

## IX.

## Die Darstellung des Hämochromogens als Blutreaction mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut im Harn.

(Aus der II. Klinik für interne Medicin der königl. ungar. Universität  
zu Budapest. Prof. Dr. Karl v. Kétly.)

Von Dr. Zakariás Donogány,

II. Assistenten.

Wir verfügen zur Zeit über mehrere, mehr oder weniger verlässliche Methoden behufs klinischen Nachweises des Blutpigmentes, aber keine derselben ist frei von Mängeln. Der Zweck dieser Arbeit sei nun, auf diese Mängel hinzuweisen und ein Verfahren zu veröffentlichen, das vielleicht so manchen Ansprüchen in vollkommenerer Weise Genüge leisten dürfte. Die älteren Verfahren sind nemlich nicht bloss hinsichtlich der Empfindlichkeit zu bemängeln, sondern oft geradezu unverlässig. — Die gebräuchlichen Methoden will ich der erwähnten Mängel wegen, sowie wegen der Schwierigkeiten, mit denen man bei Ausführung der Reaction zu kämpfen hat, nur kurz schildern.

Der mikroskopische Nachweis ist da, wo es die Verhältnisse gestatten, ein sehr empfindliches, verlässliches und in einzelnen Fällen, z. B. bei der Untersuchung von Sputum, von frischem Blut enthaltenden Fäces oder von Erbrochenem, rasch durchführbares Verfahren. In Fällen jedoch, wo der Urin nicht besonders viel Blut enthält, ist dieses Verfahren wegen der Sedimentirung zeitraubend. — Selbstverständlich ist diese Methode auch in all' jenen Fällen nutzlos, wo das Blutpigment nicht an Blutkörperchen gebunden in dem zur Untersuchung gelangten Material enthalten ist.

Der unmittelbare spectroskopische Nachweis führt auch im letzteren Falle zum Ziel. — Bezüglich der Empfindlichkeit wissen wir seit Hoppe-Seyler, dass die Strei-

fen des Oxyhämoglobins durch eine 1 cm dicke Schicht noch bei einer Lösung von 1:10000 sichtbar sind. Dem gegenüber behauptet Rosenthal<sup>1)</sup>, dass das Blut im Urin höchstens in einer Lösung von 1:1000 nachzuweisen sei. — Die Differenz zwischen beiden Angaben erscheint sehr bedeutend; deshalb sei erwähnt, dass als Einheit im ersten Falle 1 g krystallisirtes Oxyhämoglobin, — im zweiten Falle aber 1 g Blut diene, welch' letzteres 0,125 g Oxyhämoglobin enthält. Das richtige Verhältniss beträgt demnach 1:8000, wodurch sich die Werthe einander nähern. — Derartige Mengen von Blut enthalten der Urin ist jedoch noch so roth, dass ein geübtes Auge seine blutige Beschaffenheit erkennt; deshalb erachtet Rosenthal das spectroscopische Verfahren als überflüssig.

Zur Ausführung des vermittelten spectroscopischen Verfahrens wurde das Hämoglobin in Hämochromogen übergeführt. — Da das Spectrum des Hämochromogens viel intensiver ist, als das des Hämoglobins oder Hämatins, wurde dieses Verfahren von Lewin und Posner<sup>2)</sup>, Linossier<sup>3)</sup> und Stokes<sup>4)</sup> empfohlen. Behufs Reduction setzten Lewin und Posner nach vorausgegangener Ansäuerung Schwefelammonium oder Schwefelnatrium zu dem Urin. — Linossier gebrauchte zu diesem Zweck Lösungen hydroschwefligsaurer Salze, doch müssen diese immer frisch angefertigt werden und dürfen nicht zu stark sein, da sonst das Hämoglobin niedergeschlagen wird. Diese Lösung ist nach dem genannten Autor vortheilhafter, als das langsam reducirende Schwefelammonium; — der Prozess kann zwar durch schwaches Erwärmen beschleunigt werden, doch ist darauf zu achten, dass das Spectrum bei einer Temperatur über 50 pCt. verschwindet. — Die Reductionsflüssigkeit ist nach Stokes nichts weiter, als eine ammoniakalische Ferrotartrat-Lösung; da sich dieses Reagens rasch verändert, ist es rathsam es vor Licht geschützt aufzubewahren oder stets vor Gebrauch frisch anzufertigen.

