite der Widmark-Bestimmung. Nach GRÜNER sollte eine Berechnung der Blutalkoholkonzentration aus der Serum-Alkoholkonzentration unterbleiben.

Außer den oben beschriebenen Schwankungen dieses Faktors kommt eine Korrektur in den Fällen in Frage, in denen das Blut vor der Bestimmung bereits Hämolyse zeigt. Bei starker Hämolyse des Blutes würde dies bedeuten, daß der zur Umrechnung auf Vollblut verwendete Faktor kleiner als 1,2 einzusetzen wäre. Eine Nichtberücksichtigung der Hämolyse würde sich zwar stets zugunsten eines Betroffenen auswirken. Auch die allgemeine Anwendung eines Serumfaktors von 1,2 kommt dem Beschuldigten zugute, da, wie bereits angeführt, die neuesten Untersuchungen einen etwas niedrigeren Faktor von 1,17 bzw. 1,16 ergeben haben.

Das Auftreten hämolytischer Blutproben hat seinen Ursprung verschiedenen Umständen zu verdanken. Einmal ist die Hämolyse abhängig von Dauer und Temperatur der Lagerung der Probe, weiterhin vom

Füllungsgrad der Venüle und von der Stärke des Schüttelns auf dem Transport, schließlich auch von der Stärke des vor der Bestimmung vorgenommenen Zentrifugierens. Wenn nicht mit einer Venüle entnommen wurde, dann kann durch Infektion der Probe bei nicht ganz dichtem Verschuß eine Hämolyse gefördert werden. Bei sehr langer Lagerung entspricht der Alkoholgehalt im Serum dem Wert für Vollblut. Nach KRAULAND hat das Serum nach 100 Tagen bereits den Alkoholwert für Vollblut erreicht. Diesen allmählichen Übergang haben KRAULAND u. Mitarb. bei der Nachprüfung des Alkoholgehaltes von gelagerten Blutproben durch die Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Serums erfaßt. Die recht diffizile Durchführung der Messung des spezifischen Gewichtes mit kleinen Mengen stößt bei der Routineuntersuchung auf Schwierigkeiten. Auch wird man nicht immer dafür die notwendige Menge Serum zur Verfügung haben. Wir haben zur Bestimmung des Hämolysegrades den im Serum vorhandenen Blutfarbstoff im Spektralphotometer gemessen.

Über die Stärke des Hämolysegrades bei den in der Praxis der Blutalkoholbestimmung anfallenden Blutproben lagen bisher keine zahlenmäßigen Untersuchungsergebnisse vor. Wohl hat DENCKS vergleichende Untersuchungen an klarem und „blutigem“ Serum unternommen und festgestellt, daß selbst in einem stark aufgeschüttelten Serum nur so wenig Blutkörperchen enthalten sind, daß ein Divisor von 1,16 bis 1,18 anzuwenden wäre, um rechnerisch die gleiche Blutalkoholkonzentration zu erhalten wie im reinen Serum derselben Blutprobe nach Division mit 1,2.

Für unsere Hämolysegradbestimmungen¹ ermittelten wir die Extinktionshöhe des aus dem Hämoglobin erhaltenen Oxyhämoglobin bei 576 $m\mu$, der sog. α -Bande. Bei Vorversuchen zeigte sich, daß 0,025 ml Serum ausreichten, um in Cuvetten von 1 cm Schichtdicke gemessen, noch innerhalb des Meßbereiches des Anzeigeorgans des Zeiss-Spektralphotometer (Modell PMQ II mit automatischer Nullpunktseinstellung) zu bleiben. Die Abmessung der Blutproben geschah mit einer Blutzuckerpipette. Beim Pipettieren dieser kleinen Menge mußte ein Fehler von maximal 5% in Kauf genommen werden, wie sich aus Vergleichsuntersuchungen ergab. Es wurden jeweils 0,025 ml von dem überstehenden Serum, bereits auf Alkohol untersuchter Blutproben, entnommen, in die Cuvette gebracht, mit destilliertem Wasser auf die Marke gefüllt, nach Aufsetzen des Cuvettendeckels umgeschüttelt und dann gegen eine gleich große Cuvette, die mit destilliertem Wasser gefüllt war, die Extinktion der Analysenlösung gemessen. Für die Herstellung einer Blutprobe, die vollkommen hämolysiert ist, haben wir ein Verfahren gewählt, das auch SCHWERD empfiehlt, das ohne Zusätze an Lösungen oder Salzen zum Blut vorgeht. Die Blutproben wurden dabei gut verschlossen in einer Kältemischung aus Trockeneis und abs. Alkohol bei -60°C eingefroren und danach wieder aufgetaut. Es wurde dabei darauf geachtet, daß die Röhrchen vor dem Öffnen vollkommen von äußerlich anhaftendem Alkohol befreit waren. Nach dem Wieder-

