

(Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Kiel.
Direktor: Prof. F. Wiethold.)

Zum Nachweis geringer Kohlenoxydhämoglobinkonzentrationen.

Von
Dr. K. Wagner.

Mit 1 Textabbildung.

Seit der Aufdeckung der chemischen Beziehungen zwischen dem Kohlenoxyd und dem Blutfarbstoff durch *Hoppe-Seyler* ist die exakte Nachweisbarkeit des Kohlenoxydhämoglobins immer wieder Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Neuerdings gibt *Scholten* eine Zusammenstellung der bisher empfohlenen Nachweismethoden und gleichzeitig auch eine Übersicht über die Empfindlichkeit der einzelnen Reaktionen, wie sie von den verschiedenen Nachuntersuchern festgestellt worden ist. Die außerordentlich großen Unterschiede, die sich dabei zwischen den Ergebnissen der einzelnen Untersucher herausstellen, beleuchten nur allzu deutlich die Schwierigkeiten bei der Feststellung geringer Konzentrationen des kohlenoxydhaltigen Blutfarbstoffes. Was die chemischen Reaktionen anbelangt, so liegt — selbst wenn man nur die empfindlichsten berücksichtigt — die untere Grenze der Nachweisbarkeit zwischen 1 und 20%. Aber auch bei ein- und derselben chemischen Methode lassen die Untersuchungsergebnisse der Nachprüfer erhebliche Abweichungen erkennen. So gibt *Hoppe-Seyler* für die Probe mit Natronlauge einen mindesten Kohlenoxydhämoglobingehalt von 25% an, *Franzen-Meyer* behaupten, noch sicher 10% nachweisen zu können, *Kostin* bezeichnet sie als die empfindlichste Probe. Für die Bleiessigprobe nach *Rubner* lauten die entsprechenden Zahlen 12% (*Rubner*) und 5% (*Franzen-Meyer*), für die Tanninprobe 20% (*Kunkel*), 5% (*Kostin*, *Pietrusky*) und 1% (*Franzen-Meyer*). Nur bei dem Nachweis mit Ferrocyankalium wird übereinstimmend als untere Grenze der Bestimmbarkeit 10% angegeben. Diese außerordentlichen Differenzen lassen sich im wesentlichen wohl dadurch erklären, daß die Bedingungen, unter denen die Versuche von den einzelnen Untersuchern durchgeführt worden sind, verschiedene waren. Blutkonzentration, Alter der Blutproben, die Beleuchtung sowie die Schichtdicke der Blutfarbstofflösung mögen die wesentlichen Faktoren sein, die bei den einzelnen Untersuchern nicht übereinstimmten. Auch der Einwand von *Breitenecker*, daß das von den Nachuntersuchern zur Herstellung der einzelnen Verdünnungen gebrauchte an Kohlenoxyd gesättigte

Blut neben gebundenem auch noch freies Kohlenoxyd enthielt, ist in diesem Zusammenhang von Bedeutung.

Nun könnte man der Meinung sein, daß eben durch Festlegung der günstigsten Bedingungen diese Schwierigkeiten einfach zu beseitigen wären. Praktisch gesehen sind diese Bedingungen jedoch nur in den seltensten Fällen zu verwirklichen. Es sei nur darauf hingewiesen, daß die meisten, dem Gerichtsarzt übersandten oder von ihm entnommenen Blutproben einen gewissen Zersetzungsgrad aufweisen. Gerade dieser Umstand ist unseres Erachtens aber von entscheidender Bedeutung. Untersucht man beispielsweise frisches Blut (I), ein älteres CO-freies Blut (II) und ein etwa 40% CO-Hb-haltiges Blut (III) — letztere beiden von Leichen 2 Tage nach dem Tode entnommen — nach der Methode von *Salkowsky*, deren Empfindlichkeit von *Franzen-Meyer* mit 1% (!) angegeben wird, so läßt sich folgende Feststellung treffen: Zwischen II und III wurde ein Farbunterschied kaum wahrgenommen, wohl aber sehr deutlich zwischen I und II bzw. III. Demnach würde das CO-haltige Blut (III) bei einem Vergleich mit einer frischen Blutprobe als solches erkannt werden können; aber unter diesen Umständen wäre auch die Probe II für CO-haltig erklärt worden, was keinesfalls zuträfe. Man muß somit bei allen Farbreaktionen berücksichtigen, daß das Alter der Blutprobe (der Fäulnisgrad) allein schon Farbdifferenzen schafft, die zu Irrtümern Veranlassung geben können. Berücksichtigt man nun weiterhin, daß das Erkennen von ganz geringen Farbdifferenzen weitgehend von der subjektiven Einstellung des Untersuchers abhängig ist, so wird man an der sicheren Feststellung von CO-Hb-Konzentrationen unterhalb von 10—15% mittels der chemischen Methoden nicht nur erhebliche Zweifel äußern, sondern ihnen darüber hinaus im Hinblick auf die große Verantwortlichkeit und Tragweite derartiger Untersuchungen einen wissenschaftlichen Wert absprechen müssen.

