

Gerichtlich-medizinisches Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. F. SCHWARZ).

Quantitative Kohlenoxydbestimmungen in Blutspuren.

Von

JÜRGEN IM OBERSTEG, und MARION KANTER,
Oberarzt chem. Assistentin.

Mit 1 Textabbildung.

WOLFF hat eine einfache und empfindliche qualitative Methode zur Feststellung kleiner Mengen von Kohlenoxyd (CO) im Blute beschrieben. Das Prinzip seiner Methode besteht in der Isolierung des Kohlenoxydhämoglobins (CO-Hb) von den übrigen Hämoglobinfraktionen auf Grund seiner größeren chemisch-physikalischen Resistenz. Die Methode, die als eine zeit- und wärmebedingte Ausfällung in schwach saurem Milieu bezeichnet werden kann, ist praktisch einfach zu handhaben und erfordert keinerlei spezielle technische Hilfsmittel: Eine wäßrige Lösung des zu untersuchenden Blutes wird nach Zusatz eines Acetat-Essigsäurepuffers im Wasserbad erwärmt, wobei die übrigen Hämoglobinfraktionen ausfallen und das CO-Hb in Lösung bleibt. Nach Zentrifugieren dieser CO-Hb-Lösung kann in ihr das CO-Hb spektroskopisch schon in sehr niedrigen Konzentrationen nachgewiesen werden.

Da es sich zeigte, daß das CO-Hb praktisch quantitativ in Lösung bleibt, lag es nahe, die WOLFFsche Methode auch für quantitative Bestimmungen auszuarbeiten. So hat JONSSON eine auf der Methode WOLFFs basierende colorimetrische Schnellbestimmung des CO-Sättigungsgrades im Blut beschrieben, die darauf beruht, daß die Farbe des Zentrifugates mit einer Standardlösung verglichen wird. JONSSON hat einen Vergleichsstandard aus einer Serie von Kobaltnitratlösungen vorgeschlagen, der nach einem Hb-Gehalt des Blutes von 100% (AUTENRIETH) geeicht ist und mit dem für praktische Bedürfnisse eine genügende Präzision erreicht wird. Für ganz genaue Bestimmungen empfiehlt JONSSON als Standard die Verwendung eines Teiles des zu untersuchenden Blutes, nach vorheriger Kohlenoxydsättigung und Ausfällung nach WOLFF. Diese colorimetrische Schnellbestimmung des CO-Sättigungsgrades im Blut erscheint infolge ihrer Einfachheit, Raschheit und Empfindlichkeit für Serienbestimmungen besonders geeignet. Wir waren daher bestrebt, die Methode zunächst weiter auszubauen, um sie dann für unsere Zwecke anzuwenden.

a) Standard.

In kohlenoxydfreiem Blut wird nach dem WOLFFschen Verfahren ein schwach strohgelb gefärbtes Zentrifugat erhalten, in dem Serumalbumin und -globulin noch gelöst sind, während die Hämoglobin-

fraktionen, insbesondere das Oxyhämoglobin, ferner Körpereweiß und wahrscheinlich auch Fibrinogen ausgefällt werden. Kohlenoxydgesättigtes Blut dagegen ergibt ein Zentrifugat von dunkelrotem Farbton, und es entsteht nur eine geringe Fällung (die sich nach WOLFF wahrscheinlich aus Körpereweiß und Fibrinogen zusammensetzt). Da das CO-Hb praktisch quantitativ in Lösung bleibt, kann der Farbton des Zentrifugates direkt als Maßstab für die im Blut vorhandene Menge CO-Hb verwendet werden. — Bei der Wahl eines Farbstoffes für einen Vergleichsstandard hatte JONSSON von Anfang an auf organische Farbstoffe verzichtet, in der Absicht, eine womöglich unbegrenzt haltbare Standardlösung zu finden. Er wählte eine 1-molare Kobaltnitratlösung und verdünnte dieselbe mit destilliertem Wasser in geometrischem Verhältnis $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ usw. Diese Verdünnungen ergaben ihm direkt einen Kunstlichtstandard, und zwar in der Weise, daß die unverdünnte molare Kobaltnitratlösung einem CO-Sättigungsgrad im Blute von 50%, die $\frac{1}{2}$ -molare Kobaltnitratlösung einem Sättigungsgrad von 25% entsprachen usw. Während der Kobaltnitratstandard in den tieferen Werten mit den CO-Hb-Blutwerten eine gute Übereinstimmung zeigt, weicht — wie JONSSON selbst erwähnt — der Farbton des Standards in den höheren Konzentrationen von demjenigen der CO-Hb-Lösungen ab: Letztere weisen eine rote, mit einem Stich ins bläulich gehende Deckfarbe auf, während die Kobaltnitratlösung in höherer Konzentration eher bräunlich gefärbt und lackfarben erscheint. Wir wählten daher für die höheren Konzentrationen einen anderen Farbstoff. Nach zahlreichen Versuchen fanden wir, daß allein organische Verbindungen dem Farbton der CO-Hb-Lösungen entsprachen. Am geeignetsten erwies sich uns für die CO-Hb-Werte von 100%—25% eine Azocarminlösung (Dr. GRÜBLER, Leipzig C 1) in 96%igem Alkohol. Eine gesättigte Azocarminlösung (2 Std stehen lassen) wurde zweimal filtriert und mit Alkohol (96%) im Verhältnis 1:3 verdünnt. *Die so erhaltene Lösung entsprach einem CO-Sättigungsgrad von 100% in einem Blut von 100% Hb-Gehalt* (elektrophotometrisch und nach SAHLI). Von dieser Lösung wurden nun mit Alkohol (96%) weitere Verdünnungen in geometrischem Verhältnis $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ usw. hergestellt. Demnach entsprach eine $\frac{1}{2}$ -verdünnte Lösung einem CO-Sättigungsgrad von 50%, eine $\frac{1}{4}$ -verdünnte Lösung einem Sättigungsgrad von 25% usw. Um die Genauigkeit der Ablesung des Sättigungsgrades zu steigern, stellten wir durch entsprechende Verdünnung Zwischenwerte her, die einen Sättigungsgrad von 70% und 35% ablesen ließen. Die Standardlösungen wurden je in einem Röhrchen unter Vakuum eingeschmolzen. Während 4monatiger Aufbewahrung im Dunkelraum ließ sich eine Veränderung des Farbtönes nicht feststellen.

