

Aus dem Chemischen Laboratorium der Krankenanstalt „Rudolfstiftung“ in Wien. (Vorstand: Hofrat Prof. Ernst Freund.)

### Die Alizarinfärbung des Urinsediments als Diagnostikum in der internen Medizin (und Bemerkungen zur Kalktitration).

Von Dr. Ernst Friedländer, Assistent.

Das alizarinsulfonsaure Natrium (im Folgenden kurz „Alizarin“ genannt) ist ein wertvolles Reagens bei der Harnuntersuchung. Als 1%ige wässrige Lösung kann man es nicht nur als Indikator zur Bestimmung der sauren und alkalischen Eigenschaften des Urins<sup>1)</sup>, sondern auch zur Bestimmung der im Urin enthaltenen Sulfate<sup>2)</sup> verwenden.

Sehr wertvolle Dienste leistet es uns außerdem als Färbemittel bei der Untersuchung der Urinsedimente. Die Färbetechnik<sup>3)</sup> ist die denkbar einfachste. Zu dem am Objektträger befindlichen Sedimenttropfen wird ein Tropfen der genannten Alizarinlösung zugesetzt, die beiden Tropfen mit der Kante eines Deckgläschens gemischt und nach etwa einer Minute mikroskopisch untersucht.

Schon makroskopisch fällt bei normalen Urinen eine Ausfällung schöner, ziegelroter Plättchen auf. Trotz ihrer scharfen Deutlichkeit erweisen sich diese mikroskopisch als so zart, daß man alle übrigen Einzelheiten des Sedimentes, wie Epithelzellen, Kristalle, Leukozyten u. a., sehr scharf einstellen kann.

Bei manchen Sedimenten fällt der Mangel jeglicher Ausfällung mit Alizarin auf, oder es ist nur ein äußerst spärlicher, feinkrümeliger Niederschlag zu sehen, und dies ist ein verlässlicher Hinweis auf bestimmte Störungen der Nierenfunktion. Sowohl Knapp<sup>4)</sup> als auch Necker<sup>5)</sup> haben im hiesigen Laboratorium die seither hier immer wieder bestätigt gefundene Tatsache festgestellt, daß

1. akute und chronische Nephritiden,
2. kruppöse Pneumonien und schwere septische Prozesse und
3. ein Großteil von Pyelitiden und Zystopyelitiden, nicht aber unkomplizierte Zystitiden im Harn die Alizarinfällung vermissen lassen.

Weniger klar waren die chemischen Ursachen dieser Erscheinung, weshalb ich sie einer näheren Untersuchung unterzog.

<sup>1)</sup> Ernst Freund, Zbl. f. m. Wiss. 1892. — <sup>2)</sup> Ernst Freund, in Neuberg — „Der Harn“. — <sup>3)</sup> Groß, Intern. klin. Rundschau 1894 Nr. 4. — <sup>4)</sup> Zbl. f. inn. M. 1902 Nr. 1. — <sup>5)</sup> W. kl. W. 1905 Nr. 6.

Die Alizarinplatten lösen sich, wie bekannt war, in Essigsäure. Löst man nun die ausgefallenen Platten vorsichtig unter dem Mikroskop, so sieht man nach erfolgter Lösung an Stelle der Platten ein feines, zartes, in Essigsäure unlösliches Gerüst einer mazinösen Substanz. Ein Zusammenhang der Alizarinfällung mit kolloiden Urin-Substanzen ist daher naheliegend.

Andererseits ist es bekannt, daß das Alizarin mit einer Reihe von Metallen, insbesondere mit Kalk, unlösliche, gefärbte Verbindungen eingeht, sodaß auch der Kalkgehalt der Urine in Frage kam.

Da die Farbe des Niederschlages eine Beziehung zur Azidität bzw. Alkaleszenz des Urines nahelegte, kam noch ein etwaiges bestimmtes Verhältnis des Mono-Natriumphosphates zum Di-Natriumphosphat beim Ausbleiben der Ausfällung in Betracht. Diesbezügliche Untersuchungen ergaben jedoch kein eindeutiges Resultat.

Ich habe nun bei einer größeren Reihe von Urinen, welche mit Alizarin keine Ausfällung gaben, Kalkbestimmungen durchgeführt und erhielt ausnahmslos erheblich gegen die Norm verringerte Werte, welche unter 0,006% CaO liegen. Hierauf versuchte ich an künstlichen Kalklösungen die Konzentration CaO zu ermitteln, bei welcher eben noch mit Alizarin eine Ausfällung auftritt. Es hat sich dabei gezeigt, daß außer dem Ca-Ion noch die Art des Anions von Einfluß ist, wie aus folgender Tabelle erhellt:

	% CaO	% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> als primäres Natriumphosphat	% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> als sekundäres Natriumphosphat	% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> als Gesamtphosphat	Gibt mit Alizarin
als Kalziumazetat	0,0148	0,113	0,075	0,183	Platten
	0,00296	0,113	0,075	0,188	Platten
	0,00296	0,0904	0,06	0,1504	(nach längerer Zeit spärliche Platten
	0,00296	0,0791	0,0525	0,1316	ohne Fällung
	0,00296	0,0565	0,0375	0,094	ohne Fällung
	0,00296	0,203	0,015	0,218	spärliche Platten
	0,00296	0,113	0,075	0,188	ohne Fällung
als Kalziumazetat			0,113	0,113	ohne Fällung
			0,225	0,225	Platten
		0,340		0,340	ohne Fällung
	0,0446				Platten
	0,0177				Platten
	0,01482				Platten
	0,0111				ohne Fällung
als Kalziumchlorid	0,0089				ohne Fällung
	0,033				ohne Fällung
	0,011				ohne Fällung
	0,011	0,113	0,075	0,188	Platten
	0,011	0,056	0,037	0,093	ohne Fällung

Wenn man nun Urine, welche die Alizarinfällung geben, und solche, welche sie nicht geben, versacht, die Asche in etwas Wasser aufnimmt, dann genau und vorsichtig neutralisiert und nun eine Spur ansäuert (nicht übersäuern und rückneutralisieren!) und auf das Volumen des versachten Urins mit Wasser auffüllt, so bekommt man mit der Aschenlösung und Alizarin dasselbe Resultat wie mit dem Urin selbst.

Auffällig ist, daß Normalurine, welche man so weit verdünnt, daß ihre Kalk- und P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-Konzentration unter das Minimum sinkt, welches in künstlichen Lösungen noch mit Alizarin Plattenausfällung zeigt, noch spärliche Platten aufweisen, wenn sie mit Alizarin behandelt werden. Das deutet darauf hin, daß in Normalurinen außer der entsprechenden Menge P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> noch andere Substanzen vorhanden sein müssen, welche die Kalkausfällung mit Alizarin erleichtern. So sehr die anorganischen Substanzen für die Alizarinausfällung in Frage kommen, so kann doch der Einfluß der Kolloide<sup>1)</sup> des Urins auf die Struktur der Ausfällung nicht ausgeschlossen werden, worauf z. B. die mazinöse Grundsubstanz beim Auflösen der Platten hinweist.

Daß es bei Urinen, welche keine Plattenausfällung mit Alizarin geben, im wesentlichen auf eine beträchtliche Verminderung des Kalkgehaltes ankommt, erhellt daraus, daß man bei solchen Urinen die Plattenausfällung sofort hervorrufen kann, wenn man den Kalkgehalt bis auf etwa 0,01% CaO ergänzt. Da aber bei einem sonst normalen Mineralgehalt schon Mengen von 0,003% CaO zur Plattenfällung genügen, muß bei den pathologischen Urinen auch der übrige Mineralgehalt herabgesetzt sein. (Siehe Tabelle.) Die Grenze für P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ist z. B. in künstlichen Lösungen von 0,00296% CaO zwischen 0,1504% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> und 0,1316% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Den Kalkgehalt der Urine bestimmte ich durch Titration.

Die Titration des Kalkes ist seit langer Zeit immer wieder empfohlen worden, ohne sich hierzulande recht einbürgern zu können. Einen Einwand machte man ihr, daß nämlich der Umschlag mit einer 1/100 normalen Kaliumpermanganatlösung nicht scharf genug sei. Wenn man aber die zu bestimmenden Kalkmengen nicht unverhältnismäßig groß nimmt, sodaß die Flüssigkeitsmenge nach der Titration 25 cm<sup>3</sup> nicht übersteigt, so bekommt man schon mit einer 1/150 normalen Kaliumpermanganatlösung einen Umschlag, welcher auf einen Tropfen genau ist.

Ich bin bei der Kalktitration folgendermaßen vorgegangen: 3 cm<sup>3</sup> Urin werden mit etwa 2 cm<sup>3</sup> einer 10%igen Lösung von Ammoniumnitrat in einer kleinen Schale eingedampft und dann vorsichtig versacht. Die Veraschung selbst erfordert kaum mehr als 5 Minuten.

