

Diatomeenbefunde in Wasserleichen

Eine neue Methode zur quantitativen Messung der Diatomeen im Organismus

Dr. A. J. JÄÄSKELÄINEN

Institut für gerichtliche Medizin der Universität Turku
(Vorstand: Prof. Dr. J. RAEKALLIO)

Eingegangen am 30. August 1966

Der Diatomeennachweis in Wasserleichen hat seit den grundlegenden Beobachtungen REVENSTORFS als ein relativ zuverlässiges Indiz des Ertrinkungstodes gegolten. In den letzten Jahren hat man jedoch in einigen Veröffentlichungen die Zuverlässigkeit dieser Methode angezweifelt (SPITZ, SPITZ u. Mitarb., PETERSOHN, ROMMENEY u. Mitarb.). Die entstandene Diskussion hat neue Forderungen auch an die Untersuchungsmethoden gestellt. Besonders wichtig wäre eine Standardisierung des Diatomeennachweises, damit die verschiedenen Untersuchungsergebnisse miteinander vergleichbar würden. In der vorliegenden Arbeit wird eine neue Methode für den quantitativen Diatomeennachweis dargelegt. Anschließend sollen die Ergebnisse der Untersuchungen auch hinsichtlich der Zuverlässigkeit des Diatomeennachweises als Indiz für den Ertrinkungstod diskutiert werden.

Material und Methode

Das Untersuchungsmaterial bestand aus zwölf Wasserleichen, die zwischen dem 1. Mai und 31. September 1965 am Institut für gerichtliche Medizin sezirt wurden. Das Kontrollmaterial bestand aus fünf Nichtertrunkenen, die unter der erwähnten Periode sezirt wurden und die eines natürlichen Todes gestorben waren. Von sämtlichen Leichen wurden die Proben dem Herzmuskel, der Leber, der Niere und dem Knochenmark entnommen. Die Häufigkeit der Diatomeen in den Organen des großen Kreislaufes ist abhängig von der Durchblutung der Organe (WEINIG u. PFANZ). Demgemäß wurden die ersterwähnten Organe ausgewählt. Das Knochenmark ist von mehreren Verfassern als zuverlässigstes Befundorgan betrachtet worden (TAMASKA, OKAJAMA).

Jede Probe wurde mit äußerster Sauberkeit vorgenommen. Die Technik ist von den oben erwähnten Autoren beschrieben worden. Auch bei weiterer Behandlung der Präparate wurde darauf geachtet, daß keine sekundäre Diatomeen durch Staub oder durch die gebrauchten Fixationsmittel eindringen.

Die Organproben wurden in 70% Alkohollösung fixiert (TIMM). Die Präparate wurden wie üblich in Paraffin eingelegt. Die etwa 20 μ dicken Paraffinschnitte wurden statt mit Xylol mit reinem Monobrom-benzene entparaffiniert (Präparationszeit 5 min). Die Schnitte wurden in eine Mischung aus 50% Monobrom-benzene

und neutralem Kanadabalsam eingebettet, mit Deckglas bedeckt und im Dunkelfeld mikroskopiert.

Das Einbettmaterial kristallisiert beim längeren Stehen, so daß eine frisch verfertigte Mischung zu empfehlen ist. Mit dieser Methode kann man verwendbare „optisch leere“ Präparate erhalten (WEINIG u. PFANZ).

Um die Untersuchungsergebnisse auf feste Grundlage zu stellen, wurden die Schnitte auf Objektträger gebracht, die vorher mit einem Gitternetz versehen worden waren. Das Gitternetz maß 1×2 cm, wobei die Querstreifen zur Erleichterung der Untersuchung 1 mm voneinander entfernt waren. Die einfache Einrichtung für die Verfertigung des Gitternetzes ist in Abb. 1 dargestellt. Nach einiger Übung kann ein Objektträger pro Minute hergestellt werden. Aus jeder Organprobe wurden

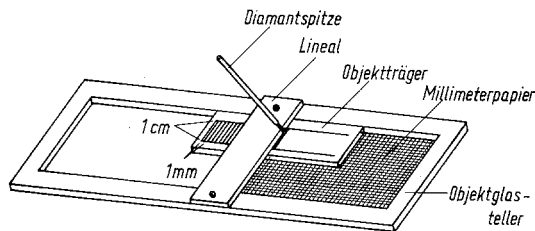


Abb. 1. Apparatur zur Verfertigung der Objektträger

fünf Schnitte gemacht, so daß eine Gesamtfläche von 10 cm^2 entstand, die mikroskopiert wurde.

Der Diatomeengehalt des Leitungswassers wurde untersucht. Weil in destilliertem Wasser Diatomeen gefunden worden sind (TABBARA u. Mitarb.), wurde auch das benutzte „destillierte“ Wasser untersucht.

