

Verzeichnis

Anlage III.

von

Reagentien und volumetrischen Lösungen für ärztliche Untersuchungen.

Soweit die Reagentien im Arzneibuch als Arzneimittel oder in der Anlage II beschrieben sind, sind sie durch einen Stern (*) gekennzeichnet und müssen den dort gestellten Anforderungen entsprechen. Die übrigen Reagentien, für die keine besonderen Vorschriften gegeben sind, müssen rein sein.

I. Für die Untersuchung des Harnes.

Zum Nachweis von Eiweiß.

*Essigsäure (mindestens 96 prozentig).

*Essigsäure, verdünnte (30 prozentig).

*Natriumferrocyankidlösung (5 prozentig).

*Salpetersäure (25 prozentig).

Esbach'sche Lösung.

1 Teil Piktrinsäure und 2 Teile *Citronensäure sind in 97 Teilen Wasser zu lösen.

Piktrinsäure $C_6H_2(NO_2)_3 \cdot OH_{(2/4/6/1)}$. Bläugelbe, glänzende Kristalle, die bei $122,5^\circ$ schmelzen.

Saures sulfosalicyl'saures Natrium $C_6H_3(OH)(COOH)SO_3Na_{(1/4/6)} \cdot 2H_2O$. Weißes, kristallinisches Pulver.

Mit den hier angeführten Reagentien lassen sich folgende Proben auf Eiweiß ausführen: (Zur Anstellung der Proben muß der Harn, eventuell durch Filtrieren durch ein Asbestfilter, klar gemacht sein.)

1. Die sogenannte Kochprobe.

Alles unveränderte Eiweiß wird durch Siedehitze koaguliert und somit aus Lösungen zum Ausfallen gebracht, in Lösung bleiben aber Alkali- und Acidalbuminate. — Kocht man alkalischen eiweißhaltigen Urin, so würde Eiweiß trotzdem ausfallen, da sich die Kalk- und Magnesiaverbindungen bilden würde. Ist dagegen der Urin mit Essigsäure stark angesäuert, so kann er trotz Eiweißgehaltes beim Kochen klar bleiben; Eiweiß fällt aber sofort nach Zusatz von Salpetersäure.

Die Probe wird gewöhnlich in der Weise ausgeführt, daß man den klaren Urin ohne Rücksicht auf seine Reaktion mit etwas Essigsäure versetzt und dann stark aufkocht; eine dann eintretende Trübung braucht noch kein Eiweiß zu sein, wenn der Harn nicht deutlich sauer ist; unter dieser Bedingung fallen Phosphate aus. Es wird deshalb reichlich konzentrierte Salpetersäure (15–20 Tropfen) zugesetzt; in dieser lösen sich die Phosphate, das koagulierte Eiweiß nicht. Man wählt als Säure konzentrierte Salpetersäure, weil das koagulierte Eiweiß in einem Überschuß anderer Säuren löslich ist, in dem der Salpetersäure nicht. Nach dem Zusatz von Salpetersäure darf nicht mehr gekocht werden. — Entsteht schon auf Zusatz von Essigsäure vor dem Kochen eine Trübung, so kann diese von einem normal im Urin vorhandenen mucinartigen Körper (selten) oder (ebenfalls selten) von Harzsäuren (z. B. nach Gebrauch der sog. Balsamika) herrühren; die vom Mucin herrührende Trübung löst sich aber in Salpetersäure und die Harzsäuren in Alkohol (ferner s. u. 3.). — Eiweiß fällt flockig und weiß aus und unterscheidet sich dadurch von etwa ausfallender Harnsäure, die meist als gefärbtes Pulver niedergeschlagen wird.

Die Kochprobe ist relativ wenig empfindlich; Eiweißmengen von weniger als $\frac{1}{2} \text{ ‰}$ sind dadurch nicht mehr mit Sicherheit nachzuweisen.

2. Die Hellersche Probe.

Schichtet man Harn vorsichtig auf konzentrierte Salpetersäure, so daß die Flüssigkeiten sich nicht mischen, dann entsteht an der Berührungsstelle eine scharf begrenzte, ringförmige, ungefärbte Trübung.

Die Probe beruht darauf, daß sich an der Berührungsstelle Acidalbumin bildet, das in dem Überschuß der Säure unlöslich ist. Sehr häufig tritt oberhalb der Berührungsstelle

eine schwache Trübung auch bei nicht eiweißhaltigem Urin auf; diese rührt von Harnsäure oder der mucinartigen normalen Substanz des Harnes her. — Daß die Säure sich nicht mit dem Harn mischt, erreicht man am besten auf folgende Weise: Einige Kubikzentimeter Salpetersäure werden in ein Reagenzglas und der Harn in einen mit Filter versehenen Trichter gegossen; steckt man nun den Trichter so in das Reagenzglas, daß die Ausflußöffnung die Wand berührt, dann fließt der Harn an dieser entlang und schichtet sich auf die spezifisch schwerere Salpetersäure. — Die Probe ist empfindlich.

3. Die Ferrocyankaliumprobe.

Versetzt man den Harn mit Essigsäure (bis zu stark saurer Reaktion) und fügt einige Tropfen einer Ferrocyankaliumlösung hinzu, so entsteht Ferrocyanwasserstoff, der fast alle Eiweißkörper fällt; der Niederschlag löst sich in einem starken Überschuß von Essigsäure wieder auf, wenn erhitzt wird. — Mucin und Harzsäure werden durch Essigsäure allein gefällt (s. b. 1.); vom Mucin kann man den Harn durch Zusatz von Bleiacetat bis zu wolkiger Trübung befreien; im Filtrat ruft Essigsäure dann keine Trübung mehr hervor.

Die Ferrocyankaliumprobe ist sehr empfindlich.

