Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität in
Budapest. (Direktor: Hofrat Prof. Dr. Karl v. Kétly.)

**Ueber neue Gallenfarbstoffreaktionen
im Urin.**

Von Dr. A. v. Torday, I. Assistent, und Dr. A. Klier,
Praktikant der Klinik.

Bei der Untersuchung des Magensaftes eines ikterischen Kranken auf freie Salzsäure mittels Methylviolett erhielten wir statt der für freie Salzsäure charakteristischen Blaufärbung eine rote. Dabei war jedoch keine Spur von freier Salzsäure vorhanden. Da in dem Magensaft Gallenfarbstoff nachweisbar war und wir das Vorhandensein solcher Stoffe ausschließen durften, die diese Rotfärbung hätten herbeiführen können, läßt sich wohl mit Sicherheit schließen, daß der Gallenfarbstoff Ursache dieser Reaktion war. Und in der Tat gab der Urin eines ikterischen Kranken mit Methylviolett dieselbe Reaktion. Bei der Untersuchung des Verhaltens dieses Reagens anderweitigen im Urin enthaltenen Gallenfarbstoffen gegenüber erhielten wir stets diese charakteristische Verfärbung, wenn eine schwache Lösung von Methylviolett (ein Tropfen einer 1 % igen Lösung auf 15 ccm Wasser) mit 1 ccm Urin gemischt wurde. Der Grad der Verfärbung hängt von der Menge des im Urin enthaltenen Gallenfarbstoffes ab.

Das Verhalten des Methylvioletts dem Gallenfarbstoff gegenüber hielten wir nicht für spezifisch, und v. Torday gab der Meinung Ausdruck, daß die rein hergestellten Methylenblauverbindungen und deren Gemische, wie sie in der Hämatologie Verwendung finden, diese Reaktion noch intensiver geben müßten. Und tatsächlich gaben die aus Methylen- und Eosin-Azur bestehende Giemsa'sche Lösung und die Methylenblau-Eosin-Methylalkohol-Lösung (May-Grünwald) alle sehr intensiv diese Reaktion.

Da Azurblaulösung eine grüne, Methylviolett eine rote Färbung zeigten, war es a priori wahrscheinlich, daß die metachromatischen basischen und neutralen Färbemittel diese Reaktion geben, während

dies mit sauer reagierenden Farblösungen nicht zu erwarten war. In dieser Erwartung sahen wir uns nicht getäuscht. Die Reaktion gelang mit Methylviolett-Thionin, Kresylviolett, Kresylblau usw. also mit basisch reagierenden Lösungen, von neutralen Lösungen mit der von May-Grünwald und Giemsa, blieb jedoch aus bei Verwendung von Fuchsin-Eosin.

Wird zu einer schwachen wäßrigen Methylenblaulösung $\frac{1}{2}$ bis 1 ccm Urin, welcher Gallenfarbstoffe enthält, hinzugemischt, so erhalten wir eine Grünfärbung. Azurblau, Giemsa'sche Lösung, Methylenblau, Thionin, Toluidinblau gaben eine grüne Farbe, eine sehr schwache May-Grünwald'sche Lösung verblaßt, eine stärkere zeigt eine grünlich gelbe Färbung. Dahliagrün und Pyronin reagieren gelb, Kresylviolett, Methylviolett und Methylenblau-Gentiana-violett rot.

Die Verfärbung bzw. Entfärbung ruft nicht die dunkle Farbe des Urins hervor. Denn

1. verändern auch schon einige Tropfen des Gallenfarbstoff enthaltenden Urins die ursprüngliche Farbe der Reagentien; so färbt gelb z. B. 8—10 Tropfen dieses Urins eine schwache Azursche Lösung;
2. verändert dieselbe Menge eines dunkeln Urins, der keine Gallenfarbstoffe enthält (der von fiebernden Kranken, Blutfarbstoffe enthaltende Urin), die ursprüngliche Farbe der Reagentien nicht.

Diazohaltiger Urin gibt auch eine grüne Farbe mit Methylenblau, wie es Russo nachgewiesen hat, aber man muß eine stärkere Farblösung nehmen und mehr Urin hinzugeben, um die Reaktion zu erhalten. Dagegen stellt sich unsere Reaktion bei schwachen Lösungen schon ein bei wenig Urin. Es wird in Zukunft geboten sein, Diazo enthaltenden Urin auf Gallenfarbstoff zu untersuchen, um etwaige Irrung auszuschließen.