100 cm^3 Leitungswasser und 100 cm^3 „destilliertes“ Wasser wurden 15 min mit 3000 r/min zentrifugiert. Die entstandene Bodenflüssigkeit wurde mit Capillaren abgesogen und auf einen gut gereinigten Objektträger gebracht, mit Deckgläser gedeckt und mikroskopiert (MUELLER).

Die Ertrinkungsflüssigkeit wurde wegen der praktischen Schwierigkeiten, eine zuverlässige Wasserprobe (MUELLER, JAROSCH) zu erhalten, nicht untersucht. Zur Verfügung standen jedoch frühere umfangreiche Forschungen über den Diatomeengehalt in den Gewässern, in denen die Untersuchungsobjekte gefunden worden waren (SEGERSTRÄLE, MÖLDER).

Die Diatomeenarten wurden nicht unterschieden, weil dies zu weitgehender Studien und großer praktischer Erfahrung bedürfte (NAEVE). Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Ein Befund von mehreren Diatomeen in einer Schnitte (2 cm^2) wird als reichlich (+++), Befunde von 2—5 Diatomeen in Schnitten aus einem Organ (10 cm^2) werden als mäßig (++) beurteilt, einzelne Diatomeen werden mit + bezeichnet.

Tabelle

Obd.-Nr.	Ge- schlecht	Alter (Jahre)	Befunde				Anamnese	Obduktionsbefunde	Bemerkungen
			Herz	Leber	Niere	Knochen- mark			
141/65	♂	41	+	++	++	+	Ertrunken am 2. 5. 65, gefunden am 6. 5. 65	Merkmale des Ertrinkungs- todes	—
151/65	♂	44	+	+++	++	+	Ertrunken am 24. 6. im See	Merkmale des Ertrinkungs- todes	—
152/65	♂	20	+	++	++	+	Ertrunken am 18. 6. 65 gefunden am 26. 6. 65	Merkmale des Ertrinkungs- todes	Blutalkohol- gehalt 3,3 ⁰ / ₁₀₀
154/65	♂	68	—	—	—	—	Ins Wasser gefallen. Wassertiefe 1,5 m	Frische Coronarthrombose und Infarkt	Keine Merk- male des Ertrinkungs- todes
159/65	♂	19	+	+	+++	+	Selbstnord in einem Bewässerungsteich	Merkmale des Ertrinkungs- todes	—
181/65	♀	22	—	+	++	+	Epileptische Anfälle. Ertrunken durch einen Anfall beim Baden	Merkmale des Ertrinkungs- todes, unsichere	—
189/65	♂	38	—	+	+	+	Beim Schwimmen unter Alkoholausgang ertrunken	Merkmale des Ertrinkungs- todes	Blutalkohol- gehalt 2,4 ⁰ / ₁₀₀
200/65	♂	30	+	++	+++	+	Mit Pkw unter Alkohol- einwirkung ins Wasser gefahren	Merkmale des Ertrinkungs- todes	Blutalkohol- gehalt 2,3 ⁰ / ₁₀₀
201/65	♂	35	—	—	—	—	Nach reichlichem Alkohol- genuß ins Wasser gefallen	Merkmale eines akuten Kreislaufversagens	Blutalkohol- gehalt 4,1 ⁰ / ₁₀₀

Resultate

Im Kontrollmaterial wurden keine Diatomeen gefunden. Diese Beobachtung wurde noch bestätigt durch die zwei Fälle des Untersuchungsmaterials, die gar keine Diatomeen enthalten (Nr. 154/65 und 201/65). In beiden dieser Fälle gab es offenbar andere Todesursachen als Ertrinken. In dem einen eine frische Coronarthrombose und Herzinfarkt, im anderen ein sehr hoher Blutalkoholgehalt von 4,1⁰/₀₀.

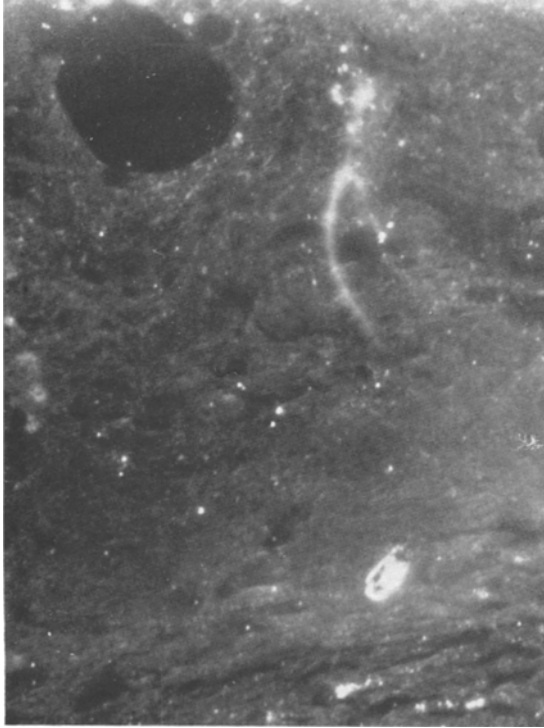


Abb. 2. Ein Diatomeenbefund im Nierenschnitt. Obduktions-Nr. 189/65.
Vergr. $\times 250$