4. Die Esbachsche Probe.

Läßt man eiweißhaltigen Urin in eine Pikrinsäurelösung tropfen, so entsteht nach jedem Tropfen ein weißer Niederschlag. — Die Esbachsche Lösung wird meist zu einer annähernd genauen quantitativen Eiweißbestimmung benutzt; die käuflichen Esbachschen Albuminimeter füllt man bis zur Marke U mit Urin und dann bis zur Marke R mit der Lösung auf und läßt absetzen; nach 12–24 Stunden kann der Eiweißgehalt an der eingeritzten Graduierung direkt abgelesen werden. Zu stark eiweißhaltige Urine müssen vorher verdünnt werden. — Genauer ist folgende Art: 20 ccm Harn werden mit der gleichen Menge der Esbachschen Lösung versetzt, auf dem Wasserbade erhitzt und filtriert; der Niederschlag wird gewaschen, zur Konstanz getrocknet und gewogen. 80 Prozent des Niederschlages werden als Eiweiß gerechnet.

Die Probe ist mittelmäßig empfindlich.

5. Die Sulfosalicylsäureprobe.

Man kann die Probe sowohl mit der 20prozentigen Lösung als auch mit dem ungelösten sulfosalicylsauren Natrium anstellen; beide werden dem Harn zugesetzt und fällen Eiweiß schnell aus; beim Erhitzen löst sich der Niederschlag. — Harzsäuren und Mucin werden nicht gefällt.

Die Probe ist sehr empfindlich.

Zum Nachweis von Zucker.

***Natronlauge** (annähernd 15 prozentig).

Kupferfulfatlösung, 10 prozentige.

1 Teil *Kupferfulfat ist in 9 Teilen Wasser zu lösen.

Rihtander'sche Lösung.

2 Teile *Kaliumnatriumtartrat und 5 Teile *Rhodratron werden in 45 Teilen Wasser gelöst und mit 1 Teil *basischem Bismutnitrat unter Umschütteln versetzt.

Die erforderlichenfalls durch Glaswolle filtrierte Flüssigkeit ist in einer braunen Flasche abzugeben.

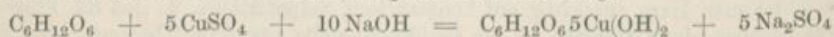
Fehling'sche Lösung = *alkalische Kupfertartratlösung.

Phenylhydrazinhydrochlorid $C_6H_5 \cdot HN \cdot NH_2 \cdot HCl$.

***Natriumacetat.**

1. Nachweis von Zucker mittels Alkali¹⁾ und Kupfersulfat.

Bringt man in eine wässrige Lösung von Traubenzucker Kupfersulfat und Alkalihydrat in einem Verhältnis, daß auf 1 Mol. Traubenzucker 5 Mol. Kupfersulfat und 11 Mol. Alkalihydrat kommen, so entsteht ein Niederschlag nach der Gleichung:



¹⁾ Traubenzuckerlösungen geben beim Erhitzen mit Kali- oder Natronlauge allein ebenfalls eine gelbe bis braune Färbung (Moore, Heller); für den Zuckernachweis im Harn ist diese Probe aber nicht so empfehlenswert wie die Reduktionsproben.

(1 Mol. Lauge tritt nicht in Reaktion, muß aber vorhanden sein). Dieser Niederschlag löst sich in einem Überschuß von Alkali mit lasurblauer Farbe. Setzt man von vornherein zur Traubenzucker- und Kupfersulfatlösung einen Überschuß von Lauge, so löst der Traubenzucker das Kupferhydrat natürlich sofort; die Lösungskraft des Zuckers hängt zum Teil von der Menge der vorhandenen Lauge ab.

Erwärmt man eine Lösung von Kupferhydrat-Traubenzucker und Lauge, so scheidet sich schon vor dem Sieden ein gelber (Kupferoxydulhydrat) oder roter (Kupferoxydulanhydrid) Niederschlag ab (Trommersche Probe); das Kupferoxyd ist reduziert, der Traubenzucker oxydiert. — Die Trommersche Probe ist zwar sehr empfindlich (unter günstigen Umständen kann noch 0,00001 g Zucker damit nachgewiesen werden), bietet aber einige Fehlerquellen, die bei unvorsichtigem Arbeiten auch in normalen Harnen Zucker vortäuschen können (Harnsäure, Kreatinin u. a. reduzieren ebenfalls Kupferoxyd, wenn auch anders als Zucker). Ferner kann z. B. bei einem zu großen Überschuß von Kupfersulfat das ausfallende, nicht mehr vom Zucker reduzierte Kupferoxydhydrat beim Kochen in eine schwarze Modifikation übergehen, die das gelbe Oxydul verdeckt, wenn dieses in geringer Menge vorhanden ist. — Vermieden wird dieser Fehler durch den Gebrauch der Fehlingschen Lösung (s. w. u.).

Praktisch ausgeführt wird die Trommersche Probe in folgender Weise. Man setzt zu dem verdächtigen Urine etwa $\frac{1}{5}$ seines Volumens Natron- oder Kalilauge und dann langsam so viel verdünnte Kupfersulfatlösung, bis etwas Kupferhydrat ungelöst bleibt. Darauf wird erwärmt. Beweisend für Zucker ist nur das Ausfallen eines gelben oder roten Niederschlages.

