

Aus dem Chemischen Laboratorium  
des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.

## Klinische Methoden zum Nachweis von Blutfarbstoff und einigen verwandten Farbstoffen.

Von O. S c h u m m.

(Eingegangen den 25. X. 1908.)

Zu den alltäglichen Aufgaben derjenigen Laboratorien, in denen medizinisch-chemische Untersuchungen ausgeführt werden, gehört die Beantwortung der Frage, ob ein Untersuchungsmaterial Blutfarbstoff enthält oder nicht. Daran schließt sich oft die weitere Forderung, den die Färbung des vorliegenden Materials bedingenden Stoff zu identifizieren.

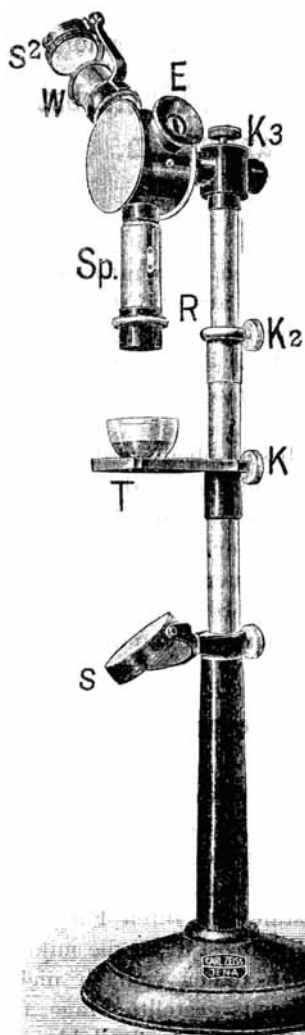
Im folgenden sollen nun Methoden beschrieben werden, die sich bei der Bearbeitung solcher Aufgaben im hiesigen Laboratorium bewährt haben, und zwar soll zunächst der Nachweis unveränderten „sauerstoffhaltigen“ Blutfarbstoffes (des Oxyhaemoglobin) und des Methaemoglobin, sodann der Nachweis des „sauerstofffreien“ Blutfarbstoffes (des Haemoglobin) und der dem Blutfarbstoff nahestehenden Farbstoffe Haematin, Haematoporphyrin und Urobilin besprochen werden.

### Oxyhaemoglobin, Methaemoglobin, Haemoglobin.

Die Anwesenheit von Blutfarbstoff in einem Sekret oder Exkret kann naturgemäß als erwiesen gelten, wenn man mikroskopisch rote Blutkörperchen aufgefunden hat. — Daß die so außerordentlich feine mikroskopische Probe praktisch oft im Stich läßt, erklärt sich zum Teil daraus, daß die roten Blutkörperchen wenig widerstandsfähig sind und leicht ihre Gestalt und ihren Farbstoff verlieren. Als Mittel zum Nachweis von Blutfarbstoff ist die mikroskopische Prüfung auf rote Blutkörperchen daher vielfach nicht ausreichend. — Außerdem ist die ärztlicherseits gestellte Frage, ob ein Material, z. B. Harn, Blutfarbstoff enthält, oftmals dahin zu verstehen, daß auf die Anwesenheit frei gelösten Blutfarbstoffes geprüft werden soll, denn bei Harn hat gerade das Vorhandensein freien gelösten Blutfarbstoffes, bei Abwesenheit von Blutkörperchen, eine besondere pathognostische Bedeutung.

### Blutspektroskop.

Man gibt dem Spiegel S eine solche Stellung, daß er Tageslicht senkrecht nach oben reflektiert, lockert die Schraube  $K_3$  ein



Blutspektroskop.

wenig und richtet den oberen Teil des Apparates (das eigentliche Spektroskop) so, daß das Spaltrohr Sp senkrecht nach unten steht. — Indem man in die Einsichtöffnung E hineinsieht, dreht man vorsichtig an dem unten bei Sp befindlichen Ring R, bis die beiden Schneiden des Spaltes sich fast berühren und verschiebt das äußere Rohr Sp, bis man die Fraunhofer'schen Linien sieht. Klappt man den Spiegel  $S_2$  zur Seite, so fällt Licht auf die Skala. Man verschiebt das Skalenrohr W, bis die Teilstriche und Ziffern der Skala deutlich erkennbar sind. Den Spiegel  $S_2$  benutzt man zur Beleuchtung der Skala nur, wenn man bei künstlichem Licht arbeitet. — Nicht-Normalsichtige müssen die Einstellung des Apparates unter Benutzung der Straßen-Brille vornehmen. — Das Gefäß mit der zu untersuchenden Flüssigkeit stellt man auf den Objektstisch T, der sich nach Lösen der Schraube K beliebig verstellen läßt. Nach Lösen der Schraube  $K_2$  kann man die Metallstange, an der das eigentliche Spektroskop befestigt ist, soweit herausziehen, daß auch sehr hohe Absorptionsgefäße, z. B. Polarisationsröhren von 20 cm Länge zwischen dem Objektstisch und Spektroskop Platz finden. — Die runde Oeffnung des Objektstisches muß bei allen Untersuchungen genau senkrecht unter dem Spaltrohr Sp liegen.

Für den Nachweis gelösten Blutfarbstoffes kommt in erster Linie die spektroskopische Probe in Betracht. Sie ist bei positivem Ausfall absolut eindeutig und zuverlässig, während der negative Ausfall, wie bei allen anderen Blutfarbstoffproben, nur innerhalb der Empfindlichkeitsgrenze beweisend ist. Die Empfindlichkeit der spektroskopischen Probe schwankt je nach der Art ihrer Handhabung, der Beschaffenheit der betreffenden Lösung und der Art des Spektroskops. Am geeignetsten sind die lichtstärkeren Spektroskope von geringer Dispersion, z. B. das geradsichtige Handspektroskop mit Wellenlängenskala, das vom Verfasser beschriebene Blutspektroskop und diejenigen nach Art des Bunsen-Kirchhoff'schen Apparates konstruierten Spektroskope, die nur ein Prisma aus gewöhnlichem Flintglas und eine etwa zweifache Fernrohrvergrößerung besitzen.

Die Handhabung dieser Apparate ist folgende:

a) Bei den geradsichtigen Handspektroskopen: Man richtet dasjenige Ende des Instruments, das den Spaltkopf enthält, gegen eine helle Partie des Himmels und sieht in das andere Ende hinein, öffnet den Spalt ein wenig und verschiebt das Kollimatorrohr (Prismenhülse) in dem Spaltrohr langsam, bis das Spektrum scharf begrenzt erscheint, also scharf eingestellt ist. Dann verengert man den Spalt soweit, daß die das Spektrum im rechten Winkel schneidenden feinen dunklen Linien (Fraunhofer'schen Linien) möglichst scharf erscheinen. Durch nochmaliges vorsichtiges Verschieben des Kollimatorrohres läßt sich leicht kontrollieren, wann das Gesamtbild am schärfsten erscheint. Jetzt muß noch das Skalenrohr vorsichtig verschoben werden, bis die Wellenlängenskala scharf erscheint. Arbeitet man mit Gasglühlicht oder einer ähnlichen Lichtquelle, so erfolgt die Einstellung des Spektroskops in der gleichen Weise. Natürlich sind die Fraunhofer'schen Linien bei Gasglühlicht nicht vorhanden. Um sich zu überzeugen, ob das Spektroskop richtig justiert ist, erzeugt man in bekannter Weise eine Natriumflamme. Die gelbe Natriumlinie (Wellenlänge 589) muß dann annähernd mit dem Skalenteilstrich 590 zusammenfallen. Eine etwaige Ungenauigkeit der Skalenstellung läßt sich durch Drehen an der Korrektionsschraube beseitigen.

b) Bei Verfassers Blutspektroskop (s. S. 2)<sup>1)</sup> geschieht die Einstellung im Prinzip in der gleichen Weise. Am besten erfolgt sie, wenn der Apparat auf dem Stativ befestigt ist und unter Benutzung des Stativspiegels durch Tageslicht beleuchtet wird. Man sieht in den kurzen Rohransatz hinein, an dem auch die zum Schutze des einen, nicht beobachtenden Auges dienende Blendscheibe be-

festigt wird. Arbeitet man bei Tageslicht, so klappt man den am Skalenrohr angebrachten Spiegel zur Seite und verschiebt das Skalenrohr, bis die Skala scharf erscheint. Benutzt man Lampenlicht, dann muß der Spiegel am Skalenrohr so gestellt werden, daß die Skala nur mäßig stark beleuchtet wird. Zu starke Beleuchtung ruft die sehr störenden Interferenzerscheinungen hervor, bei denen die Teilstriche und Ziffern der Skala verzeichnet oder doppelt erscheinen.

c) Beim Bunsen-Kirchhoff'schen Apparate öffnet man den durchweg mit Mikrometerschraube versehenen Spalt einige Hundertstel Millimeter weit und verschiebt das Okular des Beobachtungsfernrohres solange, bis das Spektrum scharf erscheint. Der Spalt des Apparates ist dabei entweder mit Tageslicht oder mit Gasglühlicht bzw. einer ähnlichen Lichtquelle zu beleuchten. Um den Spalt mit Tageslicht gut beleuchten zu können, bringt man zweckmäßig in der Nähe des Spaltes einen kleinen Spiegel an. Die richtige Einstellung des Fernrohrokulars kann man auch bewirken, indem man das Fernrohr von dem Apparat abnimmt, gegen einen weit („unendlich“) entfernten Gegenstand (z. B. weit entferntes Haus, Kirchturmspitze u. dergl.) richtet und auf den betreffenden Gegenstand durch Verschieben des Okulars scharf einstellt.

Die eigentliche Beobachtung einer zu untersuchenden Lösung erfolgt nun derart, daß man sie in ein geeignetes Gefäß füllt und dieses zwischen Spalt und Lichtquelle einschaltet. Man bringt das Gefäß also je nach der Art des Spektroskops entweder horizontal vor den Spalt oder stellt es auf das Tischchen des Spektroskopstativs. In letzterem Falle ist ein sehr sicheres Beobachten möglich.

