

Messung des Hb-Gehaltes von frischem und faulem Blut mit der atomabsorptionsspektralphotometrischen Fe-Messung und der photometrischen Cyan-Met-Hb-Bestimmung

J. Lötterle

Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg, Universitätsstraße 22, D-8520 Erlangen, Bundesrepublik Deutschland

Measurement of the Hb-Content of Fresh and Decayed Blood with the Atomic-Absorption-Spectrophotometric Fe-Method and the Photometric Cyan-Met-Hb-Determination

Summary. The usability of the atomic-absorption spectrophotometric method by Lötterle (1980) for the iron determination in hemoglobin measurement was investigated and the method compared with the photometric Hb measurement. It was shown by investigations with blood, decayed at room temperature, that the deviation from the results in fresh blood and the coefficient of variation of the single results are lower than in the Cyan-Met-Hb method, and that this is highly significant.

Key words: Hemoglobin, iron determination – Atomic-absorption-spectrophotometry, measurement of Hb-content

Zusammenfassung. Es wurde die Verwendbarkeit der von Lötterle (1980) beschriebenen atomabsorptionsspektralphotometrischen Fe-Messung zur Hb-Bestimmung von Blut untersucht und mit der photometrischen Hb-Messung verglichen. Durch Fäulnisversuche, bei welchen Blut längere Zeit der Raumtemperatur ausgesetzt war, konnte gezeigt werden, daß die Abweichung vom Frischblutwert und die Streuung der Einzelwerte bei der Fe-Messung statistisch hochsignifikant geringer sind als bei der Cyan-Met-Hb-Messung.

Schlüsselwörter: Hämoglobin, Eisenbestimmung – Atomabsorptionsspektralphotometrie, Hb-Gehaltsbestimmung

Bei Bestimmung des Hb-Gehaltes von faulen Blutproben kommt es zu fehlerhaften Ergebnissen, wenn solche Methoden verwendet werden, bei denen ein intaktes Hämoglobin-Molekül Voraussetzung für die richtige Messung ist.

Ein Hb-Abbau über die Stufe des Hämatins hinaus ist zwar erst bei fortgeschrittener Fäulnis des Blutes zu erwarten, so daß Methoden, die zur Hb-Messung das Hämatin erfassen (Ammoniak-Hämochrom-Methode und Methode nach Sahli) auch noch nach längerer Zeit genaue Werte ergeben, jedoch sind diese Methoden sehr wenig gebräuchlich und ungenau (Schwerd 1962). Auch kann bei fortgeschrittener Fäulnis der Blutprobe nie festgestellt werden, ob nicht doch schon eine Sprengung des Tetrapyrrol-Rings eingetreten ist, so daß die Hämatin-Methoden nicht mehr angewendet werden können.

Zur Bestimmung des Hb-Gehaltes von faulem Blut bietet sich die Messung des Fe-Gehaltes der Blutprobe an. Der Fe-Gehalt der Erythrozyten steht in einem festen stöchiometrischen Verhältnis zu Hb; das Serumeisen, welches selbst bei hämolytischen Anämien unter 1% des Hb-Eisens liegt, kann bei der Fe-Messung vernachlässigt werden.

Kürzlich wurde von Lötterle (1980) eine atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Messung von Blut zur Bestimmung des Hb-Gehaltes beschrieben. In der vorliegenden Arbeit soll die Anwendbarkeit dieser Methode bei faulen Blutproben untersucht und ein Vergleich mit der photometrischen Cyan-Met-Hb-Methode durchgeführt werden.

Material und Methoden

In unsterile Stechampullen von 25 ml Inhalt wurden je 4 ml heparinisiertes menschliches Blut injiziert. 20 Blutproben wurden im Kühlschrank, 32 Proben unter Lichtabschluß bei einer Zimmertemperatur zwischen 20 und 30°C aufbewahrt. Die bei Zimmertemperatur aufbewahrten Blutproben zeigten bald eine Koagulation der korpuskulären Bestandteile und eine zunehmende Rotverfärbung des zunächst klaren Serumüberstandes durch Hämolyse. Nach etwa 30 Tagen kam es zu einer fortschreitenden Auflösung des zunächst sehr festen Blutkoagels. Bei den im Kühlschrank gelagerten Blutproben wurde nach etwa 10 Tagen eine mäßige Hämolyse festgestellt, nach zwei Wochen kam es zu einer allmählichen und geringgradigen Koagulation der korpuskulären Blutbestandteile.

Von allen Blutproben war der Frischblut-Hb- und -Fe-Gehalt durch jeweils 3fache Messung bestimmt worden. Die Hb-Bestimmung erfolgte durch Cyan-Met-Hb-Messung, welche im folgenden kurz als Hb-Messung bezeichnet werden soll; es wurden Reagenzien der Firma ASID verwendet. Die atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Messung zur Bestimmung des Hb-Gehaltes, im folgenden kurz Fe-Messung genannt, wurde nach der von Lötterle (1980) beschriebenen Methode vorgenommen.

Nach 15 Tagen wurden 16 der bei Zimmertemperatur und acht der im Kühlschrank gelagerten Proben untersucht. Nach 29 Tagen wurden weitere acht der bei Zimmertemperatur und acht der im Kühlschrank aufbewahrten Proben und nach 49 Tagen die restlichen acht bei Zimmertemperatur und vier im Kühlschrank gelagerten Proben untersucht. Es wurde wieder eine 3fache Bestimmung des Hb- und Fe-Gehaltes jeder Probe durchgeführt. Vor dem Pipettieren erfolgte durch längeres kräftiges Schütteln eine weitgehende Homogenisierung der Blutproben.

