

WŁADYSŁAW BARNECKI

ZASTOSOWANIE SPOSOBU KLISIECKIEGO  
POMIARU GAZÓW KRWI DO OZNACZANIA REZERWY  
ALKALICZNEJ

Katedra Fizjopatologii Wydziału Weterynaryjnego W. S. R. we Wrocławiu  
Kierownik: zast. prof. dr Wł. Barnecki

W oparciu o podany przez *Klisieckiego* uproszczony sposób pomiaru gazów krwi, przeprowadzono badania rezerwy alkalicznej krwi u zwierząt. Równocześnie i na tym samym materiale wykonano pomiary rezerwy alkalicznej przy użyciu przyrządu objętościowego według van Slyke'a. Praca miała na celu zorientowanie się czy sposób Klisieckiego nadaje się do oznaczania rezerwy alkalicznej krwi i jakie są różnice między wynikami uzyskanymi przy pomocy przyrządu Klisieckiego oraz przyrządu van Slyke'a.

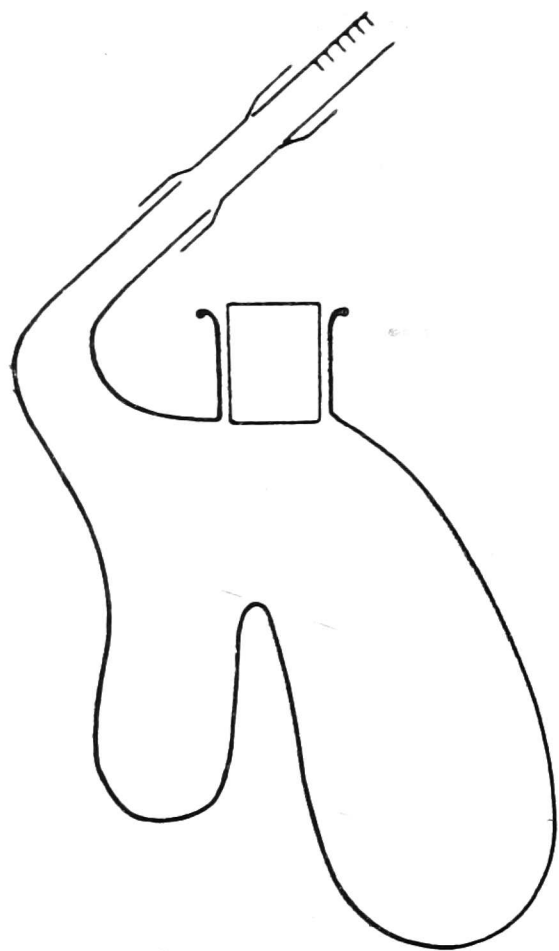
MATERIALY I METODYKA

Osocze do badań uzyskiwano z kilkunastu mililitrów krwi, którą wprowadzano do probówek wirówkowych, zawierających roztwór szczawianu potasu i fluorku sodu w ilości 2 mg szczawianu i 1 mg fluorku na 1 ml krwi, silnie wstrząsano i wirowano. Roztwór szczawianu potasu i fluorku sodu (wolny od CO<sub>2</sub>), podobnie jak inne odczynniki tj. 1% roztwór amoniaku (wolny od CO<sub>2</sub>), mniej więcej normalny kwas mlekowy przygotowywano w sposób podany przez *Charłampowicz-Laszczkową*. Dalsze używane odczynniki: 10% roztwór kwasu siarkowego i alkohol n-oktylowy I-rzędowy. Do badań sposobem Klisieckiego używano nowej komory uproszczonej przez Klisieckiego służącej do wypierania gazów chemicznie związanych z krwią (ryc. 1). Komora ta zamykana jest korkiem gumowym, również poziomo ustawiona pipeta połączona jest z komorą za pośrednictwem gumowej grubościenniej rurki. Przy oznaczaniu rezerwy alkalicznej należy używać 1-mililitrowej, długiej, grubościenniej pipety o możliwie małej średnicy, im bowiem mniejsza średnica i dłuższa pipeta tym dokładniejszy jest pomiar.

W urządzeniu tym jak widać wyeliminowano wszelkie korki szklane i szlify, co daje znaczne obniżenie ceny samej komory, a przede wszyst-

kim uniemożliwia przenikanie gazów przez niezbyt dokładnie sporządzone szlify. W związku z tą modyfikacją pozostaje konieczność odpowiedniego postępowania.

