

Der Nachweis von Calciumlignosulfonat im Blut und in den Organpreßsäften ertränkter Ratten als Zeichen vitalen Ertrinkens

K. LEHMANN und A. BEUTHIN

Institut für gerichtliche Medizin der Medizinischen Akademie
„Carl Gustav Carus“ Dresden (DDR)

Eingegangen am 28. Juni 1970

The Detection of Calciumlignosulfonate in Blood and Press-fluids of Organs from Drowned Rats as Evidence of Death from Drowning

Summary. The detection of diatoms in the organs of the systemic circulation can no longer be considered evidence of drowning.

Calciumlignosulfonate (CLS), a waste product of the paper industry and a known pollutant of many waters, was found in the blood and tissue fluids of drowned rats. The detection of CLS is simple and relatively specific. Control animals failed to show the presence of reacting and/or similarly reacting substances. Because of the high concentration of CLS in many rivers, it is proposed that the presence of CLS be considered an important criterion for drowning.

Key-Words: Calciumlignosulfonat, Nachweis im Blut, in Organpreßsäften — CLS-Nachweis — Tod durch Ertrinken — Vitale Reaktionen.

Zusammenfassung. Da der Diatomeennachweis in den Organen des großen Kreislaufes als sicheres Zeichen vitalen Ertrinkens nicht mehr verwertet werden kann, wurde das aus Sulfitablaugen der Zellstoffindustrie stammende Calciumlignosulfonat (CLS) im Blut und in den Organpreßsäften ertränkter Ratten nachgewiesen. Die Methoden sind einfach durchzuführen und relativ spezifisch. Kontrollserien enthielten keine reaktionsauslösenden Substanzen. Da CLS in vielen Flüssen in hoher Konzentration auftritt, wird der CLS-Nachweis als wichtiges Ertrinkungszeichen empfohlen.

Nachdem in eigenen Untersuchungen (Lehmann, 1969) zahlreiche Diatomeen in den Organen des großen Kreislaufes und im Knochenmark Nichtertrunkener gefunden und damit die Ergebnisse der Voruntersucher (Spitz, 1963; Rommeney et al., 1966; Reh, 1968) bestätigt werden konnten, bemühten wir uns, neue Methoden des Ertrinkungsnachweises zu suchen.

Die Verschmutzung der Flüsse durch häusliche und industrielle Abwässer nimmt ständig zu. Die Elbe in unserem Einzugsgebiet gehört zu den am stärksten verschmutzten Gewässern. Nahezu der gesamte Elbgrund ist lebensfeindlich. Ausgehend von der Tatsache, daß beim Ertrinkungsvorgang mit der Ertrinkungsflüssigkeit gelöste Abwasserbestandteile in den Körper gelangen, suchten wir nach geeigneten Substanzen und Möglichkeiten ihres Nachweises. Die Verschmutzung des Elbwassers erfolgt hauptsächlich durch Abwässer der Zellstoffindustrie. Im Zellstoffwerk Pirna-Heidenau erfolgt der Holzaufschluß im Bisulfitverfahren, wobei das Lignin als Calciumsalz der Ligninsulfonsäure in Lösung

geht. Täglich werden etwa 1500 m³ entspritzte und enthefte Sulfitablauge mit einem Gehalt von rund 150 t Calciumlignosulfonat in die Elbe geleitet. Die Einleitung erfolgt linksseitig und ruft einen sprunghaften Anstieg des Permanganatverbrauches an diesem Ufer hervor. Wie Querschnittsuntersuchungen ergaben, erfolgt bis Dresden keine vollständige Vermischung mit dem Elbwasser (Müller, 1951). Wegen des größeren spezifischen Gewichtes der Ablauge treten vor allem bei langsam strömenden Flüssen mit niedriger Wasserführung zunächst Unterschichtungen auf, die durch eine deutliche Braunfärbung gekennzeichnet sind. Erst später erfolgt eine allmähliche Vermischung mit dem Flußwasser. Durch unvollständige Verhefung und Verspritzung der Sulfitablauge gelangen außerdem Kohlenhydrate in das Wasser, die rasch abgebaut werden und zu einem üppigen Wachstum der sog. Abwasserpilze (vor allem *Sphaerotilus natans*) führen. Entspritzte und verhefte Sulfitablauge ist praktisch eine reine 7—9%ige wässrige Lösung von Calciumlignosulfonat (CLS). CLS ist nahezu biologisch inaktiv und läßt sich noch in stärkster Verdünnung mit einfachen Methoden nachweisen (Huhn, 1961; Beuthin, 1969).

