

## **Bedeutung des Fäulnisbakteriums *Clostridium sordellii* für die Leichenaltersbestimmung\***

**T. Daldrup und W. Huckenbeck**

Institut für Rechtsmedizin der Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, D-4000 Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland

### **Significance of the Putrefier *Clostridium sordellii* for the Determination of Postmortal Interval**

**Summary.** The method of determining postmortal interval by means of the content of ABU, GABA and GLU in putrefied postmortem brain is based on the speed of spreading, the metabolism and the growth of certain clostridia. The experiments have shown that the fecal bacteria can reach the brain in a few days. The significance of this temperature-dependent invasion ability of the bacteria for the determination of the age of the corpse is discussed.

**Key words:** *Clostridium sordellii* - Putrefaction - Time of death, putrefaction

**Zusammenfassung.** Die Methode zur Bestimmung des Leichenalters anhand der Gehalte an ABU, GABA und GLU im faulenden Leichengehirn beruht auf Stoffwechsel, Wachstum und Ausbreitungsvermögen gewisser Clostridien. Es konnte gezeigt werden, daß Keime der Darmflora das Gehirn in wenigen Tagen erreichen können. Die Bedeutung dieses von der Temperatur abhängigen Wandervermögens der Bakterien für die Leichenaltersbestimmung wird diskutiert.

**Schlüsselwörter:** *Clostridium sordellii* - Fäulnis - Leichenaltersbestimmung, Fäulnis

Mit Beginn der Fäulnis wird in verschiedenen Leichenorganen ein zeitabhängiger Anstieg der Aminosäuren  $\alpha$ -Aminobuttersäure (=ABU),  $\gamma$ -Aminobuttersäure (=GABA) und  $\delta$ -Aminovaleriansäure (=AVA) beobachtet [1]. Es handelt sich bei diesen Aminosäuren um Stoffwechselprodukte bestimmter, meist anaerober Bakterien. Bisher ist es nur von einigen Clostridienspezies bekannt, daß sie ABU, GABA und AVA nebeneinander bilden können (Tabelle 1). Bakteriologische Untersuchungen des Leichengehirns konnten zeigen, daß mit dem Auftreten entsprechender Clostridien erst nach einem längeren postmortalen

\* Herrn Prof. Dr. H. Schweitzer zum 65. Geburtstag gewidmet  
Sonderdruckanfragen an: Priv.-Doz. Dr. T. Daldrup (Adresse siehe oben)

Spezies	Literatur
<i>Cl. bifermentans</i>	[2, 8]
<i>Cl. botulinum</i> (A, B)	[2, 8]
<i>Cl. caloritolerans</i>	[8]
<i>Cl. chauverii</i>	[2]
<i>Cl. cochlearium</i>	[8]
<i>Cl. difficile</i>	[8]
<i>Cl. sordellii</i>	[2, 8]
<i>Cl. sporogenes</i>	[2, 8]

**Tabelle 1.** Clostridienspezies, die aus Aminosäurelösungen ABU, GABA und AVA freisetzen

Intervall gerechnet werden kann [2, 3]. Die in der Leiche angetroffenen Anaerobier müssen in der Mehrzahl der Fälle der Darmflora zugerechnet werden [4]. Mit der vorliegenden Arbeit soll das Wandervermögen der Clostridien am Beispiel von *Clostridium sordellii* näher untersucht werden. Insbesondere gilt zu klären, ob ein direkter Zusammenhang zwischen deren Wanderungsgeschwindigkeit und dem Zeitpunkt des Nachweises von ABU, GABA und AVA im Leichengehirn besteht. Letzteres wäre für die Leichenaltersbestimmung von Bedeutung [5].

## Material und Methode

### *Bakteriologische Untersuchung*

Der für diese Untersuchung verwendete *Clostridium sordellii*-Stamm wurde aus einem faulenden Leichengehirn abgeimpft. Die Identifizierung erfolgte durch die Institute für Medizinische Mikrobiologie der Universität Düsseldorf (Direktor Prof. Dr. Naumann) und der Universität Essen (Direktor Prof. Dr. Linzenmeier).

### *Anzüchtung von Clostridium sordellii*

Die Anzüchtung der Clostridien erfolgte in TVLS-Bouillon bzw. in Thioglykolat-Bouillon über 20 Std bei 37°C mit dem Gas-Pack-System der Firma BBL. Die Bouillons wurden uns vom Institut für Medizinische Mikrobiologie der hiesigen Universität zur Verfügung gestellt.

### *Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit*

Zur Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit von *Clostridium sordellii* wurden Infusionsbestecke (Pfrimmer R71 Plus) unter sterilen Bedingungen mit verschiedenen Nährbouillons vollständig und blasenfrei beschickt. Die im Tropfzähler stehende Bouillon wurde mit einer definierten Menge Bakteriensuspension beimpft und die Bestecke mit sterilen Kappen verschlossen. Der ca. 2 m lange Infusionsschlauch wurde, um ein Abknicken zu verhindern, spiralförmig zurechtgelegt. Die so präparierten Infusionsbestecke wurden in Kunststoffhüllen eingeschweißt und unter Lichtabschluß in Wasserbädern temperiert.

