

Photometrische Messung der arteriellen O₂-Konzentration

R. Zander

Physiologisches Institut der Universität Mainz, BRD

Einleitung

Die Qualität der diagnostischen Aussagekraft des Meßwertes arterielle O₂-Konzentration (caO₂), ein Globalwert, der alle Änderungen des Partialdrucks, der Sättigung und der Hb-Konzentration beinhaltet, steht in offensichtlichem Gegensatz zu den bisherigen methodischen Möglichkeiten. Sowohl das klassische manometrische Verfahren nach Van Slyke als auch die Verwendung galvanischer Zellen zur Bestimmung der O₂-Konzentration des Blutes müssen dem Speziallabor vorbehalten bleiben, da die Analyse besonderes Fachwissen, ein aufwendiges Gerät und ein relativ großes Probenvolumen erfordert.

Ein einfaches und mobiles Verfahren mit hoher Genauigkeit und Präzision soll beschrieben werden, das bei Verwendung von nur 20 µl Blut die schnelle Messung der O₂-Konzentration (cO₂, ml/dl) des Blutes in der täglichen Praxis erlaubt.

Prinzip

Das Verfahren, von den Erstbeschreibern O₂-Küvette genannt [3], basiert auf einem photometrischen O₂-Nachweis, wobei der Sauerstoff quantitativ mit einer spezifischen, für Sauerstoff hochempfindlichen Reaktionsflüssigkeit (alkalische Lösung von Brenzkatechin mit Eisenionen) reagiert und eine deutlich sichtbare Farbänderung hervorruft, die in einem Photometer als Extinktionszunahme erfaßt werden kann (breites Extinktionsmaximum). Der im folgenden zu beschreibende Prototyp der O₂-

Küvette ist eine Einmalküvette aus Glas, die unter Luftabschluß mit der Reaktionsflüssigkeit gefüllt und mit einer Durchstechmembran verschlossen ist.

Handhabung

Die Durchführung einer Messung ist denkbar einfach und in [4] ausführlich beschrieben. Die zu untersuchende Probe wird mit einer Präzisionspritze abgemessen und durch die Durchstechmembran in die Einmalküvette injiziert (Abb. 1). Die Extinktionsänderung wird durch Messen in einem Photometer vor und nach Injektion erhalten. Im Falle von Blut muß ein Leerwert berücksichtigt werden. Dazu wird das gleiche Probenvolumen in eine zweite Küvette gespritzt, die eine im Beisein von Sauerstoff ungefärbte Flüssigkeit enthält (Natrium-Dithionit-Lösung). Die Kalibrierung der O_2 -Küvette (an anderer Stelle dieses Buches aus-