Aber auch für den exakten Nachweis höherer Konzentrationen ist die Verwendung von verschiedenen Methoden unter Einhaltung einer großen Reihe von Bedingungen, wie sie *Scholten* zusammengestellt hat, erforderlich. Dann aber wird das chemische Nachweisverfahren umständlich und zeitraubend, d. h. praktisch von zweifelhaftem Wert.

Die oben erörterten Gefahren einer Fehlbestimmung bestehen dagegen bei dem spektroskopischen Nachweis zweifellos nicht in einem derartigen Ausmaße. Die sichere Erkennung des zweistreifigen CO-Hb-Spektrums ist nicht unbedingt abhängig von Vergleichen und Schätzungen, sondern ist ausschließlich eine Frage des optischen Instrumentariums und allenfalls noch abhängig von der Wahl des Reduktionsmittels. Unter diesen Umständen sollte man grundsätzlich von einem Gebrauch der chemischen Nachweisverfahren Abstand nehmen.

Der einzige Nachteil des spektroskopischen CO-Hb-Nachweises liegt darin, daß die untere Grenze der sicher feststellbaren CO-Hb-Konzentration verhältnismäßig hoch liegt. Erfahrene Untersucher wie *Ziemke*, *Heffter*, *Müller*, *Walcher* geben als niedrigste Konzentration 20% an. *Schmidt* berichtet allerdings, daß er bei der Verwendung von Natriumstannit als Reduktionsmittel noch sicher 5% CO-Hb nachzuweisen vermag. *Koller* konnte diese Angaben nicht bestätigen, sondern findet auch mit diesem Reduktionsmittel die Grenze bei etwa 20%. Unsere eigenen Untersuchungen bestätigen im wesentlichen die Ergebnisse *Kollers*. Jedenfalls werden unterhalb einer Konzentration von 15% bei Verwendung eines Handspektroskopes die Ablesungen unsicher. Es mag zutreffen, daß bei großer Erfahrung und sehr guten optischen Instrumenten auch noch niedrigere Werte gelegentlich sicher erkannt werden, aber für den Untersucher, der nicht regelmäßig derartige Bestimmungen durchführt, dürfte die sichere Erkennung geringerer CO-Hb-Werte (unter 20%) auf raschem und einfachem Wege, d. h. mit einfachen Hilfsmitteln, nicht möglich sein.

Zur Bestimmung von CO-Hb unterhalb von 15—20% fehlt somit unseres Erachtens die Möglichkeit des sicheren, ohne kostspielige Apparate und großen Zeitaufwand durchzuführenden Nachweises. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß auch das colorimetrische Verfahren von *Scholten* und die stufenphotometrische Kohlenoxydhämoglobinbestimmung nach *Oettel* den Gerichtsarzt nicht befriedigen können. Ersterer gibt selbst an, daß nicht steril entnommene Blutproben ungeeignet sind, es sei, man bestimmte in Leerversuchen die Reduktionskraft des Serums. Bei dem *Oettelschen* Verfahren erscheinen uns die hohen Werte im Leerversuch (bis zu 5,5% CO-Hb vor-täuschend) für die Erkennung niedriger Konzentrationen doch recht bedenklich, abgesehen davon, daß die notwendige Apparatur (Stufenphotometer) nicht immer zur Verfügung stehen dürfte. Die von *O. Schmidt* in letzter Zeit angegebene Bestimmungsmethode erlaubt wohl die Feststellung geringster CO-Hb-Konzentrationen, jedoch ebenfalls nur unter Verwendung sehr komplizierter Apparaturen.

Diese Sachlage mag es rechtfertigen, wenn wir erneut an die Frage eines sicheren, mit einfachen Hilfsmitteln durchzuführenden Nachweises kleiner CO-Hb-Mengen im Blut herangetreten sind. Es soll durchaus nicht verkannt werden, daß die Fälle, in denen man durch eine Untersuchung mit dem üblichen Handspektroskop nicht auskommt, nicht allzu häufig sind. Zu ihnen gehören aber nicht selten gerade jene, die ein besonderes Interesse beanspruchen.