Beobachtet man nun in der angegebenen Weise eine wässrige etwa 1%ige Lösung frischen artiiellen menschlichen Blutes in einer Schichtdicke von 1 cm, so sieht man im Gelb und Grün zwei das Spektrum im rechten Winkel schneidende Schatten (Absorptionsstreifen, Banden), von denen der im Gelb gelegene schmaler ist. Mit Hilfe der Wellenlängenskala läßt sich ihr Ort im Spektrum feststellen. Der erste Streifen reicht von etwa 587—568\*), grenzt links also fast an die Fraunhofer'sche Linie *D*. Der zweite Streifen reicht von etwa 552—527, grenzt demnach rechts an

---

\*) Dieses sowie die übrigen medizinisch wichtigen Absorptionsspektren sind in den vom Verfasser ausgeführten Spektraltabellen, die demnächst im Verlag von Gustav Fischer, Jena, erscheinen werden, naturgetreu dargestellt.

die Fraunhofer'sche Linie *E*. Beobachtet man obige Lösung in stufenweise größerer Schichtdicke, so werden beide Absorptionsstreifen breiter und fließen bei genügender Konzentration ganz zusammen, so daß dann nur ein sehr breiter Schatten vorhanden ist, der die größere Strecke des ganzen Spektrums auslöscht. Unverdünntes Blut zeigt die zweistreifige Absorptionerscheinung nur dann, wenn man es in sehr dünner Schicht beobachtet. Verdünnt man die 1% ige Blutlösung allmählich und beobachtet sie jeweils in 1 cm Schichtdicke, so werden die beiden Absorptionsstreifen zunächst schwächer, bis sie in einer Verdünnung von etwa 1:1800 bis 2000 nicht mehr wahrnehmbar sind. Sie werden aber wieder sichtbar, wenn man die gleiche Blutlösung in dickerer Schicht untersucht. Um daher auf spektroskopischem Wege möglichst kleine Mengen von Blutfarbstoff in einer Lösung erkennen zu können, muß man diese in möglichst großer Schichtdicke beobachten. Man benutzt dazu zweckmäßig zylindrische, mit abschraubarer Bogenplatte aus Glas versehene Absorptionsgefäße (erhältlich bei Carl Zeiß, Jena), die man auf den Objektisch des Blutspektroskops stellt, und für noch größere Schichtdicken Polarisationsröhren von 10 und 20 cm Länge. Nach meinen Versuchen<sup>2)</sup> erhält man noch eine positive spektroskopische Oxyhaemoglobinprobe, wenn man menschliches Blut in einer Verdünnung von 1:20 000 bis 25 000 in 20 cm Schichtdicke beobachtet. Das gilt sowohl, wenn man das Blut mit Wasser, als auch wenn man es mit normalem Harn verdünnt. Die angegebene Empfindlichkeit erzielte ich bei Benutzung meines Blutspektroskops. In solcher Schichtdicke lassen sich Lösungen allerdings nur dann spektroskopisch untersuchen, wenn sie ganz oder fast klar sind, denn trübe Lösungen absorbieren zu viel Licht.

Völlig charakteristisch ist streng genommen nur das zweistreifige, oben genauer gekennzeichnete Absorptionsspektrum. Oft genügt aber, falls der zweite Streifen in Grün infolge der gleichzeitigen Anwesenheit eines anderen Farbstoffs nicht gut wahrnehmbar ist, der erste Streifen in Gelb zur Identifizierung des Oxyhaemoglobins. Farbstoffe, deren Lösung eine mit dem zweistreifigen Oxyhaemoglobinspektrum identische Absorptionerscheinung haben, sind meines Wissens bislang nicht bekannt geworden. Das Spektrum einer sehr stark verdünnten ammoniakalischen Karminlösung ist dem der Oxyhaemoglobinlösung zwar ähnlich, aber doch sehr wohl von ihm zu unterscheiden. Im Zweifelsfalle muß man sich zum Vergleich eine solche Karminlösung herstellen.

Bluthaltige Materialien, wie z. B. Harn, enthalten den Blutfarbstoff oft zu einem mehr oder minder großen Teil in veränderter Form, als sogen. *Methaemoglobin*. Dessen Lösungen sind durch einen Absorptionsstreifen in Rot ausgezeichnet. Gewöhnlich handelt es sich um Gemische aus Oxyhaemoglobin mit mehr oder weniger Methaemoglobin, die außer den beiden Streifen im Gelb und Grün, den Streifen im Rot zeigen. Dieser Streifen ist aber nicht sehr intensiv, so daß er bei schwachem Methaemoglobingehalt leicht übersehen werden kann. Bei einer Methaemoglobinlösung, deren Konzentration einer 1% igen Blutlösung entspricht, findet man bei 1 cm Schichtdicke den Streifen im Rot zwischen etwa 642 und 624.

Setzt man einer Mischung aus Methaemoglobin- und Oxyhaemoglobinlösung etwas Schwefelammonium hinzu und schüttelt kräftig mit Luft, so findet eine mehr oder weniger vollständige Umwandlung des Methaemoglobins in Oxyhaemoglobin statt, die sich spektroskopisch dadurch kundgibt, daß der Streifen im Rot verschwindet oder wenigstens schwächer wird, während die beiden übrigen Streifen kräftiger werden. Um auch bei schwachem Methaemoglobingehalt einer Oxyhaemoglobinlösung den für Methaemoglobin beweisenden Streifen im Rot erkennen zu können, empfiehlt es sich solche Materialien in so dicker Schicht zu prüfen, daß man gerade noch das Rot und Orange des Spektrums sicher beobachten kann. Dabei ist es belanglos, wenn Gelb und Grün sehr stark verdunkelt werden. Hat man in bluthaltigem Material, das erst nach mehrtägigem Stehen zur Untersuchung gekommen ist, Methaemoglobin gefunden, so muß man mit der Möglichkeit rechnen, daß es erst nachträglich aus Oxyhaemoglobin entstanden ist; denn eine derartige Umwandlung erfolgt beim Stehen von Oxyhaemoglobinlösungen sehr leicht.

Klinisch bezeichnet man die Ausscheidung eines Harns, der Blutkörperchen gar nicht oder nur in relativ unbedeutender Menge, Oxyhaemoglobin oder Methaemoglobin aber in relativ bedeutender Menge enthält, als (*Oxy*-) *Haemoglobinurie* bzw. *Methaemoglobinurie*.

Gelegentlich kommen auch Materialien zur Untersuchung, in denen das ursprünglich vorhandene Oxyhaemoglobin infolge reduzierender Einflüsse ganz oder größtenteils in den sauerstofffreien Blutfarbstoff, das sogen. *Haemoglobin* übergegangen ist. Da das Haemoglobin selbst in mäßig dünnen Lösungen eine nur wenig augenfällige Absorptionserscheinung zeigt, so kann ein geringer Haemoglobingehalt bei der (spektroskopischen) Prüfung

leicht übersehen werden und unbemerkt bleiben, wenn man ein solches Material nicht noch anderweitig prüft.

Lösungen von Haemoglobin, deren Konzentration einer etwa 1% igen Blutlösung entspricht, zeigen bei 1 cm Schichtdicke einen unscharf begrenzten breiten Schatten, der von etwa 596—535 reicht.

Schüttelt man eine solche Haemoglobinelösung mit Luft, so geht das Haemoglobin unter Sauerstoffaufnahme wieder in Oxyhaemoglobin über und zeigt dann dessen oben beschriebene Absorptionerscheinung. Die Anwesenheit sehr kleiner Mengen von Haemoglobin neben viel Oxyhaemoglobin ist spektroskopisch auf einfache Weise nicht festzustellen. — Praktisch wichtig ist auch nur der Nachweis kleiner Mengen von Haemoglobin bei Abwesenheit von Oxyhaemoglobin. Um ihn zu führen, schüttelt man die betr. Flüssigkeit stark mit Luft und spektroskopiert sie in möglichst dicker Schicht. Zeigt sich jetzt nicht das charakteristische Oxyhaemoglobinspektrum, so kann man zur Kontrolle versuchen, mit Hilfe chemischer Methoden auf etwa vorhandene Spuren von Blutfarbstoff zu prüfen. (Siehe unter „Methoden zum indirekten Nachweis von Blutfarbstoff“.)

In wesentlich gleicher Weise verfährt man, wenn es sich darum handelt, die besprochenen Stoffe in anderen Materialien, z. B. Mageninhalt, Erbrochenem, Exsudaten, Cystenflüssigkeiten und Galle nachzuweisen. Bei Faeces muß man je nach deren Konsistenz verschieden verfahren. Außen anhaftende, verdächtig gefärbte Massen, rötlich gefärbte Schleimflocken u. dergl. untersucht man direkt spektroskopisch, am bequemsten mit dem Blutspektroskop, indem man sie in ein Uhrglas, halbkugeliges Gläschchen oder einen niedrigen Absorptionszylinder bringt und, falls nötig, nach Verreiben mit (möglichst wenig) Wasser auf das Objekttschchen des Blutspektroskops stellt. Außerdem ist eine kleine Durchschnittsprobe der eigentlichen Faekalmasse mit etwas Wasser zu verreiben und (der Trübung halber) mit einem möglichst lichtstarken Spektroskop (am besten also mit dem Blutspektroskop) zu beobachten. Zweckmäßig verwendet man zu der letztgenannten Probe ein Absorptionsgefäß mit veränderlicher Schichtdicke (erhältlich bei Carl Zeiß, Jena), um schnell die für die Beobachtung günstigste Schichtdicke herstellen zu können. Ist die Flüssigkeit gar zu stark getrübt, dann klärt man sie durch Filtrieren oder schneller durch Zentrifugieren. Bei der Bewertung eines negativen Ausfalls ist zu berücksichtigen, daß die Empfindlichkeit der spektroskopischen Probe bei Faeces wesentlich geringer ist als bei den meisten anderen Materialien. — Ihr negativer Ausfall schließt

also keineswegs die Anwesenheit solcher Mengen von Blutfarbstoff aus, die eine Bedeutung haben. Vielmehr kommt es sehr oft vor, daß sich die Anwesenheit von Blutfarbstoff nur aus dem positiven Ausfall indirekter Nachweismethoden erschließen läßt (siehe unten). Da jedoch der Nachweis einer Beimengung von erheblichen Mengen unzersetzten Blutfarbstoffes unter Umständen eine große praktische Bedeutung hat, so empfiehlt es sich, in jedem Falle zunächst die spektroskopische Probe auf Blutfarbstoff vorzunehmen, es sei denn, daß schon mikroskopisch die reichliche Anwesenheit roter Blutkörperchen festgestellt worden ist.