Bei der Untersuchung wird folgendermaßen vorgegangen:

Man nimmt z. B. 10 ccm einer sehr schwachen Azurblaulösung (1:10 000) und gibt diese zu $\frac{1}{2}$ —1 ccm des zu untersuchenden Urins, worauf eine grüne Färbung entsteht. Die übrigen oben angeführten Reagentien gaben in ähnlicher Verdünnung eine Reaktion. Um ein positives Resultat dieser Reaktion zu erzielen und um diese sich auch nicht zu erschweren, ist es nötig, daß eine genügend schwache Reagenslösung verwendet werde, weil sonst auch die Menge des zu untersuchenden Urins größer sein muß, um eine charakteristische Färbung zu erzielen; im übrigen ist auch die Farbenveränderung nicht so auffallend, sodaß ein ungeübtes Auge diese Veränderung unter Umständen kaum wahrnimmt.

Auch in solchen Fällen konnte Gallenfarbstoff im Urin mit Bestimmtheit nachgewiesen werden, in denen sich die Reaktion mit Jodtinktur, mit der Gmelin- oder Penzoldtschen Probe auf dem Filtrierpapier nur schwach positiv zeigte.

Um uns von dem Grad der Empfindlichkeit dieser Probe zu überzeugen, gingen wir, wie folgt, vor:

Wir bereiteten aus einer basischen oder neutralen Methylenlösung unser Reagens von der nötigen Konzentration und gaben von diesem in mehrere Reagensgläser je 10 ccm. In jedes dieser Gläser wurde dann 1 ccm einer aus Kindgalle und destilliertem Wasser hergestellten Mischung von bestimmter, aber verschiedener Konzentration (1:10, 1:20 usw.) hinzugefügt, worauf die Farbenreaktion bei auffallendem Lichte geprüft wurde.

Die Empfindlichkeit der Probe zeigt folgende Tabelle:

Kindgalle verdünnt 1 ccm	Azurblau 0,08: 10 000 10 ccm	Giemsa'sche Lösung 1:200 10 ccm	May-Grünwald'sche Lösung 1:200 10 ccm	Kresylviolett 1:10 000 10 ccm	Methylviolett 1:10 000 10 ccm	Pyronin 1:10 000 10 ccm	Marschall Jodtinktur	Gmelin'sche Probe	Penzoldtsche Probe
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:40	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Hieraus ergibt sich zweifellos, daß diese Methode zum Nachweis von Gallenfarbstoff von den bisher bekannten die empfindlichste ist, da wir bei Anwendung dieser Probe so geringe Mengen von diesem Farbstoff nachzuweisen imstande sind, auf deren Vorhandensein wir mittels anderen Proben nicht schließen können.

Den Grund der Reaktion kennen wir nicht; wir glauben kaum, daß es sich um eine einfache Farbmischung handelt, vielmehr suchen wir ihm einstweilen in der Metachromasie, denn nur metachromatische Farbenverbindungen geben diese Reaktion, mit Ausnahme

von Methylblau. Eine ähnliche Farbenreaktion finden wir, wenn wir mit den oben angeführten Färbemitteln Amyloid und Mucin färben. Die bisher angewandten, der Metachromasie fähige Farben, geben aber in Gegenwart bekannter Stoffe andere Farbennuancen. Z. B. Thioninblau, welches im Falle der Metachromasie eine rote Farbe gibt, mit Gallenfarbstoff olivgrün wird. Die gebrauchten Stoffe gehören der Triphenylmethan- (Gentianaviolett, Methylviolett), Thionin- und Oxazin-Gruppe an, das Pyronin G. ist eine Tetramethylchlorverbindung. Die Metachromasie dieser Verbindungen beruht nach Michaelis darauf, daß bei der Farbenveränderung die wäßrigen Lösungen ihre chemische Zusammensetzung nicht ändern, sondern bloß ihre konstitutionelle Form betreffend untereinander eine Abweichung zeigen, d. h. diese Verbindungen sind tautomer. Die Metachromasie ist stets an die freie Lauge gebunden, und der erhaltene Farbenton steht immer dem der Lauge angehörigen nahe.

Ueberraschend war, daß das im übrigen sich tautomer verhaltende Safranin keine Farbenreaktion gab.

Mit reinen Gallenfarbstoffen konnten wir bis zurzeit noch keine Versuche machen. — Dem Vorhandensein des Gallenfarbstoffes schreiben wir trotzdem das Zustandekommen der Farbenreaktion zu, denn reine Gallensäuren verändern die Farbe der oben angeführten Reagentien nicht.

Weitere Versuche werden zeigen, in welcher Art und wie weit diese Methode qualitativ, auf kolorimetrischem Wege, nach dem Grad der Farbenveränderung des Reagens verwendet werden kann.