XIII. Aus der III. medizinischen Universitätsklinik in Berlin.

(Direktor: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Senator.)

Zur Methodik der quantitativen Indikanbestimmung,¹⁾

Von Privatdozent Dr. H. Strauss, Assistenten der Klinik.

Wer häufiger Veranlassung hat, zu klinisch-diagnostischen oder zu wissenschaftlichen Zwecken quantitative Indikanbestimmungen vorzunehmen, hat sicherlich nicht ohne Bedauern die Existenz einer einfachen, handlichen, wenig Zeit in Anspruch nehmenden und dabei für die Fragestellung der Klinik ausreichenden Methode der quantitativen Indikanbestimmung vermisst. Zwar besitzen wir eine grosse Anzahl von quantitativen Indikanbestimmungen — so die Wägungsbestimmung von Jaffé, welche die älteste ist, dann die colorimetrischen Methoden von Salkowski,²⁾ Krauss,³⁾ Adrian,⁴⁾ Bouma,⁵⁾ Wolonski,⁶⁾ die spektro-photometrische Methode von Friedrich Müller⁷⁾ und die titrimetrische Methode von Wang⁸⁾ und Obermayer⁹⁾ —, allein diese Methoden sind für die Zwecke des täglichen Gebrauchs und insbesondere für die Ausführung von Massenbestimmungen zu umständlich und zu zeitraubend. Aus diesem Grunde habe ich selbst bei Gelegenheit von Studien über Indikanfragen, als ich die Ausscheidung enterogener Zersetzungsprodukte im Urin bei constanter Diät zusammen mit Philippsohn¹⁰⁾ bearbeitete und als ich Untersuchungen über die Beziehungen der Indikanurie zur Ausscheidung reduzierender, linksdrehender, nicht gährungsfähiger, grösstentheils wohl aus Glykuronsäureverbindungen¹¹⁾ bestehender Substanzen im Urin anstellte, von quantitativen Indikanbestimmungen Abstand genommen, seither aber auf verschiedenen Wegen nach einer einfachen, compendiösen, für die Zwecke des täglichen Gebrauchs geeigneten Methode der quantitativen Indikanbestimmung gesucht. Einen solchen Weg glaube ich jetzt in einer Vereinfachung der colorimetrischen Methode gefunden zu haben. Er baut sich auf dem den colorimetrischen Methoden eigenen Prinzip auf, dass man das nach Benutzung gleicher Mengen von Urin und von Reagens gebildete Indigoblau mit Chloroform erschöpfend extrahiert und die Farbe des Chloroforms mit einer Testfarbe vergleicht. Einen compendiösen Charakter habe ich meinem Verfahren dadurch gegeben,

dass ich das Milchsäureröhrchen, das ich vor jetzt mehr als sieben Jahren — noch während meiner Thätigkeit an der Riegel'schen Klinik in Giessen — zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure¹⁾ angegeben habe, dem neuen Zweck angepasst habe und dass ich eine dauerhafte Testlösung von bekanntem Indigotingehalt benutzte. Nach vielen Vorversuchen habe ich folgende Technik als am geeignetsten ausprobiert: Man fällt 20 ccm Urin mit 5 ccm 20%iger Bleizuckerlösung, fügt in das mit einem Glasstöpsel versehene Schüttelröhrchen 10 ccm des Filtrats (bis zur Marke 10 des Röhrchens), füllt dann mit Obermayer'schem Reagens bis zur Marke 20 auf und giebt dann (bis zur Marke 25) 5 ccm Chloroform zu, dreht mehrmals um und lässt dann etwa 2—3 Minuten stehen. Dann lässt man nach nochmaligem Umdrehen das Chloroform ablaufen und wiederholt die Extraktion mit Chloroform in derselben Weise solange, bis der Chloroformauszug (bei indikanreichen Urinen muss man manchmal 4—5 mal und noch häufiger extrahieren) farblos ist. Von den in einem graduirten Cylinder gesammelten Chloroformextrakten nimmt man nun (mit der Pipette oder in ein mit einer dem Inhalt von 2 ccm entsprechenden Marke versehenes Reagensglas) 2 ccm und verdünnt diese durch allmählichen Zusatz von Chloroform solange, bis die Farbe der Testlösung erreicht ist, und zwar in der Art, dass man die Verdünnung in einem der Weite des Teströhrchens entsprechenden Reagensglase vornimmt und hinter die beiden Röhrchen ein weisses Papier hält.²⁾ Beträgt die Gesamtmenge der Chloroformextrakte x ccm und die Menge des Chloroforms, welches sich am Schluss der Verdünnung in dem zum Vergleich mit dem Teströhrchen dienenden Reagensglase befindet, y ccm, so erhalten wir als Zahl für die zur Erreichung der Testfarbe nothwendige Chloroformmenge für das in der benutzten Harnmenge enthaltene