Exakter und zur quantitativen Zuckerbestimmung brauchbar ist das Verfahren nach Fehling. Das Prinzip der Methode ist, daß bei Gegenwart eines weinsäuren Salzes in der alkalischen Flüssigkeit überschüssiges Kupferoxydhydrat, das vom Zucker nicht reduziert ist, beim Kochen nicht ausfällt, sondern in Lösung bleibt und diese blau färbt; eine Entfärbung der Flüssigkeit in weiß oder hellgelb tritt erst dann ein, wenn so viel Zucker (oder zuckerhaltiger Harn) zugetropft worden ist, daß alles Kupferoxyd reduziert und ausgefallen ist. — Die Lösung ist so gewählt, daß 1 ccm von 5 mg Traubenzucker entfärbt wird. — Zur praktischen Ausführung ist zu beachten, daß die Titration nur genaue Resultate bei Zuckerlösungen von 0,5—1 Prozent gibt; konzentriertere Harnen müssen daher verdünnt werden; einen Harn vom spezifischen Gewicht 1,030 verdünnt man auf das 5fache, von höherem Gewicht auf das 10fache. Der Harn soll zu der siedenden Lösung auf einmal zugesetzt werden. — Die Fehlingsche Lösung ist am besten auf das 5fache zu verdünnen. — Wenn möglich, stellt man durch einen Vorversuch fest, wieviel, auf 1 ccm genau, Fehlingsche Lösung für 5 oder 10 ccm des verdünnten Harnes gebraucht werden. — Die Ausführung würde demnach etwa folgende sein: In ein Kölbchen mißt man genau 10 ccm Fehlingscher Lösung aus einer Bürette ab und verdünnt diese auf 50 ccm; im Vorversuche hatte man ermittelt, daß beispielsweise 8 ccm des Harnes die 10 ccm der Lösung noch nicht entfärbten, 9 ccm Harn aber wohl; man setzt deshalb jetzt zu der siedenden Lösung 8,1 ccm hinzu. Wurde dadurch die Lösung nicht entfärbt, so nimmt man neue 10 ccm Lösung, verdünnt und erhitzt sie und setzt 8,2 ccm Harn hinzu, und so fort, bis man auf 0,1 ccm genau die eben vollständig reduzierende Harnmenge bestimmt hat.¹⁾ — Die Berechnung auf Prozente ist einfach. Nehmen wir an, zur Entfärbung von 10 ccm Lösung seien a ccm des Harnes verbraucht worden; da die 10 ccm 0,05 g Zucker entsprechen, erhalten wir für den Prozentgehalt die Gleichung
$$\frac{0,05}{a} = \frac{x}{100} \cdot x = \frac{5}{a};$$
 diese Zahl muß dann noch entsprechend der Harnverdünnung (meist, wie oben, mit 5 oder 10) multipliziert werden.

2. Die Probe mit Alkali und Wismuthydrat.

Wie Böttger (1857) angab, wird basisch salpetersaures Wismut unter Schwarzfärbung reduziert, wenn man es mit einer durch Natriumcarbonat stark alkalisch gemachten Traubenzuckerlösung kocht. — Nimmt man statt des Carbonates Lauge, so braucht man nur kurz zu erwärmen. — Statt des basischen Salzes wird jetzt nach dem Vorschlage von Almén (der von Nylander nur wenig modifiziert wurde), eine alkalische Lösung von Wismutoxyd in weinsäurem Salz und Lauge benutzt.

¹⁾ Man soll stets neue Fehlingsche Lösung nehmen, da durch Kochen nach dem Harnzusatz ein Teil des ausgefallten Oxyduls wieder oxydiert werden und die Lösung blau färben kann; auch wird bei harnstoffreichen Harnen durch das Kochen Ammoniak frei, das die Endreaktion beeinflusst.

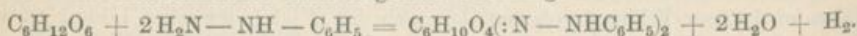
Ausgeführt wird die Probe in der Weise, daß man 10 ccm Harn mit 1 ccm der sog. Nylander'schen Lösung versetzt und kocht; ist Zucker vorhanden, so färbt der Harn sich erst gelb, dann braun, schwarz, trübt sich, und schließlich setzt sich ein schwarzer Bodensatz ab; die Flüssigkeit bleibt dunkel. Ist nur wenig Zucker im Harn, so bleibt es bei der Dunkel-färbung; ein Niederschlag setzt sich nicht ab.

Harnsäure und Kreatinin reduzieren Wismutoxyd nicht.

Für beide Reduktionsproben sei bemerkt, daß der Harn eiweißfrei sein muß; enthält er Eiweiß, so muß dieses vorher durch Kochen mit Essigsäure entfernt werden; der Harn wird filtriert und, zur quantitativen Zuckerbestimmung, auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt.

3. Die Phenylhydrazinprobe.

Bringt man etwa 1 T. Traubenzucker mit 2 T. Phenylhydrazin und 3 T. Natriumacetat (oder mit essigsaurem Phenylhydrazin) bei Wasserbadwärme zusammen, so entsteht das sog. Osazon des Traubenzuckers nach folgender Gleichung:



(Wasserstoff wird nicht frei, sondern führt ein weiteres Phenylhydrazinmolekül in Anilin und Ammoniak über.)

Das Osazon des Traubenzuckers ist in Wasser unlöslich, löst sich aber in heißem 60-prozentigem Alkohol und fällt aus dieser Lösung auf Wasserzusatz aus. Es bildet gelbe, in Drusen angeordnete Nadeln und schmilzt bei 204°—205°.

Die Probe wird nach v. J a c k s c h in folgender Weise ausgeführt. Man setzt zu 6—8 ccm Harn in einem Reagenzglase zwei Messerspitzen voll salzsaurem Phenylhydrazin und drei Messerspitzen Natriumacetat und fügt noch etwas Wasser hinzu; dann wird im Wasserbade 1 Stunde lang gekocht. Das Reagenzglas wird hierauf in kaltes Wasser gestellt; ist Zucker vorhanden, so fällt das Glykosazon in gelben Nadeln aus. Zur Sicherung der Diagnose löst man den gelben Niederschlag in heißem 60-prozentigem Alkohol, filtriert, setzt Wasser hinzu und verjagt den Alkohol durch Erwärmen. Die erhaltenen Kristalle müssen dann den richtigen Schmelzpunkt zeigen.

Der Wert der Phenylhydrazinprobe im Harn wird verschieden beurteilt; nach einigen Autoren geben alle normalen Harne ebenfalls mit Phenylhydrazin gelbe Niederschläge.

Zum Nachweis von Pentosen.

Orcin $C_6H_3(CH_3)(OH)_2[1,3,5] \cdot H_2O$. Weiße Kristalle, die gegen 60° schmelzen.

Bialsche Lösung.

1 g Orcin ist in 500 ccm 30-prozentiger Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,149) zu lösen; die Lösung ist mit 25 Tropfen *Eisenchloridlösung zu verfeinern.

Phloroglucin $C_6H_3(OH)_3[1,3,5] \cdot 2H_2O$. Weißes oder schwach gelbliches, kristallinisches Pulver, das wasserfrei bei raschem Erhitzen zwischen 217° und 219°, bei langsamem Erhitzen zwischen 200° und 209° schmilzt.

Zur Bestimmung der Pentosen dienen Farbenreaktionen. Die Farbenreaktionen beruhen darauf, daß sich aus den Pentosen Furfurol bildet, das mit den Reagenzien sich verschieden färbt.

