

Cyanidverluste bei der Aufbewahrung von Blutproben*

S. Goenechea

Institut für Rechtsmedizin der Universität Bonn, Stiftsplatz 12, D-5300 Bonn 1,
Bundesrepublik Deutschland

Hydrogen Cyanide: Losses in Samples of Stored Blood

Summary. Blood samples were mixed with known quantities of KCN and, after various storage times, analysed for the cyanide content. In native blood the losses occurring under the same storage conditions showed an extremely wide variation. In heparinized blood, on the other hand, much better results were obtained. Blood samples containing no anticoagulant should be homogenized as thoroughly as possible prior to the analysis, e.g. by means of ultrasound treatment.

Key word: Cyanide losses, in blood samples

Zusammenfassung. Blutproben wurden mit bekannten Mengen KCN versetzt und nach verschiedenen Aufbewahrungszeiten auf den Cyanidgehalt untersucht. Mit nativem Blut waren die Verluste, die unter den gleichen Aufbewahrungsbedingungen auftraten, extrem unterschiedlich. Im heparinisierten Blut dagegen wurden viel bessere Ergebnisse erhalten. Blutproben, die kein Antigerinnungsmittel enthalten, sollten vor der Analyse möglichst homogen gemacht werden, z. B. durch Ultraschallbehandlung.

Schlüsselwort: Cyanidverluste, in Blutproben

Verzögerungen bei der Durchführung der chemischen Analyse oder bei Entnahme der Proben bei Leichen führen bekanntlich zu erheblichen Cyanidverlusten in den Untersuchungsmaterialien (Ballantyne et al. 1973, 1974; Bonnicksen et al. 1966; Curry 1963, 1969; Ioanid et al. 1961).

Versuche in vitro haben ergeben: 1 h nach Zugabe bekannter Kaliumcyanidmengen zu menschlichem Serum sowie zu Seren von Kaninchen waren nur 31–33% der zugesetzten Menge Cyanid auffindbar. Die Verluste im Blut waren viel geringer; unter den gleichen Bedingungen wurden hier 67–83% wiedergefunden (Ballantyne et al. 1973).

* Auszugsweise vorgetragen anlässlich der 59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Heidelberg, September 1980

Blutspender	Überstand	Blutkuchen
1	29,1%	117,0%
2	42,8%	—
3	25,1%	86,5%
4	32,3%	98,1%
5	30,6%	138,8%

Tabelle 1. Wiederfindungsrate von KCN in nativem Blut. Blutkuchen- und Überstandswerte 24 h nach Zusatz

Wir haben die Wiederfindungsrate von Cyanid in Blutproben, denen bekannte Mengen KCN zugeführt wurden, in Abhängigkeit von der Aufbewahrungszeit untersucht.

In einer Versuchsreihe wurde natives, in einer anderen heparinisierendes Blut verwendet. Bei der ersten Versuchsserie wurden — nach 24 h — Überstand und Blutkuchen (letzterer nach Ultraschallbehandlung) getrennt untersucht.

Arbeitsmethodik

Versuchsserie 1: Blutproben, denen Natriumheparinat zugesetzt wurde, wurden mit einer bekannten Menge Kaliumcyanid (entsprechend 5,0 mg pro Liter) versetzt. Nach ründlicher Durchmischung wurden daraus — je nach vorhandener Blutmenge — fünf bis sieben gleiche Proben gemacht. Eine Probe wurde sofort untersucht und so der Cyanidgehalt kontrolliert. Die anderen Proben wurden in verschiedenen Verschußkappenröhrchen (mit Gummiverschlüssen) bei 25°C, andere Proben in Glasgefäßen mit Schliff bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Die Proben wurden dann nach verschiedenen Zeitabständen (siehe Tabelle 3) untersucht.

Versuchsserie 2: Hier wurde natives Blut verwendet. Die Versuchsanordnung war mit der der Versuchsserie 1 identisch. Die Analyse der Blutproben erfolgte hier nach Beschallung der Proben. Allerdings wurden nach 24stündiger Aufbewahrung Überstand und Blutkuchen (nach Ultraschallbehandlung) getrennt untersucht.

Cyanidbestimmung

Sie erfolgte nach der Methode von Feldstein und Klendshoj (1955). Die Proben wurden vor der Analyse in der Conway-Schale 1:1 mit dest. Wasser verdünnt.