Im Magen fällt das Blut unter dem Einflusse des sauren Magensaftes bald der Zersetzung anheim. Deshalb muß man, wenn bei der Untersuchung von Mageninhalt die spektroskopische Oxyhaemoglobinprobe negativ ausfällt, noch die indirekten chemischen Blutproben zu Rate ziehen.

Da eine Erörterung aller gebräuchlichen Verfahren zur Identifizierung von Blutflecken in gerichtlichen Fällen nicht im Rahmen dieser Abhandlung liegt, sei hier nur kurz erwähnt, daß es unter Benutzung des lichtstarken Blutspektroskops oft möglich ist, Blutflecke, die sich auf nicht zu dickem Leinen oder ähnlichem Stoffe befinden, direkt an ihrem Orte zu identifizieren, indem man sie auf einen Objektträger legt, mit einem Tröpfchen Wasser befeuchtet und spektroskopiert. Bei frischen Flecken sieht man dann das zweistreifige Oxyhaemoglobinspektrum. War der Fleck schon braun, der Blutfarbstoff demnach schon in Methaemoglobin übergegangen, so befeuchtet man ihn zunächst mit einem Tröpfchen Wasser und danach mit einem Tropfen gesättigten Schwefelammoniums. Unter seinem Einflusse und dem des Sauerstoffes der Luft geht das Methaemoglobin wieder in Oxyhaemoglobin über. Spektroskopiert man jetzt schnell, so sieht man das zweistreifige Spektrum des Oxyhaemoglobins. In Fällen, wie sie die klinische Praxis ergibt, kommt man auf diese Weise oft schnell zum Ziele. Gelingt der Blutnachweis so nicht, dann empfiehlt es sich, den Fleck mit sehr wenig Wasser auszulaugen und die Lösung in einem engen niedrigen Absorptionszylinder\*) zu spektroskopieren. Oft zeigt die erzielte Lösung auch den Streifen des Methaemoglobin im Rot.

---

\*) Geeignete, für diesen Zweck konstruierte enge Absorptionszylinder mit aufschraubbarer Bodenplatte werden nach meinen Angaben von Carl Zeiß, Jena, hergestellt.



### Methoden zum indirekten Nachweis von Blutfarbstoff. („Haematinproben“.)

Die praktische Bedeutung der chemischen und spektroskopisch-chemischen Methoden zum indirekten Nachweis von Blut beruht darauf, daß sie fast in allen vorkommenden Fällen anwendbar sind. Streng genommen zeigen sie nur ein dem Blutfarbstoff noch sehr nahestehendes Spaltungsprodukt an. Trotzdem pflegt man sie der Einfachheit halber kurz als „Blutproben“ zu bezeichnen. Man beachte aber, daß die Gegenwart des nächsten Blutfarbstoffspaltungsproduktes, des eisenhaltigen H a e m a t i n s allein genügt, um bei der Mehrzahl dieser noch zu besprechenden „Blutproben“ einen positiven Ausfall zu bewirken, so daß man sie ebensowohl als H a e m a t i n p r o b e n bezeichnen dürfte. Außerdem sind sie keineswegs für menschliches Blut spezifisch, sondern man erhält sie ebenso mit tierischem Blut. Das ist namentlich zu berücksichtigen, wenn das zu untersuchende Material Nahrungsbestandteile, wie z. B. Fleischreste u. dergl. enthält, also bei der Untersuchung von Faeces und Mageninhalt. Unter den vielen derartigen Blutproben haben sich mir besonders folgende bewährt: die Guajakblutprobe, die Benzidinblutprobe und die spektroskopisch-chemischen Proben.

#### Die Guajakblutprobe<sup>3)</sup>.

Sie beruht auf der Bildung eines blauen Farbstoffes, Guajakblau genannt, aus der Guajakonsäure. Letztere bildet den Hauptbestandteil des Guajakharzes. Die Bildung von Guajakblau aus Guajakonsäure kann durch eine Reihe verschiedenartiger Stoffe bewirkt werden, z. B. durch Eisenchlorid, Chromsäure, salpetrige Säure, oxydierende Fermente; ferner bei gleichzeitiger Anwesenheit von verharztem Terpentinöl oder Wasserstoffsuperoxyd durch Blutfarbstoff oder die frische beim Behandeln von Blutfarbstoff mit Essigsäure entstehende Lösung seiner Spaltungsprodukte.

Bei der Guajakblutprobe ist die Intensität der entstehenden Färbung nicht nur von der Menge des vorhandenen Blutfarbstoffes, sondern auch von der Menge der Guajakonsäure und des Terpentinöles (bezw. Wasserstoffsuperoxyd) abhängig.

Für die praktische Anwendung der Reaktion als Blutprobe eignet sich sowohl das Terpentinöl, wie auch das Wasserstoffsuperoxyd. Die erforderliche Guajakonsäurelösung kann entweder durch Auflösen von 1 Teil Guajakonsäure in 100 Teilen 90% igen Alkohols oder durch Extraktion von 1 Teil Guajakharz mit etwa 50 Teilen 90% igen Alkohols hergestellt werden. Die Harztinktur soll stets

frisch hergestellt werden, indem man eine entsprechende Menge Guajakharzpulver im Reagenzglas mit Alkohol anschüttelt und nach etwa einer Minute die zur Reaktion erforderliche Anzahl Tropfen möglichst klar abgießt oder abfiltriert.

Für wässerige Flüssigkeiten empfiehlt sich folgende Ausführungsform<sup>4)</sup>: In ein sorgfältig gereinigtes Reagenzglas gibt man etwa 6—8 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit, dazu 3—10 Tropfen ca. 2% ige Guajakharztinktur, schüttelt um, setzt etwa 20 Tropfen verharzten Terpentinöls hinzu, schüttelt nochmals kräftig und läßt 2—3 Minuten stehen (= *A*). In einem zweiten Reagenzglas setzt man einen Blindversuch an, indem man eine gleiche Menge Wasser in genau derselben Weise behandelt (= *B*). Haben beide Proben 2—3 Minuten gestanden und ist Probe *A* blau oder bläulich geworden, während in *B* die Farbe nicht verändert ist oder höchstens etwas grünlich geworden ist, so ist Probe *A* als positiv zu bezeichnen. Die Empfindlichkeit der Reaktion läßt sich erheblich steigern, wenn man nach 2—3 Minuten langem Stehen zu *A* und *B* je einige Kubikzentimeter Alkohol zufügt, einmal umschüttelt und kurze Zeit stehen läßt. Scheidet sich bei *A* die obere Flüssigkeitsschicht blaufärbt ab, während sie bei *B* ganz oder nahezu ungefärbt bleibt, so ist *A* als positive Reaktion aufzufassen. — Bisweilen trifft man ein verharztes Terpentinöl an, das sich zu dieser Reaktion nicht eignet, weil es schon im Blindversuch Blaufärbung verursacht.

Beim Schütteln des Reaktionsgemisches darf das Reagenzglas nicht mit dem Finger verschlossen werden, da das Sekret der Haut unter Umständen auch die Reaktion geben kann. Reagenzgläser, deren Wandung etwas Kupferoxydul (von positiven Zuckerproben nach F e h l i n g herrührend) anhaftet, sind eine nicht seltene Quelle von Irrtümern.

Eine nach der angegebenen Vorschrift erzielte positive Reaktion kann nur dann als positive Blutprobe aufgefaßt werden, wenn die Anwesenheit anderer, ähnlich wirkender Stoffe mit Bestimmtheit ausgeschlossen werden kann. Bei den medizinischen Materialien stört besonders die häufige Anwesenheit oxydierender Fermente, eine Fehlerquelle, die sich leicht dadurch ausschalten läßt, daß man die betreffende Flüssigkeit kocht, abkühlt und so zu der Probe verwendet. In dieser Form wird sie sehr viel für Harn und auch noch für Mageninhalt angewendet. Da man aber die zufällige Anwesenheit anderer Stoffe, die auch die Reaktion geben, bei den letztgenannten Materialien nicht mit voller Sicherheit ausschließen kann, so kann die vorstehende Form der Guajakblutprobe nicht als vollkommen zuverlässig bezeichnet werden. Eine exakte Ausführungsform der

Guajakblutprobe ist die später zu beschreibende sogen. Weber'sche Probe. — Welche Form der Guajakblutprobe man auch anwenden mag, stets ist darauf zu achten, daß die Flüssigkeit, der man die Guajak tinktur und das Terpentinöl zusetzt, weder eine alkalische, noch eine durch Mineralsäuren bedingte saure Reaktion hat, da anderenfalls der normale Verlauf der Farbreaktion gestört wird. Man muß deshalb alkalische Flüssigkeiten zuvor mit Essigsäure ansäuern, salzsäurehaltigen Magensaft mit Sodalösung schwach alkalisieren und danach mit Essigsäure ansäuern. — Ein mäßiger Gehalt an Essigsäure stört die Reaktion nicht.