¹ Fräulein PARWIN MAHMUDY sei an dieser Stelle für die freundliche Hilfeleistung gedankt.

auftauen wurde die Probe gut umgeschüttelt und danach zentrifugiert. Das überstehende Serum war jetzt stark von Blutfarbstoff gefärbt. Die vollkommene Hämolyse gelang bei dieser Art der Auffrierung nicht immer. Wir haben als 100%ige Hämolyse deshalb den höchstgefundenen Extinktionswert, der unter den obigen Bedingungen 1,20 betrug, eingesetzt und danach eine Tabelle über die Änderung des Serumfaktors mit zunehmendem Hämolysegrad aufgestellt.

Versuche sollten nun zeigen, ob die von uns aufgestellte Tabelle 1 ihre Gültigkeit hat. Dazu wurden von 12 Versuchspersonen, die zuvor mit verschiedenen Mengen

Tabelle 1. *Änderung des Serumfaktors durch Hämolysegrad*

Serumfaktor	Hämolysegrad	Extinktion von 0,025 ml Serum bei 567 m μ in 1 cm Schichtdicke	Serumfaktor	Hämolysegrad	Extinktion von 0,025 ml Serum bei 576 m μ in 1 cm Schichtdicke
1,20	0	0	1,08	60	0,72
1,18	10	0,12	1,06	70	0,84
1,16	20	0,24	1,04	80	0,96
1,14	30	0,36	1,02	90	1,08
1,12	40	0,48	1,00	100	1,20
1,10	50	0,60			

an alkoholischen Getränken belastet worden waren, mit einer Venüle je eine Blutprobe entnommen. Die Blutproben wurden zunächst nach dem Widmark-Verfahren auf ihren Alkoholgehalt mengenmäßig untersucht. Es wurde für die Bestimmung das klar gewonnene Serum verwendet und mit dem Faktor 1,2 auf Vollblut zurückgerechnet. Danach wurden die Blutproben durch Tiefkühlung in einer Kältemischung, wie oben beschrieben, experimentell hämolysiert. In dem danach durch Zentrifugieren gewonnenen Serum der einzelnen Proben wurde wiederum der Blutalkoholgehalt nach WIDMARK bestimmt. Bei allen 12 Proben ergab diese zweite Bestimmung einen niedrigeren Wert als zuvor, wenn mit demselben Faktor 1,2 auf Vollblut umgerechnet wurde. Gleichzeitig wurde eine Extinktionsmessung des im Serum vorhandenen Blutfarbstoffes bei den Proben vorgenommen und daraus der Hämolysegrad nach der Tabelle 1 bestimmt. Die Versuche hatten die in Tabelle 2 dargestellten Ergebnisse.

Die Versuche zeigen, daß bei Anwendung des korrigierten Serumfaktors auf die hämolysierten Blutproben annähernd wieder der Ausgangswert an Blutalkohol vor der Hämolyse erreicht wird. Bei 7 Proben war der Ausgangswert nicht ganz erreicht worden, bei 2 Proben wurde nach der Hämolyse ein etwas höherer Wert erreicht und bei 3 Proben wurde derselbe Wert wie vor der Hämolyse erreicht. Unter Berücksichtigung der Streubreite des Verfahrens der Blutalkoholbestimmung nach WIDMARK sind die Ergebnisse als befriedigend anzusehen.

