

# **Beiträge zum qualitativen Nachweis des Zuckers im Urin mittels alkalischer Kupferlösung.**

Von

**H. Ruoss (Ludwigsburg-Stuttgart).**

(Der Redaktion zugegangen am 24. Oktober 1917.)

Diese Beiträge sollen zeigen

1. daß die W. Müllersche Probe, welche gegenwärtig im allgemeinen 6 Versuche erfordert, wesentlich vereinfacht werden kann, wenn man das spezifische Gewicht des Urins zuvor ermittelt, wodurch sich die 6 Versuche auf einen einzigen reduzieren;

2. daß bei positivem Ausfall der Probe die Anstellung der Versuche an dem vergorenen Urin überflüssig wird, wenn man die Urine vom spezifischen Gewicht größer als 1,020 verdünnt;

3. daß die Entfernung der Phosphate des Urins vor Anstellung der Probe umgangen werden kann, indem man die alkalische Seignette-Kupferlösung durch eine alkalische Glycerin-Kupferlösung ersetzt;

4. daß dieser Ersatz die Probe weit empfindlicher macht, so daß 0,005% Zucker sich im allgemeinen noch scharf nachweisen lassen.

Zum Schlusse wird eine einfache Probe angegeben, die für den praktischen Arzt geeignet sein dürfte, um diabetischen Harn zu erkennen.

Die W. Müllersche Probe ist zurzeit die empfindlichste und zuverlässigste zum Nachweis von Zucker im Urin, denn

1. der Nachweis kleiner Zuckermengen unter 0,1% durch die Kohlensäure bei der alkoholischen Gärung ist unzuverlässig, wie ich schon in dieser Zeitschrift nachgewiesen habe, und wie auch die Versuche von Pflüger dargetan haben.

2. Der Nachweis des Zuckers mit **Wismutsalzen** bei den Proben von Nylander, Almén und Hammarsten ist ebenfalls unzuverlässig, da bei mehr als der Hälfte zuckerfreier Urine diese Proben positiv ausfallen, wobei es sich — nach Pflüger — nicht etwa um eine spurenhafte Andeutung einer Dunkelfärbung des Harns wegen Reduktion des Wismutoxyds handelt, sondern vielmehr um die massenhafte Ausscheidung kohlschwarzer oder mehr oder weniger schwarzgrauer Pulver.<sup>1)</sup>

3. Der Nachweis des Zuckers mit der **Trommerschen** Probe ist unzuverlässig, da einzelne Fälle bekannt sind, wo sogar bei einem Zuckergehalt von 0,3% die Probe negativ ausfiel<sup>2)</sup> und andererseits, wo bei zuckerfreiem Urin die Probe positiv war.<sup>3)</sup>

4. Was die Methode der **Polarisation** anlangt, so ist auch sie unzuverlässig. Der Harn kann 0,1—0,2% Zucker, ja noch mehr enthalten, ohne daß der Polarisationsapparat eine Rechtsdrehung anzeigt.<sup>4)</sup>

Wenn Hammarsten in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie 1904 S. 570 sagt, die Worm-Müllersche Probe sei ziemlich umständlich und für den Arzt nicht geeignet, so möchte ich ihm beipflichten, denn sie erfordert nach Pflügers Archiv Bd. 105 S. 133 eine Bürette für eine 2,5%ige Kupfersulfatlösung, aus dieser Bürette werden 1,5 ccm oder 3 ccm oder 5 ccm entnommen und eine weitere Bürette mit Glashahnen für eine alkalische Seignettesalzlösung mit 10% Seignettesalz und 4% NaOH, aus ihr werden 2,5 ccm entnommen, ferner 2 Flammen zum Kochen, auf denen gleichzeitig 2 Flüssigkeiten zum Sieden zu erhitzen sind.

Aus den weiter unten angeführten Gründen ist auch eine Vorbehandlung des Urins notwendig; die Phosphate des Urins

<sup>1)</sup> Pflügers Arch., Bd. 105, S. 126 (1904); Moritz, Arch. f. klin. Med., Bd. 46, S. 266 (1890); Salkowski, Praktikum, S. 181 (1900); Kistermann, Arch. f. klin. Med., Bd. 50, S. 423 (1892).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch., Bd. 105, S. 137.

<sup>3)</sup> Worm-Müller, Pflügers Arch., Bd. 27, S. 112 (1882).

<sup>4)</sup> Worm-Müller, Pflügers Arch., Bd. 27, S. 119.

müssen durch Zusatz einiger Tropfen NaOH und Filtration entfernt und das Filtrat mit Essigsäure angesäuert werden. 6 Proben sind nach Schöndorff<sup>1)</sup> zur Entscheidung über das Vorhandensein von Zucker erforderlich:

5 ccm Filtrat + 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ccm Seignettesalzlösung + 1,5 ccm Kupferlösung;

5 ccm Filtrat + 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ccm Seignettesalzlösung + 3 ccm Kupferlösung;

5 ccm Filtrat + 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ccm Seignettesalzlösung + 5 ccm Kupferlösung.

