

Een nieuwe hemoglobinometer, werkend volgens de cyaanhemoglobinemethode

DOOR K. H. NOORDHOFF*

Sinds kort is in Nederland een foto-electrische hemoglobinometer Atago ** verkrijgbaar van Japanse makelij, welke, evenals de bij vele ziekenhuis- en huisartsenlaboratoria in gebruik zijnde apparaten, werkt met de zogenaamde cyaanhemoglobine (= HiCN = cyaanmethemoglobine = hemoglobinecyanide) -methode. Bij de meeste apparaten welke thans bij de huisarts in gebruik zijn, zet men eerst de in het bloedmonster aanwezige hemoglobinederivaten zo goed mogelijk om in een doorzichtige oplossing (zuur hematine bij de Sahli-methode, gereduceerd hemoglobine bij de Sicca, oxyhemoglobine bij de Spencer), en vergelijkt dan de kleur van de oplossing met een bij het apparaat behorende standaardkleur. Bezwaren van deze methode zijn, dat de omzetting niet van alle fracties even snel en even volledig plaatsvindt, dat subjectieve factoren een rol spelen bij de interpretatie van de kleurverschillen, en tenslotte dat het niet mogelijk is een voldoende stabiele, gestandaardiseerde oplossing van deze stoffen te bereiden, die voor ijking van de apparaten zou kunnen worden gebruikt.

Bij de volgens de cyaanhemoglobine-methode werkende meters (de bekendste zijn de „Vitatron” HbF 100 en HbF 200) zijn deze bezwaren ondervangen: er vindt volledige omzetting plaats van alle normaal aanwezige hemoglobine-fracties in HiCN, de meting wordt verricht met een foto-elektrische colorimeter en er is een internationaal gestandaardiseerde ijkvloeistof beschikbaar. Daar staat tegenover dat de methode iets omslachtiger is (zij vereist zo exact mogelijk pipetteren van de hoeveelheden bloed en reagens), terwijl de apparaten prijzig *** zijn.

De bepaling van het hemoglobinegehalte met de Atago gaat, in het kort ****, aldus: men meet 5,0 ml reagens ***** af in één van de bij het apparaat

Samenvatting. Een sinds kort in Nederland verkrijgbare hemoglobinometer van Japans fabrikaat, werkend met de gestandaardiseerde HiCN-methode en voorzien van een seleniumcel en een direct in g% aanwijzende meter, wordt besproken. De resultaten van beproeving en van vergelijking met een reeds langer leverbaar apparaat worden meegedeeld. Enige voor- en nadelen ten opzichte van de meest gebruikelijke, op kleurvergelijking berustende methoden worden vermeld.

geleverde glazen buisjes. Dit gaat snel en gemakkelijk met een zogenaamde citopipette * welke op een bruine voorraadfles met reagens is geplaatst (*figuur 1*). Vervolgens ontneemt men de patiënt met behulp van een Sahli-pipetje 0,02 ml capillair bloed, blaast dit uit in het buisje met reagens en mengt. De vloeistof moet vervolgens minstens 3 minuten staan om het reagens in staat te stellen de erytrocyten te doen barsten en de aanwezige hemoglobines om te zetten in cyaanhemoglobine. Wanneer dit is gebeurd, behoudt de oplossing, mits niet aan fel licht (zonlicht) blootgesteld, gedurende vele uren zijn optische kwaliteiten, zodat men desgewenst bijvoorbeeld na het spreekuur alle bepalingen achterenvolgens kan doen.

De Atago heeft een opwarmtijd van vijf minuten. Er is echter geen bezwaar tegen het apparaat lange tijd, bijvoorbeeld tijdens het spreekuur, ingeschakeld te laten staan. Alvorens een bepaling of serie bepalingen te verrichten, controleert men of de wijzer zuiver op de 0 van de schaalverdeling staat, en regelt zonodig bij met een daartoe bestemde instelknop. Daarna steekt men het buisje met cyaanhemoglobine-oplossing in een opening boven in het toestel en men kan onmiddellijk het hemoglobinegehalte aflezen in gramprocent. Ijking vindt gemakkelijk plaats met behulp van een door het R.I.V. geleverde HiCN ijkvloeistof. **

Het principe van het apparaat is eenvoudig: een gloeilamp werpt via een filter, dat selectief een golflengte van 540 nm doorlaat, en via de buis met

* Huisarts aan de afdeling Huisartsgeneeskunde van de Rijksuniversiteit te Groningen. Hoofd: Prof. Dr. K. J. van Deen.