Da wir uns wohl bewußt waren, daß die Haltbarkeit eines Standards aus organischem Farbstoff niemals diejenige einer anorganischen Ver-

gleichsreihe erreicht, wählten wir für die CO-Sättigungswerte unter 25% den JONSSONschen Kobaltnitratstandard, der im Farbton in den unteren Werten recht gut mit den CO-Hb-Lösungen übereinstimmt. Es entspricht, wie JONSSON angegeben hat, einem CO-Sättigungsgrad von 12,5% eine Verdünnung einer 1-molaren Lösung im geometrischen Verhältnis $\frac{1}{4}$ usw. Auch hier wählten wir für den Standard wiederum Zwischenwerte, die einem CO-Sättigungsgrad von 17,5%, 8,75%, 4,4%, 2,2% und 1,1% entsprachen. Da bei CO-freiem Blut, wie wir bereits erwähnten, das Zentrifugat schwach strohgelb gefärbt ist, macht sich auch schon in den CO-Hb-Lösungen von niedriger Konzentration ein gelblicher Unterton bemerkbar, so daß der Kobaltstandard etwa zu rotstichig ist. Wir haben daher die Standardlösung bei den Werten, die einem CO-Sättigungsgrad von 4,4% und weniger entsprachen, nicht durch Verdünnung der 1-molaren Kobaltnitratlösung mit destilliertem Wasser allein dargestellt, sondern durch Verdünnung mit Aqua dest. und einer Farblösung, bestehend aus 100 cm³ Wasser, dem 0,15 cm³ einer gesättigten Kaliumbichromatlösung und 1,4 cm³ der 1-molaren Kobaltnitratlösung zugesetzt wurden, und zwar in folgendem Verhältnis:

CO-Sättigungsgrad	Verhältnis von Aqua dest. und Farblösung
4,4%	1,5 cm ³ H ₂ O/0,5 cm ³ Farblösung
3,1%	1,5 cm ³ H ₂ O/0,5 cm ³ „
2,2%	1 cm ³ H ₂ O/1 cm ³ „
1,5%	1 cm ³ H ₂ O/1 cm ³ „
1,1%	1 cm ³ H ₂ O/1 cm ³ „

Zusammenfassend haben wir folgenden Kunstlichtstandard ausgearbeitet und für unsere Versuche verwendet:

CO-Sättigungsgrad	Kunstlichtstandard
100%	Azocarmin 1:3
50%	$\frac{1}{2}$ Azocarmin 1:3
25%	$\frac{1}{4}$ Azocarmin 1:3
12,5%	$\frac{1}{4}$ -molare Kobaltnitratlösung
6,25%	$\frac{1}{8}$ -molare Kobaltnitratlösung
3,1%	$\frac{1}{16}$ -molare Kobaltnitratlösung ¹
1,5%	$\frac{1}{32}$ -molare Kobaltnitratlösung ¹

¹ Zusatz von Kaliumbichromat s. oben.

Zwischenwerte.

CO-Sättigungsgrad	Kunstlichtstandard
70%	Azocarmin 0,7:3,3
35%	$\frac{1}{2}$ Azocarmin 0,7:3,3
17,5%	1-molare Kobaltnitratlösung 1,4:H ₂ O 2,6
8,75%	$\frac{1}{2}$ -molare Kobaltnitratlösung 1,4:H ₂ O 2,6
4,4%	$\frac{1}{4}$ -molare Kobaltnitratlösung 1,4:H ₂ O 2,6 ¹
2,2%	$\frac{1}{8}$ -molare Kobaltnitratlösung 1,4:H ₂ O 2,6 ¹
1,1%	$\frac{1}{16}$ -molare Kobaltnitratlösung 1,4:H ₂ O 2,6 ¹

¹ Zusatz von Kaliumbichromat s. oben.

Für ganz genaue Bestimmungen empfiehlt es sich — wie JONSSON erwähnt —, einen Teil der Blutprobe bzw. der 20%igen Blutlösung, deren CO-Gehalt untersucht werden soll, durch Einleiten von CO ganz mit diesem Gas zu beladen. Dieses gesättigte Blut wird dann parallel mit der zu untersuchenden Blutprobe nach der geschilderten Methode der Ausfällung unterworfen. Die nach dem Zentrifugieren erhaltene dunkelrote CO-Hb-Lösung, deren Farbton für das zu untersuchende Blut den Sättigungsgrad 100 darstellt, kann nun in geometrischem Verhältnis verdünnt und als Standard verwendet werden¹. — Das Einleiten von CO bis zur vollständigen Sättigung des Blutes ist jedoch zeitraubend, daher ist dieses Vorgehen — insbesondere wenn es sich um rasche Orientierung, z. B. am Seziertisch handelt — nicht anwendbar. Meist ist es ausreichend, den Hb-Gehalt des zu untersuchenden Blutes zu bestimmen und, falls dieser von 100% wesentlich abweicht, den durch Ablesung mit dem geschilderten Kunstlichtstandard gefundenen CO-Sättigungswert auf 100% Hb umzurechnen. Diese Methode ist zwar nicht ganz so exakt wie das von JONSSON empfohlene Verfahren, sie hat sich uns jedoch in zahlreichen Versuchen als von genügender Präzision auch für wissenschaftliche Zwecke erwiesen (KOWALSKI). — Da wir zur einfachen und raschen Bestimmung des Hb-Gehaltes auf colorimetrische Methoden (SAHLI, AUTENRIETH, Elektrophotometer) angewiesen sind, stellte sich die Frage, ob nicht vielleicht durch die Anwesenheit von CO-Hb im Blut die Farbwerte verfälscht würden. Kontrolluntersuchungen, bei denen der Hb-Gehalt in einer CO-freien Blutprobe und der Hb-Gehalt derselben Probe nach Sättigung mit CO durch die Methode von SAHLI und elektrophotometrisch bestimmt wurden, ergaben jedoch stets die gleichen Resultate; das CO-Hb wird offenbar durch den HCl-Zusatz ebenfalls völlig in Häm-in umgewandelt, wie Hb und Oxy-Hb.