Diese 3 Proben sind auch anzustellen mit je 5 ccm des Filtrats, das man erhält, wenn man den Urin vorher verdünnt, 1 Vol. = 2 Vol.

Das große Verdienst Worm-Müllers besteht darin, im physiologischen Institut in Christiania nachgewiesen zu haben,<sup>2)</sup> daß zuckerfreie Urine alles das Kupferoxydul aufzulösen imstande sind, das sie selbst zu bilden vermögen, wenn die Reduktion bei Temperaturen von 60—70° C. stattfindet. Um dies nachweisen zu können, muß man mit wirklich zuckerfreien Urinen arbeiten, man unterwirft deshalb die Urine zuvor einer Gärung mit Preßhefe. Um die Temperatur 60—70° zu erhalten, werden 5 ccm Urin zum Kochen erhitzt, gleichzeitig geschieht dies bei der ersten Probe mit der Mischung von 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ccm Seignettelösung + 1,5 ccm Kupferlösung. Das Kochen bei beiden Flüssigkeiten wird gleichzeitig unterbrochen, und genau 20—25 Sekunden (nicht früher!) nachher wird die alkalische Kupferlösung ohne Schütteln einfach in den Urin gegossen, sodann läßt man die Mischung ruhig stehen, wobei sich die Farbe verändert. Die Phosphate der Urine fallen in den 3 Proben manchmal schon nach 10 Minuten zu Boden und die überstehende Flüssigkeit ist nach diesen 10 Minuten

<sup>1)</sup> Untersuchung über die Ausscheidung von Zucker im Harn von gesunden Menschen, nebst einer Methode der quantitativen Bestimmung kleinster Zuckermengen im Harn. Pflügers Arch., Bd. 121, S. 572—603 (1908).

<sup>2)</sup> Worm-Müller, Der Nachweis des Zuckers im Harn mittelst Kupferoxyd und alkalischer Seignettesalzlösung. Pflügers Archiv, Bd. 27, S. 107—139 (1882).

im auffallenden und durchfallenden Licht klar, wenn kein Zucker vorhanden war — von einigen umherirrenden, sich leicht abhebenden Flocken des Phosphatniederschlags abgesehen —. Enthält aber der Urin 0,025% oder mehr Zucker und wird mehr Kupferlösung zugesetzt, als die normalen Bestandteile des Urins zur Reduktion erfordern, so ist die Flüssigkeit über dem Phosphatniederschlag im auffallenden Licht **staubig trübe.**<sup>1)</sup> Die schmutzige, orangefarbige oder gelbgrüne, fluoreszierende Trübung — der sogenannte positive Ausfall der Probe — rührt von fein verteiltem ausgeschiedenem Kupferhydroxydul her und ist das Kennzeichen für Zucker. Zur Feststellung der Trübung beobachtet man die Proben bei dunklem Hintergrund. Hinter das Reagenzglas im Ständer stellt man z. B. ein mit mattschwarzem Tuch bespanntes Brettchen auf und stellt den Ständer so, daß beim Betrachten des Reagenzglases keine glänzenden Lichtstreifen längs der Glaswand entstehen. Die Beleuchtung braucht dabei keine intensive zu sein. Wird weniger Kupferlösung zugefügt, als die normalen Bestandteile zur Reduktion erfordern, so ist die Flüssigkeit über dem Phosphatniederschlag staubfrei; wird beträchtlich mehr Kupferlösung zugefügt, als die normalen Bestandteile erfordern, so kann merkwürdigerweise die Trübung beim Vorhandensein von Zucker auch ausbleiben. Tritt die Trübung bei Verwendung von 1,5 ccm Kupferlösung nicht auf, so muß die Probe mit 3 ccm statt 1,5 ccm wiederholt werden und, wenn sie jetzt noch nicht auftritt, mit 5 ccm statt mit den 3 ccm, und zwar um eine endgültige Entscheidung über die Möglichkeit einer staubfreien Trübung zu erhalten. Da die Ablagerung der Phosphate nicht immer bloß 10 Minuten erfordert, sondern, da ihr häufig eine stundenlang andauernde gleichmäßige Trübung und nachfolgende Abscheidung sehr kleiner Flocken der Phosphate vorangeht, so entfernen Schöndorff und Victorow vorher in oben beschriebener Weise die Phosphate durch eine Vorbehandlung, um eine Verwechslung von Phosphat-Trübung und Kupferhydroxydul-Trübung zu vermeiden.

Pflüger hat einmal bei einem pankreaslosen Hunde be-

<sup>1)</sup> Hervorgerufen durch kolloidales Kupferoxydul.

obachtet, daß die Worm-Müllersche Probe bei 2,62% Zucker (hochkonzentrierter Harn) negativ ausfiel, daß sie aber bei der Verdünnung des Harns ein ausgezeichnetes positives Ergebnis lieferte.

