

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Versicherungsmedizin  
der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. W. LAVES)

## Kohlenoxydhämoglobin-Nachweis mit Hilfe oberflächenaktiver Verbindungen („Zephirol-Probe“)

Von

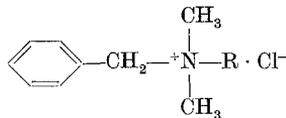
W. LAVES

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. Juli 1956)

Die Anwendung oberflächenaktiver Substanzen als Detergentien, Benetzungsmittel und als emulgierende Stoffe nimmt ständig zu. In der Medizin werden eine Reihe derartiger Verbindungen wegen ihrer bactericiden Eigenschaften als Hautdesinfektionsmittel verwendet, seitdem G. DOMAGK 1935 auf diese „neue Klasse“ von Desinfektionsmitteln hingewiesen hatte. Zu den biologisch und toxikologisch wichtigen Eigenschaften gehören: Eiweißfällung, Bildung von Proteinkomplexen, Cytolyse, Virusinaktivierung, Bactericidie u. a.

In Deutschland und USA. hat das *Zephirol* (Zephiran-Chloride NNR, USA.), ein Benzalkoniumchlorid (Alkylbenzyltrimethyl-Ammoniumchlorid) der Formel



weite Verbreitung gefunden.

Vor einiger Zeit wurde ferner das Dodecyldimethyl, 3,4-dichlorbenzylammoniumchlorid unter der Handelsbezeichnung *Riseptin* „Bayer“ eingeführt.

Die Veranlassung für diese Mitteilung bildete der 15 Tage nach einer Gesichtsraffung eingetretene Tod einer 49jährigen Frau. Bei dieser wurde die linke Gesicht- und Halsseite im Verlauf der Lokalanästhesie versehentlich statt mit Novocain-Suprarenin mit einer Zephirolstammllösung infiltriert. Es traten sofort Beschwerden auf, die den Operateur veranlaßten, die Haut über dem infiltrierten Gebiete zu spalten. Dabei fiel eine schwärzlich-grünliche Verfärbung des Blutes und des Unterhautzellgewebes auf. Über den Fall wurde an anderer Stelle kurz berichtet (W. SPANN).

Die Blutfarbstoffveränderungen sollten nun näher untersucht werden.

### Methodik

Verwendete Lösungen: a) Zephirol „Bayer“ Leverkusen, handelsübliche Stammlösung.

b) Riseptin „Bayer“ Leverkusen, handelsübliche Stammlösung.

c) Blutproben von Blutalkoholuntersuchungen.

d) Flüssiges Leichenblut von Todesfällen infolge gewaltsamer Erstickung (Erhängen, Ertrinken).

e) Flüssiges Leichenblut von Todesfällen infolge Kochgasvergiftungen.

Verwendete Apparate: 1.  $p_H$ -Bestimmungen mit Gaselektrode und einem Beckmann- $p_H$ -Meter. Modell G.

2. Messung der Extinktionen im sichtbaren Teil des Spektrums mit Hilfe eine *Unicam-Quarzspektralphotometers*, dessen Photozellen durch Sekundär-Elektronenverstärker ersetzt wurden.

3. Eine hoctourige Zentrifuge (*Phywe-Göttingen*).

### Versuche

#### I. Zephirol und Hämoglobin.

1. Flüssiges Blut wird mit dem gleichen Volumen Zephirolstammlösung versetzt und mehrfach kräftig umgeschüttelt. Die Lösung wird sofort lackfarbig dunkel

und nimmt rasch einen *rotbraunen* Farbton an. In 20—100facher Verdünnung wird die Farbe gelbbraun. Läßt man die Verdünnungen einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, so wird die Färbung *hellolivgrün*.