Von wesentlichem Einfluß auf die Empfindlichkeit der Probe ist die Beschaffenheit des Terpentinöls. Verwendet man ein geeignetes Terpentinöl, so erzielt man in wässerigen, von anderen Farbstoffen freien Blutlösungen eine Empfindlichkeit von etwa 1:40 000 bis 100 000. Bei Harn läßt sich noch ein Blutgehalt von 1:20 000 bis 40 000 erkennen. Läßt sich aus der Farbe des Harns entnehmen, daß nur sehr geringe Mengen von Blutfarbstoff vorhanden sein können, dann empfiehlt sich, um die höchste Empfindlichkeit zu erreichen, ein Zusatz von nur wenigen Tropfen der Guajak tinktur. Die geeignete Beschaffenheit der Reagentien erkennt man natürlich am sichersten daran, daß man sie auf ihr Verhalten gegenüber dünnen Blutlösungen einerseits und gegenüber reinem Wasser andererseits prüft. Oft ist es aber erwünscht, einen anderen Anhaltspunkt, speziell für die Brauchbarkeit des Terpentinöls zu haben. Ein solcher ergibt sich aus seinem Verhalten gegenüber wässriger Jodkaliumlösung, bis zu einem gewissen Grade auch aus dem spezifischen Gewicht, insofern als ein sehr dünnes Oel nicht geeignet ist. Im einzelnen verfähre ich bei der Herstellung und Prüfung des Terpentinöls folgendermaßen:

Als Ausgangsmaterial benutze ich das rektifizierte Terpentinöl. In früheren Jahren habe ich ein vorzüglich geeignetes Präparat erzielt, wenn ich das mir unter der Bezeichnung Ol. Therebinthinae gallicum gelieferte, fast farblose Terpentinöl benutzte. Das in den letzten Jahren am hiesigen Platze erhältliche Ol. Terebinth. „gallic.“ war wesentlich stärker gefärbt und lieferte etwas weniger wirksame Präparate. — Man füllt also das rektifizierte Terpentinöl in einer Schichtdicke von nur 5—10 cm in große flache Porzellan- oder Glasschalen und läßt sie offen in einem Zimmer stehen, wo sie nur dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt sind. Sehr geeignet ist ein über „Zimmertemperatur“ warmer Aufbewahrungsort, z. B. ein in

einem geheizten Raume nahe der Decke angebrachtes Bord. — Man läßt nun das Oel solange stehen, bis sein spezifisches Gewicht, das anfangs etwa 0,87 betragen mochte, auf etwa 0,95 gestiegen ist. Der größere Teil der ursprünglichen Flüssigkeit ist dann verdampft.

Man prüft das Oel nun zunächst auf sein Verhalten gegen Guajaktinktur und Wasser. Sollte schon dabei Bläuung eintreten, so stellt man das Oel solange an einen vor Licht geschützten Ort, bis es die genannte Eigenschaft verloren hat.

Einen gewissen Anhalt für die „Oxydationskraft“ des Terpentins biete nach meinen Beobachtungen die Menge Jod, die beim Schütteln einer bestimmten Menge Terpentins mit Jodkaliumlösung innerhalb eines gewissen Zeitraumes freigemacht wird. Um sie zu bestimmen, verfährt man folgendermaßen:

In einem Scheidetrichter löst man 2 g Jodkalium in 2 g Wasser auf, gibt 2 ccm (oder auch 2 g) Terpentins dazu, schüttelt drei Minuten lang, setzt dann 50 ccm Aether hinzu und schüttelt damit durch. Der weitaus größte Teil des freigewordenen Jods geht dabei in den Aether über. Man läßt jetzt vorsichtig die untere wässrige Flüssigkeit ablaufen, wäscht die Aetherlösung durch zweimaliges Ausschütteln mit je 4 ccm Wasser und überführt sie in eine Glasstöpselflasche von etwa 100 ccm Inhalt, setzt 10 ccm Wasser hinzu und titriert unter heftigem Umschütteln mit  $\frac{1}{10}$  N.-Natriumthiosulfatlösung bis zur Entfärbung. Unter den von mir geprüften Sorten verharzten Terpentins erforderten die brauchbaren Proben etwa 2 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-Natriumthiosulfatlösung.

An Stelle des Terpentins läßt sich für die Guajakblutprobe auch Wasserstoffsuperoxyd (von 3 Gew.-pCt.) verwenden. Carlson<sup>6)</sup> hat empfohlen, diese Reaktion als Schichtprobe auszuführen, indem das Gemisch aus Guajaktinktur und Wasserstoffsuperoxyd mit der auf Blut zu prüfenden Flüssigkeit vorsichtig unterschichtet wird. — Die Empfindlichkeit ist aber geringer als bei der Guajakterpentinsprobe. — Da das Wasserstoffsuperoxyd wenig haltbar ist, überzeuge man sich durch einen Kontrollversuch mit wässriger Blutlösung von seiner Wirksamkeit.

Eine der Guajakblutprobe analoge Reaktion ist die Aloinblutprobe<sup>6)</sup>, bei der eine Lösung von Barbados-Aloin in Alkohol zur Anwendung kommt. — Setzt man einer sehr dünnen wässrigen Blutlösung eine kleine Menge alkoholischer Aloinlösung und verharzten Terpentins zu und schüttelt kräftig um, so tritt allmählich eine schöne Rotfärbung ein. Da Gemische aus Aloinlösung, Wasser und Terpentins auch

bei Abwesenheit von Blutfarbstoff allmählich rot werden können, so ist ein Blindversuch unerlässlich.

Die Fehlerquellen der Aloinproben sind im wesentlichen dieselben, wie die der Guajakblutprobe. — Beide Proben lassen sich auf wässrige Faecesaufschwemmungen nicht anwenden. Aus dem Bestreben, eine für den Nachweis von Blut in den Faeces brauchbare Form der Guajakprobe zu schaffen, ergab sich die Vorschrift zu der sogen. *Weber'schen Probe*.

### Die Weber'sche Probe. (Für Harn.)

Ihr liegt die Absicht zugrunde, aus dem auf Blut zu prüfenden Material ein Extrakt herzustellen, das zwar den Blutfarbstoff in einer die Guajakreaktion gebenden Form, störende Bestandteile dagegen möglichst garnicht enthält. Da die *Weber'sche Probe* sich auch auf Harn sehr gut anwenden läßt, so soll zunächst die für Harn geeignete Vorschrift angegeben werden:

Etwa 30 ccm Harn, eventuell mehr, werden im Scheidetrichter mit 10 ccm Essigsäure und 20—40 ccm Aether geschüttelt und die Aetherlösung abgetrennt. Wenn keine Scheidung der Flüssigkeiten erfolgt, setzt man etwas 90% igen Alkohol zu und schwenkt einmal um, wodurch die Trennung der Emulsion erfolgt. Einen Teil der Aetherlösung versetzt man mit etwa 5—10 Tropfen Guajaktinktur und 20 Tropfen verharzten Terpentinöls. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff tritt innerhalb einiger Minuten Blau- oder Violettfärbung, bei sehr kleinen Mengen Grünfärbung ein. Absolute Zuverlässigkeit erreicht diese Probe allerdings erst dadurch, daß man das Aetherextrakt vor dem Zusatz der Reagentien ein- bis zweimal durch Ausschütteln mit je einigen Kubikzentimetern Wasser wäscht. Die Farbreaktion entwickelt sich bei dem gewaschenen Aetherextrakt etwas langsamer. Das Ausschütteln mit Wasser bewirkt aber, daß etwa in das Aetherextrakt übergegangene Spuren anorganischer Stoffe, die auch die Reaktion geben konnten, entfernt werden.

In letzterer Form ist die *Weber'sche Probe* allgemein anwendbar, z. B. bei serösen Flüssigkeiten, Cystenflüssigkeiten, ferner diarrhoischen Faeces. Will man sie bei Mageninhalt anwenden, so ist die darin enthaltene freie Salzsäure aus dem früher angegebenen Grunde durch Zusatz von Soda bis zur schwach alkalischen Reaktion zu entfernen.

Für Harn liegt die Empfindlichkeitsgrenze dieser Probe unter günstigen Umständen bei etwa 1:10 000 bis 1:15 000. Sind andere

Farbstoffe vorhanden, die bei saurer Reaktion ebenfalls in größerer Menge in den Aether übergehen, so sinkt die Empfindlichkeit.

Die ursprüngliche Vorschrift zu der Probe Weber's für Faeces<sup>7)</sup> lautete folgendermaßen:

Man zerreibt eine möglichst reichliche Portion der Faeces mit Wasser, dem man etwa  $\frac{1}{3}$  Volumen Eisessig zugesetzt hat, und schüttelt mit Aether aus. Von diesem sauren Aetherextrakt werden nach der Klärung einige Kubikzentimeter abgossen und mit etwa 10 Tropfen Guajaktinktur und mit 20—30 Tropfen Terpentin versetzt. Bei Anwesenheit von Blut wird das Gemisch blauviolett, fehlt Blut, so wird es rotbraun, oft mit einem Stich ins Grüne. Prägnanter wird die Reaktion, wenn man nach dem Zusatz von Wasser den blauen Farbstoff mit Chloroform ausschüttelt.

Ueber die Empfindlichkeit der Probe gibt Weber an, daß der Genuß von kaum 3 ccm roten Blutes genüge, um im Extrakt des Tagesstuhls positiven Ausfall zu bedingen. Bei der Beurteilung dieser Angabe ist zu berücksichtigen, daß Weber's Untersuchungen, soweit aus seinen übrigen Ausführungen ersichtlich ist, bei gemischter Kost angestellt sind. An der Reaktion ist also das im Stuhle enthaltene, den Nahrungsmitteln entstammende Haematin mit beteiligt. Für fleischfreie Kost gilt die angegebene Empfindlichkeit deshalb ohne weiteres nicht.

