

Из кафедры клинической диагностики
Врио зав. кафедрой А. П. ГЕРВЕТОВСКИЙ

АЛЮМИНИЕВАЯ ПУДРА, КАК ЗАМЕНИТЕЛЬ ЦИНКА В ФЕНОЛФТАЛЕИНОВОЙ ПРОБЕ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГЕМОГЛОБИНА В МОЧЕ

АССИСТ. А. П. ГЕРВЕТОВСКИЙ, АССИСТ. М. В. КОЧЕТОВ

Моча домашних животных в норме свободна от присутствия крови. Определению крови в моче, примешанной к ней или в виде форменных элементов, или в форме только кровяных пигментов, придается большое диагностическое значение.

Нередко значительное присутствие крови в моче можно обнаружить по её цвету. Гораздо труднее, а подчас бывает совершенно невозможным решить вопрос о присутствии в моче незначительного количества крови только по её цвету, в силу чего приходится прибегать к химическому и микроскопическому исследованию.

Одной из специфических, чувствительных и демонстративных качественных реакций на обнаружение гемоглобина в моче является фенолфталеиновая проба.

Для её постановки необходимы три реактива: 1 проц.—раствор уксусной кислоты в 95° этиловом спирте; 2 проц. раствор перекиси водорода и 3) щелочной раствор фенолфталеина. Последний готовится следующим образом: в 100 мл. 20 проц. раствора едкого калия растворяют 2 гр фенолфталеина и при кипячении добавляют 10 гр металлического цинка в порошок. Раствор кипятят до полного обесцвечивания, фильтруют и сохраняют в оранжевой посуде. Сам ход реакции определения пигментов крови в моче фенолфталеиновой пробой проводится так: 3 мл исследуемой мочи смешивают с равным объемом уксуснокислого спирта, прибавляют 20—30 капель щелочного раствора фенолфталеина и 2—3 капли перекиси водорода. В тех случаях, когда в исследуемой моче присутствует кровь, содержимое пробирки принимает малиновое окрашивание.

По данным Ф. М. Хакимовой, выполнившей работу под руководством проф. В. Г. Мухина, по сравнительной оценке чувствительности различных проб при определении гемоглобина в моче вытекает, что фенолфталеиновая проба очень демонстративна, но по сравнению с другими пробами менее чувствительна, так как она улавливает гемоглобин в моче человека при разведении 1:100.000 и в моче лошади 1:80.000.

Столкнувшись с необходимостью постановки фенолфталеиновой пробы при исследовании мочи на содержание гемоглобина и не имея в своём распоряжении металлического цинка в порошок для изготовления третьего реактива, мы решили проверить возможность приготовления щелочного раствора фенолфталеина на алюминиевой пудре, имея

в виду, что последняя значительно свободнее может быть приобретена. Свои первые опыты по изготовлению щелочного раствора фенолфталеина с алюминиевой пудрой мы начали без его подогревания, так как реакция раствора щелочи с алюминиевой пудрой течет более бурно, чем с порошком цинка и сопровождается выделением большого количества тепла и водорода, образующегося в ходе реакции между щелочью и алюминием.

Сам ход изготовления щелочного раствора фенолфталеина на алюминиевой пудре нами производился следующим образом: в плоскодонную колбу вливалось 50 мл 20 проц. раствора едкого калия, сюда же высыпался 1 гр порошка фенолфталеина, от которого раствор едкого калия принимает яркое малиновое окрашивание. Затем в колбу вносились по 0,1—0,2 грамма алюминиевой пудры и содержимое колбы тщательно встряхивалось. Содержимое колбы сильно нагревалось и пенилось, но через 2—3 минуты пена спадала и в колбу снова высыпалось 0,1—0,2 алюминиевой пудры до полного исчезновения розового окрашивания содержимого колбы.

Общий расход алюминиевой пудры при таком приготовлении щелочного раствора фенолфталеина составлял 8—9 грамм на 50 мл. исходного раствора, с затратой времени до 2-х часов. Выход же самого реактива после фильтрования не более 60 проц.