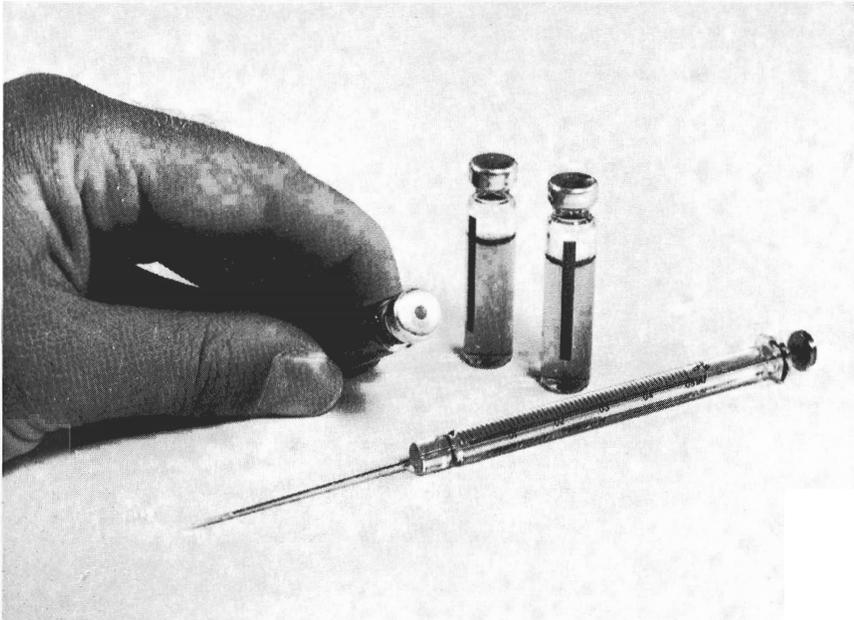


Abb. 1. Erster Prototyp der O_2 -Küvette (Rundküvette aus Glas mit Durchstechmembran) mit Präzisionspritze zum Abmessen und Injizieren des Blutvolumens von 10 μ l.

fürlich beschrieben) erfolgt durch Injektion einer gravimetrisch justierten KJO_3 -Lösung definierten O_2 -Gehalts.

Der in einer großen Zahl von Bestimmungen erhaltene Kalibrierfaktor (vgl. [2-4]) erwies sich mit $\Delta E = 0,283/\mu\text{l O}_2$ (STPD) als sehr konstant.

Anwendungsbeispiele

Insgesamt 30 der beschriebenen O_2 -Küvetten wurden bis zu 5mal mit jeweils $10 \mu\text{l}$ Raumluft unter definierten Bedingungen (Temperatur, Barometerdruck, Luftfeuchte) beschickt und die Extinktionsänderung in einem Photometer gemessen. In Abbildung 2 ist die gemessene Extinktion

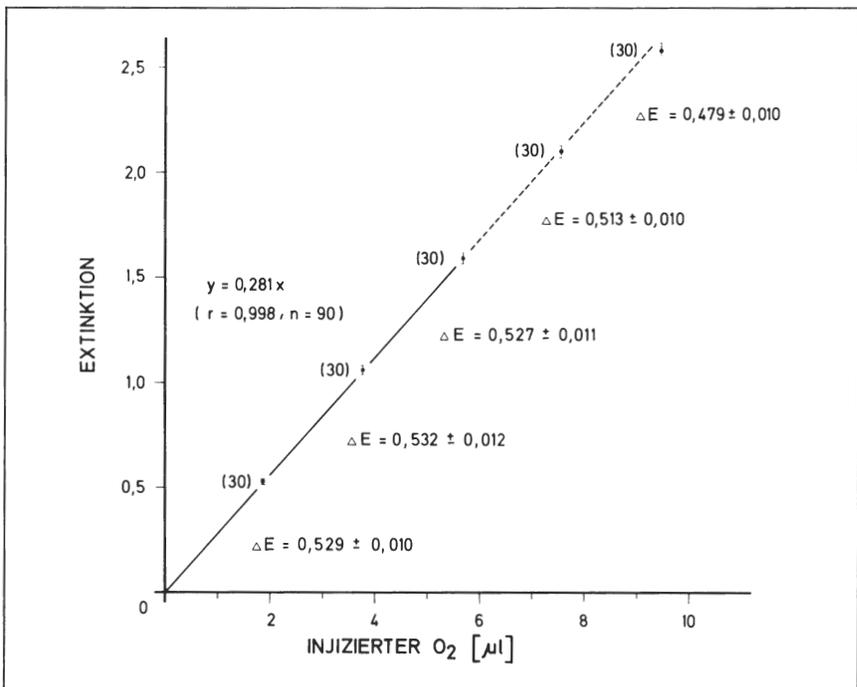


Abb. 2. Extinktionsänderungen (ΔE) von 30 O_2 -Küvetten, die je 5mal mit $10 \mu\text{l}$ Raumluft, entsprechend ca. $1.9 \mu\text{l O}_2$ (STPD), beschickt wurden, als Funktion der eingebrachten O_2 -Menge (μl). Die Regressionsgerade für den Bereich bis zu einer Extinktion von 2.0 ist angegeben (durchgezogene Linie), darüber (gestrichelte Linie) weichen die Meßwerte geringfügig davon ab.

tionsänderung gegen die Menge des injizierten O₂ (µl) aufgetragen, die aus dem injizierten Volumen (10 µl), auf STPD-Bedingungen korrigiert, und der O₂-Konzentration der Luft (20,95 %) berechnet wurde. Zum Beispiel entsprechen 10 µl Raumluft bei 20 °C, 750 mm Hg Barometerdruck und einer relativen Feuchte von 50 % gerade 1,904 µl O₂ STPD.