2. Bei fallender Konzentration der Zephirolstammlösung nach Zusatz jeweils gleicher Blutmengen tritt Trübung bzw. Eiweißflockung ein, die sich leicht abzentrifugieren läßt. Der Bodenkörper ist weißlich-bräunlich. Das  $p_H$  der Zephirol-Blutlösungen schwankt zwischen 6,5 und 7,5. Nach Zusatz von Natriumdithionit (Merck) schlägt der Farbton der verdünnten braunen oder grünen Zephirol-Blutlösungen in ein zartes Rosa (fraise) um. Bei spektraler Auswertung wird das in der Abb. 1 dargestellte Absorptionsspektrum erhalten, welches dem alkalischen Hämatin entspricht. Nach Reduktion der Lösungen erhält man das

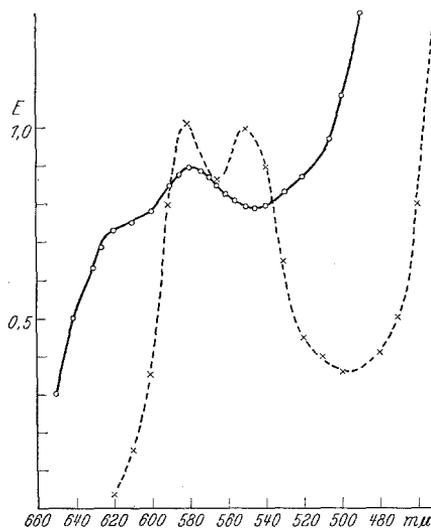


Abb. 1. —○—○— Alkalisches Hämatin (Hämoglobinlösung nach Zusatz von Zephirol).  
—x— — Hämochromogen-Zephirollösung

Spektrum des Hämochromogens. Diese Befunde zeigen, daß konzentrierte Zephirollösungen Hämoglobin zu alkalischem Hämatin denaturieren.

*II. Riseptin und Hämoglobin.* Außer Zephirol wurde auch Riseptin „Bayer“ in gleicher Weise geprüft. Die Stammlösung ist wesentlich viscöser als die des Zephirols. Die Veränderungen des Blutfarbstoffes durch Riseptin treten etwas langsamer ein als durch Zephirol, entsprechen aber im übrigen denjenigen des letztgenannten Körpers.

*III. Die Wirkung von Zephirol und Riseptin auf kohlenoxydhämoglobinhaltiges Blut.* Es war naheliegend, die Zephirolwirkung auch an CO-Hb-haltigem Blute zu prüfen. Die Ansätze erfolgten in der gleichen Weise, wie oben beschrieben. Das CO-Hb-haltige Blut wird sofort lackfarbig und nimmt eine dunkelkirschrote Farbe an. Bei 20—50facher Verdünnung erfolgt die Ausflockung eines hellrötlich gefärbten Bodenkörpers. Der beim Schütteln gebildete Schaum ist hellrötlich. Das spektrale Verhalten einer derartigen Lösung ist aus der Abb. 2 (1. Kurve) zu entnehmen. Es handelt sich um die Bildung von CO-Hämochromogen. Die Absorptionsmaxima bei 580 und 550  $m\mu$  werden durch Zusatz von Dithionit (Abb. 2, Kurve 2) noch intensiviert.

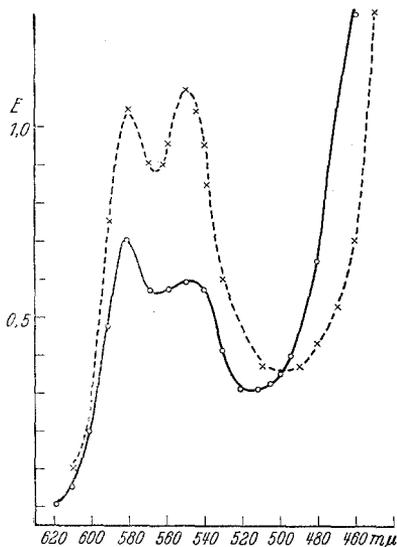


Abb. 2. —○—○— Hb-CO-Lösung nach Zusatz von Zephirol. —×—×— Hb-CO-Lösung nach Zusatz von Zephirol und Dithionit

