

XXVI.

Ueber den chemischen Nachweis von gelöstem Blutfarbstoff im Harn.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes zu Berlin.)

Von Carl Rosenthal, Cand. med. aus Berlin.

Bekanntlich lassen die Methoden zum Nachweis von gelöstem Blutfarbstoff im Harn sowohl was Feinheit, als Zuverlässigkeit betrifft, zu wünschen übrig. Auf Vorschlag des Herrn Prof. E. Salkowski und unter Leitung desselben habe ich einige der für diesen Zweck angegebenen Methoden nachgeprüft und versucht, dieselben zu erweitern resp. zu vervollkommen. Von vornherein ist von dem spectroscopischen Nachweis abzu-
sehen, welcher auf das Attribut einer feinen Methode nicht Anspruch erheben kann: reine Hämoglobinlösungen lassen höchstens bei einer Verdünnung von 0,1:1000 noch die Streifen in 1 cm dicker Schicht erkennen, im Harn ist jedoch ein weit höherer Gehalt erforderlich und man wird kaum in einem Harn deutliche Streifen erkennen, der nicht auch schon, wenigstens für ein geübtes Auge, makroskopisch blutfarbstoffhaltig erscheint.

Die Methoden, welche hauptsächlich geprüft wurden, sind die bekannte Heller'sche und die von Struve angegebene Tanninfällung.

I. Die Heller'sche Probe.

Die Heller'sche Probe — Erwärmen des Harns mit Natronlauge: bei Gegenwart von Blutfarbstoff ist der am Boden des Reagenzglases allmählich sich ansammelnde Niederschlag blutroth gefärbt — ergab bei einem Zusatz von 1 cem Blut zu 1000 cem normalen Harnes, also ungefähr entsprechend 0,125 Hämoglobin auf 1000 cem Harn, noch ein unzweifelhaftes Resultat, dagegen war dasselbe bei der halb so starken Concentration,

0,5 ccm Blut gleich 0,06 Hämoglobin auf 1000 ccm Harn, unsicher.

Es lag nun nahe, den Versuch zu machen, ob sich nicht die äusserst feine Häminprobe mit der Heller'schen Probe verbinden liesse.

Zu dem Zwecke wurde eine grössere Menge Harn verwendet, in der Regel 500 ccm, dazu 35 ccm Natronlauge.

Der Niederschlag von 500 ccm Harn mit verschieden grossem Blutzusatz wurde abfiltrirt, ausgewaschen und getrocknet, sodann eine geringe Menge davon auf einen Objectträger gebracht, eine Spur Kochsalz oder auch Nichts weiter hinzugesetzt und mit einem Gläschen bedeckt. Von dem Rande des Deckgläschens wurden dann einige Tropfen Eisessig unter dasselbe fliessen gelassen und schliesslich über einer schwachen Flamme erhitzt.

Bei Zusatz von mehr als 0,5 Blut zu 1000 ccm Harn traten die Häminkrystalle fast regelmässig auf, einige Male gleich nach einmaliger Behandlung mit Eisessig, andere Male, und dies waren die häufigeren, nach mehrmals wiederholten Behandlungen; doch war zu constatiren, dass ein Zusatz von Kochsalz durchaus nicht unbedingt erforderlich ist. Bei Zusatz von weniger Blut, als 0,5 : 1000 bis 0,25 : 1000 waren die Resultate sehr schwankend, einige Male gelang die Darstellung, andere Male wieder nicht.

Ofters wurde auch der Phosphatniederschlag statt durch ein Filter durch Glaswolle filtrirt, dann ein wenig von dieser Wolle mit daran haftendem Niederschlage im Wärmofen getrocknet und ein Fädchen davon direct auf das Objectglas gebracht und mit Eisessig erwärmt.

Die Resultate waren dieselben, wie bei dem ersten Verfahren, nur dass die Darstellung eine etwas vereinfachte war.

Weiterhin wurde der Versuch gemacht, ob sich vielleicht der Eisengehalt des Hämatins in dem Phosphatniederschlage zum Nachweis verwerthen liesse. Wiederum wurden dabei 500 ccm Harn mit nachfolgendem Blutzusatz verwendet, und dieses Gemisch mit 35 ccm eisenfreier Natronlauge erwärmt.