Für die spektralphotometrische Messung wurde ein Leitz-Unicam-Spektralphotometer SP 800 B benutzt.

Die angegebenen Konzentrationen sind jeweils Mittelwerte aus zwei Bestimmungen.

Ergebnisse und Diskussion

Bei einer Aufbewahrungszeit von 2 h (bei 25°C) wurden in nativem Blut mehr als 90% des zugesetzten Cyanids wiedergefunden; die Ergebnisse von Ballantyne et al. (1973) — nach 1stündiger Aufbewahrungszeit — konnten somit nicht bestätigt werden. Aus diesem Grunde wurde auf die Durchführung weiterer Untersuchungen dieser Art verzichtet.

Vierundzwanzig Stunden nach Zusatz von Cyanid zu nativem Blut wurden in dem Überstand (mehr oder weniger hämolytisches Serum) zwischen 29% und 43%

Tabelle 2. Wiederfindungsrate von Cyanid im nativen Blut in Abhängigkeit von der Aufbewahrungszeit

Blutspender	24 h	5 Tage	7 Tage	14 Tage	20 Tage	29 Tage
1	71,8%	61,4%	—	73,2%	—	16,7%
2	95,6%	87,5%	—	82,7%	—	23,1%
3	82,0%	—	56,3%	25,5%	20,9%	—
4	—	—	93,5%	75,2%	—	—
5	62,0%	—	66,6%	33,4%	44,8%	—

Tabelle 3. Wiederfindungsrate von KCN in heparinisiertem Blut

Blutspender	2 h ^a	24 h ^a	24 h ^b	4 Wochen ^b	6 Wochen ^b
1	89,2%	89,2%	—	—	—
2	91,0%	—	—	—	—
3	95,7%	91,4%	—	—	—
4	—	92,5%	—	—	—
5	—	—	94,9%	36,6%	19,3%
6	—	—	90,3%	36,6%	17,0%
7	—	—	83,1%	38,3%	7,7%

^a Raumtemperatur in Röhrchen mit Glasschliff

^b 25°C in Verschlusskappen-Röhrchen

wiedergefunden, während im Blutkuchen in zwei Fällen mehr als 100% Wiederfindung ermittelt wurde (Tabelle 1).

Die unterschiedlichen Wiederfindungsraten zwischen Seren- und Blutproben werden auf die hohe Affinität des Cyanids zu den Erythrozyten zurückgeführt (Ballantyne et al. 1973). Über die starke Bindung des Cyanids an den Erythrozyten ist mehrfach berichtet worden (Barr 1966; Sunshine et al. 1964); deshalb wird bei Verdacht auf Intoxikation mit Cyanid die Untersuchung von Blut anstelle von Serum oder Plasma empfohlen (Ballantyne et al. 1970, 1973; Barr 1966).

Auch Blutkuchen ist ebensowenig als Untersuchungsmaterial geeignet, denn hier können zu hohe Werte auftreten.

Tabelle 2 zeigt die Untersuchungsergebnisse mit nativem Blut; die Proben wurden vor der Analyse beschallt. Allerdings wurden die Werte nach 24stündiger Aufbewahrung aus den gefundenen Konzentrationen in Überstand und Blutkuchen errechnet.

Auffallend sind die extrem unterschiedlichen Wiederfindungsraten, die unter gleichen Aufbewahrungsbedingungen in den verschiedenen Blutproben ermittelt wurden. Sie lassen keinerlei Gesetzmäßigkeit erkennen.

Wir sehen hier nach 24stündiger Aufbewahrung eine Wiederfindungsrate von 62% in einer Probe und von fast 96% in einer anderen.

Nach 14tägiger Aufbewahrung betrug die Wiederfindung in einem Fall 25%, in einem anderen 33% und schließlich in einer dritten Probe fast 83%.

Diese Diskrepanz beruht z. T. darauf, daß bei der Beschallung eine vollständige Verflüssigung des Blutes nicht immer gelingt.

Aus einem solchen Material ist es sehr schwierig, eine homogene Probe für die Analyse zu gewinnen; es werden unterschiedliche Mengen an Blutkuchenanteilen mitgeschleppt, und diese beeinträchtigen ganz erheblich die Analysenergebnisse.