Methodik

1. CLS-Nachweis mit Trypaflavin nach Noll (1937)

Herstellung der Reagenslösung aus 0,25 g Trypaflavin, 90 ml Aqua dest. und 10 ml 25%iger Salzsäure. Man gibt 3 ml dieser Lösung in ein Reagenzglas tropft so lange Untersuchungsflüssigkeit zu, bis mit bloßem Auge eine Trübung wahrzunehmen ist. Die verbrauchte Menge enthält nach Noll rund 63 µg CLS, das noch bei einer Verdünnung von 1:48000 durch eine schwache Fällung nachweisbar ist. Bei stärkerer Verdünnung (über 3 ml verbrauchte Untersuchungsflüssigkeit) legt man besser eine 0,5%ige Reagenslösung vor. Die Methode ist zur halbquantitativen CLS-Bestimmung geeignet.

2. CLS-Nachweis mit dem Tyrosin-Reagens nach Berk und Schroeder, modifiziert nach Kleinert und Wincor (1952)

Herstellung der Tyrosin-Reagenslösung: 100 g Natriumwolframat, 20 g Phosphormolybdänsäure und 50 ml 85%ige Phosphorsäure werden in 750 ml destilliertem Wasser gelöst, 2 Std unter Rückfluß gekocht und nach dem Erkalten auf 1 Liter aufgefüllt. 50 ml der filtrierten Probe, der vorher etwa 50 mg Calgon (Natriummetaphosphat) als Enthärter zugesetzt wurden, vermischt man mit 2 ml Tyrosin-Reagens. Nach 5 min fügt man 10 ml gesättigte Natriumcarbonatlösung zu. Der sich bildende blaue Farbkomplex wird nach 30 min colorimetriert. Als Vergleich dient eine Lösung von 5 g Tannin in 1 Liter Aqua dest. Die Empfindlichkeit beträgt für Buchensulfitablaugen 1:80000, für Fichtensulfitablaugen 1:50000. Störend wirken Schwefelwasserstoff und Harn in höheren Konzentrationen. Die normalerweise im Flußwasser vorkommenden Spuren wasserdampflicher Phenole und Kohlehydrate stören die Reaktion nicht. Die Methode ist zur quantitativen CLS-Bestimmung geeignet.

Da CLS kein Handelsprodukt ist und eine geeignete Testlösung mit bekannter CLS-Konzentration zur Aufstellung von Eichkurven nicht zur Verfügung stand,

wurde die Tyrosin-Methode nur zur qualitativen Kontrolle der mit Trypaflavinlösung gewonnenen halbquantitativen Ergebnisse benutzt.