Истывав ряд вариантов по изготовлению щелочного раствора фенолфталеина с алюминиевой пудрой, мы остановили свой выбор на следующем: 50 мл 20 проц. раствора едкого калия, к которому уже добавлен 1 гр. фенолфталеина, нагревают в колбе до кипения, после чего, при постоянном взбалтывании над пламенем спиртовой горелки, высыпают в колбу очень небольшими порциями алюминиевую пудру. Пудру добавляют до полного исчезновения розового окрашивания. Добившись полного исчезновения окрашивания, содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат прозрачен с желтоватым оттенком. Расход алюминиевой пудры при указанном выше способе приготовления щелочного раствора фенолфталеина 1,3—1,4 грамма. Время, затрачиваемое на обесцвечивание раствора, не превышает 15—18 минут.

Получив удовлетворяющие результаты приготовления щелочного раствора фенолфталеина на алюминиевой пудре, мы решили проверить его чувствительность при определении гемоглобина в моче.

Для определения чувствительности фенолфталеиновой пробы в предлагаемой нами модификации, проведено две серии опытов с заведомо нормальной нефилтрованной мочей человека, крупного рогатого скота и лошади. В первой серии опытов к моче человека, крупного рогатого скота и лошади добавлялась гемолизированная кровь крупного рогатого скота, а в другой серии опытов—кровь человека. Предварительно, перед внесением в исследуемую мочу крови, в ней определялось абсолютное содержание гемоглобина в граммах и готовилось исходное разведение гемоглобина 1:1000 на дистиллированной воде. Из приготовленного таким образом исходного разведения гемоглобина с мочей человека, крупного рогатого скота и лошади были сделаны следующие разведения: 1:40000, 1:80000, 1:120000, 1:160000, 1:200000, 1:300000, 1:500000, 1:800000, 1:1000000.

Техника постановки проб была во всех сериях опытов одинаковой и сводилась к следующему: к 2 мл мочи приливалось такое же количество 2 проц. раствора уксусной кислоты в 95° спирте, затем 20 капель щелочного раствора фенолфталеина, приготовленного на алю-

миниевой пудре и 3 капли 3 проц. раствора перекиси водорода. После добавления каждого реактива содержимое пробирки встряхивалось. Реакция обычно нарастала постепенно, но тем быстрее, чем больше крови было в исследуемой моче.

Степень выраженности реакции обозначалась знаками:

Яркое малиновое окрашивание	+++
Красно-розовое	++
Розовое	+
Бледно-розовое	+ — (сомнительн.)
Слабый розовый оттенок	— (отрицательн.).

Учитывалась реакция в момент её максимальной выраженности, т. е. спустя 1—4 минуты после добавления последнего реактива.

Всего нами поставлена 161 проба на определение пигментов крови в моче человека, крупного рогатого скота и лошади.

В результате проверки чувствительности модифицированной нами фенолфталеиновой пробы при определении гемоглобина в моче с щелочным раствором фенолфталеина, приготовленного на алюминиевой пудре, установлено, что при добавлении крови человека к моче крупного рогатого скота, последняя даёт положительную реакцию при разведении гемоглобина 1:500000, моча же человека 1:300000, а моча лошади 1:80000.

Кровь крупного рогатого скота в моче человека и коровы обнаруживается при разведении гемоглобина 1:500000, а в моче лошади при разведении гемоглобина 1:40000.

Сравнивая наши данные с таковыми, полученными Хакимовой для мочи человека, находим, что чувствительность модифицированной нами фенолфталеиновой пробы с щелочным раствором фенолфталеина, изготовленного на алюминиевой пудре, значительно выше, нежели чувствительность этой же пробы, поставленной с щелочным раствором фенолфталеина, приготовленным на металлическом цинке.

С мочей лошади эта проба менее чувствительна.

ВЫВОДЫ

1. Фенолфталеиновая проба при определении гемоглобина в моче может быть свободно поставлена с щелочным раствором фенолфталеина, приготовленного на алюминиевой пудре вместо металлического цинка.

2. Приготовление щелочного раствора фенолфталеина по нашему способу должно вестись следующим образом: в 20 проц. растворе КОН создают 2 проц. концентрацию фенолфталеина и нагревают до кипения при постоянном взбалтывании над пламенем спиртовой горелки, добавляют дробными порциями алюминиевую пудру до обесцвечивания раствора, после чего последний фильтруют через бумажный фильтр.

3. Предлагаемая нами модификация фенолфталеиновой пробы имеет высокую чувствительность и обнаруживает пигменты крови в моче крупного рогатого скота при разведении гемоглобина 1:500000; аналогичные данные получены и с мочей человека.