Die Untersuchungen des Leitungswassers lieferten nur vereinzelte diatomähnliche Strukturen pro Probe. „Destilliertes“ Wasser, das durch Ionenaustauschapparat gereinigt worden war, wies ebenfalls einige diatomähnliche Organismen auf. In den meisten Fällen handelte es sich um Organismen, deren Durchschnitt über 20 μ betrug. In ihrer Veröffentlichung haben WEINIG und PFANZ gezeigt, daß die Diatomeen aus Präparierlösungen nicht in die Schnitte eindringen.

Diskussion

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß es möglich ist, auch mit der Technik der „optisch leeren“ Schnitte eine relativ zuverlässige Auffassung über den Ertrinkungstod zu erhalten. H. OTTO hat in seiner Veröffentlichung erwähnt, daß die Diagnose des Ertrinkungstodes nicht auf Grund vereinzelter Diatomeen festgestellt werden kann. Auch MUELLER ist darauf aufmerksam geworden, daß die zu weit gebrachte Verfeinerung der Technik zu fehlerhaften Schlüssen führen kann. Die hier dargelegte Methode ist unseres Erachtens jedoch ziemlich unempfindlich gegen artifizielle Fehler, wenn die Methode sachgemäß angewandt wird. Äußerste Sauberkeit beim Verfertigen ist auch von früheren Forschern gefordert worden (WEINIG u. PFANZ, SCHEIBE). Die Schnittdicke soll nicht zu gering sein, weil sonst die Gefahr besteht, daß die Diatomeen zerschnitten werden (SCHEIBE).

Die Untersuchungsergebnisse der Wasserproben standen in Kontrast zu den Mitteilungen von SPITZ. Dies kann teils davon herkommen, daß die untersuchten Mengen kleiner waren als die in den erwähnten Untersuchungen. Auf der anderen Seite zeigen die Ergebnisse, daß in der Beurteilung der Befunde von vereinzelt Diatomeen gewisse Vorsicht am Platze ist.

Die neue Methode hat sich am hiesigen Institut gut bewährt. Die Verfertigung von Präparaten ist ziemlich wenig zeitraubend im Vergleich mit der komplizierten Verbrennungsmethode, die auch wegen der umständlichen Apparatur in kleineren Laboratoriumsräumen nicht möglich ist.

Zusammenfassung

Die Diatomeenbefunde in Wasserleichen wurden mit einer neuen Methode quantitativ gemessen. Das Untersuchungsmaterial bestand aus zwölf Wasserleichen, denen Organproben aus Leber, Herzmuskel, Niere und Knochenmark entnommen wurden. Als Kontrollmaterial wurden fünf Leichen, die eines natürlichen Todes gestorben waren, entsprechende Proben entnommen.

Die Organproben wurden in 70%iger Alkohollösung fixiert und in Paraffin eingelegt. Die etwa 20 μ dicken Schnitte wurden statt mit Xylol mit Monobrombenzol entparaffiniert und in eine Mischung aus 50%igem Monobrombenzol und neutralem Kanadabalsam eingebettet. Mit dieser Methode wurden verwertbare, optisch leere Schnitte gewonnen. Die Schnitte wurden auf einen mit einem Gitternetz versehenen Objektträger gebracht und im Dunkelfeld mikroskopiert. Aus jeder Organprobe wurden fünf Schnitte hergestellt. Auch Leitungswasser und destilliertes Wasser wurden auf den Diatomeengehalt untersucht.

Im Kontrollmaterial wurden keine Diatomeen entdeckt. Dagegen zeigten die Proben aus dem Untersuchungsmaterial konstant einen Diatomeengehalt, der in den meisten Fällen als reichlich bezeichnet werden konnte. Auch im Leitungswasser und im destillierten Wasser wurden vereinzelt diatomeenähnliche Strukturen nachgewiesen. Die Untersuchungsergebnisse haben zur Auffassung geführt, daß mit dieser Methode die Diagnose auf Ertrinkungstod mit relativer Zuverlässigkeit gestellt werden kann. Als Vorteile dieser Methode stellten sich heraus: Zeitersparnis, Zuverlässigkeit und Einfachheit der Vorbereitung.

Summary

A new method for evaluation of diatomfindings in drowned bodies is presented. The material consisted of 12 bodies, found in water. The tissue specimens were prepared from heart muscle, liver, kidney and bone marrow. For the sake of control corresponding specimens were taken from bodies, where the cause of death had been natural.

