

Van Deen's Blutprobe und Vitali's Eiterprobe

von

E. Brücke,
w. M. k. Akad.

(Vorgelegt in der Sitzung am 21. März 1889.)

Van Deens Blutprobe scheint in gerichtlichen Fällen, wenn überhaupt, nur noch angewendet zu werden um ein negatives Resultat völlig sicher zu stellen, aber am Krankenbette ist sie das bequemste Hilfsmittel die Anwesenheit von Blut, dessen Menge mag noch so gering sein, und auch die von blossem Blutfarbstoff im Harn zu entdecken. Man giesst, wie bekannt, zu einigen 5 bis 6 cm^3 Harn etwa 1 cm^3 eines Terpentins, das am Korkstöpsel schon die Spuren seiner bleichenden Wirkung zurückgelassen hat, schüttelt durch und fügt dann 1 cm^3 der Guajak-tinctur hinzu. Die Bläuung tritt an der Grenzschicht ein und verbreitet sich durch Schütteln. Ist die Blutmenge sehr gering; so muss man länger schütteln und dann absetzen lassen. Je nach der Qualität des Terpentins und der Guajak-tinctur hat man manchmal von dem einen oder dem anderen noch etwas hinzuzufügen.¹

Diese Probe ist indessen direct nur anwendbar, wenn der Harn keinen Eiter enthält, denn sonst bläuet er sich auch, wenn kein Blut darin vorhanden ist, wie dies durch eine Arbeit von

¹ Der erste, der die Guajakprobe speciell für den Harn empfahl, scheint Almèn gewesen zu sein. Er schreibt vor gleiche Mengen von Guajak-tinctur und Terpentins mit einander zu schütteln bis eine Emulsion entsteht und dann den zu prüfenden Urin hinzuzusetzen. (Chem. Jahresbericht von 1874, p. 1055. Zeitschr. anal. Chem. 1874. 104 aus N. Jahrb. Pharm. 40, 232.)

D. Vitali (L'Orosi, X, 325, 30. October 1887, Chem. Centralbl. 1887, S. 1528) bekannt ist.

In F. L. Huenefeld's Blutproben vor Gericht, Leipzig 1875, heisst es auf Seite 13: „Von thierischen und pflanzlichen Substanzen habe ich frisches und vollkommen ausgewaschenes Blutfibrin, Milch, Käse, Galle, Serum, Flüssigkeit von Kanthariden, Speichel, Eiweiss, eingetrockneten Schweiss, Rotz, Eiter, Sputa, Spermaflecke geprüft; sie verhielten sich vollkommen indifferent.“

Huenefeld scheint seinem forensischen Zwecke entsprechend mit Vorliebe an eingetrockneten, zum Theil vielleicht alten Flecken experimentirt zu haben. Auch stellte er die Probe, und das war die Hauptsache, in etwas anderer als der gewöhnlichen Weise an. Er gibt folgende Vorschrift: „Man vermischt ein reines destillirtes Terpentinöl mit gleichen Massen Chloroform und Alkohol, setzt diesem Gemisch etwa $\frac{1}{10}$ des Volums des Terpentinöls an Acidum aceticum oder Eisessig hinzu und fügt so lange, zuletzt tropfenweise, destillirtes Wasser bei, als die Flüssigkeit klar bleibt.

In einem kleinen Porzellanmörser reibt man die fragliche Blutprobe mit gleich viel oder auch etwas mehr Guajakpulver zusammen, übergiesst dann dieses Gemisch reichlich mit jener Flüssigkeit und rührt einige Secunden bis Minuten mit dem Pistil um, es entsteht dann sofort oder sehr bald eine dunkel-azurblaue filtrirbare Flüssigkeit, deren Farbe sich insgemein $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde hält.“

Es existirt indessen eine ältere Angabe, die den Eiter als activ erscheinen lässt. In einem Berichte von Vittstein (Archiv d. Pharmazie, Bd. CCV. S. 128) nach dem Repertoire de Pharmacie 10. Juli 1873 heisst es, dass eine aus Mialhe, Mayet, Lefort und Cornil bestehende Commission bei Prüfung von van Deen's Probe Nasenschleim activ gefunden habe gegen Guajak und Wasserstoffsperoxyd, dessen ätherische Lösung die Commission statt des Terpentinöls empfahl. Nun kann man wohl nicht zweifeln, dass in dem Nasenschleim Eiterkörperchen waren, und dann mussten schon diese, abgesehen von allen anderen Bestandtheilen, Guajak bläuen.

Diese Mittheilung war auch Huenefeld keinesweges unbekannt, aber er scheint ihr auf Grund seiner eigenen Versuchs-

resultate gemisstrauet zu haben. Indessen ist Vitali vollkommen im Recht, wovon sich Jeder leicht überzeugen kann.