Der entstandene Niederschlag wurde auf ein Filter gebracht, gut gewaschen, getrocknet und in einer Platinschale ausreichend lange geglüht, um alle organischen Substanzen zu zerstören. Der

nach dem Glühen erhaltene Rückstand wurde mit 8—10 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen übergossen, wobei er sich, gutes Auswaschen vorausgesetzt, in den meisten Fällen völlig löste, und dann mit etwas Wasser verdünnt. Falls nicht Alles gelöst wurde, filtrirte man durch schwedisches Filtrirpapier, nachdem dasselbe mit verdünnter Salzsäure ausgezogen war. Der klaren Lösung setzte man nun einige Tropfen einer Mischung von Ferro- und Ferridcyankaliumlösung zu, wonach bei Gegenwart von Hämoglobin, resp. Eisen, ein blauer Niederschlag von Berlinerblau entstand.

Es zeigte sich nun in den Controlversuchen, dass auch bei normalem Harn unter diesen Verhältnissen eine schwache Eisenreaction auftrat: grünliche Färbung und nach einigem Stehen bläulicher Niederschlag. Bei der grossen Verbreitung des Eisens, dem normalen Gehalt des Harns an eisenhaltigem Farbstoffe und der Schwierigkeit, den Phosphatniederschlag vollständig auszuwaschen, kann dieses Resultat nicht Wunder nehmen. Vielleicht enthält der Phosphatniederschlag auch Spuren von phosphorsaurem Eisen. Bei einem stärkeren Gehalt des Harns an Blut (1:500) kam dieser Umstand nicht in Betracht, da hierbei die Reaction erheblich stark war, bei geringerem Gehalt bürstete diese Art des Nachweises jedoch sehr erheblich an Sicherheit ein.

II. Verfahren von Struve.

Struve empfiehlt zur Ausfällung des Blutfarbstoffs Tannin. Er giebt darüber Folgendes an: Man macht den Harn mit Ammoniak oder mit Kalilauge alkalisch, fügt dann Tanninlösung und Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction hinzu. Bei Gegenwart von Blutfarbstoff entsteht ein dunkelgefärbter Niederschlag, doch ist dieser für sich allein nicht beweisend, da auch normaler Harn einen geringen, eiweisshaltiger einen starken Niederschlag giebt. Der Niederschlag wird daher abfiltrirt, gewaschen, an der Luft getrocknet und zur Darstellung von Häminkrystallen benutzt. Zu dem Zweck verreibt man ihn in der Achatreibschale mit einer Spur Chlorammonium, legt ein kleines Körnchen des Niederschlages auf einen Objectträger, ein Deckgläschen darüber und füllt dann den Raum zwischen bei-

den mit Eisessig, ohne aber zu erwärmen, und untersucht schliesslich mikroskopisch. Aus dem Niederschlage von 20 ccm Harn, der mit 0,0230 pCt. Blut versetzt war, erhielt Struve einen Niederschlag, der zu vielen Hämindarstellungen ausreichte.

Die Versuche mit diesem Verfahren ergaben ein ziemlich günstiges Resultat, wenn Mischungen von Blut mit normalem Harn verwendet wurden, wie die folgenden Versuche zeigen.

Versuch I.

Verhältniss von Blut zu Harn = 1 : 1000.

500 ccm normaler Harn.

0,5 - Blut.

Tanninfällung.

Resultat: Häminkrystalle mit Kochsalz und Eisessig in der Wärme nicht, mit Chlorammonium und Eisessig in der Kälte jedoch nachweisbar.

Versuch II.

Verhältniss = 0,5 : 1000.

500 ccm normaler Harn.

0,25 - Blut.

Tanninfällung.

Resultat: Häminkrystalle nach Struve's Vorschrift nachweisbar.

Versuch III.

Verhältniss 0,25 : 1000.

500 ccm normaler Harn.

0,125 - Blut.

Tanninfällung.

Resultat: Weder auf kaltem, noch heissem Wege Häminkrystalle nachweisbar.