Mit den beschriebenen Methoden wurden Wasserproben von 7 Entnahmestellen flußabwärts rechts- und linkselbisch qualitativ bzw. halbquantitativ auf ihren CLS-Gehalt untersucht. Die Nachweismethoden wurden weiter geprüft, indem menschliches Serum mit Elbwasser 10:1 gemischt gegen eine reine Serumprobe gemessen wurde. Dazu mußte das Serum durch Fällen mit 20%iger Trichloressigsäure und nachfolgendem Filtrieren enteiweißt werden. Danach wurden 50 Albino-Ratten in der bei Laubegast linkes Ufer entnommenen Elbwasserprobe (CLS-Konzentration ca. 110 mg/l) prolongiert ertränkt. Das Ertränken erfolgte in der Weise, daß die Tiere in kleinen Drahtkäfigen jeweils 45 sec unter und 15 sec über Wasser, nach 5 min ständig unter Wasser gehalten wurden. Vor und nach dem Ertränken wurde das Gewicht der Ratten nach der von Porcher (1950) angegebenen Methode ermittelt. Um Verunreinigungen mit vom Fell abtropfendem Wasser zu vermeiden, wurden die Ratten vor der Entnahme von Herzblut und Organen mit scharfem Brausestrahl und destilliertem Wasser abgespült. Das gewonnene Blut wurde zentrifugiert, das überstehende Serum mit 20%iger Trichloressigsäure versetzt und filtriert. Um ausreichendes Untersuchungsmaterial zu erhalten, wurde das von jeweils 5 Ratten gewonnene Serum zu einer Probe zusammengefaßt. In gleicher Weise wurde mit Ratten verfahren, die mit CO getötet wurden und als Kontrollserien dienten. Weiterhin wurden zur Prüfung der möglichen postmortalen Flüssigkeitsdiffusion 50 mit CO getötete Ratten in ein Glasgefäß von 60 cm Tiefe gelegt, das mit dicht unterhalb der Abaugeneinmündungsstelle entnommenem Elbwasser (CLS-Konzentration ca. 300 mg/l) gefüllt wurde. Bis zum 10. Tag wurden täglich 5 Ratten aus der Wasserprobe genommen. Aus herzfernen Organen (Leber, Milz und Nieren) hergestellte Organpreßsäfte wurden auf ihren CLS-Gehalt untersucht.

Ergebnisse

Die Abbildung zeigt die linkselbisch ermittelten CLS-Konzentrationen. Die rechtselbischen Werte lagen auf der gesamten Probestrecke zwischen 10,5 und 12,1 mg/l. Das oberhalb der Sulfitabaugeneinmündungsstelle im Elbwasser bei Pirna gefundene CLS stammt aus Sulfitablaugen tschechischer Zellstoffwerke.

Der sprunghafte Konzentrationsabfall bei Dresden-Cotta ist durch die Einmündung eines kleinen Fließchens, der Weißeritz, bedingt. Zur Zeit der Probenentnahmen führte die Elbe Niedrigwasser, so daß relativ hohe CLS-Konzentrationen auftraten.

In Serum-Elbwassergemischen (10:1) konnte CLS ebenfalls eindeutig nachgewiesen werden, während im normalen Serum keine reaktionsauslösenden Substanzen zu finden waren.

Im Serum der in Laubegaster Elbwasser (CLS-Konzentration ca. 110 mg/l) ertränkten Ratten lagen die CLS-Werte zwischen 12,6 und 17,5 mg/l. Die insgesamt aufgenommene Flüssigkeitsmenge lag zwischen 6,3 und 8,4 ml pro Tier (Tabelle).

Die zur Kontrolle getesteten Seren mit CO getöteter Ratten enthielten keine reaktionsauslösenden Substanzen.

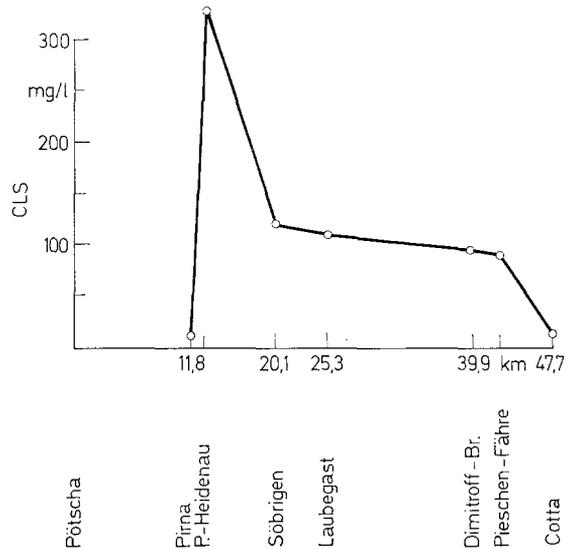


Abb. 1. CLS-Konzentration im Elbwasser (linkselbisch) Pirna-Cotta

Tabelle. Die Zahlenwerte sind das arithmetische Mittel für jeweils 5 zu einer Gruppe gehörenden Ratten. Es wurde eine 0,5%ige Trypaflavinlösung vorgelegt