Bei Anwendung der Weber'schen Probe auf Faeces haben sich nun im Laufe der Zeit verschiedene Mängel ergeben, die den Wert der Probe begrenzen. Was zunächst die Empfindlichkeit anbetrifft, so ist diese bedeutenden Schwankungen unterworfen und erreicht oft nicht den erforderlichen Grad. Sie ist unter anderem wesentlich abhängig von dem jeweiligen Gehalt der Faeces an Farbstoffen wie Hydrobilirubin u. a. Diese beeinflussen die Blaufärbung der Guajakreaktion oft derart, daß bei geringem Blutgehalt keine eindeutige Farbreaktion eintritt, sondern nur Mischfarben, deren richtige Deutung auch dem Geübten vielfach unmöglich ist. Ein weiterer Mangel liegt darin, daß das erzielte Extrakt nicht notwendig von anderen Stoffen frei zu sein braucht, die ebenso wie Blut einen positiven Ausfall der Guajakreaktion bewirken können.

Die ursprüngliche, von Weber vertretene Auffassung, daß die Weber'sche Probe bei Faeces nur dann positiv ausfällt, wenn eine Blutung vorgekommen ist, konnte nicht aufrecht erhalten werden, sondern ist dahin zu berichtigen, daß schon der in der gemischten Nahrung enthaltene Blutfarbstoff

genügen kann, um einen positiven Ausfall der Weber'schen Probe zu verursachen. Aus einem positiven Ausfall der Weber'schen Stuhlprobe darf man also nur dann mit Sicherheit auf eine Blutung schließen, wenn seit einer Reihe von Tagen mit der Nahrung kein Blutfarbstoff oder Haematin eingeführt worden ist.

Wiederholt sind Versuche unternommen worden, die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit der Weber'schen Probe für Faeces zu erhöhen. Dabei hat sich ergeben, daß eine Vervollkommnung der Probe nur auf Kosten ihrer Einfachheit geschehen konnte. Auf Grund seiner Versuche kam Verfasser zur Aufstellung folgender Vorschrift, die einen für die Praxis durchweg genügenden Grad von Empfindlichkeit haben dürfte, ohne doch allzu kompliziert zu sein.

### **Verbesserte Weber'sche Probe<sup>8)</sup>.**

Etwa 4 g Stuhl (wallnußgroße Durchschnittsprobe) werden mit 30 ccm Alkoholäther (ana) fein verrieben, durch ein glattes Filter filtriert, der Filtrerrückstand einmal mit Alkoholäther, danach ein oder mehrere Male mit Aether unter Aufrühren des Filtrerrückstandes nachgewaschen. Das zuletzt Abfließende sei nahezu ungefärbt. Die Waschflüssigkeit wird nicht gebraucht. Der Rückstand wird im Filter mit etwa 4 ccm Eisessig vorsichtig gemischt; nachdem ein Teil durchfiltriert ist, werden nochmals 4 ccm Eisessig aufgegossen. Ist der größere Teil filtriert, dann gießt man das Filtrat nochmals auf das Filter zurück und lockert gleichzeitig den Filterinhalt mit einem Glasstabe auf.

Von dem jetzt erzielten Filtrat kann man einen Teil zur Vorprobe verwenden, indem man ihn mit der doppelten Menge Alkohol verdünnt und mit Guajak tinktur und Terpentinöl prüft. Der Ausfall ist aber nicht ganz zuverlässig.

Die Hauptmenge des Filtrats (Eisessigextrakt) verdünnt man in einem Scheidetrichter von etwa 100 ccm Inhalt mit der zweibis dreifachen Menge Aether, setzt der Mischung ihr halbes Volumen destillierten Wassers zu und schüttelt gut durch. Tritt bald nach Beendigung des Schüttelns keine Scheidung (Schichtenbildung) ein, so gibt man etwas Alkohol (auch wohl noch etwas Wasser oder Aether) hinzu. Ist die Scheidung erfolgt, so läßt man die wässrige Schicht abfließen, die ätherische Schicht schüttelt man nochmals mit einer kleinen Menge Wasser aus. Die abgehobene ätherische Lösung benutzt man nun zu der endgültigen Probe. Da man für die Guajakreaktion mit wenigen Kubikzentimetern auskommen kann,

hebt man einen Teil für eventuell auszuführende weitere Reaktionen auf. Mehrere Kubikzentimeter der Aetherlösung versetzt man mit etwa 5—10 Tropfen Guajaktinktur oder 1%iger Guajakonsäurelösung und etwa 20 Tropfen verharzten Terpentinöls. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff tritt innerhalb 2—3 Minuten ein starker Farbenwechsel ein, indem die Flüssigkeit mehr oder weniger reine und kräftige Blau-, Violett-, auch wohl Grünblau- oder Purpurfärbung annimmt. Bei reichlichem Blutgehalt kann die Aetherlösung so dunkel und die Farbreaktion so intensiv sein, daß eine Verdünnung der Aetherlösung erforderlich ist, um den Farbwechsel gut betrachten zu können.

Bei dünnen Stühlen nimmt man eine größere Menge in Arbeit und mischt sie mit der vierfachen Menge Alkoholäther (ana p.). Im übrigen verfährt man wie oben. Sauer gärende Stühle sind vor Zusatz des Alkoholäthers mit mehreren Tropfen konzentrierter Sodalösung zu vermischen. — Sehr dünne Stühle kann man, wenn sie nur schwach gefärbt sind, auch gut in der für Harn angegebenen Ausführungsform der *W e b e r'schen Probe* untersuchen (siehe oben).

Mit Hilfe der „verbesserten *W e b e r'schen Probe*“ konnte ich in vollkommen haematinfreien Stühlen, denen ich 0,1% menschliches Blut zusetzte, eine eben noch positive Guajakreaktion erhalten. Bei völlig haematinfreier Kost erhielt ich ferner nach Genuß von 2 cem gekochten Blutes eine eben noch positive Reaktion, als ich die Faeces in der angegebenen Weise prüfte. Das ist ein Grad von Empfindlichkeit, der für die allgemeine klinische Verwendung nach meinen Erfahrungen durchweg genügt. In einzelnen Fällen kann es wünschenswert sein, eine noch empfindlichere Probe anzuwenden. Für solche Fälle empfiehlt sich eine exakte Ausführungsform der Benzidinprobe (siehe unten). Soweit es die Umstände erlauben, suche man zu vermeiden, daß Kranke, deren Stuhl auf Blut geprüft werden soll, Spinat essen, da dessen hoher Gehalt an Chlorophyll die Empfindlichkeit der Guajakreaktion herabsetzt. — Daß der Genuß von Blutpräparaten, wie Haematogen, Haemogallol u. a., vermieden werden muß, ist selbstverständlich, da auch sie eine intensive Guajakreaktion geben.

### Die Benzidinblutprobe<sup>9</sup>).

Das Benzidin (Diamidodiphenyl) läßt sich sehr gut als hochempfindliches Reagens auf Blutfarbstoff verwenden. Setzt man einer alkoholischen Lösung von Benzidin etwas Wasserstoffsuperoxyd und eine essigsäurehaltige Lösung von Blutfarbstoff in Wasser oder



einen mit essigsäurehaltigem Aether hergestellten Auszug von Blut hinzu, so tritt eine grüne bis blaugrüne Färbung ein. Die Empfindlichkeit der Probe ist im wesentlichen abhängig von der Qualität des benutzten Wasserstoffsuperoxyd und Benzidin. Das Wasserstoffsuperoxyd verwendet man in der üblichen Konzentration (3 Gew.-pCt. = 10 Vol.-pCt.). Von den im Handel erhältlichen Sorten Benzidin haben sich mir besonders die Präparate von Kahlbaum - Berlin und Dr. Orth - Hamburg, nächst dem das Benzidin von Merck bewährt. Manche Sorten Benzidin verändern sich sehr bald und sind dann als Reagens auf Blutfarbstoff nicht mehr geeignet. Mischt man eine gesättigte mit Essigsäure angesäuerte Lösung von Benzidin in Alkohol oder eine gesättigte Lösung von Benzidin in Eisessig mit gleich viel 3% igem Wasserstoffsuperoxyd und setzt dann einige Kubikzentimeter Wasser hinzu, so darf innerhalb einiger Minuten keine oder doch nur eine sehr geringe Färbung eintreten.

Je nach der Art des Materials, auf das die Benzidinreaktion angewandt wird, ist ihre Empfindlichkeit eine verschiedene. Der außerordentlich hohe Grad von Empfindlichkeit, den man bei ihrer Anwendung auf reine wässrige Blutlösungen beobachtet, wird naturgemäß nicht erreicht, wenn die zu prüfende Flüssigkeit gleichzeitig noch andere Farbstoffe enthält. Auch bei sauren Aetherextrakten bluthaltiger Materialien ist die Empfindlichkeit eine geringere.

Leider ist die Benzidinreaktion nicht ganz eindeutig<sup>10)</sup>. Eine ganze Reihe anderer Stoffe kann ebenfalls positiven Ausfall der Reaktion bewirken, z. B. oxydierende Fermente, wie sie in Hefe, Gummi arabicum, frischen Nüssen, Pflanzensamen und anderen Pflanzenteilen, im Eiter, Sekret der Nasenschleimhaut u. dergl. vorkommen, ferner Rhodansalze, Eisenoxydsalze, Kupferoxydul, verschiedene Metalle in Gestalt von Pulver, Spänen und Blech. Demnach kommen im allgemeinen die gleichen Fehlerquellen in Betracht, wie bei der Guajakreaktion, doch macht die außerordentliche Empfindlichkeit der Benzidinreaktion doppelte Vorsicht nötig.

In der einfachen Form ist die Benzidinreaktion daher bei klinischen Materialien kaum anwendbar, höchstens ist ein negativer Ausfall zu verwerten.

Bei Spinalflüssigkeit wendet man sie gern in folgender Form an. Um etwa vorhandene Oxydationsfermente zu zerstören, kocht man die Flüssigkeit, kühlt sie ab und setzt ihr dann etwas Essigsäure, Benzidinlösung und Wasserstoffsuperoxyd

hinzu. Tritt keine Grünfärbung ein, dann ist eine Beimengung von Blut nicht vorhanden.

