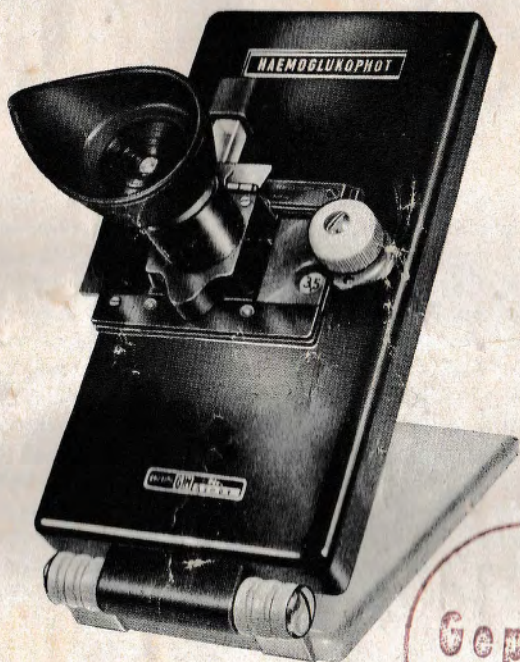


# Haemoglukophot

Kombiniertes Kolorimeter zur Bestimmung von  
Blutfarbstoff - Blutzucker - Liquorzucker - Harnzucker



Kat.-Nr. 2307, Apparat kpl. im Holzkasten mit:

- 1 Haemoglobin-Bauchpipette mit Marke bei 30 und 2000
- 1 Blutzuckerpipette 0,2 ccm, Stabform
- 1 Pipettenschlauch mit Mundstück
- 3 Vierkantröhrchen mit Vierkantgummistopfen und Reinigungsbürste
- 1 Verstärkerstab für Harnzuckerbestimmung
- 1 Kochglas für Harnzuckerbestimmung
- 1 Stopfen mit Glaskapillare für Kochglas
- 1 Bauchpipette mit Markierung bei 1,8 und 1,9 ccm
- 1 Bauchpipette 1 ccm für Pikrinsäureabmessung
- 1 grad. Reag.-Glas für Blutzuckerfiltrat schmale Form, 2 ccm in 1/10
- 1 Sanduhr, 3 Minuten                      1 Sanduhr, 5 Minuten
- 1 Uhrschildchen 1 Augenumschel Filterpapier
- 1 Trichter

## Anleitung

Der Haemoglukophot ist ein kombiniertes Kolorimeter mit Zusatzgeräten, mit dessen Hilfe man die prozentuale Höhe

1. des Blutfarbstoffes
2. des Blutzuckers
3. des Liquorzuckers
4. des Harnzuckers

bestimmen kann.

Die Methoden liefern zuverlässige Resultate und sind zugleich so einfach, daß der Haemoglukophot-Apparat in gleicher Weise für Laboratorien wie für praktische Ärzte geeignet ist.