Gruppe	Zeit bis zum Exitus (min)	Gewicht vor dem Ertrinken (g)	Gewicht nach dem Ertrinken (g)	Aufgenommene Ertränkungsflüssigkeit (ml)	Verbrauch an Serum (ml)	Errechnete CLS-Konz. (mg/l)
1	7,0	164,1	170,4	6,3	2,5	12,6
2	8,0	146,0	154,4	8,4	1,8	17,5
3	9,6	168,6	176,8	8,2	1,9	16,6
4	6,6	156,3	163,5	7,2	2,0	15,8
5	7,6	143,4	150,1	6,7	2,3	13,7
6	9,0	166,8	174,0	7,2	2,1	15,0
7	9,1	170,4	177,8	7,4	2,0	15,8
8	7,4	152,6	158,7	6,1	2,3	13,7
9	7,2	158,4	165,0	6,6	2,2	14,3
10	7,4	156,6	163,4	6,8	2,1	15,0

In den Organpreßsäften mittels CO getöteter und in Elbwasser höchster CLS-Konzentration gelegter Ratten konnte erst ab 10. Tag CLS in Spuren nachgewiesen werden, wobei Autolyse und Fäulnis weit fortgeschritten und Verunreinigungen trotz größter Vorsicht nicht zu vermeiden waren.

Diskussion

In den vorliegenden Untersuchungen konnte in allen Elbwasserproben Calciumlignosulfonat qualitativ und halbquantitativ nachgewiesen werden. Die ermittelten Werte lagen höher als die anderer Untersucher (Huhn, 1961), was

auf die niedrige Wasserführung der Elbe zur Zeit der Probenentnahmen zurückzuführen ist. Der Pegelstand der Elbe ist in den Sommermonaten stets niedrig, so daß in der Zeit, in welcher die meisten Ertrinkungsfälle auftreten, immer hohe CLS-Konzentrationen zu erwarten sind. Genaue Angaben über die jahreszeitlichen Schwankungen der CLS-Konzentrationen konnten von der Flußwasserdirektion Obere Elbe-Mulde nicht erhalten werden, da die CLS-Bestimmung im Elbwasser nicht routinemäßig durchgeführt wird. Bemerkenswert sind die erheblichen Differenzen zwischen den links- und rechtselbischen Werten, die mit der linkselbischen Sulfitablaugeneinleitung und zögernden Vermischung mit dem Flußwasser zu erklären sind. Die im Serum in Laubegaster Elbwasser (CLS-Konzentration ca. 110 mg/l) ertränkter Ratten gemessenen CLS-Konzentrationen lagen zwischen 12,6 und 17,5 mg/l, das sind 11,4—15,8% der ursprünglichen Flußwasserkonzentration. Bereits Lochte und Danziger (1915) unternahm Ertränkungsversuche mit Hunden und Kaninchen in Arsenik- und Jodkaliumlösungen sowie Lochte (1924) im Ca-haltigen Wasser der Reinsquelle. Anhand der im Herzblut und in den Organen gemessenen Konzentrationen der chemischen Substanzen zogen sie Rückschlüsse auf die Verteilung der Ertrinkungsflüssigkeit. Die höchsten Werte bis fast 50% der Ausgangskonzentration fanden sich dabei im Blut aus dem linken Herzen. Auch das postmortale Eindringen von Flüssigkeit in das Herzblut von Hunden, die 13 Tage in Wasser aus der Reinsquelle lagen, wurde beobachtet. Bedeutsam sind auch die Ergebnisse von Icard (1933), der beim Ertrinken im Meerwasser quantitativ Mg und spektroskopisch Sr, Ba, Br und Fl im Blut des rechten Herzens bestimmte. Alle diese Untersuchungen sind jedoch recht aufwendig und unsicher, ebenso wie die von Inouye und Uchimura (1936), die beim Ertrinken im Meerwasser eine Zunahme der Salzkonzentration im Blut feststellten und diese auf die Resorption des Salzes zurückführten.