Am gebräuchlichsten ist die Heller'sche Probe, die auf

<sup>1)</sup> C. Rosenthal, Dieses Archiv. Bd. 103. 1886.

<sup>2)</sup> L. Lewin und C. Posner, Centralbl. für die med. Wissensch. 1887. S. 355.

<sup>3)</sup> G. Linossier, Bull. de la soc. chim. 49 R. p. 691. 1888.

<sup>4)</sup> Halliburton, Lehrb. der chem. Physiol. und Pathol. Bd. I. 1893.

der Erfahrung beruht, dass die aus dem alkalischen Urin ausgeschiedenen Phosphate das Blutpigment an sich ziehen und einen rothen Niederschlag bilden. Nach den Untersuchungen von Rosenthal giebt dieses leicht durchführbare Verfahren bei Urin, der 1:1000 Blut enthält, ein sicheres, bei solchem von 1:2000 Blutgehalt ein wahrscheinliches Resultat. Enthält der Urin viel Blut, so ist das Verfahren in einigen Minuten ausführbar; enthält er wenig Blut, so benöthigt man wegen Abwarten des Niederschlages 10—15 Minuten.

Nach dem Verfahren von Struwe<sup>1)</sup> muss der Urin mit Natronlauge oder Ammoniak alkalisirt werden; darauf ist so lange Tanninlösung und Essigsäure zuzusetzen, bis er wieder sauer wird. — Enthält er Blutpigment, so entsteht ein dunkler Niederschlag, welcher jedoch nicht beweisend ist, da auch normaler Urin einen geringen, eiweisshaltiger einen bedeutenden Niederschlag bildet. — Aus diesem Niederschlage müssen die Häminkrystalle hergestellt werden. — Rosenthal modificirte dieses Verfahren insofern, dass er im Niederschlag das Eisen nachwies; da jedoch bekanntlich auch der normale Urin Eisen enthält, bewährte sich selbes nicht.

Wolff<sup>2)</sup> verfuhr folgendermaassen: 30—60 ccm Urin erwärmte er im Wasserbade mit 0,1 Raumtheilen einer 3procentigen Zinkacetatlösung, und untersuchte die ammoniakalische Lösung des Niederschlages spectroscopisch.

Es erübrigt nun noch die Almén'sche<sup>3)</sup> Probe zu erwähnen, die auf der Eigenschaft des Blutpigmentes beruht, dass bei seiner Anwesenheit Guajac-Tinctur und Terpenthin blau gefärbt werden. Es ist stets frisch bereitete Guajac-Tinctur zu verwenden. —

Durchmustern wir nun kritisch diese Proben, so müssen wir das spectroscopische Verfahren als das einfachste und am leichtesten durchführbare erklären, welches auch noch insofern vortheilhaft erscheint, als einzig und allein hiedurch anzugeben ist, ob das Blutpigment als Oxyhämoglobin, als Hämoglobin, Methämoglobin oder Hämatin vorhanden ist. — Hinsichtlich der Empfindlichkeit steht es zwar den übrigen Verfahren bedeutend

<sup>1)</sup> Zeitschr. für anal. Chem. Bd. 11. S. 29.

<sup>2)</sup> C. H. Wolff, Pharm. Centralhalle. Bd. 28. S. 617. 1887.

<sup>3)</sup> Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie. Wiesbaden 1891.

nach; doch bildet dies keinen Grund, dieses Verfahren als überflüssig zu betrachten, im Gegentheil erachtete ich es für nöthig, mich desselben in jedem Falle zu bedienen. —

Viel empfindlicher ist die vermittelte spectroskopische: die Hämochromogen-Probe. Doch besitzt selbe einestheils den Nachtheil, dass das Blutpigment immer als Hämochromogen nachgewiesen und so über die Art des ersteren kein Aufschluss ertheilt wird; weiterhin ist sie, wie aus den oben angeführten Verfahren ersichtlich, schwer darzustellen, da wir einestheils Reagentien gebrauchen, die leicht verderben, die Reduction andererseits langsam und unvollständig vor sich geht, wie ich mich davon bei Gebrauch der erwähnten Reagentien öfters überzeugen konnte.