Es ist offensichtlich, daß eine streng lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingebrachter O₂-Menge bis zu einer Extinktion von etwa 2,0 gegeben ist. Die für diesen Bereich aus 90 Meßwerten berechnete Steigung beträgt 0,281 ΔE/µl O₂. Unter Berücksichtigung des Kalibrierfaktors von 0,283 ΔE/µl O₂ bedeutet das, daß die O₂-Konzentration der Luft mit einer Genauigkeit von mindestens 1 % bei einer Reproduzierbarkeit von ca. 2 % bestimmt wurde.

Jeweils 10 der beschriebenen O₂-Küvetten (zugehörige Leerwertküvetten) wurden mit Blutproben unterschiedlicher Hb-Konzentration beschickt, die zuvor bei 37 °C mit 100 % N₂ oder O₂ äquilibriert worden waren. Die auf diese Weise gemessene O₂-Konzentration wurde mit der berechneten O₂-Konzentration verglichen und in Abbildung 3 dargestellt.

In einem Konzentrationsbereich zwischen 0 und 29 ml/dl wird eine streng lineare Beziehung zwischen gemessener und berechneter O₂-Konzentration gefunden. Im mittleren (physiologischen) O₂-Konzentrationsbereich kann die O₂-Konzentration des Blutes mit einer Genauigkeit von 2 % und einer Reproduzierbarkeit von ebenfalls 2 % gemessen werden.

In einer methodischen Untersuchung von Willis und Clapham [1] wurden die gleichen Ergebnisse bezüglich Genauigkeit und Reproduzierbarkeit erhalten.

Wegen der extrem niedrigen Nachweisgrenze für Sauerstoff – der hier vorgestellte Typ O₂-Küvette kann noch 0,02 µl O₂ (entsprechend 1 nmol) erfassen – kann dieses Verfahren unter allen zur Zeit bekannten Methoden als dasjenige bezeichnet werden, das die größte Empfindlichkeit für O₂ aufweist. Daher konnte zum Beispiel eine Modifizierung vorgestellt werden, die die Messung der O₂-Konzentration auch noch in einer 2-µl-Blutprobe erlaubt [5].

Dosiersystem

Zur weiteren Vereinfachung des vorgestellten Verfahrens O₂-Küvette, die Blutprobe mußte mit einer Präzisionspritze abgemessen und injiziert werden, wurde von Wolf und Zander (unveröffentlichte Daten)