1. Orcinprobe.

Hierzu wird der Urin mit einem Körnchen Orcin und dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure erhitzt. Es tritt eine violettblaue Färbung ein, die sich sehr schnell trübt. Man läßt absetzen, filtriert, löst in Alkohol und untersucht im Spektralapparat; der Absorptionsstreifen fällt fast genau mit der Linie D zusammen.

Außer den Pentosen gibt auch die Glykuronsäure die Phloroglucin- und Orcinprobe; will man die Glykuronsäure ausschließen, so macht man die Orcinprobe nach der Bialschen Modifikation. Man erwärmt etwa 4 ccm der Bialschen Flüssigkeit im Reagenzglase bis zum Kochen und setzt einige Tropfen Harn hinzu; ist Pentose vorhanden, so tritt eine Grünfärbung auf, bei Glykuronsäure nicht.

2. Phloroglucinmethode.

Bringt man in eine Pentosenlösung eine kleine Menge Phloroglucin, setzt ein gleiches Volumen konzentrierter Salzsäure hinzu und erwärmt langsam bis zum Sieden, so tritt eine

violettrote Färbung auf; die Flüssigkeit zeigt vor dem Spektralapparat einen Absorptionsstreifen im Gelb zwischen den Fraunhoferschen Linien D und E. Beim Erkalten trübt sich die Flüssigkeit bald; man kann sie dann mit reinem Amylalkohol ausschütteln, in dem sich der Farbstoff löst; diese Lösung gibt den gleichen Absorptionsstreifen. Oder man filtriert nach völligem Abkühlen ab und löst den Niederschlag mit 95prozentigem Alkohol; man erhält jetzt einen Absorptionsstreifen im Grün.

Zum Nachweis von Aceton.

*Nitroprussidnatrium.

Jodjodkaliumlösung.

3 Teile *Kaliumjodid und 2 Teile *Jod sind in 45 Teilen Wasser zu lösen.

*Jodtinktur (annähernd 10 prozentig).

1. Die Legalsche Probe mit Nitroprussidnatrium.

Gibt man zu einer Acetonlösung einige Tropfen einer frischen Nitroprussidnatriumlösung und etwas Lauge, so färbt sich die Lösung rubinrot. Dieselbe Reaktion erhält man aber auch mit Kreatinin. Um diese Verwechslung zu vermeiden, kann man den verdächtigen Harn destillieren und die Probe mit dem Destillat anstellen. Einfacher ist es, Essigsäure zuzusetzen; ist Aceton vorhanden, dann geht die rubinrote Färbung in Karmin- oder Purpurrot über; ist nur Kreatinin im Harn, dann schlägt die Färbung in Gelb (später Blau) um.

Ausführung: Zu 5 ccm Harn werden einige Tropfen frischer, etwa 1prozentiger Natriumnitroprussidlösung und 2 Tropfen Natronlauge zugesetzt; sobald die rubinrote Färbung entstanden ist, wird Essigsäure im Überschuß zugefügt.

2. Jodoformprobe nach Lieben.

Versetzt man eine wässrige alkalische Acetonlösung mit Lugolscher Lösung (Jodjodkaliumlösung), so entsteht schon in der Kälte ein Niederschlag von Jodoform, das an dem charakteristischen Geruch und Aussehen zu erkennen ist. Alkohol gibt die gleiche Reaktion, aber erst nach Erwärmen. — Um die Verwechslung mit Alkohol sicher zu vermeiden, kann man die Gunning'sche Modifikation anwenden; bei ihr wird statt der Jodjodkaliumlösung und des fixen Alkali eine alkoholische Jodlösung (Jodtinktur) und Ammoniak benutzt; fügt man zu der wässrigen Acetonlösung etwas 10prozentiges Ammoniak und alkoholische Jodlösung, so entsteht schwarzer Jodstickstoff, der sich unter dem Einfluß des Acetons in Jodoform umwandelt. — Die Liebensch'sche und Gunning'sche Probe werden mit dem Hardestillat angestellt; man unterwirft dazu 250 ccm mit Schwefelsäure angesäuerten Harnes der Destillation. — Der größte Teil des Acetons ist in den ersten 20 ccm des Destillats enthalten.

Zum Nachweis von Acetessigsäure.

*Eisenchloridlösung (10 Prozent Eisen enthaltend).

Von Deichmüller, Tollens und Ceresole wurde nachgewiesen, daß im Diabetikerharn freie Acetessigsäure vorkomme und daß sie es sei, die mit Eisenchlorid die von Gerhardt (1865) entdeckte rote Färbung gibt.

Ausführung: Man tropft so lange 10prozentige Eisenchloridlösung zu dem verdächtigen Harn, bis die anfängliche Fällung von Phosphat sich gelöst hat; ist Acetessigsäure vorhanden, so sieht man den Harn rotviolett gefärbt. — Auch andere Säuren (Essigsäure, Rhodanwasserstoffsäure) und Phenole geben die gleiche Reaktion. Zur Unterscheidung kann man den Harn vor der Probe kochen; Acetessigsäure wird hierdurch zerstört. Oder man schüttelt ihn mit Äther (nach Zusatz von Schwefelsäure aus); wenn Acetessigsäure vorhanden ist, färbt sich die zu dem Äther zugesetzte dünne wässrige Eisenchloridlösung rot.

Zum Nachweis von Urobilin.

*Amylalkohol.

Zinkchloridlösung, 10 prozentige.

1 Teil *Zinkchlorid ist in 9 Teilen Wasser zu lösen.

Zinkacetatlösung, alkoholische (10 prozentige Anreicherung).

1 Teil gepulvertes *Zinkacetat ist mit 9 Teilen *absolutem Alkohol anzureichen. Mit der Aufschrift „Vor dem Gebrauch umzuschütteln“ abzugeben.

Im frischen, unbelichteten normalen Harn ist kein Urobilin, sondern nur Urobilinogen vorhanden. Urobilin wird nachgewiesen.

1. Nach Jaffé.

Man macht den Harn stark ammoniakalisch, filtriert und setzt wenig Chlorzinklösung zum Filtrat; es tritt dann Fluorescenz auf, und im Spektralapparat ist ein Absorptionsstreifen zwischen b und F zu sehen.