Der Apparat wird zur Benutzung durch Hochlegen einer kleinen Stützklappe in einen Winkel von  $45^\circ$  gebracht. Die Grundplatte soll von diffusem Tageslicht gut beleuchtet sein, direktes Sonnenlicht ist zu vermeiden. Bei künstlicher Beleuchtung muß das künstliche Licht gut weiß sein und ebenfalls diffus einfallen. Die zu kolorimetrierenden Lösungen, die lt. nachstehenden Vorschriften vorzubereiten sind, werden in das Vierkantröhrchen gefüllt. Dieses ist dann in die geeignete Öffnung des Objektivsockels nach Hochstellen der Staubklappe einzuschieben (rechte Öffnung für Blutzucker oder Liquorzucker, linke Öffnung für Haemoglobin und Harnzucker). Dabei muß der Farbstrich des Vierkantröhrchens links oder rechts, also außerhalb des Strahlenganges liegen. Der Objektivsockel wird entsprechend der durchzuführenden Bestimmung eingerastet, wobei der oben angebrachte Pfeil auf „Prüfung“ zu stehen hat. Zum Kolorimetrieren klappt man mit dem linken Zeigefinger die an der Rückwand angebrachte Blende vor der Milchglasscheibe herunter und zieht das Okular so weit heraus, daß die Grenzlinie zwischen Vergleichskeil und mit Lösung gefülltem Vierkantröhrchen scharf hervortritt. Dann dreht man mit der rechten Hand den Kordelknopf bis zur Farbgleichheit. Wenn die Farbgleichheit erreicht ist, schiebt man das ausgezogene Okular wieder hinein und liest die Skalenwerte durch das Okular ab. (Das Einschieben des Okulars zum Ablesen der Skalenwerte entfällt, wenn seitlich am Lupenrohr ein Hebel angebracht ist. Hier ist bei Ablesung der Skalenwerte der Hebel zu betätigen.) Bei der Haemoglobin-Bestimmung liegt die Skala rechts, bei Blutzucker liegt die Skala links im Blickfeld. Bei Harnzucker muß die Skala im Fenster links vom Kordelknopf, also nicht durch das Okular abgelesen werden. Mehrmaliges Kolorimetrieren der eingebrachten Lösung kurz hintereinander und Errechnen des Durchschnittswertes erhöht die Genauigkeit.

**Nach Gebrauch stets Okular-Rohr ganz rechts an Handrad schieben, damit Farbkeile vor Licht geschützt.**

Nach jeder Benutzung wird die Objektivsockelplatte wieder in die Mitte des Apparates gezogen und dieser in den Kasten zurückgelegt, damit die Farbkeile vor Licht geschützt sind und so ihre Eichwerte beibehalten. Von besonderer Wichtigkeit ist das Sauberhalten aller Geräte. Auf regelmäßiges **Nachspülen des Vierkantröhrchens** mit aq. dest. und **öfteres Ausbürsten** ist zu achten, weil farbhaltige Beschläge die Resultate fälschen. Auch müssen **Vierkantröhrchen und Pipetten vor jeder Benutzung trocken sein**, damit ungenaue Abmessungen und zusätzliche Verdünnung des zu untersuchenden Materials vermieden werden.

## Beschreibung der einzelnen Methoden.

### I. Haemoglobinbestimmung.

Ohrläppchen oder Fingerbeere, bei Säuglingen Ferse, wird mit Ätherläppchen kräftig abgerieben. Dann wird mit Schnäpper, der je nach Hautdicke eingestellt ist, in die Haut eingestochen. Dabei soll die Fingerkuppe halbseitlich so getroffen werden, daß die Hautrillen quer durchgeschnitten werden. Nach Abwischen des ersten Blutropfens wird die Haemoglobin-Bauchpipette genau bis zur Marke 30 mit dem nun aus der Stichwunde hervorquellenden Blut gefüllt. Bei etwa zu lang gewordenem Blutfaden wird dieser durch leichtes Tupfen mit trockenem Läppchen auf richtige Länge gekürzt. Dann wird sofort n/10 Salzsäurelösung aus bereitgestelltem Uhrschildchen bis zur Marke 2000 nachgezogen und durch kräftiges Schütteln der Pipette zwischen den Fingern gut gemischt. Zugleich wird die **3-Minuten-Sanduhr** aufgesetzt. Nach etwa einer Minute bläst man die nun entstandene, gleichmäßig braungefärbte Lösung von salzsaurem Haematin in das Vierkantröhrchen und setzt dieses in die linke Öffnung der Objektivsockelplatte des Apparates. Sofort nach Ablauf der Sanduhr kolorimetriert man wie vorstehend beschrieben.

