

## Eine verbesserte Methode zum Diatomeen-Nachweis

H. UDERMANN und G. SCHUHMANN

Institut für gerichtliche Medizin der Universität Graz (Österreich)

Eingegangen am 6. Januar 1975

An Improved Method for Detection of Diatoms

*Summary:* An improved method for detection of diatoms in case of drowning is reported.

The sample is digested with nitric acid. In order to avoid destructions of diatoms as well as losses by centrifugation etc. the time for wet digestion was reduced and the digest solution is filtered through a membrane filter. Fatty material is removed by alternate washing the filter with 2-Propanol and Petroleum ether. Following the wet digestion of the filter, aliquots of this digest solution are filtered and the filter is examined microscopically.

As the recommended procedure is less time consuming and yields almost complete recovery of diatoms the method has great probative value in case of death by drowning.

*Zusammenfassung:* Es wird über eine verbesserte Methode des Diatomeennachweises berichtet. Ihr Prinzip ist die praktisch verlustlose Kieselalgenengewinnung aus dem Untersuchungsmaterial durch Aufschluß, Ultrafiltration und anschließenden mikroskopischen Nachweis der Diatomeen im Filter selbst. Der innerhalb kurzer Zeit mögliche Nachweis relativ reichlicher Mengen von Kieselalgenskeletten in den Organen des großen Kreislaufes besitzt hohe Beweiskraft für die Diagnose des Ertrinkungstodes.

*Key words:* Diatomeennachweis, Organaufschluß - Ertrinken, Diatomeennachweis - Tod durch Ertrinken

Die hohe gerichtsmedizinische Bedeutung des Todes durch Ertrinken geht ebenso aus der sehr umfangreichen Literatur wie auch aus den Zahlen im Obduktionsgut einzelner Institute hervor. REH, der die einschlägige Literatur bis 1969 zusammengestellt hat, berichtet aus Düsseldorf über 365 Wasserleichen während des Zeitraumes von 1955 bis 1965.

Im gerichtsmedizinischen Institut Graz wurden von 1964 bis 1974 150 Wasserleichen obduziert. Hiervon waren 142 Ertrinkungsfälle.

Die Schwierigkeit, den an der Leiche erhobenen und im allgemeinen charakteristischen Befund des Ertrinkungstodes durch Laboruntersuchungen zu stützen, wird von zahlreichen Autoren (z.B. MUELLER sowie REH) hervorgehoben, wobei letztlich wohl eine ausgewogene, auf den Einzelfall abgestimmte Zusammenschau des anat-

mischen Befundes und der verschiedenen Labormethoden anzustreben ist.

Aus der Vielzahl klassischer und neuerer Untersuchungsmethoden, die bei gebotener kritischer Bewertung geeignet scheinen, für die gerichtsmedizinische Praxis schnelle und doch brauchbare Werte zu liefern, welche die Todesursache "Ertrinken" bestätigen, hat sich uns der Nachweis von Diatomeen im Organismus als aussagekräftiger Teil des Untersuchungsspektrums erwiesen.

Ausgehend von der Überlegung, daß insbesondere die geringe Zahl der resorbierten Kieselalgen und die dadurch bedingte Nachweisschwierigkeit Kritik hervorrief (REH), erarbeiteten wir eine Methode, die den Nachweis in den Organen des großen Kreislaufs - vor allem Leber, Niere und Knochenmark - schnell, schonend und mit optimaler Ausbeute ermöglicht. Durch eine Modifikation der bereits bekannten Veraschungsmethoden (WEINIG und PFANZ; BURGER; WIECZOREK; JAÄKSELAINEN) mit anschließender Konzentration des Organaufschlusses mittels Membranfilters (ähnlich MÖTTÖNEN und RAVANKO) erreichten wir einen zwar nicht vollständigen, aber doch ausreichenden Aufschluß (STAAK). Es zeigte sich nämlich, daß ein vollständiger Organaufschluß zur Zerstörung einer beträchtlichen Anzahl von Diatomeen führt (siehe auch WIECZOREK; BUHTZ) und zur Differenzierung auch gar nicht notwendig ist, da die Diatomeen bei unserem Verfahren nicht zu übersehen sind.