Mit dem Verfahren nach Struwe gelangt man nur nach langem Experimentiren zum Ziele, denn die Bildung des Niederschlages beweist überhaupt nichts, da ja auch im normalen Urin ein geringer, in eiweisshaltigem ein bedeutender Niederschlag entsteht. — Obgleich die Darstellung der Häminkrystalle auf keine besonderen Schwierigkeiten stösst, benöthigt man doch dazu wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde. — Nebenbei überschreitet die Empfindlichkeit, derselben nach den Untersuchungen Rosenthal's nicht das Verhältniss von 1:2000.

Das Verfahren von Wolff ist gleichfalls ein wenig langwierig; doch ist es — wie aus meinen nachstehenden Untersuchungen hervorgeht — sehr empfindlich und in dieser Hinsicht den vorigen Verfahren vorzuziehen.

Den klinischen Anforderungen entspricht am meisten die Heller'sche Probe; sie ist schnell und leicht durchzuführen und dabei empfindlich genug. — Nur ist sie, — wie ich entschieden behaupte, — nicht immer sicher. Dies fand übrigens auch schon Filehne<sup>1)</sup>, da nach seinen Untersuchungen auch das Urobilin und möglicherweise auch andere pathologische Pigmente diese Probe geben. — Obwohl ich auch gefunden habe, dass diese Probe unzuverlässig ist, stimme ich doch Filehne in dem Punkte nicht bei, dass das Urobilin auch diese Reaction gäbe, denn erstens reisst der Phosphatniederschlag wenig Urobilin mit sich, und zweitens ist der Niederschlag, wenn auch einigermaassen gefärbt, doch nie so roth, wie in bluthaltigem Urin, son-

<sup>1)</sup> Filehne, Dieses Archiv. Bd. 117. S. 417. 1889.

dern mehr bräunlich. — Entschieden ähnlich aber verhält sich das Hämatoporphyrin. Wies ja doch Garrod<sup>1)</sup> dasselbe mit Hülfe dieses Verfahrens im Urin nach. Dass dieser Umstand nicht zu übersehen sei, geht daraus hervor, dass Garrod in 20 normalen Urinen Hämatoporphyrin nachwies, ich selbst aber dasselbe in 70 Urinen, die von verschiedenen Kranken stammten, 67mal vorfand. — Der Niederschlag von fünf dieser geprüften Urine war sehr lebhaft roth, obgleich im Urin weder Hämoglobin, noch Methämoglobin, Hämatin oder Hämochromogen durch andere Verfahren nachzuweisen war. — Löst man den Niederschlag in salzsaurem Alkohol und prüft man dann spectroscopisch, so ist man zwar vor Irrthum gesichert, doch büsst das Verfahren hiedurch seinen Hauptvorthail, nemlich die schnelle und leichte Ausführung, ein.

Die so zu sagen fast ganz verlassene Almén'schen Probe gelingt nach Hammarsten<sup>2)</sup> und anderen Autoren, auch wenn der Urin Eiter enthält, ja sogar auch dem Harn beigemengte Filterpapierstückchen geben die Reaction. — Abgesehen davon, dass stets frische Guajac-Tinctur zu verwenden ist, muss die Güte des Reagens in jedem Falle an einer sicher bluthaltigen Flüssigkeit erprobt werden. —

Aus alledem geht hervor, dass alle Bestrebungen, diese Verfahren zu verbessern, berechtigt erscheinen. — Als ich mich im Semester 1891—1892 im Physiologischen Institut mit den Hämoglobinkrystallen beschäftigte, gelang es mir durch Zufall, mit Hülfe des Pyridins Hämochromogenkrystalle herzustellen<sup>3)</sup>. — Damals hob ich hervor, dass dieses Verfahren mit frischem Blut und Blutstaub sehr rasch und leicht ausführbar ist, und ich bewies, dass es in einzelnen Fällen selbst noch dort gelingt, wo Häminkrystalle nicht hergestellt werden konnten. — In der II. Klinik für interne Medicin gebrauchte ich dieses Verfahren nun seit Herbst des Jahres 1893 und es gelang mir mit Hülfe desselben, in den verschiedensten Flüssigkeiten, so im Harn, Koth, Erbrochenen, Sputum und in einem Falle in den blutigen Thränen eines hysterischen Kranken, das Blut nachzuweisen. —

<sup>1)</sup> The Journal of Physiol. 1892. p. 598.

