

# Über den Nachweis von Blutfarbstoff mit Hilfe der Adler'schen Benzidinprobe.

Von

O. Schumm und C. Westphal.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses  
Hamburg-Eppendorf.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Dezember 1905.)

O. und R. Adler haben im vorigen Jahre zwei Reaktionen zum Nachweis von Blutfarbstoff angegeben. Zur Erkennung von Blutflecken benutzen sie das Leukomalachitgrün, zum Nachweis von Blutfarbstoff in Faeces das Benzidin, während sie für Harn beide Stoffe verwenden.

Die Probe mit Leukomalachitgrün haben wir weniger oft angewandt, sie schien uns vor der Benzidinprobe nichts voraus zu haben. Dagegen haben wir die Benzidinprobe eingehend geprüft, da uns in erster Linie der Nachweis von Blutfarbstoff in Faeces interessierte und dazu von O. und R. Adler eine spezielle Vorschrift unter Verwendung von Benzidin angegeben ist.

Wir haben zunächst die Benzidinprobe als solche in ihrem allgemeinen Verhalten geprüft und sie dann auf blutfarbstoffhaltige Faeces angewandt.

Die im Handel befindlichen Präparate von «Benzidin. puriss.» sind durchaus nicht gleichwertig. Ein Präparat von Merck war mindestens zehnmal so wirksam als ein frisch bezogenes «Benzidin. puriss.» anderer Herkunft. — Die vorschriftsmäßig hergestellten Lösungen, auch der sehr wirksamen Präparate, zeigten gelegentlich schon nach fünf Tagen eine deutliche Abnahme ihrer Wirksamkeit. — Es kommt vor, daß ältere Benzidinlösungen an sich bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd und Essigsäure schon eine bläulich-grüne Färbung gaben.

Der Ausfall der Reaktion ist abhängig von dem Mengenverhältnis, in dem die einzelnen Reagentien angewandt werden.

Weiterer Zusatz von Wasserstoffsperoxyd kann eine entstandene Grünfärbung nachträglich zum Verschwinden bringen. Wendet man von vornherein einen Überschuß von Wasserstoffsperoxyd an, so kann die Farbstoffbildung unter Umständen ganz ausbleiben. Die Anwendung stärkerer Wasserstoffsperoxydlösungen ist daher nicht zu empfehlen. Zahlreiche Versuche, in denen wir das Mengenverhältnis der Reagentien auf die verschiedenste Weise änderten, ergaben, daß man zu der zu prüfenden Flüssigkeit zweckmäßig zunächst etwa 2 ccm frische, konzentrierte Benzidinlösung, dann einige Tropfen Essigsäure und endlich 2 ccm Wasserstoffsperoxyd (3%) zusetzt. Das ist dasselbe Verhältnis, das von O. und R. Adler in der Vorschrift für die Stuhluntersuchung angegeben ist.

Diese Empfindlichkeit der Benzidinprobe haben wir an frischem, defibriniertem menschlichen Aderlaßblute geprüft, indem wir es kurz nach der Entnahme stufenweise mit Wasser verdünnten und unverzüglich feststellten, bei welchem Grade der Verdünnung innerhalb zwei Minuten noch eine deutliche Reaktion erhalten wurde. Gleichzeitig und an derselben Blutlösung haben wir auch die Empfindlichkeit der Schönbein-van Deen'schen Guajakprobe unter Benutzung zuvor geprüften verharzten Terpentinöls und frischer Guajaktinktur festgestellt. Unter Anwendung von je 8 ccm der Blutlösung ergab sich folgendes:

		Benzidinprobe	Guajakprobe
Lösung von Blut in Wasser	1 : 200 000	Flüssigkeit innerhalb 1 Minute grünlich, inner- halb 2 Minuten bläulich- grün	negativ
	1 : 100 000	Flüssigkeit innerhalb 1 Minute bläulich-grün	negativ
	1 : 50 000	stark positiv	negativ
	1 : 25 000	stark positiv	Innerhalb 1 Minute Bläulich-Grün-, innerhalb 2 Minuten Grünlich-Blau-Färbung der oberen (Terpentinöl-) Schicht.

Demnach ist defibriniertes menschliches Blut in reiner wässriger Lösung mittels der Benzidinprobe noch in einer Verdünnung von 1:200000<sup>1)</sup> und mittels der Guajakprobe in einer Verdünnung von 1:25000 nachzuweisen. Durch eine sachgemäß ausgeführte Benzidinprobe sind wir also im gegebenen Falle imstande, die Anwesenheit selbst winziger Spuren Blut mit Bestimmtheit ausschließen zu können, wie dies auch von O. und R. Adler hervorgehoben ist. Die Benzidinprobe ist deshalb sowohl für gerichtliche wie auch für medizinisch-chemische Untersuchungen wertvoll. Daß Eisensalze die Anwendung der Probe verbieten, ist zu beachten. — Leider ist ein positiver Ausfall der Probe weniger beweisend als der negative. Im allgemeinen kommen hier die gleichen Fehlerquellen in Betracht wie bei der Guajakprobe: nur macht die außerordentliche Empfindlichkeit der Benzidinprobe doppelte Vorsicht nötig.