Um einen Überblick über die Zahl der in der Praxis vorkommenden hämolysierten Blutproben zu erhalten, wurden von den in den Monaten April bis Juli 1962 eingegangenen, polizeilich erhobenen Blutproben Blutfarbstoffbestimmungen im Serum nach der eingangs beschriebenen Art durchgeführt. Es kamen dabei 250 Blutproben zur Untersuchung. Davon waren 84 Proben aus dem Stadtgebiet Heidelberg erhoben worden,

Tabelle 2. *Versuche mit experimentell hämolysierten Blutproben unter Berücksichtigung des korrigierten Serumfaktors*

Anzahl der Proben	Blutalkohol im Serum und mit Faktor 1,2 berechnet	Blutalkohol nach Hämolysen ohne Faktor	Extinktion des O ₂ -Hb nach der Hämolysen	Korrektur mit Faktoren der Tabelle 1
Versuchsperson 1				
Vor Hämolysen	2,52 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	2,23 ⁰ / ₀₀	2,68 ⁰ / ₀₀	0,60	2,68:1,10=2,44 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 2				
Vor Hämolysen	1,73 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	1,60 ⁰ / ₀₀	1,92 ⁰ / ₀₀	0,40	1,92:1,33=1,69 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 3				
Vor Hämolysen	1,41 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	1,34 ⁰ / ₀₀	1,61 ⁰ / ₀₀	0,55	1,61:1,108=1,45 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 4				
Vor Hämolysen	1,38 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	1,26 ⁰ / ₀₀	1,51 ⁰ / ₀₀	0,53	1,51:1,112=1,35 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 5				
Vor Hämolysen	1,26 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	1,11 ⁰ / ₀₀	1,33 ⁰ / ₀₀	0,63	1,33:1,095=1,21 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 6				
Vor Hämolysen	1,15 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	1,01 ⁰ / ₀₀	1,21 ⁰ / ₀₀	0,67	1,21:1,088=1,11 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 7				
Vor Hämolysen	1,12 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	1,01 ⁰ / ₀₀	1,22 ⁰ / ₀₀	0,69	1,22:1,085=1,12 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 8				
Vor Hämolysen	1,08 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	0,94 ⁰ / ₀₀	1,13 ⁰ / ₀₀	0,93	1,13:1,045=1,08 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 9				
Vor Hämolysen	1,07 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	0,96 ⁰ / ₀₀	1,16 ⁰ / ₀₀	0,53	1,16:1,112=1,04 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 10				
Vor Hämolysen	0,79 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	0,75 ⁰ / ₀₀	0,90 ⁰ / ₀₀	0,73	0,90:1,078=0,83 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 11				
Vor Hämolysen	0,63 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	0,56 ⁰ / ₀₀	0,67 ⁰ / ₀₀	0,56	0,67:1,088=0,62 ⁰ / ₀₀
Versuchsperson 12				
Vor Hämolysen	0,45 ⁰ / ₀₀			
Nach Hämolysen	0,38 ⁰ / ₀₀	0,46 ⁰ / ₀₀	0,74	0,46:1,076=0,43 ⁰ / ₀₀

die restlichen 166 Proben waren, aus dem Landkreis Heidelberg kommend, mit der Post befördert worden. Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle wiedergegeben.

Tabelle 3. *Blutfarbstoffmessung von 0,025 ml Serum bei 576 m μ an 250 Blutproben*

145 Blutproben	Extinktion von 0—0,2 (entspricht 0—16,6% Hämolysen)
63 Blutproben	Extinktion von 0,2—0,4 (entspricht 16,6—33,3% Hämolysen)
22 Blutproben	Extinktion von 0,4—0,6 (entspricht 33,3—50% Hämolysen)
20 Blutproben	Extinktion von 0,6—1,2 (entspricht 50—100% Hämolysen)

Bei der gesonderten Betrachtung der aus dem Stadtkreis Heidelberg im Institut abgegebenen Blutproben zeigt die nachstehende Tabelle 4, daß hierbei eine weit geringere Anzahl an hämolysierten Blutproben zu verzeichnen ist.

Tabelle 4. *Blutfarbstoffmessung von 0,025 ml Serum bei 576 m μ an 84 Blutproben aus dem Stadtkreis Heidelberg*

72 Blutproben	Extinktion von 0—0,2 (entspricht 0—16,6% Hämolyse)
9 Blutproben	Extinktion von 0,2—0,4 (entspricht 16,6—33,3% Hämolyse)
2 Blutproben	Extinktion von 0,4—0,6 (entspricht 33,3—50% Hämolyse)
1 Blutprobe	Extinktion von 0,6—1,2 (entspricht 50—100% Hämolyse)

Aus den Versuchen in Tabelle 3 und 4 ergibt sich, daß längeres Schütteln durch den Versand, sowie längeres Verweilen in nicht gekühltem Zustande sich nachteilig auf die Blutprobe durch Bildung hämolytischen Serums auswirkt. Diese an sich bei den Untersuchern bekannte Erscheinung sollte hier durch die Farbstoffmessungen im Serum in der Größenordnung veranschaulicht werden.