Übereinstimmend mit JONSSON fanden wir, daß die Methode die besten Ergebnisse im Gebiete zwischen 25% und 3% CO-Sättigungsgrad ergibt. In diesem Bereiche sind die Farbintervalle weit größer als bei höheren Konzentrationen. Es ist daher für eine exakte Ablesung unerlässlich, CO-Hämoglobininlösungen von mehr als 25% CO-Hb-Gehalt mit Acetatpuffer zu verdünnen und aufs neue abzulesen. Wir stellten von jeder Lösung mit einem Sättigungsgrad von über 6% eine Verdünnungsreihe dar und verglichen diese mit unserem Kunstlichtstandard. Die Ablesung wurde jeweils im Dunkelraum vorgenommen und die höheren Werte bis 8,75% im durchscheinenden Licht, die Werte von 8,75% abwärts im auffallenden Licht gegen einen weißen Hintergrund abgelesen. — Wie schon WOLFF erwähnt, treten besonders bei geringem CO-Hb-Gehalt der Lösungen durch Zusatz von Natriumhydrosulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) im Spektroskop die Absorptionsstreifen stärker hervor. Durch zahlreiche Versuche mit Verdünnungsreihen zeigte es sich, daß ein solcher Zusatz von etwa 100 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ bei den Werten unter 8,75% stets angezeigt ist, da der bei niedrigen Konzentrationen rasch ablassende Farbton dadurch länger voll erhalten bleibt, so daß eine zuverlässige Ablesung möglich ist.

¹ Nach einer persönlichen Mitteilung von WOLFF pflegt er das Filtrat der gesättigten und der zu untersuchenden Blutlösung photoelektrisch colorimetrisch zu vergleichen unter Verwendung eines monochromatischen grünen Gibsonfilters.

b) Anwendung der Methode bei geronnenem Blut.

WOLFF und JONSSON haben ihre Methode für die Verwendung von Citratblut beschrieben. Die Praxis zeigt jedoch, daß oft CO-Bestimmungen in ganz oder teilweise geronnenem Blute vorgenommen werden müssen. Wir waren daher bestrebt, die Verwendbarkeit der Methode auch auf coaguliertes Blut zu erweitern. Da bei der Bestimmung nach WOLFF das Blut bis zur völligen osmotischen Hämolyse mit Wasser verdünnt wird, ist es ohne weiteres möglich, coaguliertes Blut auszusütteln, indem die Coagula unter Zusatz von Wasser solange in einem Glasröhrchen von Hand leicht geschüttelt werden, bis das Fibrin als weiße Fäden an der Oberfläche der Blutlösung schwimmt. Die hierzu erforderliche Zeit beträgt in der Regel 15–20 min. Nimmt man das Ausschütteln in einem möglichst vollen und gut verschlossenen Röhrchen vor, so sind die CO-Verluste durch Verdrängung mit Luftsauerstoff dermaßen gering, daß sie — wie uns Versuche zeigten — mit der beschriebenen Methode nicht mehr erfaßbar sind. Schon HÔDYÔ und S. WEHRLI haben gezeigt, daß das CO unter den verschiedensten Bedingungen recht stabil an das Blut gebunden ist.

Um festzustellen, in welcher Größenordnung die Verluste an CO beim Transport schlecht verschlossener, nur teilweise mit Blut gefüllter Flaschen liegen, schüttelten sie CO-haltige Blutproben in nichtverschlossene Flaschen während mehrerer Stunden. Eine Blutprobe mit einem CO-Gehalt von 25,6% enthielt nach Bearbeitung mittels der Schüttelmaschine mit 2–3 Stößen je Sekunde nach 1 Std noch 24,9% und nach 4 Std noch 23,1% CO. Eine zweite Blutprobe mit einem CO-Gehalt von 23,1% enthielt nach 3stündiger gleich intensiver Behandlung mit der Schüttelmaschine noch 19,4% CO.

Auch aus diesen Versuchsergebnissen ist zu ersehen, daß bei strikter Einhaltung der oben angeführten Kautelen (guter Verschluß der verwendeten Röhrchen und möglichste Vermeidung von freiem Raum in denselben) die Verluste an CO nach 20minütigem leichtem Schütteln tatsächlich nur so klein sein können, daß sie sich mit der geschilderten Methode nicht mehr erfassen lassen und daher praktisch irrelevant sind. — Die Bestimmung wird in der ausgeschüttelten Blutlösung in genau gleicher Weise vorgenommen wie im Citratblut. Sie sei hier in Kürze nochmals beschrieben:

4 Teile coagulierten Blutes werden mit 16 Teilen Aqua dest. ausgeschüttelt bis die Fibrinfäden weiß erscheinen und in der Regel an der Oberfläche schwimmen. (Bei Verwendung von Citratblut werden zu 4 Teilen Blut 1 Teil Natriumcitrat [3,8%] und 3 Teile Aqua dest. zugefügt.) 1 Teil dieser Lösung wird nun mit 4 Teilen Puffer (1 Vol. 5n Essigsäure + 3 Vol. 3n Natriumacetatlösung) versetzt und während *exakt* 5 min im Wasserbad auf *exakt* 55° erwärmt. Hierauf wird gekühlt und kräftig zentrifugiert. Die nunmehr meist völlig klare Blutlösung (nur bei ausgesprochener Lipämie kommen geringe Trübungen vor) wird vom Sediment abgegossen, mit Puffer in geometrischen Serien verdünnt und mit dem oben beschriebenen Standard verglichen.

c) Verwendung als Mikromethode.