Nach dem Erkalten wird die Asche in etwa 1 cm<sup>3</sup> einer beiläufig 1%igen (oder  $\frac{n}{4}$ ) Salzsäurelösung gelöst und die Salzsäure hierauf mit einigen Tropfen einer 50%igen Natriumazetatlösung abgestumpft. Nachdem hierauf 4 Tropfen einer 10%igen Amoniumoxalatlösung zugesetzt wurden, läßt man 10 Minuten am Wasserbade bedeckt stehen. Hierauf wird durch ein Asbestfilter filtriert. Man nimmt ge- glühte, mit Salzsäure gewaschene Asbestwolle, aus welcher die Salz- säure restlos entfernt wurde, und gibt davon so viel in einen Trichter, daß der Asbest gut an der oberen Trichterrohrmündung sitzt, aber nur etwa 1 mm in den Trichterkegel hineinragt. Das Ganze setzt man auf eine Saugflasche an der Wasserstrahlpumpe und gießt Wasser auf. Mit einem Glasstabe drückt man nun den Asbest sanft so zusammen, daß etwa 20 Tropfen in der Minute hindurchgehen. Nach Ent- fernung des Wassers aus dem Trichter gießt man den Inhalt des Schälchens auf, spült nach erfolgter Filtration 2mal mit je 1 cm<sup>3</sup> das Schälchen nach und wäscht den Filtrerrückstand zuerst mit 3 cm<sup>3</sup>, dann 3mal mit je 1 cm<sup>3</sup> Wasser. Nun gießt man den Inhalt der Saugflasche weg, wäscht sie gut aus, entfernt das Wasser aus dem Trichterrohr durch sanftes Klopfen oder Absaugen (nicht durch Spülen) und setzt den Trichter wieder auf die Saugflasche. Nun wird der am Filter ge- bliebene oxalsäure Kalk durch Aufgießen von 20%iger Schwefelsäure gelöst, und zwar zuerst 3 cm<sup>3</sup>, dann 4mal je 1 cm<sup>3</sup>, dann wird das Trichterrohr wieder sanft in die Saugflasche ausgeklopft und der Inhalt der Saugflasche in einen kleinen Kochkolben übergeführt, indem man die Saugflasche 3mal mit je 1 cm<sup>3</sup> Wasser spült. Schließlich wird mit einer  $\frac{n}{140}$  bis  $\frac{n}{150}$  Kaliumpermanganatlösung heiß titriert. Der Perman- ganattiter muß täglich kontrolliert werden, und die Permanganat- lösung soll nicht älter als 10 Tage sein. 1 cm<sup>3</sup> einer  $\frac{n}{150}$  Permanganat- lösung entspricht 0,19 mg CaO. Das Asbestfilter braucht für eine neuerliche Bestimmung nicht gewechselt, sondern nur säurefrei ge- waschen zu werden.

#### Analysenresultate.

Wirkl. Wert CaO g (gemess. Lösung)	Gefunden CaO g	Fehler	Wirklicher Wert CaO g	Gefunden CaO g	Fehler
0,0003545	0,0003328	5 %	0,0003545	0,0003523	0,8%
0,0005318	0,0005250	1,3 %	0,000212	0,000228	5,0%
0,000212	0,000215	1,4 %	0,0003545	0,0003521	0,7%
0,0003545	0,0003510	0,004%	0,0005318	0,0005652	6,0%
0,0005318	0,0005562	4 %			

**Zusammenfassung.** Wir haben also im Alizarin, welches wir als 1%ige wäßrige Lösung von alizarinsulfonsäurem Natrium ver- wenden, ein in der Anwendung höchst einfaches, in jeder Sprech- stunde anwendbares Mittel, welches uns in der internen Diagnostik wertvolle Dienste leistet. Die Störung in der Minerausscheidung (vor allem des CaO) kann sowohl durch eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion (akute, chronische Nephritis, schwere Degenerations- formen) als auch durch Retention in den Geweben bedingt sein. Ob es sich bei kruppösen Pneumonien und schweren septischen Prozessen um eine Funktionsschädigung der Nieren oder um Kalkretention im Gewebe oder um beides handelt, ist nicht ohne weiteres zu ent- scheiden. Daß die Nieren in sehr vielen Fällen geschädigt sind, zeigt der häufige Befund von inkrustierten<sup>1)</sup> Zylindern bei kruppösen Pneu- monien und bei Sepsis.

Ein guter Ratgeber ist die Alizarinfärbung bei der Differential- diagnose zwischen Pyelitis, Pyelonephritis und Pyelozystitis einer- seits und Zystitis andererseits. Wenn man bei einem leukozytenreichen Urin die Plattenausfällung vermißt, so hat man es mit einer Pyelitis zu tun. Aus dem Fehlen der Alizarinplatten bei vielen Pyelitiden sieht man, daß eine Pyelitis ohne nachweisbare anatomische Veränderungen des Nierenparenchyms eine deutliche Störung der Minerausschei- dung durch die Nieren veranlassen kann. Differentialdiagnostisch unterstützend kann man hierbei eine von Groß und von Necker bemerkte Tatsache verwenden, welche sicher des weiteren Studiums wert ist. Leukozyten nämlich, welche aus den obersten Harnwegen kommen, zeigen eine gelbe bis rote Kernfärbung mit Alizarin. Leuko- zyten von prostatistischen Prozessen färben sich dunkel, während Leuko- zyten von Zystitiden das Alizarin nicht aufnehmen.

<sup>1)</sup> Zbl. f. inn. M. 1902 Nr. 1.

<sup>1)</sup> Ernst Freund W. kl. W. 1914. Fortschritte der Harndiagnostik.