VII. Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.

Ueber eine bisweilen vorkommende Abweichung bei der Bestimmung des Harnindicans als Indigoroth mittels Isatinsalzsäure.

Von Jac. Bouma.

In einer früheren Mittheilung habe ich bereits darauf hingewiesen, dass, wenn Harn nicht frisch ist und in Fällen von Cystitis, wobei der Harn alkalisch entleert wurde, die Farbe des Chloroformextrakts des mit Bleiessig gefällten und danach mit Isatinsalzsäure versetzten Harns, durch Bildung von Indigoblau, violett bis blau sein kann¹⁾.

Im Anschluss hieran habe ich bei verschiedenartigen Krankheiten, in einer grossen Anzahl von Fällen, den Harn in dieser Beziehung controllirt.

Obgleich ich hierbei die Ueberzeugung gewann, dass diese Abweichung von der normalen rothen Reaktion nicht so oft vorkommt, dass sie den klinischen Werth dieser Indicanbestimmung wesentlich verringern kann, habe ich doch nach einem Mittel gesucht, um die Bildung von Indigoblau neben dem Indigoroth zu verhüten.

Eine colorimetrische Methode ist nur dann werthvoll, wenn man auf eine constante Farbe des Chloroformextrakts rechnen kann.

Hierin liegt gerade die Ursache, warum die Indicanbestimmung nach Obermayer für colorimetrische Zwecke so wenig leistet; das Chloroformextrakt ist bei dieser Bestimmung nur selten rein blau, doch meistens mehr oder weniger violett von Farbe, was der colorimetrischen Methode von Strauss²⁾ Abbruch thut.

Wenn man, nach der Methode von Stokvis³⁾, aus Harn reine Indoxylschwefelsäure bereitet und diese mit Isatinsalzsäure behandelt, dann bekommt man immer reines Indigoroth, ohne Beimischung von anderen Indigomodifikationen. Ebenso erhält man bei der Behandlung des Harns auf die von mir angegebene Weise in den überaus meisten Fällen eine rein rothe Farbe des Chloroformextrakts, sodass, durch Vergleichung mit den Standardröhrchen, der Gehalt des Harns an Indican ohne jede Schwierigkeit abgelesen werden kann.

Strauss behauptet, dass meine colorimetrische Methode zu unständlich ist für den Gebrauch in der Klinik; darin irrt er sich jedoch, denn die ganze Bestimmung ist in 5—10 Minuten beendet.

Wenn aber Indigoblau mit dem Roth gemischt ist, dann ist eine genaue Bestimmung des Gehalts an Indican auf colorimetrischem Wege nicht mehr möglich.

Beim Suchen nach der Ursache dieser Abweichung fand ich, dass Harn, welcher beim Kochen mit Isatinsalzsäure eine Mischung von Indigoblau und Indigoroth liefert, schon nach Vermengung mit reiner Salzsäure Indigoblau entstehen lässt.

Durch diese Thatsache wurde die Vermuthung erregt, dass

solcher Harn eine oxydirende Substanz enthält, wodurch, ähnlich wie vom Ferrichlorid im Obermayer'schen Reagens, aus Indoxyl Indigo gebildet wird.

Um die Richtigkeit dieser Vermuthung zu prüfen, wurde das Filtrat des mit Bleiessig gefällten Harns mit Salzsäure und Zinkstaub vermischt, welche Behandlung den Zweck hatte, oxydirende Bestandtheile, falls solche anwesend sind, unschädlich zu machen.

In der That erhält man nun, nach Abfiltriren und Kochen mit Isatinsalzsäure, ein rein rothes Chloroformextrakt.

Obwohl nun die Richtigkeit der Voraussetzung festgestellt war, zeigte es sich, dass die Bestimmung des Gehalts des Harns an Indican nicht mehr möglich war, da vom Wasserstoff in statu nascenti nicht nur die störenden oxydirenden Bestandtheile vernichtet wurden, sondern auch ein Theil des Indoxyls selbst. Als das Quantum Indican durch Titration mit Kaliumpermanganat, in der früher von mir angegebenen Weise, vor und nach der Behandlung mit Zinkstaub bestimmt wurde, zeigte sich, dass bei der Reduktion ein nicht unansehnlicher Theil des Indoxyls verloren gegangen war.

Als ein besser der Erwartung entsprechendes Reduktionsmittel bewährte sich Schwefelwasserstoff, wodurch, wie titrimetrische Bestimmungen mich lehrten, das Harnindican nicht angegriffen wird.

Wenn nun der Harn, nach Behandlung mit Isatinsalzsäure, nicht ein rein rothes Chloroformextrakt liefert, wird die Methode insofern abgeändert, dass durch das nach Fällung mit Bleiessig erhaltene Filtrat während einer Viertelstunde ein langsamer Strom von Schwefelwasserstoff geleitet wird. Das hierdurch gefällte Bleisulfid wird mittels eines trockenen Filtrums abfiltrirt und von dem Filtrat wird nun in gewöhnlicher Weise 5½ ccm mit 10 ccm Isatinsalzsäure gekocht und nach Abkühlung mit 5 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroformextrakt ist nach dieser Behandlung, selbst bei Harnen, welche anfangs fast nur Indigoblau lieferten, tadellos roth und kann ohne jede Schwierigkeit mit den Standardröhrchen verglichen werden.