#### METHODE

10-20 Gramm schwere Proben von Leber, Knochenmark, Milz, Niere etc. (Entnahme und Verarbeitung unter den bekannten Kautelen zur Vermeidung sekundärer Einbringung von Diatomeen) werden in einem 250 ml Rundkolben mit gleicher Menge eines Säuregemisches (gleiche Volumenteile konzentrierte Salpetersäure und rauchende Salpetersäure) übergossen und 15 bis 20 Minuten am Rückflußkühler mit Destillieraufsatz gekocht, bis mit freiem Auge keine Organpartikelchen mehr zu sehen sind. Nach Verdünnung mit ca. 100 ml Wasser läßt man abkühlen und filtriert durch ein ins Ganzglasfiltrationsgerät eingelegtes Membranfilter aus Zellulosenitrat (25 mm Durchmesser, Porengröße 1,2 µm) unter Anwendung von Vakuum. Bei der Filtration ist darauf zu achten, daß möglichst der größte Teil des sich beim Abkühlen der Lösung abscheidenden fett- bis wachsartigen Materials im Rundkolben verbleibt. Es löst sich meist vollständig beim anschließenden Ausspülen mit Isopropanol und nachfolgend mit Petroläther. Falls noch ungelöstes Material zurückbleibt, wird der Spülvorgang wiederholt.

Isopropanol- bzw. Petrolätherphasen werden ebenfalls durch das Membranfilter gesaugt. Spülen mit Isopropanol und Petroläther empfiehlt sich auch, wenn auf dem Filter fett- bis wachsartiges Material angesammelt ist und die Poren verstopfen.

Das trockene Membranfilter wird in einem kleinen Rundkolben mit 5-10 ml konzentrierter Salpetersäure oder Säuregemisch übergossen und 5-10 Minuten am Rückflußkühler bis zu seiner Auflösung gekocht. Hierauf wird mit destilliertem Wasser auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und ein aliquoter Teil (2,5 Gramm oder 5 Gramm Organmaterial entsprechend) durch ein zweites Membranfilter wie oben angegeben filtriert.

Nach Spülen mit Isopropanol und Petroläther wird das trockene Filter mit Immersionsöl oder Sandelholzöl transparent gemacht und im Phasenkontrastmikroskop untersucht.

Bei der Untersuchung von Lungengewebe werden nur 0,5 - 1 Gramm schwere Proben entnommen. Diese werden in einem 50 ml Rundkolben mit 10 ml Säuregemisch übergossen und am Rückflußkühler 10-15 Minuten gekocht, bis das Organmaterial bei Betrachtung mit freiem Auge vollständig in Lösung gegangen ist. Es wird hierauf weiter verfahren wie bei der Methode für die Organe des großen Kreislaufes. Bei Vorliegen von reichlich anthrakotischem Material erfordert die Veraschung des Filters unter Umständen die weitere Zugabe von Salpetersäure.

## ERGEBNISSE

Bei Anwendung unseres Verfahrens gelangten bei der mikroskopischen Untersuchung in Fällen von sicherem Ertrinkungstod (Suchvergrößerung 200-fach, Identifizierung 400-fach) nahezu in jedem Blickfeld eine, meist aber mehrere (bis zu fünf) Diatomeen zur Ansicht. In den einzelnen Präparaten beliefen sich die Diatomeenzahlen bis zu 250 entsprechend 5 Gramm Organmaterial des großen Kreislaufes bzw. bis zu 800 entsprechend 1 Gramm Lungengewebe.

In Fällen aus dem Wasser geborgener Leichen, bei denen der Ertrinkungstod schon aus den Umständen ausgeschlossen werden konnte (z.B. Verkehrsunfall, Dekapitation durch Sprengstoffexplosion, Tod durch Unterkühlung) wurden bei kurzer Wasserzeit nur einzelne Diatomeen gefunden. Gleichartige Ergebnisse zeigten sich an unausgewählten Leichen - aus den von SPITZ u.a. angegebenen Gründen Diatomeen enthaltend - aus unserem Obduktionsgut, wo in keinem Fall höhere Diatomeenzahlen also 2 - 3 pro 5 Gramm Leber nachgewiesen wurden.