Die Kohlenoxydvergiftung als konkurrierende Todesursache bei Unfällen in Betrieben, wo die äußeren Umstände auf die Möglichkeit einer CO-Vergiftung hinweisen, vor allem aber jene Fälle, bei denen der

Tod erst später, d. h. nach Entfernung aus der CO-Atmosphäre, eingetreten ist, fordern besondere Untersuchungsmethoden, da der CO-Hb-Gehalt des Blutes oft erheblich die Grenze von 15—20% unterschreitet. Aber auch Blutproben, die bei Verdacht auf eine Vergiftung Lebender entnommen werden und die, sofern sie von auswärts eingeschickt werden, nicht gleich zur Untersuchung kommen, dürften in vielen Fällen nur wenige Prozent CO-Hb enthalten. Für derartige Untersuchungen sind die in den Lehrbüchern der gerichtlichen Medizin angeführten Untersuchungsmethoden ungeeignet.

Die guten Erfahrungen, die wir zwecks quantitativer Bestimmung des CO-Hb nach der Methode von *Christman* und *Randall* sammeln konnten, veranlaßten uns, das Prinzip derselben zu einer rasch durchzuführenden qualitativen Bestimmung des CO zu verwenden. Bei dieser Methode wird das CO mittels Ferricyankali unter Zusatz von Milchsäure aus dem Blute ausgetrieben, und zwar bei Unterdruck; die in Freiheit gesetzten Gase werden dann in eine PdCl₂-Lösung geleitet und die reduzierte PdCl₂-Menge photometrisch (Leifo) bestimmt. Damit tauchte die Frage auf, inwieweit durch Einleitung des freigemachten CO in eine verdünnte Hämoglobinlösung in dieser das gebildete CO-Hb in einer derartigen Konzentration vorliegt, daß bei Prüfung mit dem Handspektroskop jetzt sein Nachweis sich mühelos gestaltet. Theoretisch gesehen müßte man damit jeden geringsten CO-Gehalt nachweisen können, denn die Menge CO, die sich aus einigen Kubikzentimetern des zu untersuchenden Blutes gewinnen läßt, braucht nur gering

zu sein, um bei einer verdünnten Hb-Lösung eine 20 bis 30proz. Konzentration an CO-Hb zu erzeugen. Die Löslichkeit des CO in wässerigen Flüssigkeiten, vor allem aber der bestehende Unterdruck wird diese Verhältnisse zwar nicht ganz verwirklichen lassen; die Einfachheit des Prinzips war jedoch genügend Anreiz, die praktische Durchführbarkeit zu prüfen.

Die von uns verwandte Apparatur ist folgende (s. Abb.).

Die Durchführung der Untersuchung ist nicht nur einfach und fordert kaum irgendwelche Übungen, sie läßt sich vielmehr auch in wenigen — etwa 8 Minuten ausführen, und zwar mit einer Apparatur, die jeder Glasbläser für RM. 6,— bis 8,—

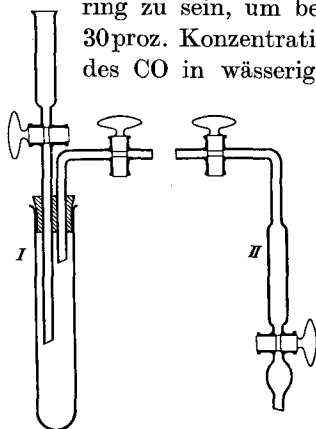


Abb. 1.

herstellt. Außer der Verwendung einer Wasserstrahlpumpe sind keine zusätzlichen Apparaturen erforderlich.

Untersuchungsgang: Das Gefäß I wird leergepumpt, ebenso auch der Teil II

der Apparat. In I werden jetzt 2—6 ccm des zu untersuchenden Blutes eingesaugt, mit einigen Kubikzentimetern H₂O wird nachgespült, dann werden 0,2 ccm 10proz. Kaliumferricyanidlösung und anschließend 2 ccm Milchsäure nachgesaugt. Nach Schütteln von 2 Minuten wird der Teil I mit dem Teil II verbunden und jetzt durch Einfüllen von Hg in das Gefäß I die Gase nach II überführt. II wird kurze Zeit geschüttelt und nach Einsaugen von einigen Tropfen frischer Natriumhydrosulfidlösung oder Natriumstannitlösung kann sofort die Untersuchung mit dem Handspektroskop vorgenommen werden.