Er fand, dass mit Eiter Bläuung eintrat durch ältere Guajak-tinctur, welche schon der Luft und dem diffusen Lichte ausgesetzt gewesen war, dass aber keine Bläuung eintrat, wenn die Tinctur frisch bereitet war. Bei meinen Versuchen liess sich die Tinctur eine Zeit lang im Dunkeln aufbewahren, ohne dass sie Eiter bläute, entsprechend den Erfahrungen, die A. Schönbein bei seinen Versuchen mit Malzauszug gemacht hatte, dann aber, nachdem das Gefäss mehrmals geöffnet war, fing sie auch an, sich mit Eiter zu bläuen.

Ein Gehalt an Eiter macht aber die Probe van Deen's für die Aufsuchung von Blut im Urin nicht unbrauchbar. Es ist bereits seit 69 Jahren durch Planche¹ bekannt, dass die Bläuung, welche gewisse Pflanzensubstanzen im rohen Zustande hervorbringen, nicht eintritt, wenn die Objecte vorher gekocht wurden. Ebenso verhält sich der Eiter, während das Blut trotz des Kochens seine Wirkung behält. Es ist gut, den Urin nicht bloss aufwallen zu lassen, sondern ihn gehörig durchzukochen, denn ich habe bemerkt, dass Eiterflöckchen, welche durch die Dämpfe gehoben waren und sich an der Wand des Glases angelegt hatten, sich bisweilen noch färbten.

Auch durch blosses Filtriren kann man die Wirkung des Eiters beseitigen, wie dies schon D. Vitali bemerkte. Sie gehört also den Eiterkörperchen an, und zwar einer Substanz, welche nicht sofort in die umgebende Flüssigkeit diffundirt, oder, falls sie dies thun sollte, darin zerstört wird.

Es ist die Probe auch nach Vitali so anzustellen, dass man erst die Guajak-tinctur allein hinzugiesst. Sie darf keine Bläuung des Harnes hervorrufen, ehe man das Terpentinöl hinzugefügt. Sollte dies auch nur im geringen Masse der Fall sein, so ist die Probe, wie ich bald zeigen werde, nicht direct, das heisst ohne vorhergehendes Kochen anwendbar auf den Harn; wir werden aber auch sehen, dass hier, falls keine Bläuung eintritt, noch eine andere Vorsichtsmassregel, eine Gegenprobe, welche die Wirksamkeit der Guajak-tinctur sicherstellt, nöthig ist.

¹ Journal de Pharmacie 1820, Janvier, Nr. 1. Daraus in Tromsdorf Neuem Journal der Pharmacie, Bd. IV. 2, S. 161.

Bei Substanzen, die schon von Guajak allein gebläut werden, und zu diesen gehört, wie D. Vitali fand, auch der Eiter, fällt die Farbe in der Regel nicht so gesättigt aus wie bei van Deen's Probe und kann durch nachträglichen Zusatz von Terpentinöl noch vertieft werden.

Aus letzterem Grunde verdient auch van Deen's Blutprobe, wie erwähnt, bei Urin kein Vertrauen, der sich schon durch Guajak ohne Terpentinöl, wenn auch schwach, gefärbt hat. D. Vitali (*Gazz. chim. Ital.* X, 213, 261, *Chem. Jahresber.* v. 1880, S. 1095) schreibt wegen der Guajak an sich bläuenden Substanzen bereits bei der Untersuchung von Blutflecken (1880) vor, die Guajaktinctur zuerst zuzusetzen und, wenn nach einiger Zeit keine Bläuung eingetreten ist, das Terpentinöl.

Einmal untersuchte ich einen entschieden eiterigen Harn und fand die Bläuung auf Zusatz einer wohlgeprüften Guajaktinctur ausserordentlich schwach, anfangs nicht deutlich wahrnehmbar, auf Zusatz von Terpentinöl wurde sie sofort sehr stark. Nichtsdestoweniger enthielt der Urin kein Blut, denn er verlor sein Bläuungsvermögen durch Kochen gänzlich. Der nicht gekochte Urin gab beim Filtriren im Filtrerrückstande Vitali's Reaction hinreichend deutlich, aber auch das Filtrat bläute sich noch mit Guajaktinctur und Terpentinöl. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass der grösste Theil der Eiterkörperchen nicht sein normales Ansehen hatte, sondern kleiner und eckig war.