2. Nach Nencki und Rotschy.

10—20 ccm Harn werden mit Salzsäure versetzt und mit 6—10 ccm Amylalkohol ausgeschüttelt; der Amylalkohol zeigt spektroskopisch einen breiten Absorptionsstreifen, der über b und F hinausgeht.

3. Nach W. Schlesinger.

Der Harn wird mit der gleichen Menge der vorgeschriebenen alkoholischen Zinkacetatmischung versetzt und vom Niederschlag abfiltriert; selbst urobilinarme Harnen sollen hiernach gut fluorescieren und die Absorptionsspektren zeigen.

Zum Nachweis von Urobilinogen.

Ehrlichsche Lösung.

2 Teile Dimethylparaminobenzaldehyd sind in 98 Teilen eines Gemisches von 4 Teilen *Salzsäure und 1 Teil Wasser zu lösen.

Dimethylparaminobenzaldehyd $C_6H_4N(CH_3)_2 \cdot CHO_{[1,4]}$. Hellgelbe, glänzende Blättchen. Schmelzpunkt 73°.

Urobilinogen wird in den Faeces auf folgende Weise nachgewiesen: Man verreibt die Faeces mit Ligroin (um Indol und Skatol zu entfernen) und zieht den Rückstand mit Alkohol aus, filtriert und setzt die Ehrlichsche Lösung dazu. Es tritt sofort oder nach Erhitzen eine rote Färbung auf.

Zum Nachweis von Gallenfarbstoff.¹⁾

Salpetersäure, salpetrige Säure enthaltend.

*Salpetersäure ist mit einigen Tropfen *rauchender Salpetersäure zu versetzen.

***Calciumchloridlösung (10 prozentig).**

***Natriumcarbonatlösung (33 $\frac{1}{3}$ prozentig).**

Jodlösung, weingeistige, 1 prozentige.

1 Teil *Jod ist in 99 Teilen *Weingeist zu lösen.

1. Nach Gmelin.

Der Harn wird filtriert, das Filter etwas getrocknet; dann wird auf das noch mäßig feuchte Filter ein Tropfen der Salpetersäure-Salpetrigsäurelösung gebracht; bei Gegenwart von Bilirubin bilden sich konzentrische Farbenringe (gelbrot, violett, grün); beweisend ist der grüne Ring (Rosenbachs Modifikation).

2. Nach Trouseau.

Überschichtet man gallenfarbstoffhaltigen Harn mit der angegebenen alkoholischen Jodlösung, so tritt an der Berührungsstelle ein smaragdgrüner Ring auf.

3. Nach Huppert-Salkowski.

Die Gmelinsche Reaktion wird durch reichlichen Indikangehalt des Harns gestört; hierfür ist dann die folgende Probe geeignet. Man macht den Harn durch Sodalösung alkalisch und setzt die vorgeschriebene Calciumchloridlösung tropfenweise so lange zu, bis aller abnormer Farbstoff aus dem Harn ausgefällt und dieser daher farblos ist oder nur normale Harnfarbe zeigt. Der Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, gut ausgewaschen, in einem Reagenzglas mit Alkohol und etwas Salzsäure klar gelöst und dann gekocht; waren Gallenfarbstoffe vorhanden, so färbt die klare Lösung sich grün, später blau, violett, rot; sonst bleibt die Lösung ungefärbt.

Zum Nachweis von Indikan.

Chloralkallösung, halbgefättigte.

Eine gefättigte Lösung von *Chloralkali ist mit gleichen Teilen Wasser zu verdünnen.

¹⁾ Durch die folgenden Proben wird von den Gallenfarbstoffen nur Bilirubin mit Sicherheit nachgewiesen.

Obermayer'sche Lösung.

0,2 Teile *Eisenchloridlösung sind mit 25 Teilen *rauchender Salzsäure zu mischen.

Bleiacetatlösung, 25 prozentige.

1 Teil *Bleiacetat ist in 3 Teilen Wasser zu lösen.

*Chloroform.

In jedem normalen Harn ist Indikan als Eiweißabbauprodukt enthalten und kann unter Umständen durch die folgenden Proben nachgewiesen werden; von diagnostischer Bedeutung ist nur ein auffallend starker Ausschlag der Proben. — Sämtliche Proben beruhen darauf, daß das Indikan¹⁾ durch Oxydation in blauen Indigo übergeführt wird.

1. Nach Jaffé.

Bei dieser Probe wird Indoxyl mittels Chlorkalklösung oxydiert. — In einem Reagenzglase wird der fragliche Harn mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure gemischt und die vorgeschriebene Chlorkalklösung tropfenweise aufgeschichtet; ist der Harn sehr indikanreich, dann bildet sich an der unteren Grenze der Chlorkalkschicht ein bläulich schwarzer Ring. — Ist zuviel Chlorkalk zugesetzt, so wird der Indigo zu dem gelben Isatin weiter oxydiert. — Enthält der Harn Eiweiß, so muß dieses vorher durch Kochen mit Essigsäure und Abfiltrieren entfernt werden.

2. Nach Obermayer.

Obermayer benutzt Eisenchlorid an Stelle des Chlorkalkes zur Oxydation, um eine zu weitgehende Oxydation (s. b. 1.) zu vermeiden. — Der Harn wird mit $\frac{1}{4}$ Volumen der Bleiacetatlösung gefällt und filtriert; zum Filtrat wird ein gleiches Volumen der Obermayer'schen Lösung hinzugefügt und umgeschüttelt; nach einigen Minuten ist alles vorhandene Indoxyl in Indigo übergeführt. Der nach beiden Proben gebildete Indigo kann durch Ausschütteln mit Chloroform in dieses übergeführt werden. In dieser Chloroformlösung kann dann der Indigo, am besten kolorimetrisch durch Vergleich mit einer Lösung von bekanntem Indigo Gehalt, bestimmt werden.

Zur Ausführung der Diazo-reaktion.

a) 1 Teil *Natriumnitrit ist in 200 Teilen Wasser zu lösen.

b) 5 g fein gepulverte Sulfanilsäure sind ohne Erwärmen durch häufiges Umschütteln in etwa 700 ccm Wasser zu lösen; die Lösung ist mit 50 ccm *Salzsäure zu versetzen und mit Wasser auf 1 Liter aufzufüllen.