Aus diesem Grund werden von Schöndorff auch 3 Proben mit verdünntem Urin ausgeführt.

Bezüglich des Ausfalls der Probe sind folgende 3 Fälle zu unterscheiden.

1. Fällt die Müllersche Probe negativ aus, so ist entweder gar kein Zucker vorhanden, wie bei Urinen, die der alkoholischen Gärung unterworfen wurden, oder aber nur sehr wenig Zucker, wie bei den Urinen völlig Gesunder.

Pflüger faßt sein Urteil für diesen Fall dahin zusammen (Bd. 105 S. 134):

Mit größter Bestimmtheit dürfen wir auf Grund der Untersuchungen von Hunderten verschiedener Harnen den Satz aussprechen, daß der in gedachter Weise **negative** Ausfall der Müllerschen Probe ausnahmslos durch den Halbschattenapparat bestätigt worden ist. Ebenso wahr ist, daß in den meisten Fällen, wo die Müllersche Probe braunrote Entfärbung ohne Abscheidung von Kupferoxydul zeigte, die Trommersche Reaktion sowie die Nylandersche starke positive Ergebnisse lieferten, sodaß jeder Unerfahrene an die Gegenwart von Zucker geglaubt hätte.

2. Fällt die Probe positiv aus und nach der alkoholischen Gärung des Urins negativ, so ist Zucker vorhanden und zwar nach Müller 0,025% oder mehr. Da der Urin völlig Gesunder nach Nagasaki (Diese Zeitschr. 1915) bis zu 0,054%, nach Schöndorff (PflügersArchiv, Bd. 121, 1908) bis zu 0,1% Dextrose enthalten kann, so gibt der positive Ausfall der Probe keinen Anhaltspunkt für abnorme Zuckermengen.

3. Fällt die Müllersche Probe positiv aus und nach der Gärung des Urins ebenfalls positiv, so ist es zweifelhaft, ob Zucker vorhanden ist.

Müller hat dies ansdrücklich betont, er sagt S. 112: da aber die Reaktion fortwährend, obgleich in geringem Grade, in den eben genannten 4 Harnen eintrat, so muß man an-

nehmen, daß eine andere reduzierende Substanz (als Zucker) hier ihren Einfluß geltend gemacht hat, und daß die Probe nicht ohne weiteres als sicher bezeichnet werden könne.

Dieses Versagen ist bisher nicht genügend studiert und ihm nicht genügend Rechnung getragen worden, es widerspricht eigentlich dem Grundsatz der Müllerschen Probe, nach dem zuckerfreie Bestandteile bei 60—70° C. nur lösliches Kupferoxydulhydrat abscheiden. Müller läßt bei positivem Ausfall der Probe bis zu 48 Stunden bei 20° C. vergären und findet, daß bei 4 unter 60 Urinen der positive Ausfall auch nach der Gärung positiv blieb. Schöndorff hat gezeigt, daß man durch Vergrößerung der Gärzeit immer erreicht, daß nach der Gärung die Probe negativ ausfällt, in einzelnen Fällen war aber dazu eine Gärzeit von 60 Stunden bei 34° C. und 10% Hefe erforderlich. Für Schöndorff existiert also Fall 3 nicht; die positive Reaktion vor der Gärung zeigt ihm immer Zucker an.

Meine Ansicht über die Grundlage der Müllerschen Probe ist folgende:

1. die alkalische Kupferlösung wird bei 60 bis 70° C. von zuckerfreien Bestandteilen (Kreatinin, Kreatin, Harnsäure usw.) des Urins reduziert unter Bildung von meist farblosen, aber auch mehr oder weniger gelb gefärbten Kupferverbindungen. Diese sind aber nur vollständig löslich, wenn sie prozentisch in mäßiger Menge vorhanden sind. Ist die Menge aber beträchtlich (wie bei höherem spezifischen Gewicht), so treten auch unlösliche Cuproverbindungen auf, welche staubige Trübung verursachen. Man kann die Löslichkeit durch Verdünnen des Urins mit Wasser erreichen.

2. Der Traubenzucker im Urin liefert dagegen bei 60 bis 70° C. immer unlösliche Cuproverbindungen, die an der staubigen Trübung erkannt werden.

3. Die Reduktionsprodukte des Zuckers treten erst nach Bildung der Reduktionsprodukte der zuckerfreien Bestandteile auf.

Die Gründe sind folgende:

1. Brachte ich einen Urin, der an sich negative Reaktion zeigte, oder einen Urin, den ich durch Gärung auf negative

Reaktion brachte (bei Einnahme gewisser Arzneimittel, z. B. Rheum, Adalin, Terpentinöl, Sulfonal usw., welche dem Harn reduzierende Wirkung verleihen, ist mitunter sehr lange Gärzeit erforderlich, um diese negative Reaktion herbeizuführen) durch Dextrosezusatz auf 0 bis 10% Zucker und ließ ich ihn nunmehr 6 Stunden vergären (34° C., 10% Hefe), so zeigte er ausnahmslos negative Reaktion; zum Vergären der Dextrose genügen also ausnahmslos 6 Stunden. Es empfiehlt sich, nach der ersten Stunde der Gärung und nach den folgenden Stunden die Hefe durch Schütteln wieder gleichmäßig in der Flüssigkeit zu verteilen.