Auf Harn, seröse Flüssigkeiten, Mageninhalt u. dergl. wendet man die Probe in genau der gleichen Weise an, wie die Guajakreaktion, d. h. man stellt sie an dem mit Wasser gewaschenen Essigsäure-Aetherextrakt an.

Bei Mageninhalt ist die freie Salzsäure zuvor mit Sodalösung zu neutralisieren, da die Benzidinreaktion ebenso wie die Guajakreaktion durch freie Mineralsäuren gestört wird. Man führt die Benzidinprobe demnach folgendermaßen aus: Einige Kubikzentimeter des gewaschenen sauren Aetherextraktes versetzt man mit 2 ccm einer gesättigten alkoholischen Benzidinlösung und mit 2 ccm Wasserstoffsuperoxyd und schüttelt mehrmals kräftig. Je nach der Menge des vorhandenen Blutfarbstoffes tritt Grün- bis Blaufärbung ein. Statt der alkoholischen Benzidinlösung läßt sich auch eine Lösung von Benzidin in Eisessig verwenden. Da die Lösungen des Benzidin sich leicht zersetzen, fertigt man sie zu jedesmaligem Gebrauche frisch an.

Man hat die Benzidinreaktion auch für Faeces anzuwenden gesucht, indem man dem sauren Aetherextrakt der Faeces an Stelle von Guajak und Terpentin die Benzidinreagentien zusetzte. Bei dieser Art der Anwendung ist die Empfindlichkeit der Benzidinreaktion indessen für viele Zwecke zu groß, denn die Faeces Gesunder lieferten trotz mehrtägiger fleischfreier Kost immer noch eine positive Benzidinreaktion. Man wendet sie daher für Faeces zweckmäßig nur in solchen Fällen an, wo es sich um den Nachweis allerkleinster Blutungen handelt, und wo eine genaueste Kontrolle der Ernährung des betreffenden Kranken gewährleistet ist.

Eine andere von Schlesinger und Holst empfohlene Anwendungsform<sup>11)</sup> der Benzidinreaktion für Faeces besteht darin, daß man eine erbsengroße Menge der Faeces mit mehreren Kubikzentimetern Wasser verrührt, aufkocht und einige Tropfen dieser Aufschwemmung einer Mischung aus etwa 10—20 Tropfen gesättigter Benzidineisessiglösung und einigen Kubikzentimetern Wasserstoffsuperoxyd zusetzt. Tritt Grünfärbung auf, so gilt die Probe als positiv. Dieses Verfahren kann nur dann als einigermaßen zuverlässig gelten, wenn man vor Entnahme der Probe die Faeces sorgfältig mischt oder von verschiedenen Stellen der Faekalmassen Proben entnimmt und einzeln untersucht. Ferner muß man immerhin mit der Möglichkeit rechnen, daß die kleine zur Reaktion verwandte

Menge des Stuhls Stoffe in genügender Menge enthält, die die Reaktion stören, wenn auch die Wahrscheinlichkeit, daß dies praktisch häufiger vorkommt, gering ist. Die Empfindlichkeit des Verfahrens ist eine ziemlich schwankende, derart, daß man häufig eine geringere, meistens allerdings eine wesentlich größere Empfindlichkeit als mit der verbesserten Weber'schen Probe erzielt. Ihr gegenüber hat die letztgenannte Ausführungsform der Benzidinprobe den Vorzug der Einfachheit und leistet besonders als Vorprobe recht gute Dienste. Einen positiven Ausfall verwerte man jedoch mit Rücksicht auf die unter günstigen Umständen sehr hohe Empfindlichkeit dieser Blutprobe nur mit großer Vorsicht.

### **Spektroskopisch-chemische Blutproben.**

Die spektroskopisch-chemischen Blutproben stehen auch heute noch als durchweg gleichwertig neben den exakten Ausführungsformen der besprochenen chemischen Blutproben. Zum Beispiel ist die Empfindlichkeit bei Harn etwa die gleiche wie die der Weber'schen Probe. Bei Faeces ist die verbesserte Weber'sche Probe den spektroskopisch-chemischen Proben allerdings an Empfindlichkeit bedeutend überlegen. Da bei sachgemäßer Handhabung der spektroskopisch-chemischen Verfahren deren positiver Ausfall als absolut zuverlässig gelten kann, so sind sie als Kontrollproben in erster Linie am Platze. — Aber auch sonst lassen sie sich in vielen Fällen vorteilhaft verwenden. Zum Beispiel ist man bei den spektroskopisch-chemischen Methoden von der Tageszeit ganz unabhängig, da sich die Beobachtungen gleich gut bei künstlichem Licht ausführen lassen. Dagegen bereitet es bei den chemischen Blutproben manchem Untersucher Schwierigkeit, die ausschlaggebende Färbung des Reaktionsgemisches richtig zu beurteilen. — Die häufigen Klagen über unbefriedigende Erfolge bei Anwendung spektroskopischer Methoden dürften auf unzuweckmäßige Handhabung und mangelhafte Apparatur zurückzuführen sein.

### **Die Haemochromogenprobe.**

Ueberführt man gelösten Blutfarbstoff durch Zusatz von Kalilauge in Haematin und setzt danach Hydrazinhydrat oder Schwefelammonium hinzu, so entsteht das Haemochromogen, dessen alkalische Lösung durch ein sehr scharfes und charakteristisches Spektrum ausgezeichnet ist. Spektroskopiert man eine solche einer 1% igen Blutlösung entsprechende Haemochromogenlösung in 1 ccm

Schichtdicke, so sieht man zwei Absorptionsstreifen, von denen der erste schärfere von etwa 567—550, der zweite schwächere von etwa 538—510 reicht.

Sehr dünne Haemochromogenlösungen zeigen nur den ersten Streifen. Das Haemochromogen geht durch Reoxydation leicht wieder in Haematin über. Durch Ueberschichten mit Aether lassen sich die Haemochromogenlösungen haltbarer machen. Da die Haemochromogenprobe die empfindlichste der spektroskopisch-chemischen Blutproben ist, wendet man sie vielfach an, um verdächtig gefärbte Partikel, Flecke auf Zeug u. a. schnell auf Blut zu prüfen. Handelt es sich z. B. darum, auf einfache Weise zu entscheiden, ob die Schwarzfärbung eines Stuhls durch zersetztes Blut bedingt ist oder nicht, so verreibt man eine erbsengroße Menge der Fäkalmasse mit etwa 5 Tropfen Kalilauge, setzt 5 ccm Wasser hinzu und filtriert nach kurzem Stehenlassen durch ein gehärtetes Filter (Schleicher & Schüll). Das Filtrat füllt man zweckmäßig in einen kleinen Zeiß'schen Absorptionszylinder, und zwar in einer solchen Schichtdicke, daß, wenn man ihn auf das Objektischchen des Blutspektroskops stellt, noch ein für die spektroskopische Beobachtung genügende Lichtmenge hindurchgeht. Man setzt dann einige Tropfen Hydrazinhydrat hinzu, rührt einmal um und überschichtet die Flüssigkeit mit etwas Aether. Sieht man jetzt in den Apparat hinein, so beobachtet man, falls die Schwarzfärbung des Stuhls durch zersetztes Blut bedingt war, das allmähliche Entstehen der für das Haemochromogen charakteristischen Absorptionerscheinung. Namentlich der erste Streifen des Haemochromogens ist gut erkennbar und mit Hilfe der Wellenlängenskala des Spektroskops leicht zu identifizieren. Der zweite schwächere Streifen ist dagegen oft nur als ganz verwaschenes Band zu erkennen. Die Absorptionerscheinung hält sich geraume Zeit. Infolge des starken Färbevermögens alkalischer Auszüge aus Faeces lassen konzentriertere Auszüge nicht mehr genügend Licht hindurch, um sie spektroskopisch prüfen zu können. Man kann daher in der beschriebenen Weise nur einen reichlichen Blutgehalt des Stuhls nachweisen, darf diese einfache Probe also nicht zur Prüfung des Stuhls auf geringe Blutbeimengungen verwenden.

Zur Untersuchung blutverdächtiger Flecke eignet sich die einfache Haemochromogenprobe vortrefflich. Will man einen solchen, z. B. auf Leinwand befindlichen Fleck untersuchen, so schneidet man ihn aus dem Stück heraus, legt ihn in eine sehr kleine Glas- oder Porzellanschale und befeuchtet ihn mit einem Tropfen Kalilauge,

setzt  $\frac{1}{2}$ —1 cem Wasser hinzu und gießt nach genügender Auslaugung des Flecks die Flüssigkeit in einen engen Absorptionszylinder gibt einige Tropfen Hydrazinhydrat hinzu, rührt einmal um und überschichtet mit Aether. Die spektroskopische Beobachtung geschieht in der oben beschriebenen Weise. Es erscheinen bald die beiden Absorptionsstreifen des Haemochromogens.

Auch für den Nachweis einer Blutbeimengung zu Sputum ist die angegebene Probe oftmals vorteilhaft anwendbar. Hat man bei der Haemochromogenprobe Hydrazinhydrat angewandt, so kann man das Flüssigkeitsgemisch, wenn es nur kurze Zeit gestanden hat, noch für die Guajakreaktion verwenden, indem man es mit Essigsäure ansäuert, mit Aether ausschüttelt, die abgetrennte Aetherlösung mit wenig Wasser wäscht und sie (je nach ihrer Menge) mit 3—10 Tropfen Guajaktinktur und 10—20 Tropfen verharzten Terpentinöls versetzt. Schon aus diesem Grunde empfiehlt es sich, die Haemochromogenprobe womöglich mit Hydrazinhydrat anzustellen. Von der genügenden Wirksamkeit des im Handel erhältlichen Hydrazinhydrats muß man sich durch einen Vorversuch mit einer dünnen Blutlösung überzeugen. Das Hydrazinhydrat von Kahlbaum hat sich mir gut bewährt.