Sulfanilsäure $C_6H_4(NH_2)SO_3H_{(1,4)} \cdot 2H_2O$.

Farblose, rhombische Tafeln, die an der Luft verwittern und beim Erhitzen auf 280° bis 300° verkohlen, ohne vorher zu schmelzen.

Die Lösungen sind getrennt abzugeben. Bei Bedarf sind 1 ccm der Natriumnitritlösung und 50 ccm der Sulfanilsäurelösung zu mischen.

Wie P. Ehrlich gefunden hat, reagieren bei verschiedenen Infektionskrankheiten die Harn der Patienten mit Diazobenzolsulfosäure in eigenartiger Weise. Der normale Harn reagiert nicht wesentlich auf den Zusatz der Diazosäure; macht man ihn alkalisch, so wird er gelb. Bei den genannten Krankheiten färbt er sich dagegen nach Zusatz des Alkalis kirschrot. — Welche Substanzen im Harn diese Reaktion geben, ist nicht genauer bekannt.

Ausführung: 3 ccm der Sulfanilsäurelösung werden im Reagenzglase mit 1 Tropfen der Nitritlösung gemischt und zu dem zu prüfenden Harn zugesetzt. Setzt man jetzt reichlich Ammoniak zu, so färbt sich die Mischung kirschrot; auch der Schüttelschaum ist rot gefärbt.

Zum Nachweis von Jod.

Natriumnitritlösung, 1 prozentige.

Bei Bedarf ist 1 Teil *Natriumnitrit in 99 Teilen Wasser zu lösen.

*Schwefelsäure, verdünnte (annähernd 16 prozentig).

*Chloroform.

Nach innerlicher Jodmedikation wird dieses z. T. als anorganisches Salz im Harn ausgeschieden, auch wenn nicht ionale Jodverbindungen gegeben worden waren. — Der qualitative

¹⁾ Indikan $C_8H_8NOSO_3H$ ist die Atherschwefelsäure des Indoxyls C_8H_7NO .

Nachweis mit den vorgeschriebenen Reagenzien beruht darauf, daß durch salpetrige Säure Jod aus seinen Salzen in Freiheit gesetzt wird; die salpetrige Säure wird durch die Schwefelsäure aus Nitrit freigemacht.

Ausführung: Der Harn wird in einem Reagenzglas mit 1–2 ccm Schwefelsäure gemischt und dann etwa 1 ccm der vorgeschriebenen Natriumnitritlösung und etwa ebensoviel Chloroform zugesetzt und leicht geschüttelt. Das Chloroform sinkt bald zu Boden und ist bei Anwesenheit von Jodsalzen im Harn rot bis violett gefärbt.

Man kann auch an Stelle des Chloroforms Stärke zum Jodnachweis benutzen; diese wird vor dem Zusatz des Nitrits und der Schwefelsäure im Harn durch Kochen gelöst. Eine sehr elegante Methode ist auch folgende: Das Sekret (z. B. Speichel) wird mit etwas Stärkelösung verdünnt und dann mit 1–2 Tropfen rauchender Salpetersäure versetzt. Bei Anwesenheit minimaler Spuren Jod tritt die blaue Farbe der Jodstärke auf.

Zum Nachweis von Salicylsäure.

*Eisenchloridlösung (10 Prozent Eisen enthaltend).

Eingenommene Salicylsäure erscheint im Harn als salicylsaures, zum Teil als salicylsaures Natrium wieder; beide geben die Eisenchloridreaktion.

Ausführung: Der Harn wird tropfenweise mit Eisenchloridlösung versetzt; nach Einnahme von Salicylsäure färbt er sich dunkelviolet. — Die Probe ist sehr empfindlich.

Zum Nachweis von Blut.

a) Guajakharzlösung, 2 prozentige.

Bei Bedarf ist 1 Teil Guajakharz in 49 Teilen *absolutem Alkohol zu lösen.

b) Terpentinöl, peroxydhaltiges.

Guajakharz. Das Harz des Kernholzes von *Guajacum officinale* Linné. Spröde, glasige, auf der Bruchfläche glänzende, dunkelrotbraune Stücke, die an der Oberfläche oft grünbraun erscheinen.

Peroxydhaltiges Terpentinöl. Durch Stehen an der Luft verharztes *Terpentinöl. Werden 5 ccm Jodzinkstärkelösung mit 3 Tropfen *Salzsäure versetzt und mit 1 ccm peroxydhaltigem Terpentinöl geschüttelt, so muß sich die wässrige Schicht blau färben.

Die Guajakharzlösung und das peroxydhaltige Terpentinöl sind getrennt abzugeben.

Im Harn wird chemisch nur der Blutfarbstoff, das Oxyhämoglobin, nachgewiesen; die sehr empfindliche Schönbein-Almén'sche Terpentinguajakprobe beruht auf folgendem: Oxyhämoglobin kann als „Ozonüberträger“ dienen; in dem verharzten Terpentinöl ist stets Ozon vorhanden; dieser wird vom Oxyhämoglobin auf die Guajakharzlösung übertragen und färbt diese blau.

Ausführung: Gleiche Teile des Terpentinöls und der Guajak tinktur werden gemischt und auf den sauren (eventuell mit Essigsäure angesäuerten) Harn geschichtet. An der Berührungsgrenze entsteht ein trüber Harzring, der sich bei Gegenwart von Blutfarbstoff blau färbt. — Eiter gibt die gleiche Reaktion, bläut aber Guajak tinktur, die an der Luft gestanden hat, auch ohne Terpentinöl.

II. Für die Untersuchung des Mageninhalts.

Congopapier.

Zur Herstellung des Congopapiers ist Filtrierpapier mit einer 1 promilligen Lösung von Congorot zu tränken und dann zu trocknen.

Congorot, Natriumsalz der Benzidin-disazobis-1-naphthylamin-4-sulfosäure.

Günzburg'sche Lösung.

2 Teile Phloroglucin (s. I.) und 1 Teil Vanillin sind in 30 Teilen *absolutem Alkohol zu lösen. Vanillin $C_6H_3(OH)(OCH_3)CHO$ (4, 3, 1). Vanilleartig riechende Nadeln vom Schmelzpunkt 84° .