Hier war also offenbar etwas von der wirksamen Substanz in die Flüssigkeit gelangt und durchs Filtrum gegangen. Die Schwäche der Reaction mit blosser Tinctur, die sich durch Terpentinöl so auffällig verstärkte, dass die durch dasselbe hervorgerufene Farbenwandlung eine ungewöhnliche genannt werden musste, erkläre ich mir, wenn ich Schönbein's Ansichten als richtig annehme, folgendermassen: Wahrscheinlich in Folge eines Medikaments war eine Substanz in den Harn gekommen, welche den nur in geringer Menge vorhandenen activen Sauerstoff zunächst für sich in Anspruch nahm und dadurch das Guajakharz vor der Oxydation schützte, bis dann mit dem Terpentinöl eine neue Quelle vom activen Sauerstoff geboten wurde.

Dem Blute geht bekanntlich die Eigenschaft, Guajak ohne Terpentinöl zu bläuen, ab, während andererseits Blut nicht nur nach dem Kochen für die van Deen'sche Probe noch wirksam ist, sondern in Rücksicht auf seine Nachweisbarkeit durch dieselbe, auch mancher anderen Art von Misshandlung kräftig widersteht.

Ich will hier bemerken, dass dieser Widerstand nicht bei allen Proceduren stattfindet. Ich habe Blut, natürlich in geringer Menge, anhaltend mit Wasserstoffsuperoxyd geschüttelt und dann auf dem Wasserbade zur Trockné abgedampft. Mit dem Rückstande gelang die Probe van Deen's nicht mehr. N. Kowalewsky theilt im Centralblatt für medicinische Wissenschaften, 1889, Nr. 7 mit, dass Wasser, welches mit Terpentinöl geschüttelt wird, dessen oxydirende Eigenschaften annimmt. Ich kann dies bestätigen, aber mit einem Zusatze: Wenn man das aus dem Scheidetrichter abgelassene Wasser einmal mit guter Thierkohle durchschüttelt, so verliert es bedeutend an seiner Wirksamkeit, und durch längeres Schütteln mit einer hinreichenden Menge von Thierkohle kann man ihm dieselbe gänzlich nehmen.

Wenn ich nun solches Wasser, wirksam wie es aus dem Scheidetrichter kam, mit gewässertem Blute mischte und auf dem Wasserbade bis zur Trockenheit abdampfte, so misslang die Probe van Deens mit dem Rückstande gleichfalls.

Dasselbe war der Fall, wenn ich stark gewässertes Blut anhaltend mit Terpentinöl geschüttelt und dann auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft hatte.

Es bedurfte aber des Eindampfens gar nicht. Ein Gemisch von Terpentinöl, Wasser und so viel Blut, dass auf Zusatz von Guajaktinctur starke und prompte Bläuung eintrat, verlor durch längeres Stehen und öfteres Schütteln seine Reactionsfähigkeit gänzlich. Es ist, wie wir später sehen werden, wahrscheinlich, dass hier das Eisen des Blutfarbstoffs in eine völlig unlösliche Verbindung übergeführt war.

Ähnliche Resultate hatte ich mit Hämatin. Eine Probe einer Mischung von Wasser und Terpentinöl, der ich etwas in weinsäurehaltigem Alkohol gelöstes Hämatin zugesetzt hatte, bläute sich anfangs mit Guajaktinctur sehr stark. Dieselbe Mischung hatte aber dieses Vermögen vollständig verloren, nachdem sie

zwei Tage gestanden und öfters kräftig geschüttelt war. Hämatin scheidet sich wegen seiner Unlöslichkeit in Wasser und in neutralen wässrigen Lösungen überhaupt leicht aus, aber es bleibt auch leicht soviel zurück, dass die Reaction noch eintritt. Ich hatte Hämatin in ammoniakhaltigem Wasser gelöst und mit Essigsäure, die ich vorher geprüft hatte, gefällt. Das Hämatin lag anscheinend vollständig ausgeschieden in Flocken am Boden, aber die darüber stehende Flüssigkeit gab van Deen's Probe doch noch.

Huenefeld hat van Deen's Probe schon mit Häminkrystallen erfolgreich angestellt, ich mit amorphem Hämatin, das noch nach dem alten directen Verfahren dargestellt war. Der ganze Atomcomplex des Hämoglobins ist also keineswegs dazu nöthig. Ist es das Eisen im Hämatin, welches den activen Sauerstoff überträgt?

Schon van Deen kannte (1863) die Wirksamkeit der Eisenoxydverbindungen, und Huenefeld (1875) und D. Vitali (1880) geben verschiedene Vorsichtsmassregeln an, um sich vor Mitwirkung von Rost und Rostflecken bei der Probe zu schützen.