Die in den vorliegenden Versuchen angewandten Nachweismethoden sind für CLS nicht absolut spezifisch. Störend können u. a. Phenole, Schwefelwasserstoff und Harnstoff wirken. Obwohl in den untersuchten Kontrollseren keine reaktionsauslösenden Substanzen nachweisbar waren, wird es nötig sein, spezifischere und quantitativ aussagekräftigere CLS-Nachweisverfahren anzuwenden. Mit Hilfe solcher Methoden könnten evtl. auch topographische Aussagen über den Ertrinkungsort insoweit getroffen werden, ob der Ertrinkungsort ober- oder unterhalb der Abaugeneinmündungsstelle lag. Auch muß die Möglichkeit des postmortalen Eindringens von CLS berücksichtigt werden, obwohl in den tierexperimentellen Untersuchungen mit CO-getöteten und in Elbwasser mit höchster CLS-Konzentration gelegten Ratten CLS erst ab 10. Tag in Spuren nachgewiesen werden konnte. Sulfitablaugen sind in fast allen größeren Flüssen vorhanden, so daß der CLS-Nachweis im Blut und in den Organpreßsäften vermutlich Ertrunkener als wichtiges Indiz vitalen Ertrinkens gewertet werden könnte.

Literatur

- Benthin, A.: Der Nachweis des Calciumlignosulfonat im Blut und in den Organpreßsäften ertrunkener Ratten als Zeichen vitalen Ertrinkens. Med. Diss., Med. Akad. „Carl Gustav Carus“ Dresden 1969.
- Huhn, W.: Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung und zum Abbau von Calciumlignosulfonat im Flußwasser. Dipl.-Arb. TU Dresden 1961.

- Icard, S.: La preuve de la mort par submersion suivant qu'elle a eu lieu dans une rivière ou dans la mer. *Rev. Path. comp.* **32**, 559 (1932).
- Inouye, T., Uchimura, K.: Zur Frage der Konzentrationsänderung des Blutes beim Ertrinken im Meerwasser. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **26**, 355 (1936).
- Kleinert, Th., Wincor, W.: Zur Bestimmung von Sulfitablaugen in Wässern. *Papier* **6**, 513 (1952).
- Lehmann, K.: Über die Bedeutung der Persorption großkorpuskulärer Elemente beim Tod durch Ertrinken. Vortrag auf der II. Tagung der Gesellschaft für gerichtl. Medizin der DDR in Dresden 1969.
- Lochte, Th.: Über die Verwertung der chemischen Analyse des Herzmuskels für die Diagnose des Todes durch Ertrinken und Verschütten. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **3**, 550 (1924).
- Danziger, E.: Studien über den Ertrinkungstod. *Vjschr. gerichtl. Med.* **49**, 221 (1915).
- Müller, J.: Bedeutung und Auswirkung einseitiger Vorfluterbelastung. *Gesundheitsing.* **72**, 398 (1951).
- Noll, A.: Über den Nachweis von Ligosulfiten in Buchen- und Fichtenholzablaugen. *Papierfabrikant* **1937**, 41.
- Porcher, L.: Wie groß ist die Menge des aspirierten Wassers beim Ertrinkungstod? *Med. Diss. Heidelberg* 1950.
- Reh, H.: Zur Diatomeenfrage. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **63**, 131 (1968).
- Rommeney, G., Kloos, K., Gerloff, J., Geissler, U.: Diatomeenfunde in menschlichen Organen, in der Luft und im Wasser. *An den Grenzen von Med. u. Recht* **1966**, 148.
- Spitz, W. U.: Diagnose des Ertrinkungstodes durch den Diatomeen-Nachweis in Organen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **54**, 42 (1963).

Dr. med. K. Lehmann
Dr. med. A. Beuthin
Institut für gerichtliche Medizin
der Med. Akad. „Carl Gustav Carus“ Dresden
X-8019 Dresden, Fetscherstr. 74