2. Eine große Anzahl vergorener Urine mit negativer Reaktion zeigen, wenn sie bei 60° auf ein hohes spezifisches Gewicht eingengt werden, positive Reaktion.

Diese Versuche wurden nach folgendem Beispiel durchgeführt.

Das spezifische Gewicht des Urins war 1,015, er wurde 6 Stunden der Gärung unterworfen, dann die Phosphate entfernt und nun auf das halbe Volumen, dem spezifischen Gewicht 1,030 entsprechend, eingengt: vor der Einengung Reaktion negativ, nach derselben Reaktion positiv.

3. Die 60 Urinproben Müllers haben spezifische Gewichte von 1,010 bis 1,035. Vier darunter mit den hohen spezifischen Gewichten 1,035; 1,033; 1,031; 1,026 zeigen nach der Gärung positive Reaktion. Bei mehr als der Hälfte der Urine vom spezifischen Gewicht größer als 1,030 konnte ich dasselbe nachweisen.

4. Ein vergorener Urin mit negativer Reaktion und der Dichte 1,028 zeigte, mit Dextrose auf 0,02% Zucker gebracht, starke positive Reaktion, derselbe vergorene Urin, 1 Vol. = 2 Vol. verdünnt, und nunmehr auf 0,02% Zucker gebracht, zeigte negative Reaktion.

5. Ein Urin zeigte negative Reaktion, sein Reduktionsvermögen, nach der von mir veröffentlichten Methode<sup>1)</sup> bestimmt, war gleich dem einer 0,15%igen Dextroselösung; er wurde mit etwas Dextrose versetzt. Stellte man die Müllersche

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 101, S. 131 (1917).

Probe mit 2 Kupfermengen an, von denen die eine 0,18%, die andere 0,14% Dextrose entsprach, so erhielt man das eine Mal staubige Trübung, das andere Mal aber nicht.

Fällt die Probe nach 6stündiger Gärung positiv aus, so rührt dies meines Erachtens nicht mehr von Dextrose her, sondern von anderen stickstoffhaltigen und auch stickstofffreien Urinbestandteilen; diese Bestandteile werden bei weiterer Gärung bis zu 60 Stunden zersetzt, wodurch die Probe negativ wird.

Die reichliche Hefenmenge 10%, die günstige Temperatur 34°, die reichliche Nahrung an stickstoffhaltigen und phosphorhaltigen Substanzen, welche die Hefe findet, trägt in den 60 Stunden wesentlich zum Wachstum der Hefe bei und damit auch zum Zersetzen des Urins; dazu tritt noch, daß unsere Hefe keine Reinkultur von *Saccharomyces cerevisiae* ist, daß sie sogar vermöge der in ihr enthaltenen Spaltpilze Milchzucker zersetzen kann.

Soll daher die Müllersche Probe bei positivem Ausfall wirklich Zucker anzeigen — unter der Voraussetzung, daß nicht gewisse Arzneimittel eingenommen wurden —, so muß man die Urine von großem spezifischen Gewicht verdünnen. Ich verdünne aus diesem Grund die Urine vom spezifischen Gewicht größer als 1,020 auf ein solches von 1,020, was höchst einfach ist, wie später gezeigt wird.

Leider sind in den zahlreichen Arbeiten (ca. 1000 Urinuntersuchungen) über den Zucker im Urin, die unter Pflüger in Bonn ausgeführt wurden, die spezifischen Gewichte ganz weggelassen; auch konnte ich diese nachträglich nicht erfahren, ich glaube aber, daß — wie ich bei den Analysen von Müller nachwies — das hohe spezifische Gewicht die Ursache der Unregelmäßigkeiten ist; bei dem pankreaslosen Hund mit 2,5% Zucker liegt die Unregelmäßigkeit wohl auch in dem hohen spezifischen Gewicht.

### Vereinfachungen der Worm-Müllerschen Probe.

1. Daß die 2 Büretten sich durch eine Meßpipette für 2½ ccm und eine Meßpipette mit den Teilstrichen 1,5; 3; 5 ccm ersetzen lassen, ist einleuchtend.

