

(Aus dem Institut für Gerichtl. Medizin an der Medizinischen Akademie Düsseldorf.
Direktor: Prof. Dr. *Böhmer*.)

Über den Kohlenoxydnachweis im Blut. (Eine neue kolorimetrische Methode.)

Von

C. Scholten,

Vol.-Assistent am Institut.

Für ärztliche und gerichtsmedizinische Zwecke besteht die Aufgabe des Nachweises von Kohlenoxyd im menschlichen Blut nicht nur darin, lediglich die Anwesenheit dieses Giftgases nachzuweisen, sondern auch nach Möglichkeit den Grad der Vergiftung quantitativ zu erfassen. Die Mehrzahl aller angegebenen Verfahren gestattet aber nur, einen qualitativen Nachweis zu führen, und auch diesen nur bis zu einem gewissen Grade. An der Leiche und am Lebenden kann der Kohlenoxydnachweis Schwierigkeiten bereiten. So kommt es immer häufiger vor, daß eine stattgefundene, aber überwundene Vergiftung nachgewiesen werden soll, wobei die zum Nachweis gelangende Menge Kohlenoxyd verhältnismäßig gering ist. Häufig werden Blutproben von Industriearbeitern in das hiesige Institut geschickt, um eine vor vielen Stunden oder selbst am vorhergehenden Tage angeblich erlittene Schädigung durch Kohlenoxyd feststellen zu lassen. Die unter diesen Verhältnissen angestellten Untersuchungen mit den gebräuchlichen Verfahren, der spektroskopischen Untersuchung und den Fällungsreaktionen, verlaufen dann meist negativ oder so zweifelhaft, daß eine gutachtliche Äußerung im bejahenden Sinne nicht möglich ist. Damit ist aber keineswegs gesagt, daß nicht doch eine Vergiftung geringeren Grades stattgefunden hat, nur erlaubt die Flüchtigkeit des Giftes gegenüber dem Blut nicht mehr den Nachweis. Es hätte also eine Bestimmung an Ort und Stelle ausgeführt werden müssen, die zweifelsfrei und in meßbarem Grade die Anwesenheit von Kohlenoxyd bewiesen hätte. Diese Bestimmungen sind aber nur schwer möglich, weil dem Werksarzt entsprechende Methoden nicht zur Verfügung stehen, die chemischen Nachweismethoden teils nicht genügend empfindlich, alle aber mit gewissen Fehlerquellen behaftet sind, die ihren gutachtlichen Wert stark herabsetzen und die Möglichkeit einer Anfechtung des Untersuchungsergebnisses bieten. Eine umfassende Durchsicht der zahlreichen Veröffentlichungen zeigt, daß der Wert der qualitativen Fällungsreaktionen von den einzelnen Autoren sehr verschieden beurteilt wird und der Grad der Empfindlichkeit ebenfalls von jedem anders angegeben wird, was darauf hinweist, daß Schwankungen in der Art der

Durchführung des Nachweises oder der Methode zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen führen.

Tabelle 1. Angaben über die Empfindlichkeit der „chemischen“ Proben.

<i>Natronlauge.</i>	<i>Ferrocyankali.</i>
<i>Hoppe-Seyler</i> 25%	<i>Ipsen</i> 10%
<i>Katayama</i> 20%	<i>Abderhalden</i> 10%
<i>Franzen-Meyer</i> 10%	<i>Franzen-Meyer</i> 10%
<i>Kostin</i> empfindlichste Probe	<i>Tannin.</i>
Eigene Versuche 10%	<i>Kunkel</i> 20%
<i>Modifikation von Salkowski.</i>	<i>Kostin</i> 5%
<i>Franzen-Meyer</i> 2,5—1%	<i>Franzen-Meyer</i> 1%
Eigene Versuche 5%	<i>Schulz modif.</i> 10%
<i>Bleiessig nach Rubner.</i>	<i>Zu wenig empfindlich nach Franzen-Meyer.</i>
<i>Rubner</i> 14%	<i>Landois</i> } (25%)
<i>Ipsen</i> 11%	<i>Zaleski</i> }
<i>Kostin</i> 9%	<i>Horoskiewicz</i> }
<i>Franzen-Meyer</i> 5%	<i>Wachholz</i> (20%)
	<i>Marx</i> (20%)

Das gleiche gilt für den spektroskopischen Nachweis, für welchen die Angaben in ähnlicher Weise schwanken und außerdem die Bauart des Apparates eine Rolle spielt.