Do zagłębień komory wprowadza się za pomocą strzykawek i długich kaniul 1 ml 1% amoniaku i 0,5 ml 10%  $H_2SO_4$ . Następnie pipetą miarową (do której dołączono krótką rurkę gumową z igłą) pobiera się z urządzenia



służącego do wysycania osocza dwutlenkiem węgla pod ciśnieniem 40 mm Hg — 1 ml osocza i wprowadza pod amoniak. Ostrożnie łączy się komorę z pipetą zawierającą kroplę alkoholu denaturowanego, zamyka szczelnie komorę korkiem gumowym i w przewód łączący komorę z poziomo ustawioną pipetą wkłuwą cienką igłę (nr 2). Następnie pipetę ujmuje się w dłoń (poza skalą) i wraz z przymocowaną do niej komorą przenosi na łaźnię wodną. Po zrównaniu temperatury komory z temperaturą łaźni wodnej, przez odpowiednie nachylenie pipety sprowadza się znajdującą się w niej kroplę alkoholu możliwie najbliżej komory i wyjmuje igłę tkwiącą dotąd w przewodzie łączącym pipetę z komorą. Teraz odczytuje się położenie kropli (menisk dokomorowy) w pipecie, a następnie obracając pipetę o  $90^\circ$  przelewa kwas siarkowy do zagłębienia zawierającego osocze. Po chwili kropla w pipecie zaczyna powoli przesuwać się. Obracanie zanurzonej w wodzie komory i lekkie wstrząsanie ułatwia to przesuwanie się, które trwa kilka minut. Dalsze postępowanie jest analogiczne do podanego przez Klisieckiego. Z różnicy między położeniem początkowym, a końcowym menisku dokomorowego kropli znajdującej się w pipecie, oblicza się ilość gazu wypartego z osocza. Wszystkie pomiary przeprowadzano przy użyciu komór o pojemności 10 ml.

Ryc. 1. Komora uproszczona przez Klisieckiego służąca do wypierania gazów chemicznie związanych z krwią.

Fig. 1. The chamber simplified by Klisiecki for displacing gases chemically combined with blood.

Pomiar rezerwy alkalicznej przy pomocy przyrządu objętościowego v. Slyke'a wykonywano wg *Charłampowicz-Laszczkowej*. Co kilkanaście oznaczeń, celem kontroli odczynników i aparatury wykonywano tzw. ślepa próbę, która stale była ujemna.

## OBLICZANIE WYNIKÓW POMIARÓW

Wyniki pomiarów uzyskane sposobem Klisieckiego obliczano wg wzoru podanego w pracy *Klisieckiego*:

$$V_o = V_t \times \frac{273}{273 + t} \times \frac{P - p}{760}$$

Użycie tego wzoru umożliwia obliczenie współczynnika redukcji objętości gazu idealnego dla 0° C, 760 mm Hg i suchości. Dla znalezienia tego współczynnika można również posłużyć się ogólnie przyjętymi tabelami. Wystarczy wówczas pomnożyć znaleziony współczynnik, odpowiadający temperaturze i ciśnieniu w czasie pomiaru, przez ilość ml wypartego gazu i przez 100, aby uzyskać wielkość rezerwy alkalicznej w badanej krwi.

Wyniki uzyskane przy użyciu przyrządu objętościowego wg v. Slyke'a obliczono za pomocą tabel przez niego podanych.

Pomiary rezerwy alkalicznej wykonano u 37 zwierząt (głównie u koni) przy czym dla dokładniejszego określenia błędu pomiaru, osocze każdego zwierzęcia było badane dwu lub trzykrotnie sposobem Klisieckiego i dwu lub trzykrotnie przyrządem objętościowym v. Slyke'a. Łącznie dla każdej z metod wykonano po 95 oznaczeń.

Uzyskany materiał liczbowy opracowano statystycznie\*. Przy pomocy analizy wariancji znaleziono średni błąd średniego pomiaru  $\mu_1$  dla jednego zwierzęcia wewnątrz grup powtórzeniowych:  $\mu_1 = 0,40$ . Błąd ten w stosunku do średniej jest mały.