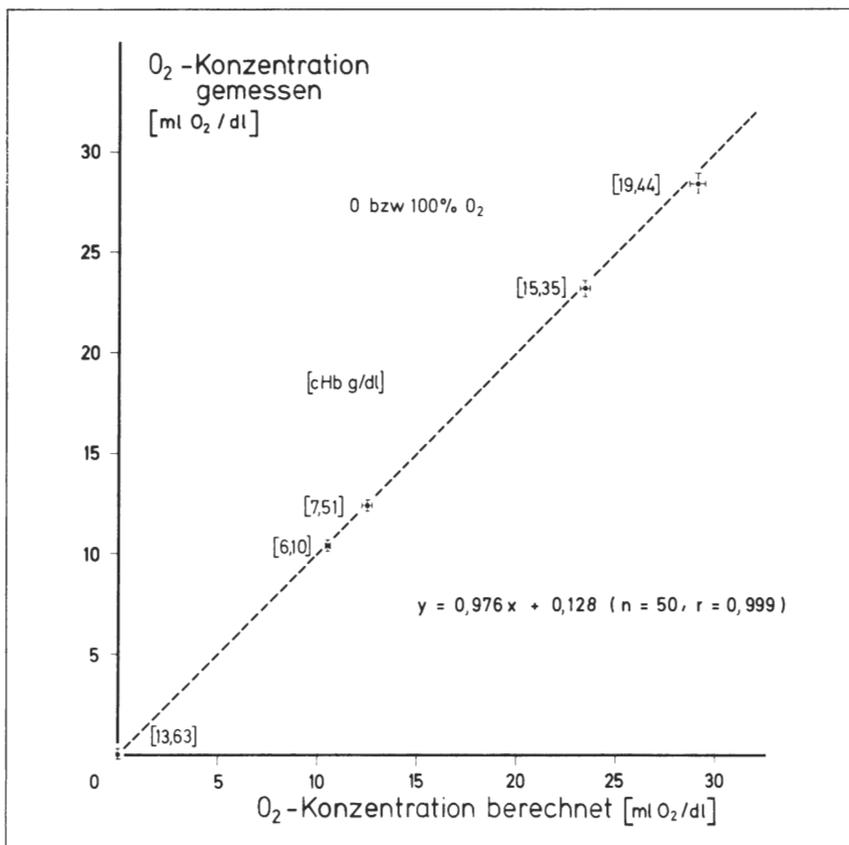


Abb. 3. Mit dem Verfahren O₂-Küvette gemessene O₂-Konzentration (ml/dl) als Funktion der berechneten O₂-Konzentration für 5 Blutproben unterschiedlicher Hb-Konzentration (cHb) nach Äquilibration mit reinem N₂ oder O₂. Die Abweichung von der Identitätslinie (gestrichelt) beträgt in keinem Falle mehr als 2% des Meßwertes.

ein spezielles Dosiersystem entwickelt, das mit einer Rechteck-Einmal-Küvette aus Kunststoff fest verbunden werden kann. Das Prinzip dieses Dosiersystems ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

Etwa 20 µl eines Tropfens Blut (Ohrläppchen, Fingerbeere) füllen aufgrund der Kapillarkraft die Bohrung eines Küvettenaufsatzes. Durch Verschieben eines Stempels werden genau 10 µl abgemessen und unter Luftabschluß in den Innenraum der Küvette und damit in Kontakt zur Reaktionsflüssigkeit gebracht.

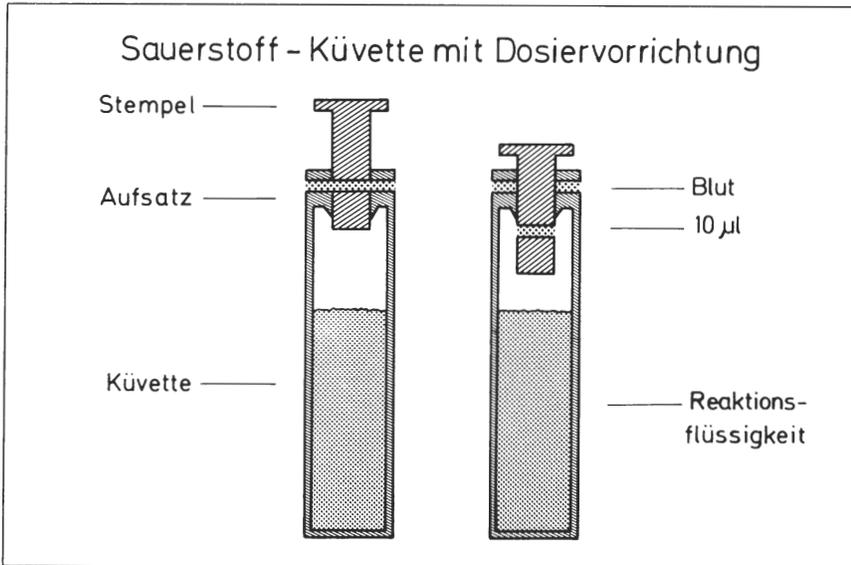


Abb. 4. Schematische Darstellung eines mit einer Einmalküvette fest verbundenen Dosiersystems nach Wolf und Zander. Aufgrund der Kapillarkraft wird die Bohrung mit 20 µl Blut gefüllt, wovon genau 10 µl durch Verschieben des Stempels in die Küvette gebracht werden.