The tissue specimens were fixed in 70% ethanol and embedded in paraffin. In order to get optically clear sections the paraffin was removed with monobrombenzol (incubation time 5 minutes) and the sections were mounted in a mixture of 50% Canada balsam and monobrombenzol.

The quantitation of findings was achieved with slides, provided with a square network. Five sections were cut from each organ specimen. The examination was performed by darkfield microscopy. The diatom content of distilled and tap water was also studied.

No diatoms were detected in the control material. On the other hand, in organs of drowned persons diatoms were constantly found; in most instances the findings were rich. The results have led us to the conception that a reliable diagnosis of drowning can be made with this method. The advantages of the method are: simplicity of processing which makes the use of this method possible even in minor laboratories, reliability of positive findings and saving of time.

Literatur

- JAROSCH, K.: Der Einfluß industrieller Abwässer auf den sog. Planktonnachweis. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **51**, 409—420 (1961).
- MÖLDER, K.: Studien über die Ökologie und Geologie der Bodendiatomeen in der Pojo-Bucht. Ann. bot. Soc. zool.-bot. fenn. „Vanamo“ **18**, Nr 2 (1943).
- MUELLER, B.: Zur Frage der Diagnostik des Ertrinkungstodes. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **41**, 400—404 (1952).
- Zur Frage des Vorkommens von Diatomeen in Organen von Leichen, die nicht im Wasser gelegen haben. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **54**, 267—272 (1963).
- NAEVE, W.: Zur praktischen gerichtsmedizinischen Anwendung des Diatomeennachweises im „Großen Kreislauf“. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **45**, 364—369 (1956).

- OKUYAMA, M.: Experimental studies on diagnosis of death from drowning by means of detection of vegetative planctons (Diatoms). I. Detection of diatoms from the bones of drowned and cremated bodies. *Acta Med. Okayama* **15**, 250—260 (1961).
- Experimental studies on diagnosis of death from drowning by means of detection of vegetative planctons (Diatoms). II. Detection of diatoms from putrefied and cremated bones drowned bodies. *Acta Med. Okayama* **15**, 261—267 (1961).
- OTO, H.: Über den Nachweis von Diatomeen in menschlichen Lungenstauben. *Frankfurt. Z. Path.* **71**, 176—181 (1961).
- PETERSOHN, F.: Diatomeenbefunde bei Wasserleichen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **54**, 367—378 (1963).
- RECH, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen über das Pleuratrassudat bei Wasserleichen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **51**, 403—409 (1961).
- ROMMENEY, G., K. KLOOS, J. GERLOFF u. U. GEISSLER: Diatomeenbefunde in menschlichen Organen, in der Luft und im Wasser. *An den Grenzen von Medizin und Recht*. Stuttgart: Ferdinand Enke 1966.
- SCHIEBE, E., R. SCHWARZ u. K. GLAW: Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis des Ertrinkungstodes. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **51**, 395—398 (1961).
- SCHWARZ, R.: Zur Bewertung von Diatomeenbefunden bei Wasserleichen. *Aktuelle Fragen der gerichtlichen Medizin*, S. 111—115. Halle Wittenberg: Verl. Martin-Luther-Universität 1965.
- SEGERSTRÅLE, S.: Ein Planktonprofil Pellinge-Lill-Pernoviken (Südküste Finnlands) im August 1937. *Soc. sci. fenn., Comment. Biol.* **7**, 1—10 (1939).
- SPITZ, W., H. SCHMIDT u. W. FETT: Untersuchungen von Luftinfiltrationsstreifen aus verschiedenen Gebieten der Bundesrepublik auf ihren Diatomeengehalt. Ein Beitrag zum Beweiswert von Diatomeen für die Diagnose des Ertrinkungstodes. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **56**, 116—124 (1965).
- TABBARRA, W., et L. DÉROBERT: Note technique sur les diatomées. *Soc. Med. lég.* 9. VII. 1962. *Ann. Méd. lég.* **42**, 613—615 (1962).
- TAMÁSKA, L.: Über den Diatomeennachweis im Knochenmark der Wasserleichen. *Zacchia* **24**, 263—273 (1961).
- THOMAS, F., W. VAN HECKE, and J. TIMPERMAN: The medicolegal diagnosis of death by drowning. *J. forens. Sci.* **8**, 1—14 (1963).
- TIMM: Neues zum Giftnachweis im Gewebe. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **20**, 582—588 (1933).
- WEINIG, E., u. H. PFANZ: Zur Diagnostik des Ertrinkungstodes durch den Nachweis von Diatomeen im „optisch leeren“ Gewebsschnitt. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **40**, 664—668 (1951).

Dr. A. JÄÄSKELÄINEN
Institut für gerichtliche Medizin
der Universität Turku, Hämeenk. 1
Turku 2