** Importeur Lode's Instrumenten N.V., Damsterkade 5, Groningen.

*** Prijzen: Sicca f 147,84; A.O. Spencer f 330,—; Atago f 481,60; Vitatron f 1100,—; (Alle prijzen inclusief 12% B.T.W.)

**** Een uitvoerige gebruiksaanwijzing wordt bij het apparaat geleverd.

***** Samenstelling reagens: $K_3Fe(CN)_6$ 0,200; KCN 0,050; KH_2PO_4 0,140; Sterox (geconc.) 0,5 ml en Aqua dest. ad 1000 ml. Apotheekhoudende collegae kunnen dit gemakkelijk en goedkoop bereiden. Bij levering via een apotheek overleggen met de apotheker, de kosten kunnen dan namelijk tegenvallen!

* Citopipette volgens Bühler, leverancier: n.v. Verenigde Instrumentenhandel v/h G. B. Salm en P. J. Kipp & Zn. Keizersgracht 642. Amsterdam-C. Prijs inclusief fles f 100,80 (inclusief 12% B.T.W.)

** R.I.V. prijscourant nr. 8001, 6 flacons à 10 ml metrubberdop, prijs f 14,—.

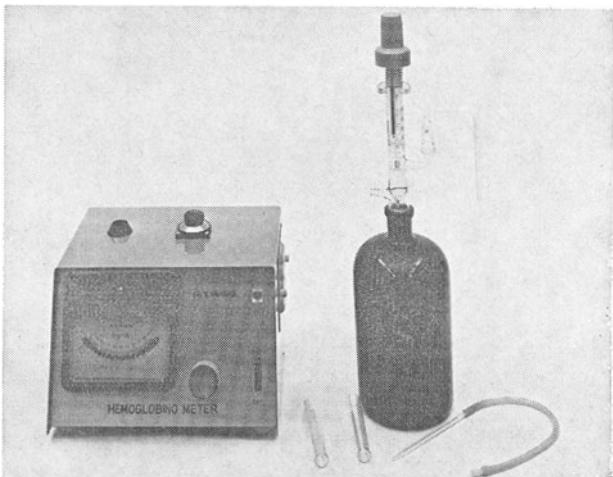
de te meten oplossing, licht op een seleniumcel. De door deze cel geproduceerde stroomsterkte is afhankelijk van de hoeveelheid licht welke de oplossing kan passeren (extinctie). Aangezien de optische dichtheid van de oplossing in kwestie wordt bepaald door de concentratie van de aanwezige HiCN (wet van Lambert-Beer)*, hangt ook de stroomsterkte af van die concentratie en is het bijgevolg mogelijk op de ampèremeter een schaalverdeling aan te brengen, afleesbaar in grammen hemoglobine per 100 ml.

De Atago hemoglobinemeter werd op de afdeeling huisartsgeneeskunde van de R.U. te Groningen gedurende enige maanden beproefd. Onder andere werden 83 opeenvolgende hemoglobinemetingen in duplo verricht met de Atago en de Vitatron welke voordien in de praktijk in gebruik was. De bepalingen werden grotendeels door de praktijkassistent verricht, waarbij hetzelfde monster eerst in de Atago werd bepaald en daarna in de Vitatron. De mate van overeenstemming kan men uit de grafiek (*figuur 2*) aflezen.

De schalen van beide apparaten zijn, in het gebruikelijke traject, verdeeld tot 0,5 g%. Bij aflezing werd geschat op 0,1 g%. De grafiek werd opgesteld, uitgaande van de veronderstelling dat de waarden van de Vitatron de juiste waren. Bij de 83 bepalingen werd zeven maal geen verschil in uitkomst gevonden, 41 maal wees de Atago een lagere waarde aan dan de Vitatron (gemiddelde afwijking 0,27 g%), 35 maal een hogere (gemiddelde afwijking 0,31 g%). Bij 74 van de 83 bepalingen was het verschil in uitkomsten kleiner dan of gelijk aan 0,5 g%. De verdeling van positieve en

* Wet van Lambert-Beer: $D = E \cdot c \cdot d$, waarbij D = optische dichtheid; E = milliamolaire extinctiecoëfficiënt; c = concentratie in m.mol./l; d = dikte van de laag. Aangezien E en d constant zijn (E is een onveranderlijke grootheid en d ligt vast door de afmeting van de gebruikte cuvette) wordt D bepaald door c .