2. Die 2 Flammen werden durch eine folgendermaßen ersetzt: in ein für die linke Hand bestimmtes Reagenzglas gibt man 5 ccm Urin. In ein anderes, für die rechte Hand bestimmtes Reagenzglas gibt man bei der ersten Probe  $2\frac{1}{2}$  ccm Seignettezalz und 1,5 ccm Kupfersulfatlösung. Beiden fügt man — zum ruhigen Kochen ohne unangenehmes Herausspritzen — einige Körnchen groben Quarzsand (1 kg bei Merck zirka 60 Pfg.) oder Glassand zu. Das Reagenzglas der linken Hand bringt man in die Flamme bis zum Kochen der Flüssigkeit, nun unterbricht man das Kochen durch Entfernen des Reagenzglases aus dem Feuer. Alsdann erhitzt man das Reagenzglas der rechten Hand über derselben Flamme ebenfalls zum Kochen, bringt sodann beide Gläser in die Flamme, sodaß sie etwa unter  $60^\circ$  zu einander stehen und die Böden beider Gläser sich berühren. Nach wenigen Sekunden kochen jetzt die Flüssigkeiten in beiden Gläsern gleichzeitig. Nun unterbricht man das Kochen, indem man beide Gläser aus der Flamme bringt. Nach 20 bis 25 Sekunden, oder noch einfacher, nachdem man in mäßigem Tempo auf 25 gezählt hat, gießt man die Kupferlösung in die Urinlösung, läßt nun ruhig stehen, bis der Phosphatniederschlag sich gesetzt, und prüft alsdann auf Trübung bei dunklem Hintergrund.

3. Die 3 Proben lassen sich durch eine einzige ersetzen, wenn man das spezifische Gewicht des Urins bei  $15^\circ$  C. vorher mit einem Aräometer ermittelt; die speziell für Urine bestimmten Aräometer, aber auch das für süßen Wein bestimmte Aräometer von Öchsle, eignen sich hierzu. Bei beiden gibt die abgelesene Zahl die Tausendstel des spezifischen Gewichtes. Die abgelesene Zahl 5 resp. 24 z. B. entspricht also dem spezifischen Gewicht 1,005 und 1,024. Hat der Urin bei der Messung nicht  $15^\circ$  C., so hat man für jeden Grad, den er über  $15^\circ$  besitzt, 0,25 zur abgelesenen Zahl zu addieren und für jeden Grad, den er unter  $15^\circ$  besitzt, 0,25 zu subtrahieren. Mißt man demnach bei Zimmertemperatur, so hat man statt 24 also 25 zu setzen. Die am Aräometer abgelesene und auf  $15^\circ$  C. reduzierte Zahl heiße im folgenden kurzweg «Aräometerzahl des Urins». Ist  $n$  diese Zahl, so können die 3 Proben durch eine einzige Probe mit  $0,085 \cdot n + 0,07$  ccm

Kupfersulfatlösung ersetzt werden. Bei der Aräometerzahl  $n$  ist nämlich die maximale Eigenreduktion  $0,006 \cdot n$  Prozente.<sup>1)</sup>

Da die Müllersche Probe noch  $0,05\%$  Zucker sicher nachzuweisen gestattet, so muß die Kupferlösung mindestens  $0,006 \cdot n + 0,05$  Prozent zu reduzieren imstande sein, d. h. es müssen auf 5 ccm Urin  $0,06 \cdot n + 0,5$  ccm alkalische Fehlinglösung  $= (0,06 \cdot n + 0,5) \cdot \frac{35}{25} = 0,083 \cdot n + 0,7$  ccm der  $2,5\%$ igen Kupfervitriollösung zum mindesten angewendet werden.

Bei der Aräometerzahl  $n$  sind demnach von der  $2,5\%$ igen Kupferlösung für 5 ccm Urin erforderlich:

Spezifisches Gewicht	$n$	Kupferlösung ccm
1,000 bis 1,004	0 bis 4	1
1,005 u. 1,006	5 u. 6	1,2
1,007 bis 1,009	7 bis 9	1,4
1,010 u. 1,011	10 u. 11	1,6
1,012 bis 1,014	12 bis 14	1,8
1,015 u. 1,016	15 u. 16	2
1,017 bis 1,019	17 bis 19	2,2
1,020 u. 1,021	20 u. 21	2,4
1,022 bis 1,024	22 bis 24	2,6
1,025 „ 1,026	25 „ 26	2,8
1,027 „ 1,029	27 „ 29	3
1,030 u. 1,031	30 „ 31	3,2
1,032 bis 1,034	32 „ 34	3,4
1,035 u. mehr	35 u. mehr	3,6

4. Die Ausscheidung des Phosphatniederschlags wird beträchtlich gefördert durch Chlornatriumzusatz (sogen. Aussalzen). In Fällen, wo der Bildung des Niederschlags stundenlang andauernde gleichmäßige Trübung vorangeht, oder wo es zu gar keiner Ausscheidung eines Phosphatniederschlags kommt, entsteht dieser Niederschlag meist (immer, wenn das Seignettesalz durch Glycerin ersetzt wird) schon nach wenigen Minuten, sobald Chlornatrium beigelegt wird.

<sup>1)</sup> Ruoss, diese Zeitschr., Bd. 101, S. 131 (1917).

Man verwendet eine alkalische Seignettelösung, die in 100 ccm 4 g NaOH, 10 g Seignette und ca. 15 g NaCl enthält.