Der Haemoglobingehalt wurde bisher häufig in Prozenten einer Norm angegeben, wobei jedoch verschieden definierte relative Maßeinheiten nebeneinander in Gebrauch waren. Um der dadurch bedingten Unsicherheit ein Ende zu machen, beschloß die Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin auf Grund der Untersuchungen von Prof. Dr. L. Heilmeyer, Freiburg, und Dr. H. Kilchling, Freiburg, (Dtsch. Med. Wschr. 76, 1074, 1951) das relative Maßsystem ganz zu verlassen. Die neue Eichvorschrift bestimmt deshalb, daß nur noch mit Gramm-Skala versehene Instrumente das GIM-Zeichen tragen dürfen.

In der nachstehenden Tabelle sind die absoluten Konzentrationsangaben den gebräuchlichsten Relativwerten gegenübergestellt, um ihren Vergleich zu erleichtern.

Kolorimetrieren **genau 3 Min. (Sanduhr)** nach Zufügen der NaCl-Lösung, sonst fehlerhafte Resultate.

## Tabelle

zum Vergleich der absoluten und relativen Haemoglobinwerte:

Hb-Konzentration in g/100 cm <sup>3</sup>	Relative Hb-Werte in Prozenteinheiten		
	100 % = 14,8 g/100 cm <sup>3</sup>	100 % = 16,0 g/100 cm <sup>3</sup>	100 % = 17,0 g/100 cm <sup>3</sup>
4,0	27	25	24
4,5	30	28	26
5,0	34	31	29
5,5	37	34	32
6,0	41	38	35
6,5	44	41	38
7,0	48	44	41
7,5	51	47	44
8,0	54	50	47
8,5	57	53	50
9,0	61	56	53
9,5	64	59	56
10,0	68	63	59
10,5	71	66	62
11,0	75	69	65
11,5	78	72	68
12,0	81	75	71
12,5	84	78	74
13,0	88	81	76
13,5	91	84	79
14,0	95	88	82
14,5	98	91	85
15,0	102	94	88
15,5	105	97	91
16,0	108	100	94
16,5	111	103	97
17,0	115	106	100
17,5	118	109	103
18,0	122	113	106
18,5	125	116	109
19,0	129	119	112
19,5	132	122	115
20,0	135	125	118
20,5	138	128	121

Der normale Haemoglobingehalt ist weitgehend von Alter, Geschlecht und Umweltbedingungen abhängig. Er liegt beim Mann etwa zwischen 14 und 18, bei der Frau zwischen 13 und 17 g/100 cm<sup>3</sup>.

### Berechnung des Haemoglobingehaltes des Einzelerythrocyten.

Der Haemoglobingehalt des Einzelerythrocyten, der differentialdiagnostisch große Bedeutung hat, wird mit Hb<sub>E</sub> bezeichnet. Man findet ihn, indem man den Hb-Gehalt durch die in der gleichen Blutmenge vorhandene Erythrocytenzahl teilt. Einfacher berechnet man ihn, indem man die gefundenen g% Hb mit 10 multipliziert und durch die pro cmm gefundene Zahl der Erythrocyten (in Millionen) dividiert. Das Er-

gebnis wird in Picogramm =  $10^{-12}$  g Hb angegeben. Dem unter Verwendung des relativen Maßsystems errechneten Farbe-Index 1,0 entspricht ein Wert von  $32 \times 10^{-12}$  g. Bei hypochromen Anämien liegt der Hb-Gehalt des Einzelerythrocyten unter 28, bei hyperchromen Anämien über  $36 \times 10^{-12}$  g.