Die Handhabung des Küvettensystems dürfte damit einfacher geworden sein: Applikation eines Blutstropfens, Extinktionsmessung, Verschieben des Stempels, Schütteln, erneute Extinktionsmessung.

Verfahren Oxystat

Es ist naheliegend, das beschriebene Verfahren O₂-Küvette mit Dosiersystem dahingehend zu erweitern, daß neben der O₂-Konzentration mit einer zweiten Küvette die Hb-Konzentration bestimmt wird (z. B. Verfahren alkalisches Hämatin D-575). Diese zweite, Hb-Küvette, macht die beschriebene Leerwertküvette überflüssig. Das bedeutet, daß aus nur 2mal 20 µl Blut (jeweils 10 µl dienen dem Luftabschluß und werden verworfen) unter Verwendung von 2 Einmalküvetten mit Dosiersystem, O₂-Küvette und Hb-Küvette, folgende Werte des O₂-Status erhalten werden:

- O₂-Konzentration (cO₂, ml/dl),
- Hb-Konzentration (cHb, g/dl) und
- O₂-Sättigung (sO₂, %, berechnet).

Bei Verwendung eines batteriebetriebenen Kleinphotometers mit eingebautem Rechner können die genannten Daten des O₂-Status aus den gemessenen Extinktionsdifferenzen (nur eine Wellenlänge) schnell und genau berechnet und angezeigt werden.

Da für beide Verfahren, O₂-Küvette und Hb-Küvette, ein kristalliner Standard zur Verfügung steht, der eine gravimetrische Kalibrierung erlaubt, wird für beide eine Genauigkeit von 2% erreicht. Die Überprüfung dieses Verfahrens hat zu einem positiven Ergebnis geführt [1].

Zusammenfassung

Das Verfahren O₂-Küvette, ein photometrischer Sauerstoffnachweis höchster Empfindlichkeit in Einmalküvetten, erlaubt die Messung der O₂-Konzentration des Blutes schnell, einfach und mobil in einem Probenvolumen von nur 20 µl mit einer Genauigkeit und Reproduzierbarkeit von 2%.

Bei Verwendung von zwei Einmalküvetten, einer O₂- und einer Hb-Küvette (Oxystat), können aus nur 40 µl Blut folgende Daten des O₂-Status erhalten werden: cO₂ (ml/dl), cHb (g/dl) und sO₂ (%). Ein spezielles Dosiersystem, verbunden mit den Einmalküvetten, vereinfacht die Handhabung erheblich.

Literatur

- 1 Willis, N.; Clapham, M.: The validity of oxygen content calculations. *Clin. chim. Acta* 150: 213–220 (1985).
- 2 Zander, R.; Lang, W.; Wolf, H. U.: Die schnelle, einfache und mobile Messung der Sauerstoff-Konzentration des Blutes. *Adv. biomed. Technol.* 22: 385 (1977).
- 3 Zander, R.; Lang, W.; Wolf, H. U.: Oxygen cuvette: A simple approach to the oxygen concentration measurement in blood. *Pflügers Arch.* 368: R 16 (1977).
- 4 Zander, R.; Lang, W.; Wolf, H. U.: A new method for measuring the oxygen content in microliter samples of gases and liquids: the oxygen cuvette; in Silver, Erecinska, Bicher, *Oxygen Transport to Tissue III*, pp. 107–111 (Plenum Publ. Corp., New York 1978).
- 5 Zander, R.; Vaupel, P.: Micromethod for the determination of oxygen content within a 2 µl blood sample for microcirculatory research. *Microvasc. Res.* 17: S 175 (1979).

Prof. Dr. R. Zander, Physiologisches Institut der Universität Mainz,
Saarstraße 21, D-6500 Mainz (BRD)