Ergebnisse

In Abb. 1 sind die Ergebnisse der Fe-Messung bei allen gelagerten Blutproben und die der Hb-Messung, getrennt nach im Kühlschrank und bei Zimmertemperatur aufbewahrten Blutproben, angegeben. Da die Frischblutproben nicht alle den gleichen Hb-Gehalt hatten, wurde zur besseren Veranschaulichung in Abb. 1 die Abweichung der gelagerten Proben vom Frischblutwert angegeben.

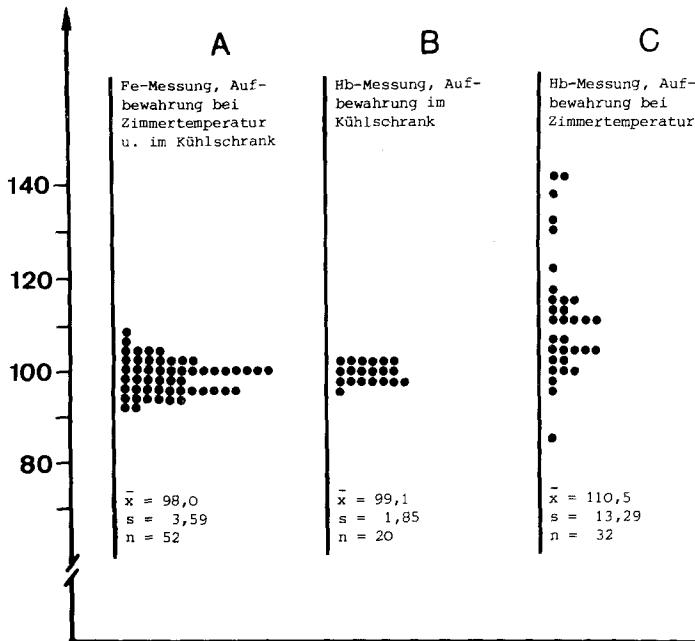
Abweichung vom
Frischblutwert (± 100)

Abb. 1. Abweichung der Cyan-Met-Hb-Werte und der Fe-Werte der gefaulten Blutproben von den entsprechenden Frischblutwerten, aufgeschlüsselt nach: A Fe-Messung, im Kühlschrank und bei Zimmertemperatur gelagerte Proben; B Cyan-Met-Hb-Messung, im Kühlschrank aufbewahrte Proben; C Cyan-Met-Hb-Messung, bei Zimmertemperatur aufbewahrte Proben

Dieser wurde gleich 100 gesetzt. Bei der Fe-Messung wurden die Ergebnisse in Abb. 1 für die bei Zimmertemperatur und die im Kühlschrank aufbewahrten Proben zusammengefaßt, da sich diese statistisch voneinander nicht unterschieden.

Folgende statistisch signifikante Ergebnisse wurden gefunden:

1. Die Hb-Werte der im Kühlschrank aufbewahrten Proben unterschieden sich von den Hb-Werten der bei Zimmertemperatur gelagerten Proben bezüglich der Standardabweichung und des Mittelwertes hochsignifikant (F-Test: $\alpha < 1\%$, t-Test für ungleiche Varianzen nach Welch: $\alpha < 1\%$).
2. Zwischen den Hb-Werten und den Fe-Werten der bei Zimmertemperatur aufgehobenen Proben besteht bezüglich der Standardabweichung und des Mittelwertes ein hochsignifikanter Unterschied (F-Test: $\alpha < 1\%$, t-Test für ungleiche Varianzen nach Welch: $\alpha < 1\%$). Die Hb-Werte lagen im Mittel höher als die Fe-Werte.

Diskussion

Bei der photometrischen Cyan-Met-Hb-Messung von längere Zeit bei Zimmertemperatur gefaulten Blutproben traten teilweise recht erhebliche, statistisch hochsignifikante Abweichungen gegenüber dem Frischblut-Hb-Gehalt auf. Die

nach der Cyan-Met-Hb-Methode bestimmten Hb-Werte der bis maximal 49 Tage im Kühlschrank aufbewahrten Proben zeigen dagegen keine statistisch signifikante Abweichung vom Frischblut-Hb-Gehalt. Dieses zweite Ergebnis stimmt recht gut mit den Untersuchungen von Blackmore (1970) überein, der Blutproben bis zu einem Jahr bei +4°C aufbewahrte und nur in einigen Fällen eine größere Abweichung des Hb vom Frischblut-Hb feststellte.

Das wesentliche Ergebnis der Untersuchung ist jedoch, daß die atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Messung im Blut zur Hb-Bestimmung in den Fällen, bei denen das Blut der Fäulnis ausgesetzt war, signifikant bessere Ergebnisse liefert als die photometrische Cyan-Met-Hb-Messung. Sie ist deshalb der photometrischen Messung immer dann, wenn Fäulnis der Blutprobe nicht ausgeschlossen werden kann, vorzuziehen.

Literatur

- Blackmore BJ (1970) The determination of carbon monoxide in blood and tissue. Analyst 95:439
Lötterle J (1977) Zur Problematik der CO-Hb-Bestimmung in faullem Blut. Inaug Diss Erlangen
Lötterle J (1980) Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes von frischem Blut durch atomabsorptionsspektralphotometrische Eisenmessung (im Druck)
Sachs L (1969) Statistische Auswertungsmethoden, 2. Aufl. Springer, Berlin Heidelberg New York
Schwerd W (1962) Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate. Schmidt-Römhild, Lübeck

Eingegangen am 21. April 1980