Aus der Untersuchung der relativ kleinen Zahl von 250 untersuchten Blutproben ist die Notwendigkeit der Berücksichtigung des Hämolysegrades bereits deutlich ersichtlich. Wir sind uns dabei bewußt, daß eine Korrektur des Serumfaktors in der von uns vorgeschlagenen Art auch einer gewissen Schwankungsbreite unterworfen ist. Man wird bei einem stark hämolytischen Blutserum eher so vorgehen, daß man das Blut aufschüttelt und es als Vollblut zur Untersuchung bringt. Bei niedrigerem Hämolysegrad würden wir auf Grund unserer Untersuchungen die angegebene leicht durchführbare Messung des Blutfarbstoffes im Serum vorschlagen. Bei einem Hämolysegrad der Blutprobe von 50%, wobei nach unserer Tabelle 1 der Serumfaktor 1,1 anzuwenden wäre, würde ein Analysenergebnis einen um 10,9% höheren und damit richtigeren Wert ergeben. Bei Hämolysegraden bis zu 20% wird die geringe Korrektur innerhalb der Schwankungsbreite der Analysenmethode liegen. Bei den aus unserem Untersuchungsgebiet eingehenden Blutproben zur Blutalkoholbestimmung ist das Auftreten hämolytischen Serums im überwiegenden Anteil geringergradig, wie aus Tabelle 3 zu ersehen ist.

Zusammenfassung

1. Es wird eine einfach durchführbare Blutfarbstoffbestimmung zur Ermittlung der Größe des Hämolysegrades einer auf Alkohol zu untersuchenden Blutprobe vorgeschlagen. Dabei wird im Serum die Extinktion des gebildeten Oxyhämoglobin bei 576 m μ bestimmt und der Hämolysegrad auf Grund des Höchstwertes der Extinktion bei der Bestimmung von vollkommen hämolysierten Blutproben berechnet.

2. Eine Korrekturtabelle für die Umrechnung von Alkoholgehalt des Blutserums auf Vollblut wird für die einzelnen Hämolysegrade des Serums aufgestellt.

3. Die Korrekturtabelle wird in einer Versuchsreihe mit experimentell hämolysierten, alkoholhaltigen Blutproben überprüft. Es wurde eine ausreichende Übereinstimmung gefunden.

4. Von den im Institut während der Frühjahrs- und Sommermonate zur Untersuchung auf Blutalkohol eingegangenen Blutproben wurden bei 250 Proben Blutfarbstoffbestimmungen im Serum vorgenommen. Es zeigte sich, daß der überwiegende Teil der Blutproben eine geringere Hämolyse aufwies.

Literatur

- DENCKS, H.: Blutalkoholbestimmung aus blutigem Serum. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **36**, 181 (1942).
- ELBEL, H.: Untersuchung zur Verwertbarkeit der Blutalkoholbestimmung nach WIDMARK. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **25**, 125 (1935).
- GRÜNER, O.: Die Verteilung des Alkohols im Blut. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **46**, 10 (1957).
- ILLCHMANN-CHRIST, A.: Untersuchungen über die Relationen von Blutkuchen-Vollblut (Serum)-Alkoholwerten. Zugleich ein Beitrag zur Umrechnung von Serum auf Vollblut-Alkoholkonzentrationen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **49**, 113 (1959/60).
- KRAULAND, W., E. VIDIC, K. FREUDENBERG, B. SCHMIDT u. V. LENK: Über den Beweiswert einer zweiten Blutalkoholbestimmung an länger gelagerten Blutproben. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **50**, 34 (1960).
- SCHWERD, W.: Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate in Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik. Lübeck: Schmidt-Römhild 1962.
- WIDMARK, E.: Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Blutalkoholbestimmung. Berlin u. Wien 1932.

Dr. rer. nat. EBERHARD BURGER, Wissenschaftlicher Rat,
Institut für gerichtliche Medizin der Universität,
Heidelberg, Voßstraße 2