Dla porównania wyników średnich obu metod należy zwrócić uwagę również na błąd samych metod. Ponieważ między porównywanymi metodami pomiarowymi dokonywanymi na tym samym zwierzęciu istnieje odpowiedniość — należy przypuszczać, że rezultaty pomiarów są zależne od badanego zwierzęcia. Aby wyeliminować wpływ tej zależności i móc porównywać wynik według ich istotnych cech, zbadano różnice odpowiadających sobie liczb. Po obliczeniu zmienności tych różnic wokół ich wspólnej średniej, znaleziono błąd, który wraz z poprzednio obliczonym daje w sumie błąd średni różnicy średnich. Różnica średnich pomiędzy obu metodami wynosi 9,4, a jej błąd średni pojedynczego pomiaru  $\mu_2 = \pm 3,9$ . Na podstawie powyższych obliczeń okazuje się, że jeżeli do średniej pomiarów rezerwy alkalicznej metodą Klisieckiego doda się  $9,4 \pm 3,9$  to powinno się otrzymać przybliżoną wartość znalezioną metodą v. Slyke'a.

Między obu metodami istnieje również silna zależność korelacyjna, bowiem współczynnik korelacji  $r = 0,915$ , a współczynnik regresji  $a = 1,28$ . Równanie regresji ma postać:

$$y = 1,28 x - 3,45$$

\* Za pomoc w opracowaniu statystycznym składam podziękowanie mgr *Mieczysławowi Prażakowi* z Katedry Matematyki W. S. R. — Wrocław. (Kier.: doc. dr *Rudolf Hohenberg*).

Tabela 1. Wielkości rezerwy alkalicznej krwi oznaczone metodami Klisieckiego i v. Slyke'a (dla 0°C i 760 mm Hg)

Table 1. Alkaline reserve as determined by the methods of Klisiecki and v. Slyke (vor 0°C. and 760 mm Hg)

Nr	Rezerwa alkaliczna według metody		Różnica średnich 2)	Nr	Rezerwa alkaliczna według metody		Różnica średnich 2)
	Klisieckiego	v. Slyke'a 1)			Klisieckiego	v. Slyke'a	
1	33	42	9,0	14	58	65	7,3
	34	43			56	64	
2	55	66	11,0	15	57	64	8,6
	56	67			40	50	
	55	66			42	50	
3	55	68	13,0	16	42	50	10,3
	54	67			53	63	
	55	68			52	63	
4	45	56	10,3	17	53	63	9,0
	46	57			42	51	
	47	56			42	51	
5	50	58	8,6	18	41	50	9,3
	51	60			56	65	
	51	60			56	65	
6	55	66	11,5	19	55	65	9,0
	54	66			45	54	
7	47	60	13,0	20	44	53	12,0
	48	61			45	54	
	47	60			51	63	
8	48	61	12,6	21	52	64	11,6
	48	61			51	63	
	49	61			46	57	
9	42	58	16,0	22	47	59	5,0
	43	59			47	59	
	43	59			42	47	
10	48	63	14,6	23	42	47	2,0
	49	64			41	46	
	50	64			37	39	
11	48	64	16,0	24	38	40	4,0
	47	63			37	39	
	48	64			39	44	
12	43	57	12,6	25	40	43	9,0
	44	56			50	59	
	44	56			51	60	
13	46	57	11,3	26	41	45	4,0
	46	58			42	46	
	47	58			39	45	
				27	40	46	6,0

Nr	Rezerwa alkaliczna według metody		Różnica średnich	Nr	Rezerwa alkaliczna według metody		Różnica średnich
	Klisieckiego	v. Slyke'a			Klisieckiego	v. Slyke'a	
28	38	39	0,5	33	47	56	8,5
	40	40			49	57	
29	42	50	8,0	34	45	56	10,5
	43	51			46	56	
30	43	42	1,0	35	45	56	10,5
	44	43			46	56	
31	27	30	3,0	36	40	52	12,0
	28	31			41	53	
32	49	57	8,0	37	43	53	9,5
	50	58			45	54	

Alkaline reserve as determined by Klisiecki's and v. Slyke's methods 1); Difference between means 2).