Die Brauchbarkeit des Verfahrens wurde an einer Reihe Blutproben mit fallender CO-Hb-Konzentration geprüft. Es gelang dabei noch sicher einen 1proz. Gehalt an CO-Hb festzustellen. Es war von vornherein anzunehmen, daß selbst bei hochgradiger Fäulnis der Blutproben eine Störung bezüglich Herabsetzung der Empfindlichkeit des Verfahrens nicht auftreten würde. Zahlreiche mehrere Wochen alte Blutproben mit einem CO-Hb-Gehalt zwischen 1—5% gaben bei Verwendung von 5 ccm Blut stets ein eindeutiges positives Ergebnis. Folgender Versuch möge diese Befunde noch erhärten: 30 ccm Blut mit einem CO-Hb-Gehalt von etwa 45% wurden in einem 150 ccm-Becherglas stehen gelassen. Das verdunstete H₂O wurde von Zeit zu Zeit ersetzt. Die in großen Zeitabständen vorgenommene Prüfung des Blutes mittels verschiedener Verfahren zeigte folgendes Ergebnis:

Zeit	Spektroskopische Prüfung der verdünnten Blutprobe	Tanninprobe	Eigenes Verfahren
Nach 1 Woche	+++	+++	+++
Nach 2 Wochen	++	++	—
Nach 3 Wochen	+	+	+++
Nach 4 Wochen	zweifelhaft	negativ	+++
Nach 5 Wochen	negativ	negativ	+++
Nach 8 Wochen	negativ	negativ	+++

Ein eigenartig gelagerter Selbstmordfall gab uns weitere Gelegenheit, die Brauchbarkeit des Verfahrens auszuprobieren. Eine 60jährige Frau wurde in der Küche in folgender Situation aufgefunden. Sie hatte sich eine Volksgasmaske aufgesetzt, von der das Filter abgeschraubt war. In die Öffnung hat sie mit Leukoplaststreifen ziemlich dicht verschließend den Schlauch der Gasleitung eingepaßt. Sie hat vermutlich nach Öffnen des Gashahnes die Maske aufgesetzt. In der Küche war deutlich Gasgeruch wahrnehmbar gewesen. Die Leiche zeigte in keiner Weise die charakteristischen Merkmale der Leuchtgasvergiftung. Das Blut war flüssig, jedoch ausgesprochen dunkelrot gefärbt. CO-Hb spektroskopisch nachzuweisen gelang nicht. Auch die Proben nach *Salkowski* sowie die Tanninprobe fielen negativ aus. Mittels unserer Methode gelang es zweifelsfrei, den CO-haltigen Blutfarbstoff festzustellen. Es hat sich offenbar in diesem Falle um einen einfachen Erstickungstod gehandelt, die eingeatmete Menge CO war nur gering gewesen.

Wir halten somit das Verfahren geeignet, besonders in allen den Fällen, wo die CO-Hb-Konzentration unterhalb 10% liegt, rasch und exakt eine stattgefundenen Einatmung von Kohlenoxyd nachzuweisen.

Erfahrungsgemäß sind bisher die methodischen Schwierigkeiten beim Nachweis leichter Kohlenoxydvergiftungen recht große gewesen. Gerade derartige Vergiftungen ereignen sich sicherlich in einzelnen Industriebetrieben, aber unter besonderen Umständen auch im täglichen Leben nicht selten. Ihre Aufklärung liegt nicht nur im Interesse des Vergifteten, sondern sie ist auch zur Vermeidung weiterer Unglücksfälle dringend geboten. In den meisten dieser Fälle erfolgt die Blutentnahme erst so spät, daß die CO-Hb-Konzentration nur noch eine geringe ist. Das geschilderte Verfahren wird aber gerade unter solchen Umständen die erfolgte Kohlenoxydeinatmung noch sicher feststellen lassen.

Zusammenfassung.

Es wird ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung kleinster CO-Hb-Konzentrationen beschrieben. Das Prinzip desselben beruht auf der Überführung der aus der zu untersuchenden Blutprobe in Freiheit gesetzten CO-haltigen Gase in eine verdünnte Hb-Lösung und deren spektroskopischen Untersuchung. Es gelingt mit diesem Verfahren, CO-Hb-Konzentrationen von 1% noch eindeutig zu bestimmen.

Literaturverzeichnis.

Breitenecker, Beitr. gerichtl. Med. **14**, 98. — *Christman* u. *Randall*, J. of biol. Chem. **102**, 2 (1933). — *Franzen-Mayer*, Z. anal. Chem. **50**, 669. — *Koller*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **21**, 275. — *Kostin*, Pflügers Arch. **83**, 572. — *Kunkel*, zit. nach *Scholten*. — *Müller-Walcher*, Gerichtliche Medizin **1938**. — *Oettel*, Arch. f. exper. Path. **190**, 233. — *Pietrusky*, Gerichtliche Medizin **1938**. — *Rubner*, Arch. f. Hyg. **10**, 397. — *Schmidt*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **1932**, 516; **1933**, 379; **1939/1940**, 404. — *Scholten*, Inaug.-Diss. Düsseldorf.