Figuur 1. De „Atago” hemoglobinemeter. Rechts een bruine voorraadfles met reagens, voorzien van een „citopipet”.



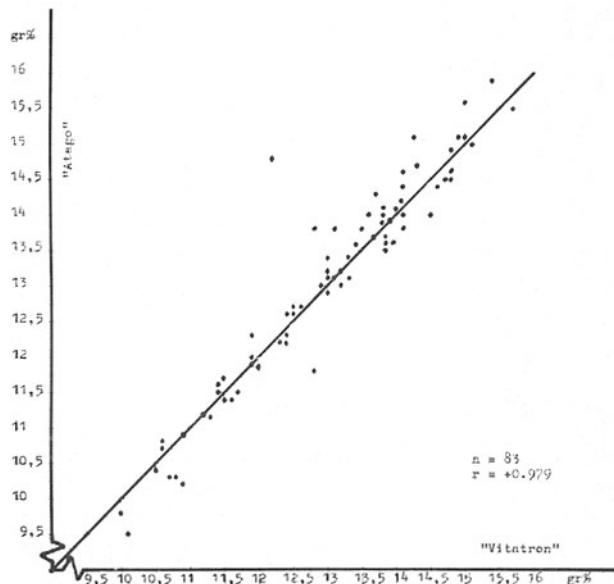
negatieve verschillen over het gebruikte traject is gelijkmataig. Statistische berekening (collega R. J. Bronts) levert een duidelijke positieve correlatie op ($r = +0,979$). Voorts werden enkele bepalingen met extreem hoge (24,5 g%) en extreem lage (5,6 g%) waarden gedaan: de verschillen tussen beide apparaten waren hierbij nooit groter dan 0,5 g%.

Ook werd de aan het apparaat toegevoerde netspanning gevarieerd, waarbij bleek dat een verhoging of verlaging van de netspanning met 10 procent weinig invloed had op het meetresultaat: de variatie in de uitkomsten bedroeg minder dan 0,2 g%. Als het apparaat lange tijd staat ingeschakeld, wordt nogal wat warmte ontwikkeld. Om na te gaan of dit van invloed is op de metingen, werd het apparaat dertig uur onafgebroken ingeschakeld gelaten; de aflezingen gedurende dit tijdsverloop verschilden nooit meer dan 0,3 g% met de uitgangswaarde.

De afmetingen van het toestel zijn 16 bij 24 bij 21 cm; het weegt 4,9 kg en is eenvoudig en strak van vormgeving. Een oordeel over de kwaliteit van het inwendige is moeilijk; enige electronisch onderlegden noemden de constructie degelijk en robuust. Het prijsverschil met bijvoorbeeld de Vitatron zit waarschijnlijk voor een groot deel in de seleniumcel, die goedkoper is dan een fotocel (maar ook eerder „verloopt”), terwijl de grote lichtsterkte van de gloeilamp en de hoge „output” van de cel een kostbaar versterker-deel overbodig maken. Het apparaat heeft tijdens het gebruik alhier (maart-september 1969) geen defecten vertoond. De assistente had voorkeur voor de Atago, omdat deze eenvoudiger is te bedienen dan de Vitatron.

Voor degenen die mochten overwegen voor hun hemoglobinebepalingen op de hier vermelde methode over te gaan, volgen hier in het kort de voor-

Figuur 2. Uitkomsten verkregen met de Atago en met de Vitatron.



en nadelen, vergeleken met toestellen als de Sicca en A.O. Spencer.

Voordelen: Direct afleesbaar in g%, geen subjectieve beoordeling kleurnuances; eenvoudig zelf te ijsken; grotere nauwkeurigheid.

Nadelen: Duurder; nauwkeurig afmeten van bloed en reagens vereist; meer tijd nodig: bloed-reagens mengsel moet drie minuten staan; apparaat kan niet bij de patiënt thuis worden gebruikt. (desgewenst kan wel een buisje met reagens worden meegenomen, (rubber stoppen zijn bijgeleverd); reagens moet geregeld (eens per twee weken) worden vervaard.