Das mag auch eine Erklärung dafür sein, daß in einer Probe, z. B. der von Blutspender 1 (Tabelle 2), nach 14tägiger Aufbewahrung mehr Cyanid gefunden wurde als in der Probe desselben Spenders nach einer Aufbewahrungszeit von 5 Tagen.

Mangel an Homogenität der Analysenproben führt jedenfalls zu einer Verfälschung der Analysenergebnisse. Derartig große Unterschiede bei der Wiederfindung wie die hier festgestellten sind allerdings sicher nicht ausschließlich darauf zurückzuführen.

Cyanidverluste entstehen durch Verflüchtigung von Cyanwasserstoff (bei unserer Versuchsanordnung so gut wie ausgeschlossen), durch ihre Umwandlung in Thiocyanat (Ballantyne et al. 1973; Ioanid et al. 1961), durch Reaktion mit Aldehyden — vor allem mit Zuckern wie Glucose — und durch Bildung von Ammoniumsulfid (Reaktion mit H_2S) oder Reaktion mit Polysulfiden und HCl unter Bildung von NH_4Cl sowie durch Hydrolyse, wobei Ammoniumformiat entsteht (Ioanid et al. 1961).

Viel zuverlässigere Ergebnisse wurden bei der Cyanidbestimmung im heparinisierten Blut erzielt. In Tabelle 3 sind die Wiederfindungsraten der Versuchsserie 1 wiedergegeben. Hier sieht man, daß trotz unterschiedlicher Aufbewahrungstemperatur (Raumtemperatur und $25^\circ C$) und trotz verschiedenartiger Aufbewahrungsgefäße die Analysenergebnisse bei weitem nicht so streuen wie bei den Versuchen mit nativem Blut.

Nach 24stündiger Aufbewahrung betrug hier die Wiederfindungsrate zwischen etwa 83% und knapp 95%.

Die Ergebnisse mit heparinisiertem Blut belegen die Feststellung von Barr (1966), der den Zusatz von EDTA zu Blut empfiehlt.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben erneut bestätigt, daß bei Verdacht auf Cyanidvergiftung die chemische Analyse möglichst schnell durchgeführt werden soll. Sie bestätigen auch, daß Blut und nicht Serum oder Plasma das Material der Wahl ist. Der Heparinzusatz hat sich als sehr vorteilhaft erwiesen; dies sollte bei fraglichen Intoxikationsfällen unbedingt berücksichtigt werden. Blutproben, die das Antigerinnungsmittel nicht enthalten, sollen vor der Untersuchung, z. B. durch Ultraschallbehandlung, möglichst homogen gemacht werden.

Literatur

- Ballantyne B, Bright J, Williams P (1970) Levels of cyanide in whole blood and serum following lethal intramuscular injections to experimental mammals. *Med Sci Law* 10:225–228
- Ballantyne B, Bright J, Williams P (1973) An experimental assessment of decreases in measurable cyanide levels in biological fluids. *J Forensic Sci Soc* 13:111–117
- Ballantyne B, Bright JE, Williams P (1974) The post-mortem rate of transformation of cyanide. *Forens Sci* 3:71–76
- Barr S (1966) The microdetermination of cyanide. Its application to the analysis of whole blood. *Analyst* 91:268–272

- Bonnichsen R, Maehly AC (1966) Poisoning with volatile compounds. III. Hydrocyanic acid. *J Forens Sci* 11:516-528
- Curry AS (1963) Cyanide poisoning. *Acta Pharmacol Toxicol* 20:291-294
- Curry A (1969) *Poison detection in human organs*, 2nd ed. Thomas, Springfield, Ill
- Feldstein M, Klendshoj NC (1955) The determination of cyanide in biological fluids by micro-diffusion analysis. *Can J Med Technol* 17:29-32
- Ioanid N, Bors G (1961) Contribution chimico-judiciaire à l'étude des empoisonnements par l'acide cianidrique. *Ann Méd Lég* 41:275-279
- Sunshine I, Finkle B (1964) The necessity for tissue studies in fatal cyanide poisonings. *Int Arch Gewerbepathol Gewerbehyg* 20:558-561

Eingegangen am 27. Januar 1981