Für Harn ist die einfache Haemochromogenprobe weniger geeignet. Setzt man Harn Kalilauge hinzu, so trübt er sich durch die Ausscheidung von Kalkphosphat und wird dadurch ziemlich undurchsichtig. Der vorhandene Blutfarbstoff wird von dem sich ausscheidenden Kalkphosphat zum Teil mit niedergeschlagen. Durch Abfiltrieren würde man den Blutfarbstoff also teilweise entfernen. Daher ist die einfache Haemochromogenprobe nur bei blutreicheren Harnen anwendbar.

Gut bewährt haben sich für den Nachweis von Blut im Harn die beiden folgenden Ausführungsformen der Haemochromogenprobe.

1. In einem Becherglase oder einer Porzellanschale mischt man 50—100 cem Harn mit  $\frac{1}{10}$  Vol. 3% iger Zinkacetatlösung und erhitzt die Mischung auf etwa 70—80°. Nach dem Absetzen sammelt man den Niederschlag auf einem kleinen Filter. Er enthält den etwa vorhandenen Blutfarbstoff. Man setzt den Trichter in ein reines Reagenzglas, übergießt den Filterinhalt mit einigen Kubikzentimetern Salmiakgeist und verteilt ihn darin gut mit Hilfe eines Glasstabes. Das Filtrat gießt man eventuell noch einmal auf das Filter. Die gewonnene ammoniakalische Haematinlösung füllt man in ein Absorptionsgefäß, setzt einige Tropfen wein-

säurehaltiger Ferrosulfatlösung (je 1 Teil Weinsäure und Ferrosulfat, 10 Teile Wasser) hinzu und beobachtet sie in möglichst großer Schichtdicke spektroskopisch. Bei stärkerem Blutgehalt sieht man beide, bei geringerem Blutgehalt nur den ersten Absorptionsstreifen des Haemochromogen. Wendet man 100 ccm Harn an, so läßt sich noch ein Blutgehalt von etwa 1 : 10 000 bis 20 000 nachweisen.

2. Etwa 50 ccm Harn werden mit 5 ccm Eisessig und 40 ccm bis 50 ccm Aether im Scheidetrichter stark geschüttelt. Nach erfolgter Trennung der beiden Flüssigkeiten läßt man die untere Schicht abfließen. Sie wird nicht mehr benutzt. Zu der im Scheidetrichter verbliebenen Aetherlösung setzt man etwa 5 ccm Wasser, schüttelt tüchtig durch und läßt die nach dem Auflösen mit dem Schütteln sich abscheidende untere wässrige Flüssigkeit abfließen. Sie wird nicht benutzt. Zu der im Scheidetrichter befindlichen Aetherlösung gibt man mehrere Kubikzentimeter Salmiakgeist, verschließt den Scheidetrichter und schüttelt unter Kühlung (durch Darüberfließenlassen des Strahles der Wasserleitung) etwa  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Minute. Man prüft jetzt mit Lackmuspapier. Die Reaktion soll stark alkalisch sein; ist sie es nicht, so setzt man noch soviel Salmiakgeist hinzu, bis nach dem Schütteln die Reaktion stark alkalisch bleibt. Man läßt nun die mehr oder weniger stark gefärbte untere wässrige Schicht, die nunmehr den etwa vorhandenen Blutfarbstoff als Haematin enthält, nebst einem kleinen Teil der Aetherlösung aus dem Rohre des Scheidetrichters in ein Absorptionsgefäß fließen, in der man sie in einer Schichtdicke von 2—4 cm beobachten kann, setzt etwa 5—10 Tropfen Schwefelammonium hinzu und untersucht sie jetzt spektroskopisch. Es entsteht dann die Absorptionserscheinung des Haemochromogens. Die Empfindlichkeitsgrenze des Verfahrens liegt bei etwa 1 : 10 000 bis 20 000, so daß die beiden zuletzt beschriebenen Ausführungsformen der Haemochromogenprobe annähernd gleich empfindlich sind.

Das unter „2“ beschriebene Verfahren läßt sich auch auf andere klinische Materialien, z. B. Sputum, Mageninhalt, Erbrochenes, Galle, seröse Flüssigkeiten, Cystenflüssigkeiten u. dergl. anwenden. Ebenfalls läßt es sich für Faeces anwenden. Leider ist dabei die Empfindlichkeit wesentlich geringer als bei der verbesserten Weber'schen Probe. Da sich aber beide Proben sehr gut kombinieren lassen, so empfiehlt es sich, die Haemochromogenprobe womöglich neben der Guajakreaktion auszuführen. Man verarbeitet dann zweckmäßig etwa 20 g Faeces in der früher beschriebenen Weise (Reinigung mit Alkoholäther, Extraktion mit Eisessig u. s. f.). Die dabei erhaltene gereinigte saure Aetherlösung

verwendet man zu einem kleinen Teile für die Guajakreaktion. Die Hauptmenge der Aetherlösung verarbeitet man in der soeben unter „2“ beschriebenen Weise auf Haemochromogen. Bei Verarbeitung von etwa 20 g Faeces läßt sich durch die Haemochromogenprobe noch ein Blutgehalt von etwa 1% nachweisen.

### Die Haematoporphyrinprobe.

Mischt man mehreren Kubikzentimetern konzentrierter Schwefelsäure einen Tropfen Blut hinzu, so entsteht eine Lösung von Haematoporphyrin. Spektroskopiert man eine solche, einer 1% igen Blutlösung entsprechende Lösung von Haematoporphyrin in 1 cm Schichtdicke, so sieht man zwei Absorptionsstreifen, von denen der schmälere von etwa 608—599, der stärkere von etwa 566—544 reicht. Zu diesem zweiten Streifen gehört noch der von etwa 587—566 reichende schwache Vorschatten.

Solche Lösungen von Haematoporphyrin in Schwefelsäure halten sich lange Zeit. Da das Spectrum des sauren Haematoporphyrins sehr charakteristisch ist, eignet es sich sehr gut zum Blutnachweis. Allerdings ist die Haematoporphyrinprobe nicht ganz so empfindlich wie die Haemochromogenprobe. — Kleine blutverdächtige Partikel kann man direkt mit konzentrierter Schwefelsäure verreiben und dann in geeigneter Schichtdicke spektroskopieren. Blutflecken auf Zeug laugt man erst mit Wasser oder dünner Kalilauge aus, engt die Lösung ein und vermischt den Rückstand mit konzentrierter Schwefelsäure. — Enthält die auf Blut zu prüfende Masse reichliche Mengen organischer Substanz beigemischt, so ist die angegebene einfache Form der Haematoporphyrinprobe nicht gut anwendbar, weil mit der Einwirkung der Schwefelsäure eine so starke Schwärzung einhergeht, daß die Flüssigkeit für die spektroskopische Probe nicht mehr durchsichtig genug ist. Aus dem Grunde ist die einfache Haematoporphyrinprobe für den Nachweis kleiner Mengen Blut in den Faeces nicht geeignet. Wohl aber ist sie anwendbar, um auf einfache Weise festzustellen, ob die Schwarzfärbung eines Stuhls durch Blut bedingt ist oder nicht. Zu dem Zweck verreibt man eine kleine Probe der Faeces mit konzentrierter Schwefelsäure, läßt die Flüssigkeit ruhig stehen, bis die meist reichlich vorhandenen Gasbläschen verschwunden sind, und beobachtet jetzt die (eventuell klar abgegossene) Flüssigkeit spektroskopisch in derselben Weise, wie es bei Haemochromogen beschrieben worden ist.

Sehr dünne Haematoporphyrinlösungen zeigen nur den zweiten Streifen im Grün.

### Die „Cyankaliumblutprobe“.

Läßt man auf Blut, das längere Zeit gestanden hat, eine konzentrierte Cyankaliumlösung einige Stunden einwirken und setzt dann Schwefelammonium hinzu, so erhält man eine rötlich bis rot gefärbte Flüssigkeit, die in geeigneter Schichtdicke ein sehr charakteristisches Spektrum gibt. Untersucht man eine solche, etwa einer 0,7% igen Blutlösung entsprechende Lösung in 2 cm Schichtdicke, so sieht man zwei etwa gleich starke und breite Streifen, von denen der erste von etwa 579—560, der zweite, etwas stärkere, von etwa 550—520 reicht. Dieses Absorptionsspektrum ist also dem des Haemochromogen sehr ähnlich, unterscheidet sich aber doch merklich von ihm, denn die beiden Streifen des Haemochromogens liegen etwas weiter nach rechts. Ferner ist beim Haemochromogen der zweite Streifen schwächer als der erste. Man benutzt die „Cyankaliumblutprobe“ seit langem zur Identifizierung alter Blutflecken. Für den alltäglichen klinischen Gebrauch ist die Probe weniger geeignet, da mehrere Stunden erforderlich sind, um das Resultat zu erhalten. Neuerdings ist sie doch für die Untersuchung der Faeces auf Blut empfohlen worden<sup>12)</sup>. Nach Verfassers Erfahrungen kann man mit der Probe bei blutreichen Stühlen allerdings ganz gute Resultate erzielen. Bei schwach bluthaltigen Stühlen befriedigt die Probe weniger. Das liegt besonders daran, daß die Cyankaliumextrakte der Stühle sehr schwer filtrieren und die erzielten Filtrate so wenig durchsichtig sind, daß man sie meist nur nach ziemlich starker Verdünnung spektroskopieren kann. Durch die erforderliche Verdünnung wird aber die Empfindlichkeit der Probe zu stark herabgesetzt<sup>13)</sup>. Die Cyankaliumblutprobe leistet infolgedessen bei Faeces im großen und ganzen nicht mehr als die oben beschriebene einfache Ausführungsform der Haemochromogenprobe, die den Vorteil bietet, schneller ausgeführt werden zu können.