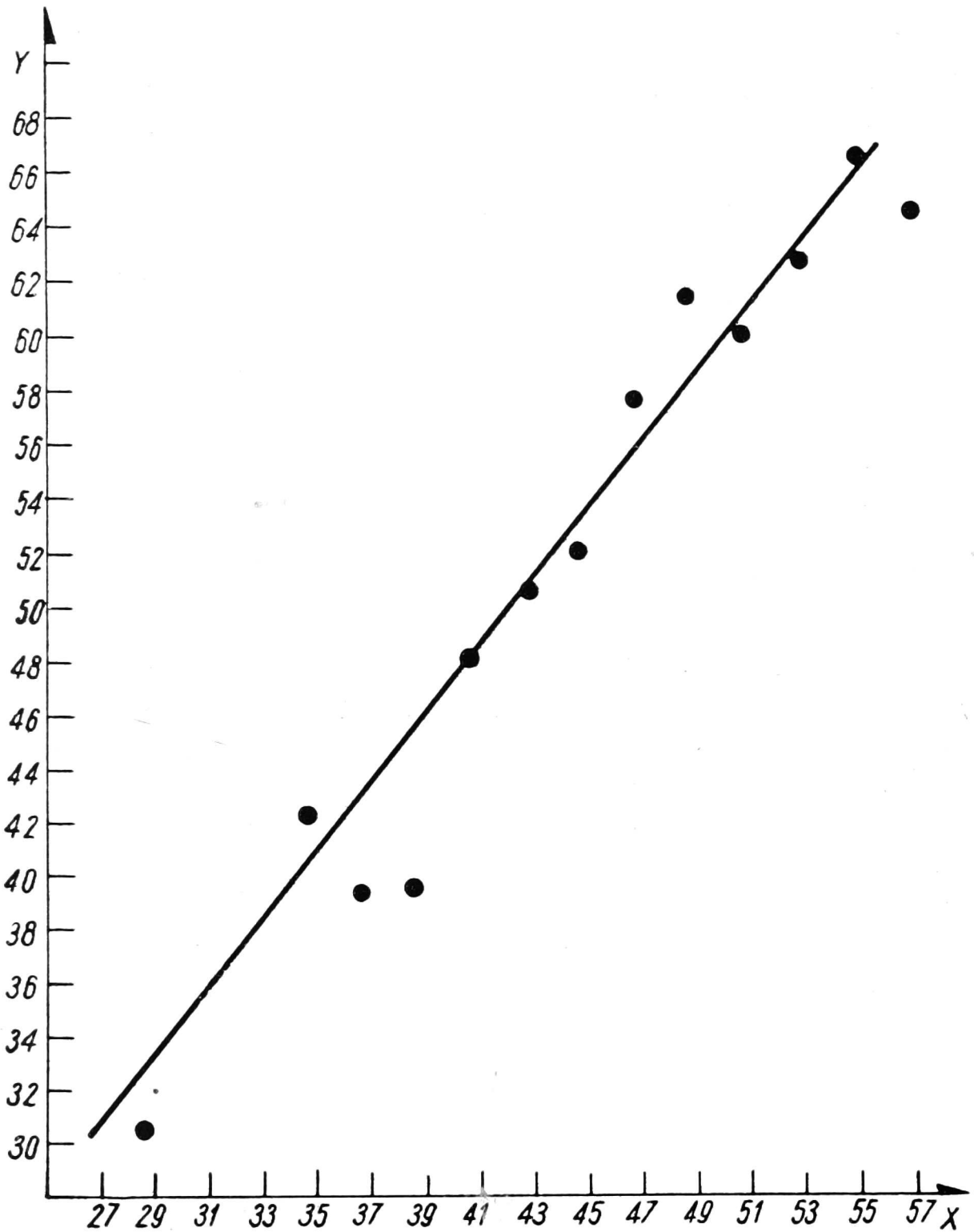
W równaniu tym zmienna  $x$  oznacza wynik pomiaru sposobem *Klisieckiego*,  $y$  — teoretyczny wynik pomiaru metodą *v. Slyke'a*. Z równania powyższego widoczne jest, że przyrost  $y$  na jednostkę  $x$  wynosi średnio 1,28. Ilustracją dużej zgodności między wykresem prostej regresji  $y = 1,28x - 3,45$ , a punktami regresji jest również ryc. 2, która przedstawia zależność korelacyjną między średnimi pomiarów rezerwy alkalicznej metodą *Klisieckiego* —  $x$ , i metodą *v. Slyke'a* —  $y$ .