*IV. Die Zephirolprobe auf Kohlenoxydhämoglobin.* Für die Praxis hat sich für uns bei tödlichen Kohlenoxydvergiftungen die folgende „Zephirolprobe“ sehr bewährt:

a) Man bringt in ein Reagensglas 0,5 ml Normalblut und 0,5 ml 1:1 verdünnter Zephirolstammlösung. Nach kurzem Schütteln wird mit 10—20 ml destilliertem Wasser verdünnt. Die Lösung hat dann eine braune Farbe, die beim Stehen in olivgrün übergeht.

b) Wird der gleiche Ansatz mit je 0,5 ml CO-Hb-haltigen Blutes und 0,5 ml 1:1 verdünnter Zephirolstammlösung unter Zusatz von 10—20 ml destilliertem Wasser gemacht, so erhält man eine hellkirschrote, nach Zentrifugieren klare durchsichtige, farbeständige Lösung.

Der Farbunterschied der Ansätze a und b ist äußerst charakteristisch.

Das gleiche Ergebnis erhält man bei Verwendung von Riseptin. Die *Haltbarkeit* des Ansatzes mit CO-Hb-haltigem Blute bei Verwendung von Riseptin ist jedoch *beschränkt*. Im Verlauf von einigen Stunden erfolgt die Umwandlung in alkalisches Hämatin. Aus welchen Gründen das Kohlenmonoxyd abdiffundiert oder durch Riseptin verändert wird, bleibt noch zu prüfen. Riseptin ist daher weniger für diesen Zweck empfehlenswert.

Da der Gebrauch von Hautdesinfektionsmitteln wie Zephirol weit verbreitet ist, so kann die Reaktion praktische Bedeutung gewinnen. Ihr *Vorteil* liegt im *raschen Eintritt*, in der erforderlichen *geringen Materialmenge*, in dem *Auftreten charakteristischer Farbunterschiede*, die spektral gut sofort analysierbar sind und vor allem in der *Haltbarkeit der Lösungen*.

Die *Empfindlichkeit* entspricht bei der Beobachtung mit freiem Auge einer Konzentration von etwa 15% CO-Hb. In der *Klinik* kann die Reaktion zur Verfolgung der Ausscheidung des Kohlenmonoxyds aus dem Blute verwendet werden, soferne jeweils gleiche Blut- und Zephirolmengen verwendet werden. Man entnimmt in stündlichen Intervallen zu diesem Zwecke jeweils gleiche Mengen Blut (Pipette) nach Punktion des Ohrläppchens oder Fingerkuppe und behandelt diese in der angegebenen Weise. Die Ausscheidung des Kohlenmonoxyds erfolgt bekanntlich im Sinne einer Exponentialkurve (BREITENECKER).

Über eine quantitative Zephirol-Methode zur CO-Hb-Bestimmung wird später berichtet werden.

#### *Zusammenfassung*

Zephirolstammlösung bewirkt *in vitro*, und wie die klinische Beobachtung in einem Vergiftungsfall zeigte, auch *in vivo*, Hämolyse- und Hämatinbildung. Bei vergleichender Untersuchung von kohlenoxydhaltigem Blute und normalen Blute erhält man klare, haltbare Lösungen mit charakteristischen Farbunterschieden. Die „*Zephirolprobe*“ ist zum Nachweis von CO-Hb im Sektionssaal, aber auch in der Klinik zur vergleichenden Verfolgung der Kohlenmonoxydausscheidung diagnostisch verwertbar.

#### **Literatur**

BREITENECKER, L.: Ausscheidungsgeschwindigkeit des Kohlenoxyds aus dem Blute Überlebender. Beitr. gerichtl. Med. **14**, 100 (1938). — DOMAGK, G.: Eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln. Dtsch. med. Wschr. **1935**, 829. — SPANN, W.: Über die toxische Wirkung von Zephirol auf den menschlichen Organismus. Arch. Toxikol. **15**, 196 (1955).

Prof. Dr. W. LAVES, München, Frauenlobstr. 11

---