In ganz speziellen Fällen wird man allerdings versuchen, neben den anderen Proben auch eine positive Cyankaliumblutprobe zu erhalten, nämlich, wenn es sich darum handelt, die positive Blutprobe nach einiger Zeit noch demonstrieren zu können. Die Cyankaliumextrakte sind nämlich längere Zeit haltbar. Im übrigen ist die Cyankaliumblutprobe bei klinischen Untersuchungen entbehrlich.

Gegenüber der Haematoporphyrinprobe und der Cyankaliumblutprobe bietet die Haemochromogenprobe noch einen besonderen Vorteil. Benutzt man bei der letzteren als Reduktionsmittel Hydrazinhydrat, so kann man die Flüssigkeit noch zur Guajak-



reaktion verwenden, wenn man sie nach der spektroskopischen Beobachtung schnell mit Essigsäure ansäuert, mit Aether extrahiert und das Aetherextrakt in der früher beschriebenen Weise für die Guajakreaktion benutzt.

Von anderen für klinische Zwecke üblichen Blutproben seien die Heller'sche Probe und die Teichmann'sche Haeminprobe erwähnt. Die Heller'sche Probe steht an Empfindlichkeit der Weber'schen Probe nach. Die Haeminprobe ist allgemein bekannt, so daß ein näheres Eingehen auf diese beiden Proben überflüssig erscheint. Von Wichtigkeit ist, daß sich die Haeminprobe für den Nachweis von Blut in Faeces im allgemeinen wenig bewährt hat. Sie ist durch die exakte Ausführungsform der Guajakreaktion verdrängt worden.

### **Nachweis von Haematoporphyrin in pathologischen Harnen.**

Das Haematoporphyrin kommt gelegentlich in reichlicher Menge im Harn vor, besonders nach längerem Gebrauch von Sulfonal oder Trional. Solche haematoporphyrinreichen Harnen haben eine bräunlichrote bis bordeauxrote Farbe und werden deshalb leicht irrtümlich als Blutharne angesehen. Verfasser konnte in mehreren solcher Harnen das Haematoporphyrin durch einfache spektroskopische Beobachtung nachweisen. Die Absorptionserscheinung hatte den Charakter des sauren Haematoporphyrins, nur waren die Streifen ein wenig nach dem violetten Ende hin verschoben. In einem Falle zeigte der rötlich braune Harn in  $\frac{1}{2}$  cm Schichtdicke einen schwachen Streifen von etwa 583—573, ferner zwei unscharfe begrenzte Streifen zwischen etwa 573—548 und 548—533. Eine Verwechselung mit dem Oxyhaemoglobinspektrum kann bei einiger Aufmerksamkeit kaum vorkommen, da eine ähnliche stark gefärbte Oxyhaemoglobinlösung auch den zweiten Streifen sehr scharf zeigt.

Erlaubt die einfache spektroskopische Besichtigung eines haematoporphyrinverdächtigen Harns keine sichere Entscheidung ob Blutfarbstoff oder Haematoporphyrin vorhanden ist, so prüft man den Harn mit der Weber'schen Probe. Haematoporphyrin gibt weder die Weber'sche Probe noch die einfache Guajakreaktion.

Nach Verfassers Versuchen läßt sich das Haematoporphyrin aus dem Harn recht gut durch Zinkacetat abscheiden. Man mischt 30 ccm Harn mit 10 ccm 3% iger Zinkacetatlösung, erhitzt bis etwa auf 70° und filtriert. Nach völligem Abtropfen nimmt man den Niederschlag vom Filter, verreibt ihn mit etwa 10 ccm Alkohol und 1 ccm 25% iger Salzsäure, filtriert und spektroskopiert das

Filtrat. Es zeigt die Absorptionserscheinung des sauren Haemato-  
porphyrins. Deutet die Farbe des Harnes nur auf einen geringen  
Gehalt an Haematoporphyrin, dann nimmt man mehr Harn in  
Arbeit.

### Nachweis von Urobilin im Harn und in den Faeces.

Das Urobilin ist ein häufiger Bestandteil farbstoffreicher  
Harne. In den Faeces ist es schon unter normalen Verhältnissen  
bei gemischter Kost in beträchtlicher Menge vorhanden.

Urobilinreiche Harne zeigen schon in dünner Schicht ein  
breites Absorptionsband in Blau und Violett. Da aber andere  
Farbstoffe, z. B. Bilirubin, eine ähnliche Absorptionserscheinung  
geben, so genügt die bloße spektroskopische Besichtigung nicht zur  
sicheren Identifizierung.

Bei sehr hohem Urobilingehalt des Harns genügt folgende  
Probe. Man setzt dem Harn etwas Chlorzinklösung und danach  
Ammoniak im Ueberschuß zu, filtriert und beobachtet das Filtrat  
spektroskopisch. Man sieht dann den Absorptionsstreifen der  
Urobilin-Zinkverbindung bei geeigneter Schichtdicke zwischen etwa  
519 und 475. Die Flüssigkeit fluoresziert grün.

Kleinere Mengen von Urobilin weist man folgendermaßen  
nach. 50 (bis 100) ccm Harn werden mit wenigen Tropfen Salz-  
säure oder Essigsäure angesäuert und mit 50 (bis 100) ccm Aether  
kräftig geschüttelt. Die abgeschiedene Aetherlösung wird durch  
Schütteln mit wenig Wasser gewaschen, klar abgetrennt und in  
einer Porzellanschale verdunstet. Bei Anwesenheit von Urobilin  
verbleibt ein rötlich oder bräunlich gefärbter Rückstand. Man  
nimmt ihn mit mehreren Kubikzentimetern Amylalkohol auf,  
füllt ihn in ein Reagenzglas und setzt einige Tropfen einer  
alkoholisch-ammoniakalischen Chlorzinklösung (1 g Zinc. chlorat.,  
100 ccm alkoholische Ammoniakflüssigkeit) hinzu. Bei Anwesen-  
heit von Urobilin zeigt die Flüssigkeit eine mehr oder weniger  
starke grüne Fluoreszenz und gibt in geeigneter Schichtdicke eine  
ausgezeichnete Absorptionserscheinung, nämlich einen nach Grün  
zu scharf begrenzten Streifen, dessen dunkelste Partie von etwa  
514—497 reicht. — Spektroskopiert man die Flüssigkeit nach  
einer Zeit nochmals, so sieht man, daß der Absorptionsstreifen  
noch breiter geworden ist.

In Faeces läßt sich das Urobilin leicht nachweisen, indem  
man eine Probe mit dem mehrfachen Volumen Alkohol und einigen  
Tropfen Salzsäure, Essigsäure oder verdünnter Schwefelsäure  
verreibt, filtriert und das Filtrat nach Zusatz der oben angegebenen  
Chlorzinklösung spektroskopisch untersucht. Die Urobilinprobe

wendet man unter anderem auch an, um in unbekannten Massen, die auf eine Beimengung von Faeces verdächtig sind, einen Gehalt an letzterem nachzuweisen.

### Literatur.

<sup>1)</sup> O. Schumm, Blutspektroskop. Medizinische Klinik 1908, No. 15.

<sup>2)</sup> O. Schumm, Untersuchungen über den Nachweis von Blut im Harn mit Hilfe des spektroskopischen und einiger spektroskopisch-chemischer Verfahren. Münch. med. Wchschr. 1908, No. 25.

<sup>3)</sup> O. Schumm, Die Untersuchung der Faeces auf Blut. Jena, Verlag von Gustav Fischer, 1906. — Dasselbst die ältere Literatur.

<sup>4)</sup> O. Schumm, Zur Kenntnis der Guajakblutprobe und einiger ähnlicher Reaktionen, Ztschr. f. physiol. Chemie Bd. 50, S. 374 ff., 1907.

<sup>5)</sup> G. E. Carlson, Die Guajakblutprobe und die Ursachen der Blaufärbung der Guajaktinktur. Ztschr. f. physiol. Chemie Bd. 48, S. 69 ff., 1906.

<sup>6)</sup> Schaefer, Forschungsberichte über Lebensmittel und ihre Beziehungen zur Hygiene III., 1896, S. 1; ferner Arch. d. Pharm. 1898, Bd. 236, Heft 8, und 1900, Bd. 238, Heft 1. — Rossel, Beitrag zum Nachweis von Blut bei Anwesenheit anderer anorganischer und organischer Substanzen in klinischen und gerichtlichen Fällen. Deutsches Arch. f. klin. Med. 1903, Bd. 76.

<sup>7)</sup> H. Weber, Ueber den Nachweis des Blutes in dem Magen- und dem Darminhalt. Berl. klin. Wchschr. 1893, No. 19, S. 441.

<sup>8)</sup> O. Schumm, l. c. 3.

<sup>9)</sup> O. u. R. Adler, Ueber das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. Ztschr. f. physiol. Chemie 1904, Bd. 41, S. 59 ff. — O. Schumm, Zur Kenntnis der Benzidinblutprobe. Deutsche med. Wchschr. 1907, No. 42.

<sup>10)</sup> O. Schumm und C. Westphal, Ueber den Nachweis von Blutfarbstoff mit Hilfe der Adler'schen Benzidinprobe. Ztschr. f. physiol. Chemie 1908, Bd. 46, Heft 5 u. 6.

<sup>11)</sup> E. Schlesinger und F. Holst, Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Minimalblutungen in den Faeces nebst einer neuen Modifikation der Benzidinprobe. Deutsche med. Wchschr. 1906, No. 36. — O. Schumm, Ueber den Nachweis von Blut in den Faeces. Münch. med. Wchschr. 1907, No. 6.

<sup>12)</sup> Grünwald, Zur Frage des Blutnachweises in den Faeces. Zentralbl. f. innere Medizin 1907, No. 4.

<sup>13)</sup> M. Fraenkel, Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Blut in den Faeces mittels des Spektroskops und der modifizierten Weber'schen Probe. Münch. med. Wchschr. 1907, No. 33.

---