<sup>2)</sup> Lehrb. der physiol. Chem. Wiesbaden 1891.

<sup>3)</sup> Math. und naturw. Berichte aus Ungarn. Bd. XI. 1893.

Das Verfahren bei Urin ist folgendes: Zu beiläufig 10 ccm Urin giesse ich 1 ccm Schwefelammonium und eben so viel Pyridin, oder ich alkalisire — statt Schwefelammonium zu gebrauchen — den Urin stark mit Natronlauge, was jedoch weniger gut ist. Die Reduction findet momentan statt und die Flüssigkeit nimmt je nach dem Blutgehalt eine mehr oder weniger intensive orangerothe Farbe an.

Betonen muss ich die orangerothe Farbe, denn diese ist charakteristisch. Bei grösseren Mengen von Blut ist dieser Farbenwechsel constant. — Enthält der Urin weniger Blut, so ist es rathsam, die in der Eprouvette befindliche Flüssigkeit senkrecht von oben betrachtet auf weisser Unterlage zu prüfen, wo dann der Farbenunterschied auffallend ist. — Besonders gut ist dieser Farbenwechsel zu verwerthen, wenn der Urin durch andere Farbstoffe nicht gefärbt ist. Ist letzteres der Fall, so muss als Gegenprobe nicht behandelter Urin in eine Eprouvette gegossen und es müssen beide verglichen werden, was zum Ziele führt.

Wenn auch diese Farbenreaction sehr empfindlich ist, wird sie doch durch den Nachweis des Hämochromogens auf spectralschem Wege bedeutend überflügelt, da das Spectrum des Hämochromogens durch die Eprouvette gesehen selbst dann noch deutlich erscheint, wenn kein Farbenunterschied mehr zu constatiren ist. — Bei meinen Untersuchungen gebrauchte ich stets das Browning'sche kleine Spectroskop, das sehr deutliche Bilder giebt. — Weiterhin sei erwähnt, dass die Reagentien ganz alt sein können; ich arbeite noch immer mit einer zweijährigen Pyridinlösung und auch das Schwefelammonium hält sich in einer gut verschlossenen Flasche monatelang. — Zu beachten ist aber, dass beim Mischen alter Reagentien eine grüne oder braune Farbe eintritt, welche jedoch durch Hinzufügen von Ammoniak in Ueberschuss eine gelbe Farbe annimmt; da das Ammoniak das Eintreten dieser Reduction ein wenig beeinträchtigt, ist es angezeigt, einen dem zu untersuchenden Urin gleichfarbigen blutfreien Urin zu nehmen und beide gleich zu behandeln. — Der spectroskopische Nachweis wird aber durch alte Reagentien nicht im mindesten beeinträchtigt. — Sehr empfindlich wird der spectroskopische Nachweis, wenn man

dicke Schichten untersucht. Zu diesem Zwecke arbeiten wir nicht bei directem Sonnenlicht, sondern bei von weissem Papier reflectirtem Schein. Auf einen Tisch, der an einem lichten Orte steht, legen wir ein weisses Papier und stellen darauf das Instrument ein. Von oben betrachtet, erscheint noch durch eine in einer Eprouvette befindliche 14 cm lange, nicht filtrirte Urinschicht derjenige Streifen intensiver und verschwindet später, der in dem gelblich-grünen Theile des Spectrum liegt, da der Urin zuletzt gerade denjenigen Theil absorbt, wo dieser Streifen liegt. — So kommt es öfters vor, dass ausser dem gelblich-grünen Theile, der eben den für das Hämochromogen charakteristischen Streifen deutlich veranschaulicht, sämtliche Theile des Spectroskopes absorbt sind.