Oxydation von Indoxyl kommt, wie bekannt, schon bei Zimmertemperatur zu Stande, während die Verbindung dieses Stoffes mit Isatin zu Indigoroth erst bei Erwärmung stattfindet.

Ganz in Uebereinstimmung mit dieser Thatsache sieht man, dass Harn, welcher die abweichende Reaktion zeigt, beim Erwärmen mit Isatinsalzsäure anfangs schwärzlich wird und erst, nachdem der Siedepunkt nahezu erreicht ist, einen rothen Farbenton annimmt.

Schüttelt man die Flüssigkeit mit Chloroform, sobald sie noch kaum erwärmt ist, dann zeigt das Extrakt eine blaue Farbe.

Nach dem Kochen erhält man eine Mischung von Indigoblau und von Indigoroth, welche aus dem nicht oxydirten und jetzt mit Isatin gebundenen Indoxyl entstanden ist.

Bisweilen befindet sich im Harn eine genügende Menge dieses oxydirenden Stoffes, um alles Indoxyl zu oxydiren und ist das Chloroformextrakt von blau-violett bis blau gefärbt; das sich in der Salzsäure in Lösung befindliche Isatin bleibt in diesem Falle ausser Wirkung und in Uebereinstimmung damit sieht man, nach der schwärzlichen Verfärbung der Harnmischung, die oben erwähnte rothe Farbe beim Kochen nicht zum Vorschein kommen.

Von welcher Natur die oxydirenden Körper sind, welche sich dann und wann im Harn befinden und die Reaktion stören, ist mir nicht bekannt. Auch habe ich nicht erforschen können, durch welche Umstände das Vorkommen dieser Stoffe beherrscht wird. Weder der Krankheitsprozess noch die Medikation und Nahrung haben mir bis jetzt einen einzigen Anhaltspunkt gegeben. Nur habe ich meine früher mitgetheilte Wahrnehmung, dass Anwesenheit von Leukocyten und Bakterien im alkalischen Harn mit der abweichenden Reaktion Hand in Hand gehen, in einem Fall von einseitiger Pyelitis bestätigt gefunden.

In der chirurgischen Klinik des Herrn Professor Narath wurden bei einer Patientin rechts und links Uretherenkatheter eingeführt, sodass der Harn jeder Niere gesondert aufgefangen wurde. Der Harn der rechten Niere gab mit Isatinsalzsäure eine rein rothe Indicanreaktion, während der Harn der linken Niere ein blaues Chloroformextrakt lieferte. Letzterer Harn, welcher übrigens einen normalen Gehalt an festen Bestandtheilen besass, enthielt viele Leukocyten, einzelne Bakterien und reagirte schwach alkalisch. Hier waren also zweifellos die oxydirenden Stoffe des Harns nicht durch die Niere ausgeschieden, sondern erst im kranken Nierenbecken gebildet worden.

¹⁾ Zeitschrift für Physiol. Chemie Bd. XXXII, S. 93.

²⁾ Deutsche medizinische Wochenschrift 1902, No. 16, S. 299.

³⁾ Ned. Tijdschr. v. Geneeskunde 1901, Deel I, S. 961.

Indessen habe ich auch öfters die abweichende blaue Reaktion bei bakterienfreiem, stark saurem Harn wahrnehmen können. Man hat es also in der Hand, wenigstens soweit ich durch meine Erfahrung, welche sich über eine grosse Anzahl von Fällen ausdehnt, zu urtheilen im Stande bin, in jedem Harne das darin befindliche Indoxyl mit Isatin ausschliesslich zur rothen Indigomodifikation zu binden, wodurch das wichtigste Erforderniss einer guten colorimetrischen Bestimmung erfüllt ist, während ein derartiges Mittel, ausschliesslich die blaue Indigomodifikation hervorzurufen, uns bis heute ganz und gar fehlt.

Zum Schluss muss ich noch darauf aufmerksam machen, dass es zweckmässiger ist, für die Standardröhrchen meines Indicanurometers statt Lösungen von Indigoroth in Chloroform, Lösungen dieses Stoffes in absolutem Alkohol zu gebrauchen, da letztere dem Einfluss des Lichts besser widerstehen.

Indessen bleibt es geboten, die Standardröhrchen im Dunkeln aufzubewahren. Hierauf ist bei der Einrichtung meines Indicanurometers, sowie dieser vom Herrn Kagenaar geliefert wird, Rücksicht genommen.

Nach einem regelmässigen Gebrauch in 1 $\frac{1}{2}$ Jahr habe ich noch kein Erblässen meiner Standardröhrchen mit Indigorothlösung in Alkohol wahrnehmen können.