Wenn man gewässertes Blut mit Terpentinöl schüttelt, so verliert es seine rothe Fäbe und die entstandene Emulsion wird lehmfarbig. Wenn sie sich auseinandersetzt, so stellt sich die rothe Farbe nicht wieder her. Der active Sauerstoff des Terpentinöls hat also das Hämoglobinmolekül angegriffen. Indessen habe ich aus der Flüssigkeit kein Ferrocyaneisen erhalten können, auch nicht als ich statt des frischen oder einige Tage alten Blutes einen Auszug aus altem eingetrockneten Blute verwendete, der mit schwefelsäurehaltigem Alkohol bereitet war. Grünfärbungen, welche mehr oder weniger ausgesprochen auftraten, liessen sich nicht auf Ferrocyaneisen beziehen, da sie durch Veränderung der Mengenverhältnisse zwar intensiver gemacht, aber nicht in Blau übergeführt werden konnten. Unter den günstigsten Umständen wurde die schöne Farbe des Chrysoprases erzielt.

Es ist aber wohl denkbar, dass das Eisen im Hämatin [nach Kowalewsky (Centralbl. f. med. Wissenschaften, 1889, Nr. 7) entsteht aus dem Hämoglobin beim Schütteln mit Terpentinöl zunächst Methämoglobin, wir müssen aber damit rechnen, dass es

sich nicht allein um das Hämoglobin handelt, dass auch Hämatin dieselbe Reaction gibt] oxydirt werden könne, ohne seine anderweitigen Bindungen völlig aufzugeben. Es ist mir nicht bekannt, dass Jemand mit einem der eisenfreien Hämatinderivate, wie sie von Mulder, Preyer, Hoppe-Seyler und Nencki beschrieben worden sind, die Probe von van Deen angestellt hätte, aber die Möglichkeit, dass der Sauerstoff auch durch einen eisenfreien Atomcomplex übertragen werden könne, ist nicht in Abrede zu stellen.

Bekanntlich unterschied A. Schönbein unter den organischen Substanzen, welche Guajak bläuen, zwei Abtheilungen (Journal für praktische Chemie, Bd. 102 und Bd. 105), solche, welche schon frisch bereitete und im Dunkeln gehaltene Guajak-tinctur ohne weiteres bläueten, und solche, bei denen dies erst auf Zusatz von Terpentinöl oder einer verdünnten Lösung von Wasserstoffsperoxyd geschah, welche aber auch für sich allein solche weingeistige Guajak-tinctur bläueten, die längere Zeit dem diffusen Lichte ausgesetzt war und in der sich dadurch nach der Ansicht von Schönbein Wasserstoffsperoxyd gebildet hatte. Die Stoffe der ersten Abtheilung sollten in Berührung mit lufthaltigem Wasser das Wasserstoffsperoxyd selbst bilden, dessen halber Sauerstoff übertragen würde; bei den Stoffen der zweiten Abtheilung sollte dies nicht der Fall sein, daher die Nothwendigkeit, Wasserstoffsperoxyd in Substanz hinzuzubringen.

Die Ansicht, dass in Guajak-tinctur, welche längere Zeit der Luft und dem diffusen Lichte ausgesetzt war, stets Wasserstoffsperoxyd enthalten sei, gründete er zunächst darauf, dass kalt bereiteter Malzauszug durch frisch bereitete und im Dunkeln gehaltene Guajak-tinctur nur dann gebläuet wurde, wenn Wasserstoffsperoxyd, wenn auch in noch so geringer Menge hinzugebracht wurde, wohl aber ohneweiteres durch alte und diffus belichtete. Er wies aber auch in dem Rückstand von Weingeist, den er am diffusen Lichte mit Luft geschüttelt und dann $\frac{9}{10}$ desselben abdestillirt hatte, mittels der Chromsäurereaction Wasserstoffsperoxyd nach.

Er gibt endlich an, auch solche dem diffusen Lichte und der Luft ausgesetzte Tinctur gehabt zu haben, welche ohne Terpentinöl oder Wasserstoffsperoxyd von Blut gebläuet wurde,

wie er anderseits durch Luftabschluss und directes Sonnenlicht der Guajaktinctur das Vermögen, sich mit Blut und Terpentinöl zu bläuen nehmen konnte. Ich kann diese Angaben nicht bestreiten, [dass Quajaktinctur durch directes Sonnenlicht an ihrer Oxydationsfähigkeit einbüßen kann, ist anderweitig bestätigt worden, zuletzt von D. Vitali für die Eiterreaction (l. c. p. 330)] aber auch nicht bestätigen, wohl aber kann ich aussagen, dass ich Guajak-tinctur gehabt habe, und dies ist eben die gewöhnliche im diffusen Lichte der Laboratorien alt gewordene und ohne besonderen Schutz und hermetischen Verschluss aufbewahrte Tinctur, welche für sich allein Malzauszug und auch Eiter lebhaft bläute, aber ohne Terpentinöl auf gewässertes Blut keine merkliche Wirkung ausübte. Schönbein sagt, die Bläuung sei langsamer erfolgt; ich habe sie aber auch in Stunden, ja in anderthalb Tagen nicht eintreten gesehen.