Da bei der geschilderten Methode die zu untersuchende Blutmenge zunächst vierfach mit Wasser verdünnt und 1 Teil dieser Lösung dann wiederum mit 4 Teilen Puffer versetzt wird, kann bei der Bestimmung schon von sehr geringen Mengen Blutes ausgegangen werden. In zahlreichen Versuchen erwiesen sich uns $0,08 \text{ cm}^3$ Blut als die *minimal erforderliche Menge*, um noch genaue Resultate des CO-Sättigungsgrades zu erhalten. Damit ist aber die Möglichkeit gegeben, die Bestimmung schon *in Spuren von Blut*, seien dies nun *Bluttropfen* oder eingetrocknete *Blutflecken*, durchzuführen, und weiterhin kann beim Lebenden schon durch eine *Blutentnahme aus der Fingerbeere* mittels einer Blutzuckerpipette ($0,1 \text{ cm}^3$) genügend Blut für eine Analyse gewonnen werden.

Der Umstand, daß man bei der geschilderten Methode schon mit sehr kleinen Mengen Blutes auskommt, erwies sich uns noch in anderer Hinsicht als von großem Vorteil: Wir erhalten hie und da Material zur Untersuchung auf seinen CO-Sättigungsgrad, das durch vermeintliche „Herzpunktion“ an Leichen Kohlenoxydvergifteter gewonnen wurde, bei dem es sich tatsächlich aber nur um blutig gefärbte Ödemflüssigkeit aus den Lungen handelt, deren Hb-Gehalt nur wenige Prozent beträgt, oder aber um postmortal entmisches Blut. Ist im Punktat keine Hämolyse eingetreten — und dies ist meistens der Fall — so kann man nach eingetretener Sedimentation der Erythrocyten den größten Teil der Ödem- bzw. Serumflüssigkeit abheben. Nach kräftigem Durchschütteln des Restes, so daß die Erythrocyten gleichmäßig in ihm verteilt sind, werden Hb-Gehalt und CO-Sättigungsgrad bestimmt und der durch Ablesen mit dem Kunstlichtstandard gefundene CO-Sättigungswert auf 100% Hb umgerechnet. Auf diese Weise läßt sich zwar nicht der genaue CO-Sättigungswert ermitteln, wohl aber lassen sich zuverlässige Anhaltspunkte darüber gewinnen, ob die CO-Konzentration in dem eingesandten Punktat eine tödliche ist oder nicht. Ist genügend Material vorhanden, so kann ein Teil der Erythrocyten durch Einleiten von CO ganz mit dem Gas beladen und die gesättigte Hb-Lösung wie oben beschrieben als Vergleichsstandard verwendet werden, wodurch die Bestimmung des CO-Sättigungsgrades an Genauigkeit wesentlich gewinnt.

Mit der Ausdehnung der Verwendungsmöglichkeit der Methode auf kleinste Mengen, selbst geronnenen Blutes und mit der Verbesserung des Kunstlichtstandards waren die Voraussetzungen für unsere Serienversuche geschaffen. Wir besprechen in der Folge unsere Untersuchungen am Bluttröpfchen und Blutfleck. Die Resultate weiterer Serienversuche werden wir in einer späteren Publikation zusammenfassen¹.

Untersuchungen am Bluttröpfchen und Blutfleck.

Die Frage nach der CO-Aufnahme und der CO-Abgabe bei Blutspuren kann in der gerichtlich-medizinischen Praxis von entscheidender Bedeutung sein. Wir haben daher die CO-Aufnahmefähigkeit und den Ablauf der CO-Abgabe im Bluttröpfchen und im Blutfleck einer eingehenden Prüfung unterzogen.

¹ IM OBERSTEG u. SCHOCH-KANTER: Die Kohlenoxydaufnahme bei Rauchern und Nichtrauchern.

A. Die CO-Aufnahme im Blutropfen und im Blutfleck.

Voraussetzung für eine genaue Bestimmung der Aufnahme des CO in Blutproben, Blutropfen und Blutflecken war es, mit einem konstanten Gasstrom arbeiten zu können. Auch in dem zur Einleitung des Gases verwendeten System durfte der Strom keinerlei Schwankungen unterworfen sein und weiterhin mußte die je Minute ausströmende Gasmenge genau bestimmt und reguliert werden können. Wir konstruierten daher folgenden Apparat: Ein verschlossener Weithals-Rundkolben (500 cm³), welcher zur Aufnahme des Gefäßes mit der zu untersuchenden Substanz diente, wurde mit einem Glasrohr versehen, welches einerseits tief in den Kolben hineinreichte und mit dem andern Ende

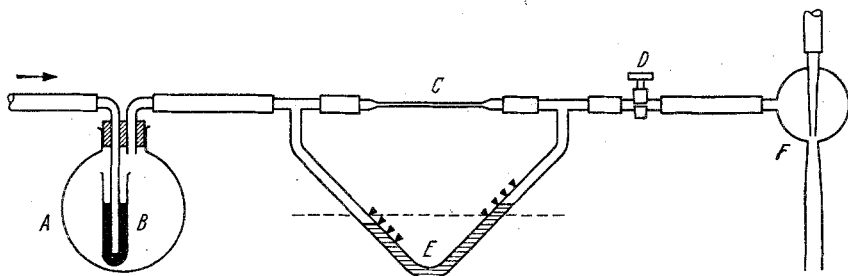


Abb. 1. *A* Rundkolben; *B* Gefäß mit der zu untersuchenden Substanz; *C* Capillare; *D* Regulierhahn; *E* Manometer; *F* Wasserstrahlpumpe.

direkt an die Leuchtgasleitung angeschlossen war. Ferner wurde in den Kolben ein zweites, kürzeres Glasrohr eingeführt, an dessen freiem Ende eine Capillare angefügt war. Am andern Ende dieser Capillare wurde ein Glashahn angeschlossen, der zur Regulierung des Gasstromes diente. Zwischen diesem Regulierhahn und dem kurzen Glasrohr schalteten wir ein mit Glycerin gefülltes Manometer ein. Die ganze Apparatur wurde mittels einer Wasserstrahlpumpe evakuiert, die wir hinter dem Glashahn anschlossen. Die Verbindungen des Systemes wurden durch kurze Gummistücke hergestellt. Um die genaue Durchflußmenge des Leuchtgases je Minute festzustellen, eichten wir das Monometer mit Hilfe eines Gasometers¹.