$$\text{Indigoblau} = x \cdot \frac{y}{2}.$$

Bei diesem Vorgehen habe ich in den verschiedenen Urinen ganz erhebliche Unterschiede gefunden. Während der Indikangehalt normaler Urine meist schon mit der ersten oder zweiten Extraktion erschöpft war und einem Chloroformwerth von 5—10 ccm entspricht, allerdings manchmal auch etwas höher ist, habe ich nur einige Male Werthe getroffen, die unter der Zahl 5 lagen. Es waren dies vor allem Fälle von reiner Atonie des Dickdarms. Andererseits habe ich einmal einen Chloroformwerth von nicht weniger als 468 beobachtet und wiederholt Fälle gesehen, bei welchen der Chloroformwerth über 150, also etwa das 15fache und mehr des Normalwerthes betrug. Letzteres waren Fälle von tuberkulöser Peritonitis, von chronischem Dünndarmkatarrh und von akuter eitriger Peritonitis bei Anaemia splenica pseudoleukaemica. Bei Lungentuberkulose habe ich Indigomengen beobachtet, die zwischen dem Werthe 5—10 und zwischen der Zahl 120 gelegen waren. Bei Magencarcinom fand ich Werthe zwischen 50 und 80. Unter fieberhaften Erkrankungen fand ich bei Pneumonie Werthe zwischen 20 und 70, bei fieberhaftem akutem Gelenkrheumatismus zwischen 30 und 90, bei Endocarditis acuta zwischen 30 und 80, bei Typhus abdominalis und bei akuter Perityphlitis zwischen 50 und 120 und bei einem Fall von infektiöser chronischer Cholangitis Werthe zwischen 50 und 70. Dadurch, dass die Testlösung eine bekannte Menge chemisch reinen (von Kahlbaum bezogenen) Indigotins — 1 mg Indigotin auf 1000 ccm

Fig. 1.

¹⁾ H. Strauss, Berliner klinische Wochenschrift 1895.

²⁾ Anmerkung. Das Schüttelröhrchen, dessen Graduierung gleichzeitig auch seine Benutzung für die Zwecke der quantitativen Milchsäurebestimmung des Mageninhaltes gestattet, ist ebenso wie das Teströhrchen und die nöthigen Reagensgläser bei P. Altmann, Berlin, Louisenstrasse, zu haben. Von der Benutzung planparalleler Kästchen für die Zwecke des Vergleichs der Farben habe ich Abstand genommen, weil ich das Instrumentarium so einfach wie möglich gestalten wollte.

¹⁾ Nach einer am 3. März d. J. im Verein für innere Medizin in Berlin veranstalteten Demonstration.

²⁾ Salkowski, Virchow's Archiv Bd. LXVIII.

³⁾ Krauss, Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. XVIII.

⁴⁾ Adrian ibid. Bd. XIX. — ⁵⁾ Bouma ibid. Bd. XXXII.

⁶⁾ Wolonski, Deutsche medizinische Wochenschrift 1901.

⁷⁾ Fr. Müller, Mittheilungen aus der medizinischen Klinik zu Würzburg 1886.

⁸⁾ Wang, Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. XXV und XXVII.

⁹⁾ F. Obermayer, Wiener klinische Rundschau 1898, und Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. XXVII.

¹⁰⁾ Strauss und Philippsohn, Zeitschrift für klinische Medizin Bd. XL. — ¹¹⁾ H. Strauss, Neurologisches Centralblatt 1899, No. 20.