A. Schönbein vergleicht mehrfach die Fähigkeit des Malzauszuges, Sauerstoff zu übertragen mit derjenigen des Blutes, kommt aber zu wesentlichen Unterschieden, die im Originale nachzusehen sind. Hier handelt es sich zunächst nur darum, auf die Verschiedenartigkeit der organischen Verbindungen hinzuweisen, welche das Vermögen haben, fremden beweglichen Sauerstoff zu übertragen. Auch die Vegetabilien der zweiten Abtheilung haben dies Vermögen. Man hat oft genug Gelegenheit, sich zu überzeugen, dass, wenn sie Guajak gebläut haben, die Bläuung noch tiefer wird, wenn man Terpentinöl oder eine verdünnte Lösung von Wasserstoffsuperoxyd hinzubringt.

Aber in einem Punkte scheint mir das Hämatin vor allen anderen bläuenden organischen Verbindungen ausgezeichnet zu sein, in seiner grossen Widerstandsfähigkeit gegen das Kochen. Malzinfus verliert zwar durch blosses Kochen im Reagirglase auch sein Bläuungsvermögen nicht vollständig, aber es bleibt ihm davon nur ein geringer Rest, dieser wohl deshalb, weil doch nicht alle Theile der beim Kochen stark schäumenden Flüssigkeit lange genug auf der Temperatur von 100° gehalten wurden. Eine Portion Malzauszug, welche ich im zugeschmolzenen Rohre durch mehrere Stunden im siedenden Wasser erhalten hatte, war völlig inactiv. Auch durch längeres Kochen im Becherglase habe ich später wässerigen Malzauszug völlig inactiv gemacht. Aber

es zeigt sich eine merkwürdige Erscheinung. Solcher Malzauszug erhält sein Bläuungsvermögen wieder. Schon am anderen Tage zeigt sich dies und die Erscheinung nimmt weiterhin noch zu. Sie zeigte sich an gekochtem Malzauszuge, der offen am Lichte und auch an solchem, der in kleinen vollständig angefüllten verkorkten Flaschen im Dunkeln gestanden hatte. Die Korke hatten freilich nicht hermetisch geschlossen, denn sie hatten nicht verhindert, dass beim Erkalten eine kleine Menge von Luft eingedrungen war. Malzauszug, den ich, in ein Glasrohr eingeschmolzen, stundenlang im siedenden Wasserbade hatte liegen lassen, zeigte sich noch vier Tage nach dem Erkalten vollständig inactiv. Ich konnte ihn auch mehrere Tage offen am Fenster stehen lassen, ohne dass sein Bläuungsvermögen zurückgekehrt wäre.

In der aus dem Jahre 1820 stammenden Arbeit von *Planche* (l. c.) sind zahlreiche Vegetabilien auf ihr Bläuungsvermögen untersucht worden, nur sind die Resultate nicht ohne Weiteres brauchbar, weil *Planche* den Unterschied in der Wirkung von frischer oder im Dunkel aufbewahrter Guajak-tinctur und von solcher, die gleichzeitig der Luft und dem diffusen Lichte ausgesetzt war, noch nicht kannte.

Unter den mit positivem Resultate untersuchten befindet sich auch das arabische Gummi (*Gummi Mimosae*), das in kaltem Wasser gelöst ist, und *Planche* bemerkte auch schon, dass mit heissem Wasser nicht dasselbe Resultat erzielt wird. Ich finde nun seine Angaben insoferne bestätigt, als der *Mimosenschleim* zwar eine Tinctur nicht bläuet, welche von Malzauszug nicht gebläuet wird, wohl aber eine solche, der diese Eigenschaft zukommt, dass er aber auch dieses Vermögen verliert, wenn er gekocht wird. Er verhält sich also ähnlich dem Malzauszuge. Ich kann zwar, da ich keine quantitativen Versuche angestellt habe, nicht sagen, dass er ein ähnlich empfindliches Reagens auf Wasserstoffsuper-oxyd liefere, wie dieser, aber er ist vollkommen geeignet, eine Tinctur, welche zum Entdecken von Eiter gebraucht werden kann, von einer solchen zu unterscheiden, die dazu unbrauchbar ist.

Auch die Gummilösung nimmt, nachdem sie durch Kochen inactiv gemacht ist, allmähig ihr Bläuungsvermögen wieder an, aber langsamer als der Malzauszug.