Beispiel: Gefunden 12,8 g % Hb und 4 Mill. Erythrozyten.

$$\frac{10 \times 12,8}{4} = 32$$

$$\text{Hb}_{\text{F}} = 32 \times 10^{-12} \text{ g.}$$

## II. Blutzuckerbestimmung.

### Prinzip der Methode:

Das aus der Fingerkuppe oder dem Ohrläppchen entnommene Blut wird mit Wasser haemolysiert. Das Bluteiweiß wird mit Pikrinsäure gefällt und durch Filtrieren abgetrennt. Das eiweißfreie Filtrat wird mit Natronlauge alkalisch gemacht und erhitzt. Der Blutzucker reduziert nun die Pikrinsäure zur roten Pikraminsäure. Diese Reaktion verläuft quantitativ, so daß dem vorhandenen Blutzucker eine bestimmte Menge roter Pikraminsäure entspricht. Das rote Natriumsalz der Pikraminsäure gibt mit dem Natriumsalz der überschüssigen Pikrinsäure je nach dem Mischungsverhältnis eine gelb-rote Farbe, welche im Kolorimeter mit einem geeichten Farbkeil verglichen wird.

### Gang der Untersuchung:

In ein trockenes Reagenzglas pipettiert man mit Hilfe der entsprechenden Pipette **genau** 1,8 ccm dest. Wasser. Dazu gibt man aus einer 0,2 ccm-Stabpipette **genau** 0,2 ccm frisch entnommenes Fingerbeerenblut. Dieses entnimmt man in gleicher Weise wie zur Haemoglobinbestimmung, muß aber tiefer in die Haut einstechen, weil man mehr Blut benötigt! Nach Ausblasen des Blutes aus der Pipette zieht man noch **mehrmals Wasser** aus dem Reag.-Glas hoch, um so die Pipette von allen Blutspuren zu befreien und keinen Verlust zu haben. Nach Schütteln des Reag.-Glases und 1—2 Minuten Wartezeit setzt man der Blutlösung genau 1 ccm 1,2%ige Pikrinsäure zu, schüttelt sofort wieder gut durch und setzt das Reag.-Glas beiseite. Jetzt legt man in einen kleinen Trichter, den man einem **graduierten Reag.-Glas** aufsetzt, einen 5 cm Rundfilter (Schleicher & Schüll Nr. 587 E). Grobporige Filter sind zu vermeiden, weil hierdurch unrichtige Resultate bewirkt werden! Auch soll der Filter nicht größeren Durchmesser als 5 cm haben, weil er sonst zu viel Lösung schluckt. Die während des Vorbereitens des Filters gereifte Blut-Pikrinsäurelösung wird nun filtriert, wobei darauf zu achten ist, möglichst viel Filtrat zu gewinnen. Die gewonnene Menge des Filtrates wird an der Graduierung des Reag.-Glases abgelesen und ihm dann **genau der zehnte Teil dieser Menge an 20%iger Natronlauge** zugesetzt. Hierzu benutzt man eine 0,2 ccm-Blutzuckerpipette. Man zieht die NaOH-Lösung bis zur Marke von 0,2 ccm auf, setzt die Spitze der Pipette an die Innenwand des Reag.-Glases und läßt die notwendige Menge an Lösung in das Reag.-Glas einlaufen. Dieses wird dann nach kurzem Schütteln in ein vorbereitetes Wasserbad von  $100^{\circ}$  C gestellt und unter Bedeckung des Wasserbades **genau fünf Minuten** lang gekocht (Sanduhr!). Nach fünf Minuten wird das Reag.-Glas aus dem Wasserbad entnommen und sofort unter der Wasserleitung abgekühlt. Die so vorbereitete Lösung wird nun in das Vierkantröhrchen gekippt. Dabei ist darauf zu achten, daß das im Oberteil des Reag.-Glases abgesetzte Kondenswasser der Lösung wieder beigemischt wird. Nach Einsetzen des Vierkantröhrchens in die rechte Öffnung des Apparates wird kolorimetriert. Eine wesentliche

Reagenzglas 5 Min. (Sanduhr) in bereits kochendes Wasserbad stellen!

(Sonst fehlerhafte Resultate!)

Änderung der Lösung tritt während der ersten 30 Minuten nicht mehr ein. Die abgelesenen Werte geben den Blutzuckergehalt in mg-Prozenten an.