Ponieważ współczynnik korelacji wskazuje na silną zależność między obu metodami należy raczej korzystać z równania regresji, podstawiając w nim empirycznie znalezione wartości  $x$ . W ten sposób na osi  $y$  otrzyma się wartości bardzo zbliżone do wyników uzyskiwanych objętościową metodą *v. Slyke'a*.

W zakończeniu należy podkreślić cechę charakterystyczną dla sposobu *Klisieckiego* — tj. dokonywanie pomiaru gazów krwi w warunkach możliwie najbardziej zbliżonych do fizjologicznych. W metodzie *v. Slyke'a* wyzwolenie gazów krwi odbywa się w próżni i część z nich na pewno nie ma żadnego znaczenia dla wielkości rezerwy alkalicznej. Sposób *Klisieckiego* umożliwia określenie rezerwy alkalicznej takiej, którą ustrój może rzeczywiście dysponować w zwykłych warunkach ciśnieniowych.

#### WNIOSKI

1. Sposób *Klisieckiego* oznaczania gazów krwi może być używany do oznaczania rezerwy alkalicznej, przy czym prostota używanej aparatury jest szczególną jego zaletą.



Ryc. 2. Zależność korelacyjna pomiędzy średnimi pomiarów rezerwy alkalicznej metodą Klisieckiego —  $x$  i metodą v. Slyke'a —  $y$ .

Fig. 2. Correlation between mean results of alkaline-reserve determinations as obtained by the methods of Klisiecki ( $x$ ) and v. Slyke ( $y$ ).

2. Różnica między wynikami oznaczeń rezerwy alkalicznej krwi otrzymanymi sposobem Klisieckiego ( $x$ ), a metodą v. Slyke'a ( $y$ ) wynosi dla komory 10 mililitrowej  $9,4 \pm 3,9$  i o tę wartość należałoby każdorazowo powiększać wynik uzyskany sposobem Klisieckiego. Jeszcze dokładniejsze zbliżenie do wyników metody v. Slyke'a można uzyskać przy pomocy równania regresji  $y = 1,28 x - 3,45$ .

*В. Барнецки*

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КЛИСЕЦКОГО ПРИ ИЗМЕРЕНИИ ГАЗОВ КРОВИ ДЛЯ  
ОБОЗНАЧЕНИЯ АЛКАЛИЧЕСКОГО РЕЗЕРВА

*Содержание*

1. Метод Клисецкого измерения газов может быть применяем при обозначении алкалического резерва, причём простота употребляемой аппаратуры является его особенным достоинством.

2. Разница между результатами обозначений алкалического резерва крови по методу Клисецкого ( $x$ ), а по методу van Slyke'a ( $y$ ) даёт в итоге для 10-миллилитровой коморы  $9,4 \pm 3,9$  и следовало бы в каждом случае добавлять эту стоимость к результатам, полученным по методу Клисецкого. При помощи формулы регрессии  $y = 1,28x - 3,45$  можно ещё более приблизиться к результатам метода van Slyke'a.

*Wł. Barnecki*

THE APPLICATION OF KLISIECKI'S METHOD OF MEASURING OF GASES  
IN BLOOD TO THE DETERMINATION OF ALKALI RESERVE

*Summary*

1. Klisiecki's method of measuring of gases in blood may be applicated for determination of the alkali reserve, and its significant advantage is the simplicity of used apparatus.

2. The difference between the results of determination of alkali reserve in blood received by the use of Klisiecki's method ( $x$ ), and those of v. Slyke' ( $y$ ) for the 10 mm cavity amounts to  $9.4 \pm 3.9$ . This value should be added, at very turn, to the results received by the use of Klisiecki's method. More accurate approach to the results of v. Slyke's method can be obtained by means of a regression's equation:

$$y = 1.28x - 3.45.$$

PIŚMIENNICTWO

1. Klisiecki A.: Acta Physiol. Polon., 1956, 2, 8, 229.
2. Chałampowicz-Łaszczkowa B.: Mikrochemiczne analizy lekarskie krwi i moczu. Kraków 1949, 73—79.
3. Hoppe-Seyler: Thierfelder — Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse — Allgemeine Untersuchungsmethoden. II Teil, 1955, 304.

Otrzymano dnia 31. X. 1959.