a) *Blutropfen*. Etwa 0,1 g Blut wurden auf einen hohlgeschliffenen Objektträger gegeben und dieser in den Weithals-Rundkolben unseres Apparates gebracht. Hierauf leiteten wir jeweils während 30 min einen konstanten Strom von 16,6 cm³ Gas je Minute in den Kolben ein². Vor und nach dem Einleiten wurde das Blut gewogen. Die Abnahme

¹ Herrn Dr. S. WEHRLI, chem. Oberassistent unseres Institutes, sind wir für die Beratung bei der Konstruktion unseres Apparates sehr zu Dank verpflichtet.

² Nach Angaben des Gaswerkes Zürich betrug der CO-Gehalt des Stadtgases während der Zeit unserer Versuche im Mittel 14%, mit Abweichungen von 1% nach oben und unten.

des Gewichtes ergab den Wasserverlust im Bluttröpfchen während der Zeit des Einleitens. Die Blutprobe wurde nun mit Wasser auf ihr ursprüngliches Gewicht ergänzt und weiterhin mit der zur CO-Bestimmung notwendigen berechneten Menge Aqua dest. versehen, die man in Portionen zufügte. Die Lösung des hämolysierten Blutes wurde jeweils gut durchmischt, mit einer kleinen Pipette aufgenommen und in ein SCHIFFSches Röhrchen gebracht. Nach Hinzufügen der berechneten Menge Acetatpuffer konnte die Bestimmung des CO-Sättigungsgrades in der oben beschriebenen Weise vorgenommen werden. Beim geronnenen Bluttröpfchen gingen wir analog vor, nur mußte hier das entstandene Gerinnsel nach dem Hinzufügen von Wasser und Puffer im SCHIFFSchen Röhrchen bis zur Farblosigkeit der Fibrinfäden ausgeschüttelt werden. Wir verwendeten für unsere Versuche gerinnendes Blut von Lebenden, nichtgerinnendes Citratblut von Lebenden und im Eisschrank aufbewahrtes Leichenblut verschiedenen Alters.

Um die CO-Aufnahme des *Bluttröpfchens in der Gasatmosphäre* mit der CO-Aufnahme bei *Durchströmung einer größeren Menge Blutes* zu vergleichen, verbrachten wir jeweils 5 cm^3 der gleichen Blutprobe in einem passenden Gefäß in den Rundkolben unseres Apparates und durchströmten hierauf das Blut 30 min lang konstant mit $16,6\text{ cm}^3$ Gas je Minute. Auf die Durchströmung von je 5 cm^3 gerinnenden Blutes wurde verzichtet.

Die Resultate unserer Versuche sind in den Tabellen 1a—c wiedergegeben.

Wie aus der Aufstellung unserer Versuchsergebnisse zu ersehen ist, nimmt der gerinnende Bluttröpf (Tabelle 1a) praktisch kaum CO auf bzw. seine CO-Aufnahme ist so gering, daß sie durch den CO-Verlust infolge der einsetzenden Eintrocknung des Tropfens (s. Versuche über die CO-Abgabe) ganz oder annähernd wettgemacht wird.

Die CO-Aufnahme des nichtgerinnenden Tropfens von Frischblut (Tabelle 1b) ist etwas größer. Dies dürfte mit dem Ausbleiben der Bildung eines Blutkuchens und der dadurch ermöglichten Durchmischung des Blutes mit CO zu erklären sein.

Bei 30 min dauernder Durchströmung von 5 cm^3 nichtgerinnenden Frischblutes der gleichen Versuchspersonen erhielten wir dagegen 7 bis 8mal höhere Werte, d. h. eine Sättigung von 70—80%. Diese entsprechen den Werten, wie sie bei massiven, rasch zum Tode führenden CO-Vergiftungen gefunden werden. Aus dem c · t-Produkt läßt sich errechnen, daß eine derartige CO-Sättigung des Blutes (sofern der Tod nicht schon vorher eintritt) bei einem Individuum in der gleichen Zeit von etwa 30 min erreicht wird, wenn dieses in einer CO-Atmosphäre von etwa 0,4 Vol.-% atmet, was praktisch — insbesondere bei Selbst-

Tabelle 1a. *CO-Aufnahme im Blutstropfen. Blut von Lebenden (ohne Citratzusatz) gerinnend.*

Versuchs- person	Hb- Gehalt %	CO- Grundwert %	Bluttropfen in CO-Atmosphäre (30 min) gerinnend	
			Menge g	CO- Sättigung %
Kr.	86	3,1 (Raucher)	0,1024	3,1
Jg.	100	4,4 (Raucher)	0,2038	4,4
Ru.	87	1,6 (CO-Auf- nahme im Labor)	0,0963	3,1—3,4

Tabelle 1b. *CO-Aufnahme im Blutstropfen. Blut von Lebenden (mit Citratzusatz) nicht gerinnend.*

Ver- suchs- person	Hb- Gehalt %	CO- Grundwert %	Bluttropfen in CO- Atmosphäre (30 min)		5 cm ³ Blut Durchströmung (30 min) %
			Menge g	CO-Sättigung %	
Kr.	86	6,25 (Raucher)	0,1700	10—11	76—80
Jg.	100	6,25 (Raucher)	0,1429	10—11	76—80
Ru.	87	1,6 (CO-Auf- nahme im Labor)	0,1282	9—11	74—80

Tabelle 1c. *CO-Aufnahme im Blutstropfen. Blut von Leichen (nicht gerinnend) (im Eisschrank aufbewahrt).*

Leiche (Alter des Blutes)	Hb- Gehalt %	CO- Grundwert %	Bluttropfen in CO- Atmosphäre (30 min)		5 cm ³ Blut Durch- strömung (30 min) CO-Sättigung %
			Menge g	CO-Sättigung %	
Ga. (7½ Monate)	120	1,6	0,1724	12,5—14	72—76
Du. (2½ Monate)	130	5—6	0,1534	28—30	78—84
Dü. (1½ Monate)	118	1,6	0,1650	17,5—18	76—80
Ry. (10 Tage)	110	unter 1,0	0,1551	6,6—7,5	64—66

mordfällen — öfters vorkommt. Unsere Durchströmungsversuche können somit der Beatmung des Blutes in einer mit CO stark beladenen Atmosphäre gleichgesetzt werden.