Ich habe Blut mit Wasser so weit verdünnt, dass es zwar durch die van Deen'sche Probe noch deutlich nachweisbar war, dass sich aber doch die Reaction schon sichtlich verlangsamte; dann habe ich eine Probe derselben Flüssigkeit gut durchgekocht und sie nun wieder der van Deen'schen Probe unterworfen. Die Reaction trat ein, nur wenig langsamer als mit der ungekochten Flüssigkeit; aber während bei der letzteren das Blau mehr in der Flüssigkeit vertheilt war, hatte es sich hier grösstentheils in einer tief dunkelblau gefärbten Flocke concentrirt, die in der ätherischen und auf der wässerigen Schicht schwamm. Beide Umstände lassen sich leicht erklären: durch die beim Kochen eintretende Coagulation war der Blutfarbstoff dem Reagens weniger rasch zugänglich geworden, daher die mässige Verlangsamung, und die Trübung, welche durch die Coagulation gebildet war, hatte sich, mit gefärbtem Guajak beladen, beim Schütteln zu der eben erwähnten dunkelblauen Flocke zusammengeballt.

Dadurch, dass das Kochen so ohne Einfluss ist auf die Wirksamkeit des Hämatins, entfernt sich letzteres von den zahlreichen Guajak bläuenden organischen Substanzen und reiht sich in dieser Beziehung den Salzen des Eisens und anderer schwerer Metalle an. Freilich bläuet es Guajak nicht als solches, sondern unter Vermittlung des Terpentinöls, aber in den Salzen sind die Metalle bereits oxydirt, während hier erst durch Oxydation aus dem Hämatin eine wirksame Verbindung gebildet werden soll. Da diese wirksame Verbindung die gewöhnlichen Reactionen der Eisensalze nicht zeigt, so würde hier der Fall eintreten, den ich oben als möglich hingestellt habe, dass das Eisen des Hämatins oxydirt werde, ohne seine sonstigen Bindungen völlig aufzugeben.

Wer die ausserordentliche Empfindlichkeit der Probe van Deen's aus Erfahrung kennt, dem wird es vielleicht widerstreben, in derselben eine blosse Eisenreaction zu sehen, aber andere lösliche Eisensalze bleiben hierin gegen das veränderte Hämatin wenig zurück. Jeder Chemiker kennt das grosse Färbungsvermögen des Eisensalicylats. Wenn man die Lösung desselben soweit verdünnt, dass sie im Reagirglase nicht mehr gefärbt erscheint, so wird sie von Guajaktinctur und Terpentinöl dennoch entschieden gebläuet.

Ja ich habe die Lösung von Eisensalicylat so weit verdünnt, dass sie nicht nur an sich farblos war, sondern dass sie auch durch eine verdünnte Lösung von gelbem Blutlaugensalz nicht mehr gefärbt wurde und nichts desto weniger liess sich das Eisen in derselben noch mittelst Guajak und Terpentinöl nachweisen.

Versuche dieser Art muss man mit Wasser anstellen, dem vor dem Destilliren Weinsäure hinzugesetzt ist, damit das Destillat ammoniakfrei sei. Das Ammoniak, welches das gewöhnliche destillierte Wasser der Laboratorien häufig enthält, kann das Eisen für die Guajakprobe unwirksam machen.

Ich muss ferner bemerken, dass die Eisensalicylatlösung so bereitet war, dass zu einer Lösung von Eisenchlorid, so lange Salicylsäure gegeben wurde, als sich die Farbe einer stark verdünnten Probe der Flüssigkeit durch weiteren Zusatz von Salicylsäure noch tiefer färbte. Es war also in der Flüssigkeit nicht mehr freie Chlorwasserstoffsäure als das Äquivalent des mit der Salicylsäure verbundenen Eisenoxyds.

Bei der Prüfung einer nicht ganz eisenfreien Salzsäure fand ich die Probe mit Blutlaugensalz empfindlicher als die Guajakprobe. Hier in der starksauren Flüssigkeit ballte sich das Guajak zusammen und zeigte nicht seine sonstige Neigung sich zu oxydiren.

Ogleich das Eisensalicylat Guajaktinctur auch ohne Zuthun von Terpentinöl bläuet, so ist doch die Reaction mit letzterem viel empfindlicher. Der Grund scheint mir darin zu liegen, dass das Eisen zunächst einen Theil des mit ihm verbundenen Sauerstoffes an das Guajakharz abgibt, ihm dieser dann aber durch den beweglichen Sauerstoff im Terpentinöl rasch wieder ersetzt wird. Solcher Sauerstoff wird wieder abgegeben und wieder ersetzt und so fort. Wenn man eine frischbereitete verdünnte Eisenvitriollösung mit Terpentinöl schüttelt, so bildet sich in derselben sofort Oxyd. Man kann den Versuch auch so anstellen, dass man die Eisenvitriollösung mit gelbem Blutlaugensalz vermischt und dann Terpentinöl hinzufügt.