*Dimethylaminoazobenzol.

*Salzsäure, $1/10$ -Normal.

*Natilauge, $1/10$ -Normal.

***Phenolphthaleinlösung.**

Kofolsäurelösung, 1 prozentige.

1 Teil Kofolsäure ist in 99 Teilen *Weingeist zu lösen.

Mit den vorstehenden Reagentien lassen sich folgende chemische Untersuchungen ausführen.

1. Bestimmung der Acidität mittels der Normalsalzsäure und der Normallauge. — Als Indikator wird hierbei die Phenolphthaleinlösung gebraucht. — Umgerechnet wird das Resultat entweder auf freie Salzsäure oder auf sog. Aciditätsgrade. Hat man beispielsweise gefunden, daß 10 ccm Magensaft von 5 ccm $\frac{1}{10}$ -Normallauge neutralisiert werden, so entspricht dies 0,18 Prozent freie Salzsäure, da 5 ccm der Lauge äquivalent mit 5 ccm der $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure sind und diese im Kubikzentimeter 0,0036 Salzsäure enthält. — Unter Aciditätsgrad versteht man einfach diejenige Menge $\frac{1}{10}$ -Normallauge, die nötig ist, um 100 ccm Magensaft zu neutralisieren. — Bei Ausführung der Bestimmung wird die $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure gebraucht, um gegebenenfalls zuviel zugesetzte Lauge zurückzutitrieren.

2. Reaktion auf freie Salzsäure. a) Durch freie Salzsäure wird Kongopapier dunkelblau gefärbt; auch freie organische Säuren färben blau, aber nicht so intensiv wie Salzsäure. b) Mit dem G ü n z b u r g'schen Reagens. Einige Tropfen der Lösung werden mit ebensoviel Magensaft in einer Porzellanschale über kleiner Flamme erhitzt; bei Gegenwart freier Salzsäure färbt sich der eintrocknende Rand karmoisinrot.

Um die freie Salzsäure im Magensaft neben anderen Säuren (von denen vor allem Milchsäure in Frage kommt) quantitativ zu bestimmen, bedient man sich des T ö p f e r'schen Reagens, Dimethylaminoazobenzol, dessen gelbe Färbung bei Gegenwart freier Salzsäure in Rot übergeht, neben Phenolphthalein. — Die Ausführung ist folgende: 5 ccm des filtrierten Mageninhalt werden mit 1 Tropfen einer 0,5 prozentigen Dimethylaminoazobenzol- und 1 Tropfen 1 prozentiger Phenolphthaleinlösung versetzt. Man läßt nun $\frac{1}{10}$ -Normal-Natronlauge zufließen, bis die rote Färbung des Dimethylaminoazobenzols in Gelb übergeht; die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Lauge $\times 20 \times 0,0036$ gibt den Prozentgehalt des Magensaftes an freier Salzsäure. Nun wird weiter titriert, bis sich die rote Färbung des Phenolphthaleins in alkalischer Lösung zeigt; die jetzt verbrauchte Menge NaOH entspricht der vorhandenen Milchsäure, resp. anderen Säuren.

III. Für die Untersuchung des Blutes.

Hayem'sche Lösung zur Zählung der roten Blutkörperchen.

5 Teile *Natriumsulfat, 1 Teil *Natriumchlorid und 0,5 Teile *Quecksilberchlorid sind in 200 Teilen Wasser zu lösen.

Essigsäurelösung, 0,33 prozentige, zur Zählung der weißen Blutkörperchen.

0,33 g *Essigsäure sind in Wasser zu 100 ccm zu lösen.

Jenner'sche Eosinmethylenblaulösung zur Färbung der Blutzellen.

Bei Bedarf sind 25 ccm einer 0,5 prozentigen Lösung von Eosin in Methylalkohol und 20 ccm einer 0,5 prozentigen Lösung von Methylenblau in Methylalkohol zu mischen.

Eosin. Tetrabromfluorescein-Natrium.

Methylenblau. Tetramethyldiaminodiphenylaminhydrochlorid.

Methylalkohol CH_3OH . Farblose Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 0,798. Siedepunkt 65° bis 68° . Methylalkohol darf Lackmuspapier nicht röten.

1. Die H a y e m'sche Lösung hat die Eigenschaft, die rote Farbe der Blutkörperchen weniger als andere Salzlösungen zu schädigen und wird deshalb zur Blutverdünnung (zum Zwecke des Zählens der roten Blutkörperchen) benutzt.

2. Durch die vorgeschriebene Essigsäurelösung werden die roten Blutkörperchen aufgelöst, die weißen aber nicht und können somit gezählt werden.

3. Das Prinzip der J e n n e r'schen Blutfärbung besteht darin, daß ein Farbstoff zur Wirkung kommt, der aus einer basischen (Methylenblau) und einer sauren (Eosin) Farbe kombiniert ist und dementsprechend kombiniert färbt. Eine Fixierung des Blutpräparates wie bei anderen Färbungen ist unnötig, da der als Lösungsmittel benutzte Methylalkohol genügend fixiert.

IV. Zum Nachweis von Bakterien und Protozoen.

1. Allgemeine Färbemittel.

Löfflers Methylenblaulösung.

0,5 g Methylenblau (s. III.) sind in 30 ccm *Weingeist zu lösen und mit einer Mischung von 2 ccm $\frac{1}{10}$ -Normal-Nalilauge und 98 ccm Wasser zu versetzen.

Boraxmethylenblaulösung.

1 Teil Methylenblau (s. III.) ist in 50 Raumteilen siedender 5 prozentiger Lösung von *Borax zu lösen.

Karbolfuchsinlösung, verdünnte.

1 Teil der zur Färbung von Tuberkelbazillen Verwendung findenden Karbolfuchsinlösung (s. IV, 2) ist mit 4 Teilen Wasser zu mischen.