Der Chlornatriumgehalt erhöht die Siedetemperatur um ca. 2°, die der Mischung nach 25 Sekunden um ca.  $\frac{1}{2}$ °, was also unwesentlich ist. Auf diese Weise umgeht man die oben beschriebene Vorbehandlung.

5. Damit die positive Reaktion sicher Zucker anzeigt, verdünnt man die Urine mit dem spezifischen Gewicht größer 1,020 auf ein solches von 1,020.

Die frühere Tabelle mit Berücksichtigung der Verdünnung ist also

Spez. Gewicht	Aräometer	Verdünnung	Kupfermenge f. 5 ccm Urin ccm
1—1,004	0—4	0	1
1,055—1,006	5—6	0	1,2
1,007—1,009	7—9	0	1,4
1,010—1,011	10—11	0	1,6
1,012—1,014	12—14	0	1,8
1,015—1,016	15—16	0	2
1,017—1,019	17—19	0	2,2
1,020	20	0	2,4
			Kupfermenge für 5 ccm verdünnten Urin
1,021	21	20 = 21	2,4
1,022	22	20 = 22	2,4
usw.	usw.	usw.	usw.
1,035	35	20 = 35	2,4
1,036	36	20 = 36	2,4
u. mehr	u. mehr		

Die Urine vom spezifischen Gewicht 1,036 und mehr bedürfen also alle derselben Verdünnung.

Mit Seignettelösung erfolgt der Nachweis von Zucker demnach folgendermaßen:

Lösung I. 4 g NaOH + 10 g Seignette + ca. 15 g NaCl in 100 ccm.

Zur Herstellung dieser und aller folgenden alkalischen Lösungen verwendet man:

a) liquor natrii caustici des Arzneibuches (Dichte 1,168 bis 1,172), ferner

β) die Kochsalzlösung: 1 Teil NaCl + 3 Teile aq. Das Lösen des NaCl geschieht durch Kochen oder öfteres Schütteln.

Zur Herstellung von I werden 10 g Seignettesalz in ca. 25 ccm aq. warm gelöst, dann fügt man 23 ccm von α zu und verdünnt mit der Kochsalzlösung auf 100 ccm.

Zu jeder Probe sind  $2\frac{1}{2}$  ccm von I erforderlich.

Lösung II. 2,5 g Kupfervitriol in 100 ccm;

III. Ein Reagenzglas mit der Teilung 1 ccm, 2 ccm . . . bis 12 ccm für den Urin;

IV. Quarz- oder Glassand;

V. 2 Reagenzgläser ca. 1,5 cm weit zum Kochen.

Beispiel I. Spezifisches Gewicht 1,027, also Verdünnung  $20 = 27$  und Kupfermenge 2,4 ccm.

Man bringt 10 ccm Urin in III, verdünnt mit Wasser auf  $27\frac{1}{2} = 13\frac{1}{2}$  ccm (die  $\frac{1}{2}$  auf Augenmaß genau).

Vom verdünnten Urin gibt man durch Abgießen 5 ccm in das für die linke Hand bestimmte Reagenzglas V und in das andere für die rechte Hand bestimmte Reagenzglas  $2\frac{1}{2}$  ccm I + 2,4 ccm II. Beiden Gläsern fügt man Körnchen von IV zu und erhitzt nun beide Flüssigkeiten, wie oben angegeben, zum gleichzeitigen Sieden. Man unterbricht das Sieden, gießt nach 25 Sekunden die Kupferlösung in die Urinlösung und schwenkt die Mischung leicht um. Nachdem sich der Phosphatniederschlag gesetzt, untersucht man auf schmutzige, staubige Trübung.

Beispiel 2. Spezifisches Gewicht 1,011. Keine Verdünnung ist erforderlich; 5 ccm Urin und  $2\frac{1}{2}$  ccm I + 1,6 ccm II kommen in Betracht.

### Bestimmung der Empfindlichkeit.

Daß die Müllersche Probe auch Zucker unter 0,025% nachzuweisen gestattet, geht schon rein logisch daraus hervor, daß nach Müller in 7% der von ihm angegebenen Ver-

suche die Probe im zuckerfrei gemachten Urin positiv ausfiel, aber auch in der abgeänderten Form, bei der zuckerfrei gemachte Urine immer negative Reaktion zeigen, ist häufig die Empfindlichkeit weit größer und geht herab bis auf 0,01%. Die Empfindlichkeit nimmt im allgemeinen zu mit dem spezifischen Gewicht; zu ihrer Bestimmung bedient man sich einer 0,5%igen Dextroselösung und eines Urins, der 6 Stunden vergoren hat. Es sind dann

5 ccm Urin	+	0,05 ccm	0,5%iger	Zuckerlösung	=	0,005%	im Zuckergehalt
5	•	•	+ 0,1	• 0,5%iger	•	= 0,01	% • •
5	•	•	+ 0,2	• 0,5%iger	•	= 0,02	% • •
5	•	•	+ 0,3	• 0,5%iger	•	= 0,03	% • •

Ist das spezifische Gewicht 1 bis 1,020, so fügt man den 5 ccm im Reagenzglas der linken Hand 0,05 ccm der Dextroselösung zu, staubige Trübung bei dunklem Hintergrund zeigt dann 0,005% Zucker an, nimmt man jetzt 0,1; 0,2; 0,3 ccm statt 0,05 ccm, so ergibt sich die Empfindlichkeit für 0,01%; 0,02%; 0,03%.