Durch die hohe Zahl der gefundenen Diatomeen konnte in der Mehrzahl der Fälle auch ein Vergleich mit den Schwebstoffen der Ertrinkungsflüssigkeit angestellt werden, der ausreichende Übereinstimmungen ergab.

Der Nachweis von größeren Partikeln gelang im Einklang mit bereits bekannten Ergebnissen nicht und bedürfte wohl weiterer Bearbeitung.

## DISKUSSION

Nach unseren Untersuchungsergebnissen ist der Diatomeennachweis nach wie vor ein unentbehrlicher Bestandteil in der Diagnostik des Ertrinkungstodes.

Die angegebene Methode erlaubt mit relativ geringen Mitteln einen raschen und wegen der starken Konzentration des Untersuchungsmaterial problemlosen Nachweis praktisch aller vorhandenen Diatomeen.

Deutlichste Unterschiede der Diatomeenzahlen in Organen Ertrunkener und Nichtertrunkener geben den Befunden hohe Beweiskraft.

Die Vorgangsweise schließt falsch positive Resultate durch sterile Probenentnahme, geschlossene Apparatur und auf Reinheit geprüfte Reagenzien praktisch aus. Da das gesamte Untersuchungsmaterial quantitativ filtriert wird, können Verluste, wie sie beim Zentrifugieren und Absaugen auftreten, nicht entstehen. Auch Diatomeen, die sich im Fettanteil der Proben ansammeln, werden vollständig erfaßt.

Wegen der kurzen Aufarbeitungszeit (maximal 30 - 60 Minuten) tritt kaum eine Zerstörung der Kieselskelette ein, was sich in der hohen Zahl der nachgewiesenen Individuen ausdrückt.

In fast allen untersuchten Fällen gelang der Nachweis schon mit einem solchen Teil der Aufschlußflüssigkeit, der bei Leber etc. einem Organgewicht von 2 - 5 g, bei Lunge 250 - 500 mg entsprach.

Bei Verwendung größerer Mengen von Aufschlußmaterial wird der Unterschied zwischen der hohen Zahl gefundener Diatomeen im positiven Fall und ihrer verschwindend geringen Zahl im negativen Fall zunehmend deutlicher.

#### LITERATUR

- BUHTZ, G., BURKHARDT, W.: Die Feststellung des Ertränkungsortes aus dem Diatomeenbefund der Lungen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 29, 469 (1938)
- BURGER, E.: Zur Frage des Beweiswertes für das Auffinden von Diatomeen im großen Kreislauf. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 64, 21 (1968)
- JAÄKSELAINEN, A.J.: Diatomeenbefunde in Wasserleichen. Eine neue Methode zur quantitativen Messung d. Diatomeen im Organismus. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 61, 41 (1967)
- MÖTTÖNEN, M., RAVANKO, O.: Nachweis des Todes durch Ertrinken mittels im Blut gefundener fremder Pflanzenelemente. Z. Rechtsmedizin 68, 261 (1971)
- MUELLER, B.: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer, 1953
- REH, H.: Die Diagnostik des Ertrinkungstodes und Bestimmung der Wasserzeit. Düsseldorf: Michael Triltsch, 1969
- SPITZ, W.U.: Diagnose des Ertrinkungstodes durch den Diatomeen-Nachweis in Organen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 54, 42 (1963)
- STAAK, M.: Kritische Bemerkungen zur Spezifität des Diatomeen-Nachweises. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 63, 122 (1968)
- WEINIG, E., PFANZ, H.: Zur Diagnostik des Ertrinkungstodes durch den Nachweis von Diatomeen im "optisch leeren" Gewebsschnitt. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 40, 664 (1951)
- WIECZOREK, H.: Ein verbessertes Aufschlußverfahren zum Nachweis von Diatomeen, vor allem in Organteilen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 63, 129 (1968)

Dr. H. UDERMANN  
Inst. f. gerichtl. Med. d. Univ.  
A-8020 Graz  
Universitätsplatz 4