Um im Gewebe alle Bakterien zu färben („Universalfärbemittel“), bedient man sich alkalischer Methylenblaulösungen (Löfflersches und Boraxmethylenblau) oder verdünnter Karbolfuchsinlösung (Ziehlsche Lösung). Die Zellen der Gewebe werden dann in geeigneter Weise entfärbt (mittels Alkohol, verdünnter Essigsäure usw.), die Bakterien bleiben gefärbt. — Zu diesen Universalverfahren gehört auch die Gramsche Methode (3); meist wird sie benutzt, um verschiedene Bakterien zu differenzieren.

2. Für die Färbung von Tuberkelbazillen.

Zur Färbung.

Ziehl-Neelsen'sche Karbolfuchsinlösung.

1 Teil Fuchsin ist in 10 Teilen *Weingeist zu lösen und mit 90 Teilen einer 5 prozentigen Lösung von *Karbolsäure zu versetzen.
Fuchsin. Diamantfuchsin I, große Kristalle.

Zur Entfärbung.

Salpetersäure, 20 prozentige.

4 Teile *Salpetersäure sind mit 1 Teil Wasser zu mischen.

Alkohol, 60 prozentiger (Gewicht) = *verdünnter Weingeist.

Zur Gegenfärbung.

Löfflers Methylenblaulösung (s. IV, 1).

Ein sehr kleines geeignetes Teilchen aus dem Auswurf wird auf einem Objektträger ausgebreitet, ein anderer Objektträger darauf gelegt und von dem ersten abgezogen; die dünne Schicht wird an der Luft getrocknet und dreimal schnell durch die Flamme gezogen (Fixierung). Dann tropft man die Karbolfuchsinlösung darauf und erhitzt zum Kochen; eventuell mehrere Male. Dann wird die Entfärbungsflüssigkeit aufgetropft und so lange darauf belassen, bis das Präparat annähernd farblos erscheint. Die Tuberkelbazillen sind nicht mit entfärbt, da sie zwar schwer Anilinfarben annehmen, diese aber, wenn sie einmal gefärbt sind, zäh festhalten. Man kann jetzt die übrigen Zellen und Bazillen mit der Methylenblaulösung gegenfärben. Es erscheinen diese dann blau, und die roten Tuberkelbazillen heben sich scharf von ihnen ab.

3. Für die Gram'sche Färbung.

Zur Färbung.

Anilinwassergentianaviolettlösung.

5 ccm Anilin sind mit 100 ccm Wasser mehrere Minuten lang zu schütteln. Das so gewonnene milchigtrübe Anilinwasser ist durch ein angefeuchtetes Filter zu filtrieren. Das Filtrat ist mit einer Mischung von 7 ccm gesättigter weingeistiger Gentianaviolettlösung und 10 ccm *absolutem Alkohol zu versetzen.

Anilin $C_6H_5.NH_2$. Farblose, ölige Flüssigkeit, die sich unter dem Einflusse von Licht und Luft rasch bräunt. Siedepunkt 183° .

Gentianaviolett, Chlorhydrat des Pentamethyl- und Hexamethylpararosanilins.
oder:

Karbolgentianaviolettlösung.

1 Teil gesättigte weingeistige Gentianaviolettlösung ist mit 9 Teilen einer 5 prozentigen Lösung von *Karbolsäure zu versetzen.

Zur Entfärbung.

Verdünnte Lugolsche Lösung.

1 Teil *Jod und 2 Teile *Kaliumjodid sind in 300 Teilen Wasser zu lösen.

***Absoluter Alkohol.**

Zur Gegenfärbung.

Verdünnte Karbolfuchsinlösung (s. IV, 1).

Man färbt das Schnitt- oder Bakterienpräparat mit Anilinwassergentianaviolett (2 Min.), erzeugt dann mit Lugolscher Lösung einen tiefdunklen Niederschlag (2 Min.) und spült mehrmals mit absolutem Alkohol ab, bis das Präparat farblos erscheint. Die Gewebszellen und verschiedene Bakterien erscheinen dann ungefärbt, die „gramfesten“ Bakterien bleiben gefärbt. — An Stelle der Anilinwassergentianaviolettlösung kann man auch die Karbolgentianaviolettlösung benutzen. — Färbt man mit der Karbolfuchsinlösung gegen, so erscheinen die gramfesten Bakterien blau, die anderen Zellen rot.

Es ist zu beachten, daß das zur Verwendung gelangende Anilin möglichst farblos ist; am besten wird die geringe Menge frisch destilliert. Die Anilinwassergentianaviolettlösung ist nur kurze Zeit haltbar.

Hilfsmittel für die mikroskopische Untersuchung.

Cedernöl. Das aus dem Holze von *Juniperus virginiana* Linné gewonnene ätherische Öl. Cedernöl ist dickflüssig und fast farblos. Spezifisches Gewicht 0,945 bis 0,960. Brechungsindex bei 20° 1,51 bis 1,52.

Kanadabalsam. Der aus verschiedenen nordamerikanischen *Abies*-Arten gewonnene Terpentinskanadabalsam ist durchsichtig, in frischem Zustande farblos, wird allmählich leicht gelblich, löst sich in Äther, Chloroform, Xylol und Cedernöl vollständig. Spezifisches Gewicht 0,998. Brechungsindex bei 20° 1,535. Kanadabalsam muß auch unter dem Mikroskope durchsichtig und völlig gleichmäßig erscheinen.

Xylol. Farblose, in Wasser wenig, in Äther leicht lösliche Flüssigkeit. Siedepunkt 140°.

Cedernöl wird bei der Verwendung der Ölimmersion gebraucht, Kanadabalsam wird bei der Herstellung von Dauerpräparaten als Einbettungsmittel und Befestigungsmittel der Deckgläschen benutzt. Xylol ist ein vorzügliches Lösungsmittel für Cedernöl und Kanadabalsam und dient zur Reinigung der Apparate.

Anlage IV.

Übersicht

über

die zwischen 12° und 25° eintretenden Veränderungen der
spezifischen Gewichte einiger Flüssigkeiten.

Bei den Flüssigkeiten, deren spezifisches Gewicht bei 15° nicht auf eine einzige Zahl beschränkt ist, sondern sich innerhalb gewisser Grenzen bewegen darf, ist eine Schwankung der spezifischen Gewichte bei jedem einzelnen Wärmegrade zwischen 12° und 25° in gleicher Höhe gestattet.