In allen 3 Versuchen wurde sowohl der im Wärmofen getrocknete Niederschlag benutzt, als auch der auf einem Objectträger an der Luft getrocknete. Ganz anders aber gestaltete sich die Sache, als statt des normalen Harns stark eiweisshaltiger in Anwendung kam, eine Versuchsänderung, die den realen Verhältnissen weit mehr entspricht. Der Niederschlag war hier natürlich äusserst voluminös, und es ist selbstverständlich, dass die Darstellung der Häminkrystalle durch den relativ geringen Gehalt des Niederschlages an Blutfarbstoff sehr erschwert wird.

Recht günstige Resultate wurden dagegen erhalten mit dem Nachweis des Eisens in den durch Tannin erhaltenen und dann veraschten Niederschlägen.

Die Niederschläge wurden gewaschen, getrocknet, in einer Platinschale geglüht und dann in der bereits angegebenen Weise mit Salzsäure und Wasser behandelt.

Versuch I.

Verhältniss 1 : 1000.

500 ccm normaler Harn.

0,5 - Blut.

Tanninfällung.

Resultat: sehr starke blaue Färbung.

Versuch II.

Verhältniss = 0,5 : 1000.

500 ccm normaler Harn.

0,25 - Blut.

Tanninfällung.

Resultat: sehr starke blaue Färbung.

In Folge dieser günstigen Resultate wurden neue Versuche mit Eiweisssharnen gemacht, und zwar mit solchen, deren Eiweissgehalt sehr bedeutend war. Da aber, wie schon gesagt, die Niederschläge im Eiweisssharn sehr voluminös auftreten, so wurden die folgenden Versuche mit geringen Quantitäten von Harn angestellt.

100, 50, 25 ccm eiweisshaltigen Harns wurden mit Blut versetzt, so dass das Verhältniss von Blut zu Harn 0,5 : 1000 war. Der durch Tannin bewirkte Niederschlag wurde sofort auf ein Filter gebracht, gewaschen, im Wärmofen getrocknet, wobei man zweckmässig diejenige Hälfte des Filters, auf der kein Niederschlag sich befindet, vorher abschneidet. Das Filter wurde dann in Streifen geschnitten, am Platindraht in der Flamme verbrannt und die Asche in ein Porzellanschälchen fallen gelassen. Darauf wurde die Asche in 15—20 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen, soweit als möglich gelöst, dann Wasser hinzugesetzt und durch ein eisenfreies Filter filtrirt. Das Filtrat wurde schliesslich auf Eisen untersucht.

Versuch I.

Verhältniss: 0,5 : 1000.

100 ccm Eiweisssharn

0,05 - Blut

Heller und Spectroskop ohne Resultat.

Tanninfällung.

Resultat: stark blaue Färbung, sofortiger, starker, flockiger Niederschlag von Berlinerblau.

Controlversuch I.

100 ccm Eiweisssharn.

Tanninfällung.

Resultat: grüne Färbung, erst nach längerer Zeit tritt ein Niederschlag auf.

Versuch II.

Verhältniss: 0,5 : 1000.

50 ccm Eiweisssharn.

0,025 - Blut.

Heller und Spectroskop ohne Resultat.

Tanninfällung.

Resultat: wie bei Versuch I.

Controlversuch II.

50 ccm Eiweisssharn.

Tanninfällung.

Resultat: wie bei Controlversuch I.

Versuch III.

Verhältniss: 0,5 : 1000.

25 ccm Eiweisssharn.

0,0125 - Blut.

Heller und Spectroskop ohne Resultat.

Tanninfällung.

Resultat: wie bei Versuch I, nur quantitativ etwas geringer ausfallend.

Controlversuch III.

25 ccm Eiweisssharn.

Tanninfällung.

Resultat: wie bei Controlversuch I.

Somit scheint die Fällung des Harns mit Tannin, mit nachfolgender Veraschung des Niederschlages und Nachweis des Eisens in der Asche in der That ein recht brauchbares Verfahren zu sein.

Am Schlusse meiner Abhandlung fühle ich mich gedrungen, Herrn Prof. E. Salkowski für seine freundliche Unterstützung mit Rath und That bei derselben meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen.