Chloroform — enthält, sind wir im Stande, den gesammten Indikangehalt eines innerhalb eines bestimmten Zeitraums gelassenen Urins quantitativ in Milligrammen anzugeben, wenn wir die in diesem Zeitraum gelassene Urinmenge der Berechnung zu Grunde legen und beachten, dass der bei der Untersuchung gewonnene Chloroformwerth sich nicht auf 10, sondern auf 8 ccm Urin bezieht (da wir ja zur Anstellung der Reaktion das Filtrat einer Mischung von 20 ccm Urin und von 5 ccm Bleizuckerlösung benutzen). Auf diese Weise habe ich für gesunde Personen eine tägliche Indikanausscheidung von etwa 2—4 mg (auf chemisch reines Indigotin berechnet) — manchmal auch etwas mehr — feststellen können, während ich in sehr indikanreichen Urinen Indigotinmengen von 60 mg und mehr im 24stündigen Urin auftreten sah. Da die Methode sich in der Mehrzahl der Fälle in 15—20 Minuten ausführen lässt — zwei Bestimmungen nebeneinander verlangen kaum je mehr als 30 Minuten Zeit. —, so glaube ich die Methode für die Zwecke des täglichen Gebrauchs in der Klinik mit gutem Recht empfehlen zu können. Mir wenigstens hat sie bei zahlreichen Untersuchungen nach dieser Richtung gute Dienste geleistet, und ich halte sie in ihrer Genauigkeit für die Zwecke der klinischen Fragestellung — die ja in vielen Fällen nicht identisch sind mit derjenigen der rein chemischen Fragestellung — für durchaus zureichend.

Ich glaube sie für den genannten Zweck umsomehr empfehlen zu können, als mir bisher nur geringe Fehlerquellen der Methode bekannt sind. Bei der Suche nach solchen habe ich vor allem zwei Fragen ins Auge gefasst: 1. Die Frage, ob sich der Farbenton der Testlösung unbegrenzt hält, und 2., ob nicht der Uebertritt gewisser rother Farbstoffe in das Chloroform die Brauchbarkeit des Verfahrens stört. Bezüglich des ersten Punktes habe ich mich bei Malern und Farbenchemikern erkundigt, aber durchaus beruhigende Antworten erhalten. Dagegen hat mir Herr Professor Salkowski, dessen Urtheil mir hier besonders werthvoll ist, weil er, wie Eingangs bemerkt ist, früher selbst colorimetrische Bestimmungen auf anderem Wege ausgeführt hat, es immerhin als möglich bezeichnet, dass im Laufe der Zeit eine Abblässung des Farbentons der Testlösung auftreten kann, wenn dieselbe einer dauernden Belichtung ausgesetzt ist. Mit Rücksicht darauf erscheint es nothwendig, das Teströhrchen ausserhalb der Zeit, in der es benutzt wird, dauernd im Dunklen aufzubewahren und in gewissen Zeiträumen mit einer vom Apotheker hergestellten Indigotin-Chloroformlösung von dem von mir angegebenen Gehalt zu vergleichen, bezw. durch ein neues, frischgefülltes Röhrchen zu ersetzen.¹⁾ Was den zweiten Punkt betrifft, so ist Herr Professor Salkowski der Ansicht, dass die bei der Anstellung der Reaktion in das Chloroform eventuell übertretenden rothen Farbstoffe bei der Untersuchung des menschlichen Urins wenigstens kaum je eine irgendwie in die Wagschale fallende Fehlerquelle bedingen dürften. Ich selbst habe bei weit mehr als 100 Untersuchungen, die ich in der hier beschriebenen Weise anstellte, nur ganz selten im Chloroformauszuge eine Andeutung von violetter Farbe beobachtet und eine Rothfärbung nur in einem einzigen Fall auftreten sehen, in welchem ich wegen eines chronischen Magensaftflusses — es bestand in diesem Falle gleichzeitig eine fieberhafte Tuberkulose — eine ausschliessliche Rektalernährung durchgeführt hatte. In einem anderen Fall, in welchem ich die Rothfärbung auftreten sah, war vorher Jodkali gereicht worden. Die Seltenheit des Uebertritts störender Mengen von rothen Farbstoffen lässt es also als keinen grossen Nachtheil für die Methode erscheinen, wenn sie sich für solche Fälle als nicht sehr geeignet erweist. Trotzdem liesse sie sich aber auch für diese Fälle oder wenigstens für einen Theil derselben benutzen, wenn man vorher die rothen Farbstoffe aus dem Chloroform entfernt.