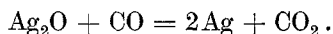
Tabelle 2. Angaben über die Empfindlichkeit der spektroskopischen Untersuchung.

<i>Ziemke</i> 15—20%	<i>v. Hofmann</i> 27%
<i>Schmidt</i> 5—25%	<i>Eulenburg</i> 27%
<i>Koller</i> 20%	<i>Lewin</i> 10%
<i>Reuter</i> 20—25%	<i>Sand</i> 10—5%
<i>Heffter</i> 20—25%	<i>Schumm</i> 10—15%
<i>Schmidtman</i> 20%	<i>Stokes R. (Schumm)</i> unsicher . . 10%
<i>Schmidt Na-Stannit</i> 5%	<i>Tollens (Schumm)</i> 30%
<i>Schmidt Amm.-sulfid</i> 15%	Eigene Untersuchungen 10%

Um endlich eine *quantitative Bestimmung* auszuführen, muß man zu keineswegs einfachen gasanalytischen Methoden greifen, die nur in der Hand des Sachverständigen wirklich einwandfreie und genaue Ergebnisse liefern. Das gleiche gilt für die vorgeschlagenen colorimetrischen und spektrophotometrischen Verfahren. Allen diesen Methoden ist gemeinsam, daß sie eine kostspielige und komplizierte Apparatur erfordern, deren Aufwand in keinem Verhältnis zu dem Wert des Untersuchungsgegenstandes steht, und außerdem noch eine sachkundige Bedienung verlangen. Für die Allgemeinheit vollends kommen diese Methoden gar nicht in Frage.

Wir haben nach einem Verfahren gesucht, das auf einfache Weise eine quantitative Bestimmung des Kohlenoxyds ermöglicht und ge-

nügend Empfindlichkeit besitzt, auch geringere Grade der Vergiftung zu erkennen. Es war nicht unsere Absicht, den zahlreichen schon vorhandenen Methoden noch eine beliebige neue hinzuzufügen, sondern es sollte mit Hilfe bekannter und bewährter Verfahren eine Bestimmungsmethode geschaffen werden, welche die oben geforderten Leistungen erfüllt. Als geeignet hierzu erwies sich ein *colorimetrisches Verfahren durch Farbvergleichung*, wobei der Gehalt an Kohlenoxyd an einer Skala abgelesen werden kann. Um eine dauerhafte und ausreichende Farbdifferenz zu erhalten, wurde die colorimetrische Bestimmung mit einer chemischen Reaktion gekoppelt, und zwar mit der Reduktion von Schwermetallsalz-Lösungen durch Kohlenoxyd. Der Blutfarbstoff bleibt hierbei unberücksichtigt und verbleibt während der ganzen Bestimmung im Reaktionsgemisch. Praktisch angewendet haben wir alkalische Silbersalzlösungen. Die Reduktion von Silbersalzlösungen durch Kohlenoxyd zu metallischem Silber ist zuerst von *Berthelot* angegeben worden. Spätere gasanalytische Arbeiten von chemischer Seite her haben die Brauchbarkeit dieser Reaktion erwiesen und gleichzeitig die zu erfüllenden Bedingungen gezeigt. Auf diesen Erfahrungen haben wir nach ausgedehnten Vorversuchen die Bestimmung des Kohlenoxyds im Blut aufgebaut¹. Der Reduktionsvorgang ist durch folgende Reaktionsgleichung dargestellt:



Es findet also eine Abscheidung metallischen Silbers statt, die dem Gehalt an Kohlenoxyd entsprechend ist. Bei der Geringfügigkeit der tatsächlich zum Nachweis gelangenden Gasmenge tritt die Abscheidung des Silbers in hochdispenser Form ein, so daß eine intensive Braunfärbung der Lösung entsteht. Der Grad der Braunfärbung nun wird colorimetrisch festgestellt. Das Charakteristische des Verfahrens besteht also in der Kombination von chemischer Reaktion und colorimetrischer Bestimmung. Besteht die Möglichkeit einer vom Normalgehalt beträchtlich verschiedenen Stärke des Hämoglobingehaltes im Blute, so wird zweckmäßig vorher eine Bestimmung des Hämoglobins ausgeführt, damit das erhaltene Ergebnis der Kohlenoxydbestimmung entsprechend verbessert werden kann.