Auch bei den besprochenen Vegetabilien und ebenso beim Eiter haben wir es mit einer Übertragung von activem Sauerstoff zu thun, denn hier geht eine Oxydation fast plötzlich vor sich, welche gewöhnlicher Sauerstoff nur langsam und, wie schon

Wollaston wusste, unter Beihilfe von kurzweiligem Lichte zustande bringt, während langwelliges Licht allein das schon gebläute Guajakharz wieder entfärbt. Wird die übertragende Substanz durch die Lebensthätigkeit der Zellen immer von Neuem bereitet und hört ihre Wirksamkeit mit dem Tode derselben auf?

D. Vitali theilt bereits Versuche mit, welche dies mindestens sehr unwahrscheinlich machen. Er schwemmte Eiter in Wasser auf, dem er Essigsäure zugesetzt hatte und filtrirte. Das Filtrat bläute Guajak, während er die Körperchen auf dem Filtrum mit angesäuertem Wasser mehr und mehr auswaschen konnte. Milchsäure verhielt sich ebenso, während Chlorwasserstoffsäure die wirksame Substanz in den Körpern liess und das Filtrat unwirksam war.

Ich habe eitrigen Urin mit etwa dem dreifachen seines Volums von 94^o/_ogem Weingeist vermischt und das Gemisch 10 Tage lang stehen lassen. Nach dieser Zeit konnte füglicher Weise von einer Lebensthätigkeit nicht mehr die Rede sein, und doch zeigten die auf einem Filter aus Glaswolle gesammelten Eiterkörperchen noch das Vermögen Guajak zu bläuen, wenn sie mit dem durch Wasser aus der (alten) alkoholischen Lösung frisch gefällten Harze in Berührung gebracht wurden.

Es existirt also in ihnen eine vom Leben unabhängige Verbindung, welche die Oxydation vermittelt.

Ich konnte ferner die Eiterkörperchen, nachdem sie im Alkohol gelegen hatten, bei gewöhnlicher Temperatur völlig austrocknen, ohne ihre Wirksamkeit zu vernichten. Ich hatte ein Filtrum, durch welches frischer eitriger Urin filtrirt worden war in Alkohol gelegt und dann getrocknet. Ich schnitt es in Sektoren, auf denen nun die Eiterkörperchen in ganz dünner Schicht haften. Ein solcher Sector wurde mit wenig Wasser und ein paar Tropfen Guajakinctur blau, genau so weit, wie der Eiter reichte. Selbst nachdem ein solcher trockener Sector in einer beschwerten und oben offenen Glasröhre zwei Stunden lang trocken in einem siedenden Wasserbade gelegen hatte, war die Wirksamkeit noch nicht vollständig zerstört, es bildete sich an einer Stelle noch ein deutlicher blauer Fleck. Vollständig war dagegen die Wirkung aufgehoben an einem anderen Sector, welchen ich in derselben

Glasröhre eine halbe Stunde lang im Schwefelsäurebade zwischen 120° und 130° gehalten hatte.

Dreimaliges Auskochen mit Äther vernichtete an einem anderen Sector die Wirkung nicht, wohl aber wurden sie wiederum an einem anderen durch dreimaliges Auskochen mit Weingeist von 94% aufgehoben. Der Weingeist, mit dem ausgekocht war, wurde in einer flachen Porcellanschale verdampft. Der Rückstand zeigte mit Guajak behandelt einige dunkle Punkte, die aber nicht deutlich als blau erkannt werden konnten. Ich habe endlich noch daran zu erinnern, dass die Substanz voraussichtlich eine colloide ist, da sie in die umgebende Flüssigkeit nicht diffundirt. Schon Vitali fand, wie erwähnt, dass eitriger Harn sein Vermögen, Guajak zu bläuen, verliert, wenn er filtrirt wird. Von der oben von mir aufgestellten Alternative, dass die wirksame Verbindung entweder nicht in die umgebende Flüssigkeit diffundiren oder sofort in derselben zu Grunde gehen müsse, ist nun wohl die letztere Voraussetzung mehr als unwahrscheinlich geworden.

Aus dem, was ich bisher nach fremden und eigenen Beobachtungen mitgetheilt habe, lassen sich folgende Regeln ableiten.

1. Die Schönbein-van Deen'sche Reaction tritt zwar sowohl mit frisch bereiteter als mit älterer der Luft und dem diffusen Lichte ausgesetzter Guajakinctur ein, aber zur Untersuchung des Harns wendet man besser die letztere an.