Die Versuche mit *flüssigem Leichenblut* verschiedenen Alters (Tabelle 1c) ergaben etwas unregelmäßigere, *im ganzen aber analoge Resultate* wie diejenigen bei flüssigem Frischblut. Die höhere CO-Sättigung der Blutropfen in der Mehrzahl der Fälle läßt sich aus der Eindickung des zum Teil recht alten, im Eisschrank aufbewahrten Blutes erklären, die in dem hohen Hb-Gehalt der betreffenden Blutproben ihren Ausdruck findet.

Zusammenfassend ergibt sich aus dieser Versuchsreihe vor allem die wichtige Tatsache, daß selbst noch flüssige, frische Blutspuren in einer CO-Atmosphäre, in der sich während der gleichen Zeitspanne im durchströmten bzw. beatmeten Blut eine sicher „tödliche“ CO-Sättigung des Blutes einstellt, nur relativ kleine Mengen von CO aufnehmen. Ähnliche Verhältnisse fanden wir bei flüssigem, im Eisschrank aufbewahrtem Leichenblut sehr verschiedenen Alters. Im gerinnenden frischen Blutropfen ist die CO-Aufnahme noch geringer als diejenige im flüssigen Tropfen von Frisch- und Leichenblut. CO-Aufnahme und CO-Abgabe durch Verdunstung halten sich hier nahezu die Waage.

b) *Blutfleck*. Bei der Bestimmung der CO-Aufnahme im Blutfleck gingen wir in analoger Weise vor, wie bei den Untersuchungen am Blutropfen. Etwa 0,1 g Blut wurden auf einem Uhrglas zu einem Blutfleck eingetrocknet und dieser dann im Rundkolben unseres Apparates gleichfalls während 30 min einem konstanten Strom von 16,6 cm³ Leuchtgas je Minute ausgesetzt. Aus dem Gewicht des Blutflecks errechneten wir dasjenige des ursprünglichen Blutropfens unter der Annahme, der Trockenrückstand betrage 22% des ursprünglichen Blutgewichts. Durch Zusatz der entsprechenden Menge Wassers wurde die eingetrocknete Blutprobe auf das Gewicht des Blutropfens ergänzt und dann in der zur CO-Bestimmung notwendigen berechneten Menge Aqua dest. und Acetatpuffer aufgelöst. Hierauf konnte die Bestimmung des CO-Sättigungsgrades in der beschriebenen Weise vorgenommen werden. Die

Tabelle 2. CO-Aufnahme im Blutfleck.

Versuchsperson	Hb-Gehalt %	CO-Grundwert		Blutfleck in CO-Atmosphäre (30 min)		CO-Aufnahme
		in flüssigem Blut %	in eingetrocknetem Blutfleck %	Trocken- substanz g	CO-Sättigung %	
Kr.	86	6,25 (Raucher)	etwa 3,1	0,0260	etwa 3,1	00
Jg.	100	5,0 (Raucher)	3,1—3,4	0,0264	3,1—3,4	00
Ru.	87	1,6 (CO-Aufnahme im Labor)	unter 1,0	0,0343	unter 1,0	00

Resultate dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Wie aus dieser Aufstellung zu ersehen ist, konnten wir *beim Blutfleck* in einer CO-Atmosphäre, in der sich während der gleichen Zeitspanne im durchströmten Blut eine „tödliche“ CO-Sättigung einstellt, überhaupt *keine CO-Aufnahme feststellen*.

B. Die CO-Abgaben von Blutropfen und Blutfleck.

Auf die Tatsache, daß das CO recht stabil an das Hb gebunden ist, haben bereits andere Autoren hingewiesen. HÔDYÔ und S. WEHRLI, A. O. GETTLER u. a. haben gezeigt, daß sich das Gas in gut verschlossen aufbewahrten Blutproben, trotz starker Fäulnisvorgänge in denselben, jahrelang hält und daß selbst beim Eintrocknen der CO-Komplex erhalten bleibt.

HÔDYÔ und WEHRLI behandelten verschiedene Blutproben mit CO und bewahrten sie zum Teil verschlossen, zum Teil offen *während 1 Woche* auf. Nach dieser Zeit ergab die Analyse sowohl der verschlossenen wie auch der offenen Proben, daß der CO-Gehalt innerhalb der Fehlergrenzen der Bestimmungsmethode konstant geblieben war. — Analoge Proben wurden gut verschlossen *während 21—36 Tagen* aufbewahrt. Der höchste nachgewiesene CO-Verlust betrug 4,2%. — 3 Proben von je 10 cm³ wurden offen im Dunkeln bis zum *Eintrocknen* stengelassen und dann auf den stattgehabten CO-Verlust untersucht. Ein völlig eingetrocknetes Blut von 15% Anfangsgehalt wies noch 9 Vol.-% CO auf, während die beiden übrigen *nicht völlig eingetrockneten* Proben von 22,1 bzw. 28% CO-Anfangsgehalt noch 21,2 bzw. 18,6 Vol.-% CO enthielten. — Eine parallel angesetzte Probe jenes Blutes mit 28 Vol.-% Anfangsgehalt wies nach $2\frac{3}{4}$ Jahren noch 5,1 Vol.-% CO auf.