Die Durchführung des Verfahrens gestaltet sich wie folgt: In eine entsprechend geeichte Pipette wird bis zur Marke I frisches, ungeronnenes Blut eingesogen, dann die Außenseite der Pipette sorgfältig von anhaftendem Blut gereinigt und bis zur Marke II die Reaktionsflüssigkeit aufgesogen. Dann wird einige Male umgeschüttelt. Das Gemisch wird in eine saubere, trockene Capillare eingefüllt,

¹ *Berthelot*, Bull. Soc. Chimique, 3. Reihe 5, 569. — *H. Dejust*, C. r. Acad. Sci. Paris 140, 1250. — *Habermann*, Pharmaz. Z. halle Dtschld 37, 844. — *Manchot* u. *Scherer*, Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 326 (1927). — Ausführliche Darstellung in meiner Düsseldorfer Dissertation.

wobei die Spitze der Pipette stets in die Flüssigkeit eintauchen soll. Nach Füllung wird die Capillare mit einer Gummikapsel verschlossen. Bereits jetzt läßt sich ein Unterschied in der Farbstärke zwischen gesundem und vergiftetem Blut erkennen. Die Capillare wird nun genau 10 Minuten lang in ein Wasserbad von 70° gesetzt. Während dieser Zeit erfolgt die Umsetzung des Kohlenoxyds mit der Silberlösung. Nach Ablauf der Reaktionszeit wird die Capillare abgekühlt und dann in das Colorimeter eingesetzt, die Bestimmung der Farbstärke vorgenommen und der Gehalt an Kohlenoxyd abgelesen. Die Reaktionsflüssigkeit besteht aus einer Auflösung von Silberoxyd in Ammoniak, die mit Pyridin versetzt ist, analog den Angaben in der Arbeit von *Manchot* und *Scherer*. Man kann bei der Bestimmung auch so vorgehen, daß man durch entsprechende Farbfilter die Eigenfarbe der Blutlösung unterdrückt und nur die verbleibende Verdunkelung mißt.

Die Vorteile unseres Verfahrens bestehen darin, daß es sich um eine einfache Methode handelt, die infolge der Verwendung geeichter Pipetten und vorgeschriebener Reaktionszeit in der Ausführung exakt ist und stets die gleichen Bedingungen herstellt. Ein für die Bestimmung geeignetes Colorimeter wird seit längerer Zeit von der Firma Zeiss-Ikon hergestellt. Dieser bisher für die Hämoglobinbestimmung verwendete Apparat läßt sich leicht in die entsprechende Form für die Bestimmung des Kohlenoxyd-Hämoglobins abändern. Die zum Nachweis erforderliche Blutmenge ist sehr gering, zu verlangen ist nur frisches, ungeronnenes Blut. Auch altes Blut oder Leichenblut kann untersucht werden, jedoch sind dann bestimmte Korrekturen erforderlich. Größere Reihenbestimmungen haben gezeigt, daß nicht steril entnommenes Blut schon nach kurzer Zeit Fäulnisercheinungen aufweist, die dem Serum eine erhöhte Reduktionskraft verleihen, welche ein Vielfaches der normalen ausmachen kann. Beim frischen Blut, das steril entnommen wurde, ist die Reduktionskraft des Serums für unsere Zwecke genügend konstant, um unberücksichtigt bleiben zu können. Die Empfindlichkeit der Methode beträgt zur Zeit 5% relativen Kohlenoxydgehalts, doch wird sich durch Wahl geeigneter Farbfilter die Empfindlichkeit noch weiter steigern lassen. Für die Praxis ist jedenfalls diese Empfindlichkeit ausreichend groß, weil nach den Angaben der Literatur erst bei einem Gehalt von 30% Kohlenoxyd mit klinisch nachweisbaren Krankheitserscheinungen gerechnet werden muß. Andererseits muß die rasche Ausscheidung des Gases beachtet werden und gleichzeitig in Betracht gezogen werden, daß schon viel geringere Mengen subjektive Erscheinungen hervorrufen können, die klinisch zwar nicht nachweisbar sind, aber doch für die Arbeitsleistung und Arbeitszuverlässigkeit des Betroffenen von Bedeutung sein können, vor allem in Hinsicht auf die Folgen der chronischen Kohlenoxydvergiftung.