Doppelbestimmung mit Ansetzen von zwei Proben vom gleichen Serum erhöht die Genauigkeit. Um auch höhere Blutzuckerwerte genau bestimmen zu können, wird empfohlen, die zweite Probe mit 1,9 ccm dest. Wasser und 0,1 ccm Blut anzusetzen. Die abgelesenen Werte müssen dann verdoppelt werden.

### III. Bestimmung des Liquorzuckers.

Die Bestimmung des Liquorzuckers wird in gleicher Weise wie die des Blutzuckers vorgenommen, man nimmt jedoch, um sichere Resultate zu erhalten, die dreifache Liquormenge und dividiert dann die erhaltenen Werte durch 3. Man pipettiert also in ein Reag.-Glas 1,4 ccm dest. Wasser und dazu 0,6 ccm Liquor. Dann gibt man 1 ccm Pikrinsäure (1,2%ig) zu, filtriert, versetzt mit  $\frac{1}{10}$  Natronlauge, kocht, kolorimetriert und teilt die abgelesenen Werte durch 3.

Doppelbestimmung ist zur Erhöhung der Genauigkeit empfehlenswert.

### IV. Harnzuckerbestimmung.

Man setzt zunächst ein Wasserbad zum Kochen auf. Inzwischen gießt man Urin durch ein kleines Kohlefilter. Diesen filtrierten Urin füllt man in das beigegebene Kochglas bis zur Marke U, ergänzt mit 8%iger NaOH bis zur Marke R, setzt den Stopfen mit der ihn durchbohrenden Glaskapillare auf und schüttelt gut durch, gießt davon etwa 1 ccm in das eine Vierkantröhrchen und setzt dieses in die rechte Öffnung des Objektivsockels ein. Es dient zur Ausschaltung der Eigenfarbe des Harns. Dann kocht man das Reaktionsgemisch bei aufgesetztem Stopfen, der das Hinausspritzen von Urin verhindert, genau fünf Minuten, d. h. das Reagenzglas muß fünf Minuten in dem kochenden Wasserbad stehen, und kühlt dann in kaltem oder fließendem Wasser ab. Bilden sich Niederschläge, so läßt man diese sich absetzen. Nun füllt man von dem abgekühlten Gemisch etwa 1 ccm in das andere Vierkantröhrchen, schiebt dieses in die linke Öffnung des Objektivsockels, stellt den Apparat auf Farbgleichheit ein und liest den erhaltenen Prozentwert im Fenster ab. Erweist sich das Reaktionsgemisch dunkler als der Wert von 4,5 %, so wechselt man das rechte Vierkantröhrchen gegen den Verstärkerstab aus und stellt nun auf Farbgleichheit ein. Es geben dann die Werte im Fenster die aus folgender Tabelle zu entnehmenden Harnzuckerwerte an:

Nach Vorschaltung des farbigen Verstärkerstabes ist die Zahl:

im Fenster	Harnzucker in %	im Fenster	Harnzucker in %
0.25	4.75	2.5	6.0
0.5	5.0	3.0	6.25
1.0	5.25	3.5	6.5
1.5	5.5	4.0	7.0
2.0	5.75	4.5	7.5

(Bei Bruch des mitgelieferten Kochglases kann man auch ein gewöhnliches Reagenzglas verwenden, mischt in demselben die gleiche Menge von Harn und NaOH und stellt das Reagenzglas in das Wasserbad.) Eiweißhaltige Harne soll man vor der Untersuchung enteiweißen, indem man 10 ccm Harn mit 1 ccm 3%iger Essigsäure versetzt, kocht und filtriert. Der im Filtrat bestimmte Zwischenwert ist entsprechend der Verdünnung mit  $\frac{11}{10}$  zu multiplizieren.

Kochglas UR genau 5 Min. (Sanduhr) in bereits kochendes Wasserbad stellen. (Sonst fehlerhafte Resultate!)