In den folgenden Tabellen gebe ich drei Fälle meiner vergleichenden Untersuchungen, wovon sich die beiden ersten auf den directen spectroskopischen Nachweis, auf die Heller'sche Probe, auf die Farben und Spectrumreaction des Hämochromogens, der dritte auf das modificirte Wolff'sche Verfahren und auf die Spectrumreaction des Hämochromogens beziehen. — Der Urin war normal gefärbt und enthielt kein Blut; hinzugefügt wurde genau abgemessenes, von einem gesunden Individuum stammendes Blut. —

## I.

Concentration	Heller'sche Probe	Spectroskopisches Verfahren		Farbenprobe des Hämochromogens
		Oxyhämoglobin	Hämochromogen	
1 : 1000	intensiv	direct durch die Eprouvette gesehen kein Streifen; durch 14 cm Schicht 2 schwache Streifen	direct erster Streifen intensiv, durch 8 cm Schicht beide	intensiv
1 : 2000	intensiv	durch 14 cm sehr unsicher	direct erster Streifen intensiv, durch 8 cm beide	intensiv
1 : 4000	unsicher; bei Vergleich schwach	unbrauchbar	direct erster Streifen intensiv, durch 8 cm erster Streifen intensiv, zweiter schwach	unsicher; bei Vergleich schwach
1 : 8000	unbrauchbar	unbrauchbar	direct kein Streifen; durch 14 cm erster Streifen intensiv	unbrauchbar

## II.

Urobilinreicher Urin, dessen Farbe intensiv orangeroth ist und der von einem Kranken mit Pneumonia crouposa stammt.  
Hämatoporphyrin in Spuren.

Concentration	Heller'sche Probe	Spectroskopisches Verfahren		Farbenprobe des Hämochromogens
		Oxyhämo-globin	Hämochromogen	
1 : 1000	intensiv	direct sind die beiden Streifen schwach sichtbar	direct sind beide Streifen sehr intensiv	direct unsicher, bei Vergleich intensiv; wurde der Urin vorher mit Lauge behandelt, so erscheint der nicht blutige gelb
1 : 2000	bei Vergleich intensiv	auch durch 11 cm sehr schwache Streifen	directer Streifen intensiv, durch 8 cm beide	bei Vergleich intensiv
1 : 4000	bei Vergleich intensiv genug	unbrauchbar	directer Streifen schwach, durch 8 cm erster intensiv, zweiter schwach	auch bei Vergleich unsicher
1 : 8000	unbrauchbar	unbrauchbar	durch 14 cm erster Streifen intensiv	unbrauchbar

Die nächste Tabelle veranschaulicht die Vergleichung der Wolff'schen Zinkacetatprobe und des Hämochromogenspectrums. — Die Wolff'sche Probe führte ich immer mit 60 ccm aus und modificirte dieselbe insofern, dass ich die ammoniakalische Lösung des Niederschlages mit Pyridin reducirte. Ausserdem sei erwähnt, dass ich zur Lösung des Niederschlages immer 5 ccm Ammoniak benutzte und die Spectralanalyse durch die Eprouvette ausführte. —

Concentration	Wolff'sche Probe	Spectroskopische Probe des Hämochromogens
1 : 2000	erster Streifen intensiv	direct erster Streifen intensiv
1 : 4000	erster Streifen intensiv genug	direct erster schwach; durch 14 cm erster intensiv, zweiter schwach
1 : 8000	erster Streifen schwach	durch 14 cm erster Streifen intensiv genug

Alle übrigen hier nicht veröffentlichten Untersuchungen führten zu ähnlichen Resultaten. —