GETTLER führte ähnliche Versuche mit Blutproben von verschiedener CO-Sättigung durch. Selbst nach 71 Tagen Aufbewahrungszeit bei Zimmertemperatur fand er bei einem Blute von ursprünglich 70% CO-Sättigung ein Absinken des CO-Sättigungsgrades um nur 20%. — In einer Blutprobe, die *35 Jahre* verschlossen im Labor gestanden hatte (deren ursprünglicher CO-Gehalt leider unbekannt war, von der man aber wußte, daß sie von einem tödlichen CO-Vergiftungsfall herstammte) wurde noch ein CO-Gehalt von 3,6 Vol.-% und eine Sättigung von 92% festgestellt.

Aus den Versuchsergebnissen dieser Autoren ist u. a. zu ersehen, daß der CO-Gehalt *in gut verschlossen aufbewahrten Blutproben* in der Regel eine bis mehrere Wochen lang annähernd konstant bleibt und dann verschieden stark abnimmt, was ohne Zweifel auf die verschiedene Art und Intensität der Fäulnisvorgänge und die dadurch bedingte Zersetzung des Blutfarbstoffes zurückzuführen ist¹. *Beim Eintrocknen von Blutproben* ist der CO-Verlust erheblich größer. Wie wir aus der nur geringen CO-Abnahme in den beiden nicht ganz eingetrockneten Blutproben HÔDYÔs und WEHRLIs entnehmen, dürfte CO vor allem in der letzten Phase des Eintrocknungsprozesses verlorengehen. — *In eingetrocknetem CO-Blut* schließlich ist das Gas noch nach Jahren, allerdings in erheblich

¹ Daß durch Fäulnisvorgänge kein CO gebildet wird, ist von GETTLER wie auch von HÔDYÔ und WEHRLI nachgewiesen worden.

verminderter Menge nachzuweisen. Wann der CO-Verlust im eingetrockneten Blut meßbar einsetzt und mit welcher Intensität er fortschreitet, geht aus den Versuchen der erwähnten Autoren nicht hervor. Der Klärung dieser Frage, insbesondere mit Bezug auf den gerichtlich-medizinisch wichtigen Sättigungsgrad von *Blutspuren* galt unsere nächste Versuchsreihe.

Um die Verhältnisse der CO-Abgabe im Bluttröpfen und Blutfleck zu untersuchen, ließen wir zunächst 4 Serien von Bluttröpfen verschiedenen CO-Sättigungsgrades auf Uhrgläschen im *Dunkelraum* bei *Zimmertemperatur* eintrocknen und untersuchten je einen Tropfen jeder Serie nach 15, 20 und 25 Std auf seine CO-Sättigung. Bei der Bestimmung des CO-Sättigungsgrades der Blutflecken gingen wir in gleicher Weise vor wie bei den oben beschriebenen Versuchen über die CO-Aufnahme der Blutflecke. Als Ausgangsmaterial verwendeten wir CO-haltiges Frischblut mit Citratzusatz (Tabelle 3a) und ebensolches Leichenblut verschiedenen Alters (Tabelle 3b). Wie aus der Zusammenstellung unserer Ergebnisse zu ersehen ist, nahm bei den Tropfen aller Blutproben beim völligen Eintrocknen innerhalb 15 Std die CO-Sättigung um etwa die Hälfte ab. In den nächsten 10 Std blieb der Sättigungsgrad konstant. — Ein parallel geführter Versuch mit 2 CO-haltigen Bluttröpfen, die mit UV-Licht bestrahlt wurden, zeitigte nach dem Eintrocknen des Blutes innerhalb 6 Std das gleiche Resultat (Tabelle 4): Die Sättigung beider Blutproben mit CO war ungefähr um die Hälfte zurückgegangen.

Tabelle 3—6. *Blutflecke.*Tabelle 3a. *Frischblut (im Dunkelraum bei Zimmertemperatur).*

Versuchsperson	Jg. 100		Ru. 87	
Hb.-Gehalt %	6,25		1,6	
CO-Grundwert %	(Raucher)		(CO-Aufnahme im Labor)	
Blutflecke nach	Trocken- substanz g	CO-Sättigung %	Trocken- substanz g	CO-Sättigung %
15 Std	0,0314	3,1—3,4	0,0276	unter 1,0
20 Std	0,0296	3,1—3,4	0,0312	unter 1,0
25 Std	0,0268	3,1—3,4	0,0344	unter 1,0

Tabelle 3b. *Leichenblut (im Dunkelraum bei Zimmertemperatur).*

Leiche	De. 10 Tage		Du. 2½ Monate	
Alter des Blutes	106		130	
Hb.-Gehalt %	77		6,25	
CO-Grundwert %	(CO-Suicid)		(Raucher)	
Blutflecke nach	Trocken- substanz g	CO-Sättigung %	Trocken- substanz g	CO-Sättigung %
15 Std	0,0207	37—38	0,0312	etwa 3,1
20 Std	0,0204	37—38	0,0335	etwa 3,1
25 Std	0,0212	37—38	0,0354	etwa 3,1

Tabelle 4. Nach Bestrahlung mit UV-Licht bis zum Eintrocknen.

Leiche (Alter des Blutes)	Hb-Gehalt %	CO-Grundwert %	Blutflecke nach Bestrahlung mit UV-Licht bis zum Eintrocknen	
			Trocken-substanz g	CO-Sättigung %
De. (10 Tage)	106	77	0,0395	37—38
Du. (2½ Monate)	130	6,25	0,0569	etwa 3,1

Tabelle 5. Leichenblut (im Dunkelraum bei Zimmertemperatur).

Leiche Alter des Blutes Hb-Gehalt % CO-Grundwert %	Schn. 1 Monat 110 70 (CO-Suicid)		D. 2½ Monate 130 6,25 (Raucher)	
Blutflecke nach	Trocken-substanz g	CO-Sättigung %	Trocken-substanz g	CO-Sättigung %
15 Std	0,0178	35	0,0422	etwa 3,1
20 Std	0,021	35	0,0319	etwa 3,1
25 Std	0,021	35	0,0312	etwa 3,1
48 Std	0,016	35	0,0335	etwa 3,1
72 Std	0,017	35	0,031	etwa 3,1
96 Std	0,0188	35	0,0282	etwa 3,1
120 Std	0,0135	33—35	0,0362	etwa 3,1
144 Std	0,0172	33—35	0,0347	etwa 3,1

Tabelle 6. Leichenblut (belichtet bei Zimmertemperatur).