Daß oxydierende Fermente einen positiven Ausfall der Benzidinprobe bewirken, ist schon von O. und R. Adler angegeben worden. Die Autoren weisen darauf hin, daß in tierischen, Leucocyten führenden Flüssigkeiten (Harn, Speichel, Eiter) solche Fermente zu vermuten sein werden, die ja bekanntlich durch Kochen zerstört werden können.

In einer Abhandlung «Über den Nachweis von Blutfarbstoff in den Faeces» bezeichnet M. Siegel es als einen Vorteil der Benzidinprobe gegenüber der Guajakprobe, «daß sie mit Milch und Eiter, d. h. also mit Oxydasen keine positive Reaktion gibt.» Da diese Bemerkung zu den Angaben von O. und R. Adler in Widerspruch steht, haben wir sie nachgeprüft und können die Angaben Adler's vollauf bestätigen: Oxydierende Fermente, sowohl tierischer wie pflanzlicher Herkunft, geben ausgesprochen positive Benzidinreaktion. Hiervon kann man sich leicht überzeugen. Man braucht nur die Bruchfläche einer rohen, frischen Kartoffel mit den Reagentien zu benetzen, um sogleich eine intensive Grünblaufärbung zu erhalten, während bei einer gut durchgekochten Kartoffel die Reaktion nicht eintritt.

---

<sup>1)</sup> Nach O. und R. Adler 1:100000.

Analog verhalten sich z. B. frische Wallnüsse, zerstoßene Erbsen, Bohnen, pulverisiertes Gummi arabicum, Preßhefe, Milch, kalt hergestellte wässerige Auszüge aus Hafergrütze, Weizenmehl, frischen Laubblättern etc. Auch Eiter, Speichel, das Sekret der Nasenschleimhaut, Darndetritus und Darmschleim (in dem sich mikroskopisch nur Leucocyten nachweisen ließen) gaben mehr oder weniger stark positive Proben. Ferner bestätigte sich die Angabe von O. u. R. Adler, daß Rhodansalze und Eisenoxydulsalze positive Reaktion geben. Wir erhielten außerdem positive Reaktion mit Kupferoxydul, Jodkalium, «Carbo animalis puriss.» und endlich auch mit metallischem Eisen, Platin, Kupfer, die sowohl in Form von Pulver oder feinen Spänen als auch in Gestalt von Blech reagieren. Dies ist zu beachten, wenn Flecke, die sich an metallischen Gegenständen befinden, auf Blut geprüft werden sollen.

Zur Untersuchung der Faeces auf Blutfarbstoff geben O. u. R. Adler folgende Vorschrift:

«Eine kleine Quantität der zu untersuchenden Faeces wird mit etwas Wasser aufgeschwemmt. Man versetzt 3 ccm der unfiltrierten Aufschwemmung mit 2 ccm der früher erwähnten Benzidinlösung und mit 2 ccm Wasserstoffsperoxyd (3%) und fügt einige Tropfen Essigsäure hinzu. Bei Gegenwart von Blut tritt eine intensive Grünfärbung ein.»

Diese Probe ist einfach, sehr empfindlich und bei negativem Ausfall im allgemeinen eindeutig, sodaß sie sehr wohl geeignet ist, die Abwesenheit von Blutfarbstoff darzutun. Ein positiver Ausfall ist aber durchaus nicht eindeutig, da er auch durch andere in den Faeces vorkommende Stoffe verursacht werden kann. Die Vorschrift von O. u. R. Adler genügt also nicht allen Anforderungen, die man an eine zuverlässige klinische Probe stellen muß.

Man kann allerdings eine Reihe von Fehlerquellen dadurch ausschließen, daß man die Faecesaufschwemmung vor Anstellung der Probe kocht und wieder abkühlt. Dadurch geht aber ein wesentlicher Vorzug des ursprünglichen Adler'schen Verfahrens, nämlich die Einfachheit verloren, sodaß es dann doch richtiger scheint, die Probe überhaupt wie bei der

**Weber'schen Methode am Essigsäureätherextrakt der Faeces auszuführen.**

Wir führen die Reaktion so aus, daß wir das durch Ausschütteln mit Wasser gereinigte Essigsäureätherextrakt mit 2 ccm Benzidinlösung und einigen Tropfen Essigsäure vermischen und dann vorsichtig 2 ccm Wasserstoffsperoxyd (3%) unterschichten.

In dieser Form haben wir die Methode angewandt, um Aufschluß über die etwaige Anwesenheit geringster Mengen von Blutfarbstoff in Faeces zu erhalten, und gefunden, daß sie bei wissenschaftlichen Untersuchungen vorzügliche Dienste leisten kann, während sie uns für die allgemeine klinische Verwendung zu empfindlich erscheint. Über unsere bei Faecesuntersuchungen gewonnenen praktischen Erfahrungen mit der Benzidinprobe soll an anderer Stelle ausführlicher berichtet werden.

#### **Literatur:**

O. und R. Adler, Über das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 59—67, 1904.

M. Siegel, Über den Nachweis von Blutfarbstoff in den Faeces. Münchener med. Wochenschrift, 1905, Nr. 33, S. 1579—1581.

H. Schade, Die elektro-katalytische Kraft der Metalle. Leipzig, Verlag von F. C. W. Vogel, 1904.

---