2. Man prüft dieselbe mittelst kalt bereiteten Malzauszuges oder kalt bereiteter Mimosen-Gummilösung. Die Tinctur muss mit derselben sofort deutlich und entschieden blau werden.

3. Man befolgt Vitali's Regel, die Tinctur zuerst allein zuzusetzen und zu beobachten, ob Bläuung eintritt oder nicht.

4. Tritt keine Bläuung ein, so kann die van Deen'sche Probe ohneweiters vollendet werden.

5. Tritt durch die blosse Tinctur schon Bläuung ein, so filtrirt man durch ein doppeltes oder dreifaches Filtrum und bringt die Tinctur auf den Filterrückstand, welcher sich, falls Eiter im Urin war, blau färbt (D. Vitali's Probe). Es erübrigt, dann nur noch, durch mikroskopische Untersuchung der letzten Tropfen,

welche im Glase zurückgeblieben sind, die Diagnose sicherzustellen.

6. Man prüft das Filtrat mit der Tinctur. Bläuet es nicht, so kann man die van Deen'sche Probe durch Hinzufügen von Terpentinöl zum Filtrate beendigen.

7. Bläuet das Filtrat auch noch die Tinctur, so kocht man es und setzt zu einer Probe der gekochten Flüssigkeit, die man mittelst Eintauchen des Reagirglases in kaltes Wasser rasch abgekühlt hat, etwas von der Tinctur. Bläuet sie sich nicht mehr, so kann man jetzt die van Deen'sche Probe durch Zusatz von Terpentinöl vollenden.¹ Nur eine Bläuung, welche in der ersten oder zweiten Minute eintritt, darf dann auf Blut bezogen werden. Bläunungen, die zehn oder mehr Minuten auf sich warten lassen und dann langsam deutlicher werden, habe ich auf Zusatz von Guajaktinctur und Terpentinöl schon in gekochten Flüssigkeiten entstehen sehen, für welche die Anwesenheit von Blut ausgeschlossen war.

8. Sollte die Flüssigkeit auch nach dem Kochen die Tinctur noch ohne Zusatz von Terpentinöl bläuen, so liegen zwei Möglichkeiten vor, entweder der Harn enthält irgend eine vorläufig nicht näher bekannte Substanz, welche die Tinctur allein bläuet und ihre Wirksamkeit durch Kochen nicht verliert, oder der Harn enthält Blut und man befindet sich in dem von Schönbein erwähnten, von mir nicht beobachteten Falle, dass man eine Tinctur angewendet hat, die für sich allein durch Blut gebläuet

¹ Schon Huenefeld empfahl für gerichtliche Fälle das Kochen, nicht wegen des Eiters, welchen er ja bei seinem Verfahren inactiv gefunden hatte, sondern um überhaupt die Anzahl der Quellen von Irrthümern möglichst zu verringern. D. Vitali sagt (l'Orosi, X, 328): „Un calore appena sufficiente per intiepidire il liquido contenente i leucociti rende più bella e sollicita la colorazione; viceversa un calore più elevato e prolungato la fa scomparire prontamente, come pure scompare col tempo abbandonando a sè il liquido“. Aber dies scheint sich nur auf die schon zusammengessene Probe zu beziehen; dass mässige Wärme der Flüssigkeit der Empfindlichkeit auch bei van Deen's Probe keineswegs abträglich ist (Vitali l. c. p. 325), kann ich bestätigen, Die Reaction verläuft schneller als in kalter Flüssigkeit, die Farbe ist lebhafter, aber verblasst früher.

wird.¹ Letzteren Fall kann man dadurch ausschliessen, dass man die Tinctur mit etwas gewässertem Blute prüft.

9. Harn, der bei van Deen's Probe bläuet, das Vermögen hiezu aber durch Kochen verliert, enthält weder Blut, noch Hämoglobin, noch Methämoglobin, noch Hämatin.

¹ Es ist mir nicht gelungen durch blosses Schütteln von Guajak-tinctur mit Luft im diffusen Tageslichte eine Guajak-tinctur so zu verändern, dass sie sich mit normalen Blute ohne Terpentinöl gebläuet hätte, ich musste, um dies zu erreichen, immer etwas von einer Lösung von Wasserstoffsperoxyd hinzusetzen. Da aber die mit Luft geschüttelte und dem diffusen Lichte ausgesetzte Tinctur durch weisse Blutkörperchen gebläuet wird, so ist es wahrscheinlich, dass diese, wo sie in ungewöhnlicher Menge vorhanden sind, eine merkliche Blaufärbung hervorbringen werden. In dem im Texte bezeichneten Falle würde aber diese nicht eintreten können, da die weissen Blutkörperchen durch das vorhergegangene Kochen ihr Bläuungsvermögen verloren haben würden.