Leiche Alter des Blutes Hb-Gehalt % CO-Grundwert %	De. 10 Tage 106 77 (CO-Suicid)		Du. 2½ Monate 130 6,25 (Raucher)	
Blutflecke nach	Trocken-substanz g	CO-Sättigung %	Trocken-substanz g	CO-Sättigung %
1 Woche	0,0307	37—38	0,0300	etwa 3,1
2 Wochen	0,0304	37—38	0,0725	etwa 3,1
3 Wochen	a) 0,0362	27—28	a) 0,0331	1,6—1,8
	b) 0,0360	27—28	b) 0,0626	1,6—1,8
4 Wochen	0,0388	etwa 25	0,0325	1,5—1,6
5 Wochen	0,0384	20—22	0,0525	1,4—1,5
6 Wochen	0,0396	18—20	0,0347	1,1—1,4

In genau gleicher Weise wurde nun der CO-Sättigungsgrad zweier anderer bei Zimmertemperatur im Dunkelraum „alternder“ CO-Blutfleckenserien verfolgt, wobei zunächst ebenfalls 5stündliche und später 24stündliche Kontrolluntersuchungen

vorgenommen wurden (Tabelle 5). Auch hier blieb der Grad der CO-Sättigung der Flecke, nachdem er beim Eintrocknen des Blutes um etwa 50% abgenommen hatte, bis zu 144 Std praktisch konstant.

Schließlich wurden zwei weitere Serien von CO-haltigen Blutropfen bei *Zimmertemperatur* und *Belichtung* stehengelassen und wöchentlich auf ihre CO-Sättigung kontrolliert (Tabelle 6). Der Grad der CO-Sättigung, der auch hier während des Eintrocknens der Flecke um etwa die Hälfte zurückgegangen war, blieb bis Ende der zweiten Woche konstant, worauf sich eine langsame Abnahme einstellte, die bis zum Ende unserer Versuchsreihe nach 6 Wochen stetig anhielt. Nach dieser Zeit war der CO-Sättigungsgrad unserer Blutflecke auf etwa die Hälfte der ursprünglichen CO-Sättigung der eingetrockneten Flecke bzw. auf etwa $\frac{1}{4}$ der CO-Sättigung des flüssigen Blut-Ausgangsmaterials abgesunken.

Zusammenfassend haben wir festgestellt, daß der CO-Sättigungsgrad von Blutropfen durch Eintrocknen bei Zimmertemperatur im Dunkelraum, bei Tageslicht und unter Bestrahlung mit UV.-Licht um etwa 50% abnimmt. Ist ein CO-haltiger Blutropfen einmal eingetrocknet, so bleibt der Grad der CO-Sättigung des Blutflecks bei Zimmertemperatur, im Dunkelraum und im Tageslicht, während etwa 2 Wochen annähernd konstant, um dann — wahrscheinlich infolge Zersetzung des Hb — langsam abzunehmen.

Durch Vergleich des CO-Sättigungsgrades im Blute aufgefundener Leichen und in eventuell daneben vorhandenen Blutspuren dürften unter Berücksichtigung unserer Untersuchungsergebnisse gegebenen Falles gerichtlich-medizinisch wichtige Schlüsse gezogen werden können.

Zusammenfassung.

Die Verwendungsmöglichkeit der auf der Methode von WOLFF beruhenden JONSSONschen colorimetrischen Schnellbestimmungsmethode des CO-Sättigungsgrades im Blut wird auf kleinste Mengen (0,08 g) und auf geronnenes Blut ausgedehnt. Der Vergleichsstandard wird verbessert.

Mit der modifizierten Methode werden *Serienuntersuchungen über die CO-Aufnahme und CO-Abgabe bei Blutspuren* vorgenommen, welche in der gerichtlich-medizinischen Praxis gegebenenfalls von entscheidender Bedeutung sein können:

Frische Citrat-Blutropfen nehmen in einer CO-Atmosphäre, in der sich in einer größeren Menge durchströmten bzw. beatmeten Blutes rasch eine tödliche CO-Sättigung einstellt, nur relativ kleine Mengen von CO auf. Ähnliche Verhältnisse finden sich bei flüssigem Leichenblut. Im gerinnenden frischen Blutropfen ist die Gasaufnahme noch geringer. Beim eingetrockneten Blutfleck läßt sich überhaupt keine CO-Aufnahme feststellen.

Beim Eintrocknen von Blutropfen bei *Zimmertemperatur* nimmt der CO-Sättigungsgrad sowohl im Dunkelraum, wie auch bei Tageslicht

und unter Bestrahlung mit UV-Licht um etwa 50% ab. Ist ein CO-haltiger Bluttröpfchen einmal eingetrocknet, so bleibt der Grad der CO-Sättigung des Blutflecks bei Zimmertemperatur im Dunkeln und bei Tageslicht während etwa 2 Wochen annähernd konstant, um dann meßbar abzunehmen.

Literatur.

GETTLER, A. O.: Amer. J. clin. Path. **11**, 603 (1940). — HôDYÔ, H., u. S. WEHRLI: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **27**, 111 (1936). — IM OBERSTEG, J., u. M. SCHOCH-KANTER: Gesundheit und Wohlfahrt **31**, 89 (1951). — JONSSON, B.: Sv. Läkartidn. **9**, (1941). — KOWALSKI, F. R.: Beziehungen zwischen Kohlenoxydkonzentration, Hämoglobingehalt und Vergiftungskoeffizient bei der akuten CO-Vergiftung. Diss. Zürich 1947. — WOLFF, E.: Sv. Läkartidn. **9** (1941).

Dr. JÜRG IM OBERSTEG, Gerichtsärztliches Institut der Universität Basel,
Klingelbergstr. 82.