Die 0,05 bis 0,3 ccm werden mit einer Meßpipette entnommen. 5 ccm Urin + 0,3 ccm Zuckerlösung + alkalischer Kupferlösung ist strenggenommen identisch zu 5 ccm Urin mit 0,03% an Zucker + 0,3 ccm Wasser. Die 0,3 ccm Wasser spielen aber keine Rolle, da die Menge der Kupferlösung nicht genau vorgeschrieben ist.

Ist das spezifische Gewicht größer als 1,020, z. B. 1,025, so ist mit der Verdünnung  $20 = 25$  zu rechnen. 5 ccm verdünnter Urin + 0,1 ccm 0,5%iger Zuckerlösung entspricht jetzt einem Zuckergehalt von  $0,01 \cdot \frac{5}{4} = 0,0125\%$  im unverdünnten usw.

Um einwandfrei zu zeigen, daß Urine vom spezifischen Gewicht 0 bis 1,020 und daß die auf das spezifische Gewicht 1,020 verdünnten Urine nach 6stündiger Gärung negative Reaktion aufweisen, und um die Empfindlichkeit zu prüfen, entfernte ich im vergorenen Urin die Phosphate (auf 50 ccm Urin 8 Tropfen NaOH11-normal), filtrierte, säuerte mit Eisessig bis zur schwach sauren Reaktion an und machte Proben mit 0,1; 0,2; 0,3 ccm der 0,5%igen Zuckerlösung und je 5 ccm Urin.

Bei der später aufgeführten Glycerinlösung Proben mit 0,05 bis 0,3 ccm der Zuckerlösung.

Das erste Auftreten der staubigen Trübung war so durch Kontrast scharf festzustellen.

Bei der Glycerinlösung entsteht häufig trotz des vorausgehenden Abfiltrierens des Phosphatniederschlages noch ein sehr kleiner Niederschlag, der aber von der staubigen Trübung leicht zu unterscheiden ist.

Da jeder Urin Zucker enthält, so wäre das empfindlichste Reagens für den praktischen Arzt wertlos, denn er würde ja damit in jedem Urin Zucker finden.

Es hat deshalb auch keinen Sinn, zur Beurteilung der staubigen Trübung länger als 30 Minuten nach Mischung der Flüssigkeiten zu warten.

Für den praktischen Arzt, der ja nur Diabetes festzustellen hat, handelt es sich um ein Reagens, das 0,1% und mehr (vielleicht 0,05% und mehr), aber nicht weniger anzugeben gestattet, denn nur dann kann sicher auf Diabetes geschlossen werden, und für einen solchen Nachweis ist die Müllersche Probe schon zu empfindlich; so fand Schöndorff, daß in 334 Urinen von Soldaten die Probe 316mal positiv war.

Enthält der Urin Eiweiß, so ist dieses nach Müller vor der Untersuchung auf Zucker zu entfernen. Versuche, die ich mit der Eiweißlösung: 1 g Albumen Ovi siccum + 15 g NaCl in 100 ccm und mit Urinen anstellte, ergaben mir, daß eine solche Entfernung ganz unnötig ist.

Der eiweißhaltige und zugleich zuckerhaltige Urin zeigt nach dem Mischen mit der Kupferlösung Biuretreaktion, die aber rasch verschwindet und der staubigen Trübung Platz macht.

Ersatz der alkalischen Seignettelösung durch eine alkalische Kupferlösung.

Die Seignettelösung hat den großen Übelstand, daß sie die Ausfällung der Phosphate viele Stunden lang verzögern kann, ja daß es bei einem großen Kupferüberschuß trotz Zusatzes von NaCl überhaupt zu keiner Ausscheidung der Phosphate kommt. Ersetzt man die alkalische Seignette-Kupferlösung

durch eine alkalische Glycerin-Kupferlösung, so bilden sich große schwammige Phosphatflocken und die Ausfällung erfolgt äußerst rasch auch bei einem Überschuß von Kupfer; zugleich wird die Probe weit empfindlicher.