Als Nährbouillons wurden sowohl der Inhalt aus Blutkulturflaschen (TSB-Roche und Anaer-Hemocult-Pasteur) als auch TVLS-Bouillon eingesetzt. Letztere wurde zur Entfernung des Sauerstoffs vor dem Einfüllen in die Infusionsbestecke 15 min im Ultraschallbad mit Stickstoff gespült. Die Reaktionszeiten und -temperaturen sind den jeweiligen Abbildungen direkt zu entnehmen.

Zur Bestimmung der Ausbreitungsdistanz wurden die Infusionsschläuche mittels Gefäßklammern in 10 cm Segmente unterteilt. Unter Verwendung von sterilen Kapillarpipetten wurde beginnend am Schlauchende aus jedem Teilabschnitt zentimeterweise Nährbouillon entnommen und durch mikroskopische Untersuchungen (hängender Tropfen) der Ort der maximalen Ausbreitung der Clostridien bestimmt. Pro Versuch wurde ein präpariertes Infusionsbesteck benötigt.

#### *Bestimmung der Entfernung Darm-Gehirn*

Um eine Vorstellung von der Entfernung Darm-Gehirn zu erhalten, wurde an 10 Leichen (vier Frauen, sechs Männer) das arterielle Gefäßsystem zwischen Colon transversum und Schädelbasis vermessen.

### **Ergebnisse und Diskussion**

Mit der hier beschriebenen Versuchsanordnung läßt sich das Wandervermögen von Bakterien quantitativ sehr exakt bestimmen. Diese Versuche mit einem Vertreter der anaeroben Darmflora sollten klären, ob derartige Keime grundsätzlich in der Lage sind, eine Entfernung Darm-Gehirn in wenigen Tagen aktiv zu überwinden. Eventuelle passive Ausbreitung z. B. durch postmortale Blutverschiebung in Gefäßen, wie sie von Reinhardt und Zink [6] beschrieben wurden, blieben hierbei unberücksichtigt. Die Vermessung der arteriellen Gefäßsysteme zwischen Darm und Gehirn an 10 Leichen ergab eine mittlere Länge von 67,4 cm (Bereich 65–70 cm). Die Darmbakterien, die sich postmortal über die arteriellen Gefäße ausbreiten, müssen demnach eine Strecke von mindestens 65–70 cm zurücklegen, um das Gehirn zu infizieren.

Als Medien zur Bestimmung der Ausbreitung wurden aus praktischen Erwägungen künstliche Nährbouillons gewählt. Vorversuche mit frisch entnommenem Humanblut hatten zu keinen brauchbaren Ergebnissen geführt. Insbesondere bei den Langzeitversuchen wurde Fremdkeimwachstum beobachtet, so daß Fehler bei der mikroskopischen Untersuchung nicht ausgeschlossen werden konnten.

Der Abb. 1 ist zu entnehmen, daß die bakterielle Ausbreitung nicht unerheblich vom Nährmedium abhängig ist. So zeigt sich, daß die Bakterien in der nährstoffreichen TVLS-Bouillon bei einer Temperatur von 22°C bereits nach 72 Std eine Entfernung von über 110 cm zurückgelegt haben, während sie in den Nährmedien aus den Blutkulturflaschen zum Teil deutlich zurückblieben.

Einen wesentlichen Einfluß auf das Wandervermögen der Bakterien hat auch die Temperatur. Abbildung 2 zeigt die Ergebnisse eines 5 Tage dauernden Versuches bei 18°C, 22°C bzw. 28°C. Diese Temperaturen wurden gewählt, um Anhaltspunkte für die Ausbreitung der Bakterien in Leichen, die in warmer Umgebung gelegen hatten, zu erhalten. Die Messung wurde in TSB-Rocher-Bouillon durchgeführt. Es zeigt sich, daß die Wanderungsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur zunimmt.

Der Einfluß von niedrigen Temperaturen wurde in einem weiteren Versuch geprüft. Hier wurde jeweils für eine Temperatur und eine Reaktionszeit in drei verschiedenen Nährmedien die maximale Ausbreitung bestimmt. Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

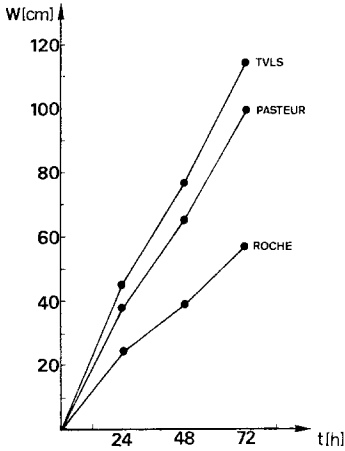


Abb. 1. Ausbreitung von *Clostridium sordellii* in Abhängigkeit von Nährmedium und Zeit bei 22°C

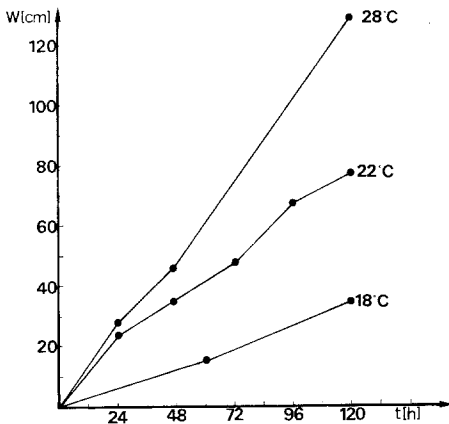


Abb. 2. Ausbreitung von *Clostridium sordellii* in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit. Nährmedium: TSB-Roche-Bouillon.