Der Umstand, dass die Methode weit mehr leistet, als die bisherige Art, den Indikangehalt eines Urins zu bezeichnen, die in der Regel durch die Ausdrücke „schwach, mittelstark oder stark“ repräsentirt wird, Ausdrücke, die nicht bloss vom subjektiven Ermessen des Einzelnen abhängen, sondern häufig auch deshalb unzureichend sind, weil sie sich meist auf das Ergebniss einer einmaligen Chloroformextraktion des Urins aufbauen, legt es nahe, die Methode auch für die Zwecke einer vergleichenden Indikanbestimmung zu verwenden, wie sie Reale jüngst empfohlen hat. Nach Reale²⁾ kann man nämlich die indikanhaltigen Urine

in zwei Gruppen eintheilen, je nachdem die mit Obermayer'schem Reagens vorgenommene Reaktion durch Kochen verstärkt oder vermindert wird. Reale schreibt der Indoxylglykuronsäure im Gegensatz zu der Indoxylschwefelsäure die Eigenthümlichkeit zu, dass sie beim Kochen mit Obermayer'schem Reagens allmählich zerstört werde, während die Indoxylschwefelsäure bei einer solchen Behandlung bestehen bleibe. Speziell hat Reale im Urin von Gichtkranken eine Verminderung des Ausfalls der Indikanprobe beim Kochen gegenüber der Anstellung der Probe in der Kälte auftreten sehen — eine Beobachtung, die ich auf Grund der Untersuchung zweier Fälle von Arthritis urica bestätigen kann — und glaubt, dass man hier bis zu einem gewissen Grade ein Mittel in der Hand habe, die durch den Stoffwechsel erzeugte Indikanurie von der durch abnorme Zersetzungen ausserhalb der Gewebe entstandenen Indikanurie zu trennen. Da meine zur Zeit im Gange befindlichen Versuche über das quantitative Verhalten des Indikans vor und nach dem Kochen der Urin-Reagensmischung noch nicht zu einem definitiven Abschluss gelangt sind, so will ich mich nach dieser Richtung hin nur auf die Bemerkung beschränken, dass meine bezüglichen Versuche mich zu der Ueberzeugung geführt haben, dass mein Verfahren auch nach dieser Richtung hin einer sehr guten Verwendung fähig ist.

Da es mir aufgefallen ist, dass der nach der erschöpfenden Chloroformextraktion im Schüttelröhrchen verbleibende Rückstand in den einzelnen Fällen verschieden gefärbt war, indem die Farbennuancen zwischen grüngelb und braunroth schwankten, habe ich in einer grösseren Anzahl von Fällen auch den nach der Chloroformextraktion verbleibenden Rückstand noch weiter untersucht und habe hierbei den Eindruck gewonnen, dass wir in diesem ein Gemisch von verschiedenartigen Farbstoffen vor uns haben, unter denen, wie ich allerdings gleich bemerken will, beim Kochen mehr braunrothe Typen auftreten, als bei der Anstellung der Reaktion in der Kälte. Von diesen Farbstoffen ist mir besonders einer aufgefallen, der die Charaktere des Uroroseins zeigte, indem er in Amylalkohol leicht, in Aether aber sehr schwer oder garnicht übergang und nach der Alkalisierung der Reagens-Urinsmischung verschwand. Ausserdem schien mir aber auch für die Färbung des Rückstandes der in den einzelnen Fällen verschiedene Urobilingehalt von grosser Bedeutung zu sein. Weiteres über diesen Gegenstand mitzutheilen, bin ich jedoch noch nicht in der Lage und ich beschränke mich deshalb auf diese Bemerkungen.

¹⁾ Anmerkung. Die Firma Altmann wird auf Wunsch von Zeit zu Zeit frisch gefüllte Röhrchen verabfolgen.

²⁾ Reale, Wiener medizinische Wochenschrift 1901.