Doorschlaggevend zal over het algemeen zijn of men een zodanig grote behoefte heeft aan nauwkeuriger uitkomsten, dat men de bezwaren er voor over heeft. In plaatsen met een goed geoutilleerd huisartsenlaboratorium zal deze behoefte zeer veel geringer zijn dan daar, waar een dergelijke voorziening afwezig is of voor de patiënt moeilijk bereikbaar. Een vergelijkend onderzoek naar de be-

rouwbaarheid van een drietal apparaten (Sicca, A.O. Spencer en Atago) wordt op het ogenblik voorbereid. Het is de bedoeling de uitkomsten van dit onderzoek te zijner tijd te publiceren.

Summary. A new haemoglobinphotometer, working on the principle of hemiglobincyanide-determination, made in Japan, is available in the Netherlands now. The instrument is discussed; the results of a trial are given. It is suggested that a photometer of this type may prove useful to those general practitioners who do not have professional laboratory facilities within their reach.

Donath, W. F., e.a. De betrouwbaarheid van hemoglobine-bepalingen volgens Sahli, Sicca en Tallquist (1956) Ned. T. Geneesk. 100, 3508.

Kampen, E. J. van en W. G. Zijlstra. Standaardisatie van hemoglobinometrie. (1962) Ned. T. Geneesk. 106, 2101-2107.

Elwood, P. C. en A. Jacobs. Haemoglobin estimation; A comparison of different techniques (1966). Brit. med. J. I, 20-24.

Tip voor de huisarts. (1967) huisarts en wetenschap 10, 233.

Zijlstra, W. G., E. J. van Kampen en O. W. van Assendelft. Standardization of haemoglobinometry. (1969) Proc. kon. ned. Akad. Wet. series C, 231.

Enkele methodische problemen bij het geneesmiddelenonderzoek in de huisartspraktijk*

DOOR DR. J. D. MULDER, HUISARTS TE NOORDWIJK AAN ZEE

De uitspraak van Voltaire: „Een arts is iemand, die geneesmiddelen waarvan hij weinig weet, geeft in een lichaam waarvan hij nog minder weet, voor ziekten waarvan hij in het geheel niets weet”, is een uitdaging welke iedere arts die geneesmiddelen-onderzoek wil verrichten, voor ogen moet houden.

In dit artikel worden de problemen van het geneesmiddelenonderzoek als onderdeel van een groter onderzoek, zoals dat bij de onderzoeken van het Nederlands Huisartsen Genootschap (N.H.G.) over abortus en tonsillitis is gedaan, niet besproken. Ekker en medewerkers (1969) hebben onlangs de problemen en ervaringen, opgedaan tijdens de grote N.H.G.-onderzoeken, beschreven.

Zoals bij elk wetenschappelijk onderzoek moet men bij het geneesmiddelenonderzoek beginnen met een literatuurstudie onder andere om de vraag te beantwoorden of elders in binnen- of buitenland dit geneesmiddel reeds werd onderzocht en of het nuttig is dit onderzoek te herhalen of aan te vullen. Naar aanleiding hiervan zal de reeds tevoren vastgestelde vraagstelling scherper kunnen worden geformuleerd. Reeds in deze fase moet de statisticus in het gesprek worden betrokken.

Vervolgens moet de vraag worden gesteld door wie en in welke situatie dit geneesmiddel het beste kan worden onderzocht. Met betrekking tot dit punt zullen enkele voorbeelden worden gegeven.

A. Een slaapmiddelenonderzoek in de huisartspraktijk kan alleen met behulp van subjectieve controle geschieden, daar de patiënt zelf moet aangeven hoe hij heeft geslapen. Een soortgelijk onderzoek in een ziekenhuis is onjuist wanneer geen strenge selectie wordt toegepast, daar de patiënt hier in een zo abnormale, vaak angstaanjagende situatie verkeert, dat hij geen „stabiele” slaapstoornis heeft. Een betere situatie wordt gevonden in een verpleeg- of verzorgingshuis waar nachtelijke supervisie mogelijk is.

B. Een wormmiddel kan alleen in een gesloten kindergemeenschap met zo min mogelijk externe contacten, bijvoorbeeld een kolonietehuis, adequaat worden onderzocht. Overal elders is de kans op hernieuwde besmettingen met wormeieren veel groter.

Met beide voorbeelden wordt alleen aangegeven dat het van de vraagstelling zal afhangen op welke onderzoeksituatie de keus zal vallen.

Gelijkzeitig moet men zich afvragen of het onderzoek beslist in de huisartspraktijk moet worden

* Voordracht, gehouden tijdens het veertiende N.H.G.-congres, november 1969 te Amsterdam.