Bei einer Temperatur von 14°C und einer Reaktionszeit von 120 Std wurde eine Distanz von 120 cm (TVLS) bzw. 110 cm (Pasteur) bzw. 40 cm (Roche) von den Bakterien überbrückt. Bei 4°C und 240 Std Reaktionszeit lagen die entsprechenden Distanzen bei 15 cm, 12 cm bzw. 7 cm.

Man muß demnach bei 14°C noch mit einer deutlichen, bei 4°C mit einer minimalen Bakterienausbreitung rechnen. Vergleichbare Untersuchungen aus der Literatur sind uns nicht bekannt geworden. Hinweise, daß sich die Clostridien postmortal in der Leiche ausbreiten, zeigen die von Helmke [4] erhaltenen Befunde. Auch die von Burn [7] beschriebenen Faulversuche mit Meerschweinchen ergeben Hinweise auf die Abhängigkeit des Wandervermögens von Clostridien von der Temperatur und der Zeit. Bei den unter 10°C gelagerten Meerschweinchenkadavern erhielt er bei der bakteriologischen Untersuchung ver-

schiedener Organe keine positiven Befunde, während die Anzahl positiver Befunde bei einer Temperaturerhöhung auf 25°C in Abhängigkeit von der Liegezeit anstieg.

Die vorliegende Untersuchung über die Ausbreitung von *Clostridium sordellii* belegt, daß bestimmte Darmbakterien grundsätzlich in der Lage sind, bei entsprechenden Temperaturen das Gehirn einer Leiche in wenigen Tagen zu infizieren. Dieser Zeitintervall korreliert sehr gut mit gemachten Beobachtungen, wonach erst nach einem Intervall von ca. 4 Tagen mit dem Anstieg der bakteriellen Stoffwechselprodukte ABU, GABA und AVA im Gehirn gerechnet werden kann. Aus dem Gehalt dieser Aminosäuren und dem Gehalt an Glutaminsäure im Gehirn läßt sich das Leichenalter berechnen [5]. Die Methode erwies sich vom Zeitpunkt des Konzentrationsanstiegs bzw. Nachweises von ABU, GABA und AVA an als relativ unabhängig von der tatsächlichen Umgebungstemperatur, so lange diese nicht unter 16°C bis 17°C abfiel [2]. Dieser Zeitpunkt ist aber von dem Wandervermögen der Bakterien (Clostridien) und somit, wie die vorliegenden Befunde zeigen, u. a. von der Temperatur abhängig. Er läßt sich in der Praxis kaum exakt bestimmen. Deshalb scheint es vorteilhaft, statt des Gehirns ein Organ in unmittelbarer Darmnähe, welches relativ rasch nach Todeseintritt infiziert wird, für die Untersuchungen zur Leichenaltersbestimmung einzusetzen. Man darf dann erwarten, daß sich die bakteriellen Stoffwechselprodukte wesentlich früher als im Gehirn nachweisen lassen, so daß der Einfluß der bakteriellen Wanderungsgeschwindigkeit auf die Berechnung der Liegezeit einer Leiche vernachlässigbar gering wird.

## Literatur

1. Daldrup T (1979) Postmortaler Eiweißzerfall in menschlichen Organen - Reaktionen und zeitliche Zusammenhänge. Triltsch, Düsseldorf
2. Daldrup T (1984) Die Aminosäuren des Leichengehirnes. Ihre Bedeutung für Todesursachen- und Leichenaltersbestimmung. Enke, Stuttgart
3. Daldrup T, Hagedorn HJ, Körfers M (1982) Mikrobiologische Untersuchung frischer und faulender Leichengehirne. Beitr Gerichtl Med 40 : 379-382
4. Helmke K (1938) Anaerobenbefunde im Leichenblut. Virchows Arch [Pathol Anat] 303 : 297-302
5. Daldrup T (1983) Praktische Erfahrungen mit der Leichenaltersbestimmung durch Auswertung bakterieller Stoffwechselprodukte. Z Rechtsmed 90 : 19-25
6. Reinhardt G, Zink P (1982) Über postmortale Blutverschiebungen in Gefäßen. Proceedings XII. Kongreß der Internationalen Akademie für Gerichtliche und Soziale Medizin, S 905-907
7. Burn CG (1934) Experimental studies of post mortem bacterial invasions in animals. J Infect Dis 54 : 388-394
8. Mead GC (1971) The amino acid-fermenting Clostridia. J Gen Microbiol 67 : 47-56

Eingegangen am 14. Oktober 1983