Die staubige Trübung ist auch viel besser wahrzunehmen. Ist kein Zucker vorhanden, so ist nach dem Absetzen des Phosphatniederschlages das Schwarz des Hintergrundes, durch das Reagenzglas gesehen, scharf begrenzt und ebenso intensiv, sogar intensiver wie ohne Reagenzglas; andernfalls ist das Schwarz staubig, sehr undeutlich und meist überhaupt nicht mehr zu sehen wegen starker weißer oder grüngelber Opalescenz, gleichzeitig ist in letzterem Fall die Flüssigkeit bei durchgehendem Licht meist klar durchsichtig ziegelrot oder orangerot. Anstelle der früheren Lösungen tritt jetzt

I. 5 g NaOH + ca. 15 g NaCl in 100 ccm.

Herstellung: 28 ccm  $\alpha$  + ca. 50 ccm  $\beta$  werden auf 100 ccm verdünnt.

II. 2,5 g Kupfervitriol in 100 ccm.

III. Glycerinum bidestillatum D 1,23 (eine Kombination von I und III hat sich nicht bewährt); während die letztere Tabelle ihre Gültigkeit behält.

Einerseits werden 5 ccm verdünnter resp. unverdünnter Urine, andererseits die dem spezifischen Gewicht entsprechende Kupfermenge + 4 Tropfen III + 2 $\frac{1}{2}$  ccm I zum Sieden erhitzt; das Sieden wird gleichzeitig unterbrochen und 30 Sekunden später die Kupferlösung in die Urinlösung gegossen. Hierauf wird umgeschwenkt, indem man das Reagenzglas rasch ohne Unterbrechung einigemal in einem Kreis herumbewegt. Nun überläßt man die Mischung der Ruhe und prüft später auf staubige Trübung. Tritt diese staubige Trübung nicht sofort ein, so sind nur Spuren von Zucker vorhanden.

### Erkennung des diabetischen Harns.

Ist der Zucker im Urin 4 Stunden nach kohlenhydratreicher Nahrung (wozu namentlich Kartoffelspeisen zu rechnen sind) gleich oder größer als 0,1%, so liegt Diabetes vor. Die Müllersche Probe ist für diesen Nachweis zu empfindlich und die

Verwendung der Seignettelösung würde eine vorausgehende Entfernung der Phosphate notwendig machen.

Ich verwende hierzu die haltbare Lösung

A. 3,464 g Kupfervitriol + 15 ccm Glycerin + 10 g NaOH + ca. 15 g NaCl in 100 ccm. Zu ihrer Herstellung werden benützt

a) Natronlauge: 1 Teil NaOH + 2 Teile Wasser,

b) NaCl-Lösung: 1 Teil NaCl + 3 Teile Wasser. Die Lösung des NaCl erfolgt durch Schütteln oder durch 2 Minuten langes Kochen.

3,464 g Kupfervitriol + 15 ccm Wasser werden in einen Kolben von 100 cm gebracht, durch Kochen gelöst, **abgekühlt** und dann mit 15 ccm Glycerin versetzt; nun fügt man 22 ccm von a hinzu und verdünnt mit b auf 100. Die Mischung muß kalt vollzogen werden, andernfalls ist die Lösung A nicht haltbar.

In ein für die linke Hand bestimmtes Reagenzglas (ca. 1,5 cm weit) mit den Teilstrichen 5 ccm und 15 ccm bringt man 5 ccm Urin, verdünnt mit Wasser auf 15 und mischt, sodann gießt man weg, bis 5 ccm zurückbleiben. In ein zweites für die rechte Hand bestimmtes Reagenzglas mit Teilstrich 5 ccm bringt man 1 ccm von A und verdünnt auf 5 ccm. In beide Gläser gibt man jetzt Quarz- oder Glaskörner und erhitzt ihre Flüssigkeiten zum gleichzeitigen Sieden. Man unterbricht das Sieden gleichzeitig und gießt nach 1 Minute (nicht früher) die Kupferlösung in die Urinflüssigkeit. Man läßt die Mischung stehen.

Stellt sich 10 Minuten nach dem Zusammengießen staubige Trübung ein, so ist der Zuckergehalt gleich oder größer als 0,1%, andernfalls kleiner als 0,1%. Ist keine staubige Trübung vorhanden, so bleibt die Flüssigkeit klar bei dunklem Hintergrund, von einigen umherirrenden, sich leicht abhebenden Flocken des Phosphatniederschlages abgesehen.

Es genügt, einmal die staubige Trübung gesehen zu haben, um für immer sicher zu gehen. Der praktische Arzt verschaffe sich zu diesem Zweck eine 1%ige Dextroselösung (haltbar mit 4 Tropfen Carbolsäure auf 100 ccm) und nehme die Probe mit dem Urin eines Gesunden zweimal so vor, daß er das eine Mal vor dem Erhitzen den 5 ccm verdünnten Urins 4 bis

5 Tropfen der Zuckerlösung zusetzt, das andere Mal aber den Zusatz unterläßt.

Statt in graduierten Reagenzgläsern zu kochen, kann man auch die 5 ccm beider Gläser ohne Nachspülen in gewöhnliche Gläser umgießen und in diesen zum Kochen erhitzen. Die Verdünnung darf auch mit gewöhnlichem Wasser vollzogen werden. Die Einnahme von Medikamenten ist ohne Einfluß auf diese Probe.