Zusammenfassung.

Die quantitative Erfassung geringer Mengen von Kohlenoxyd im menschlichen Blute ist von großer praktischer Bedeutung. Die bisher

bekannten und gebräuchlichen Verfahren sind dafür wenig geeignet. Beschrieben wird eine Methode, dadurch gekennzeichnet, daß Silber-salzlösungen in Anwesenheit des Blutfarbstoffs mit dem Kohlenoxyd in Reaktion treten und das entstehende hochdisperse Silber colorimetrisch bestimmt wird. Die Genauigkeit des Verfahrens beträgt 5% Kohlenoxydhämoglobin gegen 95% Hämoglobin.

Aussprache zum Vortrag Scholten-Düsseldorf: Herr *Schmidt*-Bonn: Die spektroskopische Untersuchung des Blutes auf CO führte bei geeigneter Anwendung gleichfalls zu einem positiven Ergebnis, wenn 5% CO-Hämoglobin vorlagen. Andere Methoden sind noch empfindlicher. Der spektrophotometrische und der gasanalytische Nachweis nach *van Slyke* erfassen etwa noch 2% CO-Hämoglobingehalt. Schwefelwasserstoff und Reduktionsvorgänge können die von *Scholten* angegebene Methode stören. Es fehlt bisher an empfindlichen Nachweisverfahren, die für die chronische CO-Vergiftung mit Erfolg angewendet werden können.

Herr *Mueller*-Heidelberg weist auf Schwierigkeiten bei der Herstellung der Test-CO-Hämoglobininlösung hin. Er berichtet über gesteigerte Empfindlichkeit der *Hoppe-Seyler*schen Probe, wenn man statt NaOH die KOH benutzt. Weiterhin muß scharf getrennt werden zwischen der „Limusinenkrankheit“ als Neurose und der CO-Vergiftung im Auto.

Herr *Breitenecker*-Wien hebt die Schwierigkeiten und Fehlerquellen der angegebenen Methode hervor. Diese beruhen in der schwierigen Beschaffung von einwandfreiem Kontrollblut, ferner in der Herstellung von Vergleichsfarbreihen mit genau abgestuften CO-Hb-Lösungen, schließlich in den störenden Fäulnis-einflüssen. Diese Schwierigkeiten werden bei dem spektrophotometrischen Verfahren vermieden. Allerdings stellt sich der Anschaffungspreis der Apparatur sehr hoch (2400,— RM.). Doch wird deren Anschaffung an einigen zentralen Untersuchungsstellen für größere Bezirke empfohlen. Kurz wird auf das in letzter Zeit von *May* angegebene Verfahren mit dem *Pulfrich*schen Stufenphotometer hingewiesen, worüber aber genügende Erfahrungen noch fehlen.

Herr *Klawer*-Halle: Die CO-Bestimmung nach *May* geht gut bei frischem Blut, versagt aber bei Fäulnis. Eine Beobachtung an frischem Leichenblut (zwischen CO-Vergiftung und Todeseintritt eine größere Zeitspanne), bei der spektroskopisch kein CO-Hämoglobin nachgewiesen werden konnte, nach *May* aber 55% „CO-Hämoglobin“ bestimmt wurde, läßt sich vielleicht zur Spätdiagnose einer CO-Vergiftung ausbauen. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung sind im Gange.

Herr *Böhmer*-Düsseldorf hebt hervor, daß das von *Scholten* mitgeteilte Verfahren zum praktischen Kohlenoxydnachweis durch den Werkarzt geeignet ist.

Herr *Nippe*-Königsberg: Die Annahme einer chronischen CO-Vergiftung krankt an dem Mangel geeigneter CO-Nachweismethoden. Hinweis auf die Streitfrage, ob man von chronischer CO-Vergiftung sprechen kann, wenn darunter zahlreiche sich wiederholende unterschwellige C-O-Einverleibungen verstanden werden.

Herr *Scholten* (Schlußwort): Das angegebene Verfahren soll nicht die für wissenschaftliche Zwecke notwendigen spektrographischen, spektrophotometrischen usw. Methoden ersetzen, sondern lediglich die Möglichkeit zur quantitativen Bestimmung innerhalb der für die örtliche Begutachtung zulässigen Fehlergrenze geben.