Gruppiren wir die 5 Verfahren nach der Empfindlichkeit, so ergeben sich die Spectralprobe des Hämochromogens und die Wolff'sche Probe als die empfindlichsten, darauf folgt die Heller'sche sammt der ihr nahestehenden Farbenprobe des Hämochromogens, am schwächsten ist die Spectralprobe des Oxyhämoglobin. Erwägen wir jedoch, dass die Farbenreaction des Hämochromogens sicher auf Anwesenheit von Blut hinweist, während auch andere Substanzen die Heller'sche Probe geben, so können beide als gleichwerthig betrachtet werden. Auffällig ist, dass die Empfindlichkeit der Spectralprobe des Hämochromogens nicht durch die Wolff'sche Probe übertroffen wird, wie ich dies erwartete, da ich ja bei letzterer das in 60 ccm Flüssigkeit enthaltene und zu Hämochromogen umgewandelte Blutpigment untersuche, während bei ersterer selbst in 14 cm dicker Schicht nur so viel Flüssigkeit geprüft wird, als sich in einer Eprouvette befindet, also höchstens 20 ccm. Die Ursache dieser Verschiedenheit besteht darin, dass Zinkacetat das Blutpigment nur unvollständig niederschlägt und der entstandene Niederschlag durch Ammoniak sehr mangelhaft gelöst wird, während Pyridin alles vorhandene Blutpigment zu Hämochromogen reducirt. — Bedenken wir nun, dass bei der Wolff'schen Probe die Flüssigkeit mindestens  $\frac{1}{4}$  Stunde im Wasserbade gekocht, hierauf filtrirt und der Niederschlag gelöst werden muss, so ist zweifellos die Pyridin-Probe auch vom klinischen Standpunkte aus eben ihrer schnellen und leichten Ausführung wegen viel vortheilhafter. —

Der Blutnachweis in Erbrochenem und Koth ist gleichfalls einfach; die Substanz wird in 20 pCt. Natronlauge gelöst (die Lösung ist bei Anwesenheit von viel Blutpigment des alkalischen Hämatins wegen grünlich) und Pyridin oder eventuell Schwefelammonium hinzugesetzt; die eintretende rothe Farbe weist auf Blut hin; nach dem Filtriren kann die spectroscopische Untersuchung selbst auch dann positiv sein, wenn keine Farbenreaction eingetreten ist.

Aehnlich ist die Sputumuntersuchung auszuführen, doch muss vorher das Sputum bis zur Lösung mit Natronlauge gekocht werden. — Ist die Menge des zur Untersuchung gelangenden Materials sehr gering, so müssen daraus Hämochromogen-

krystalle auf folgende Weise dargestellt werden: Auf einen Objectträger wird ein Tropfen Blut gebracht und mit einer gleichen Menge von Pyridin vermischt; doch ist es angezeigt, das Blut vorher in 20 pCt. Natronlauge zu lösen. Nach einigen Stunden scheiden sich die mikroskopischen orangegelben oder in grosser Menge bräunlichen Hämochromogenkrystalle aus, und zwar in Form von sternförmig, garbenartig angeordneten Nadeln, seltener in rhombischen Flächen. — Beigemischter Sand, Staub oder Rost beeinträchtigen die Reaction nicht. — Durch das Mikrospectroskop betrachtet, zeigt jeder Krystall die zwei Resorptionsstreifen des Hämochromogen. — Die Spectralanalyse ist übrigens überflüssig, da die Krystalle an sich charakteristisch sind. —

---

## X.

### **Untersuchungen über die Salzsäuresecretion und Resorptionsfähigkeit der Magenschleimhaut bei den verschiedenen Magenkrankheiten und anderweitigen Krankheitszuständen.**

(Aus der Medicinischen Klinik des Herrn Prof. Dr. Eichhorst in Zürich.)

Von Heinrich Schneider, Med. pract.

(Dynhard, Canton Zürich.)

(Schluss von S. 35.)

---

#### Catarrhus gastricus acutus.

Anderweitige genaue Angaben über das Verhalten der Salzsäuresecretion beim acuten Magenkatarrh sind mir nicht bekannt; in den allgemeinen und speciellen Lehrbüchern findet sich gewöhnlich nur bemerkt, das Erbrochene enthalte nie oder nur selten freie Salzsäure. Auf der Züricher Klinik haben die Untersuchungen des regelrecht gewonnenen Magensaftes von 50 Patienten mit acutem Magenkatarrh Folgendes ergeben: