

# Kongreß für Laboratoriumsmedizin Wien, 19. bis 23. April 1983

## Plenar-Vorträge

### Der Risikoquotient, ein Hilfsmittel für den interpretativen Laborbericht

H. Keller

Institut für Klinische Chemie und Hämatologie  
des Kantons St. Gallen

Die Möglichkeiten des klinischen Laboratoriums, auf die Indikation von Laboruntersuchungen einzuwirken, sind gering. Deshalb scheint es nützlich, das Interesse auf spezielle diagnostische Probleme zu konzentrieren, d.h. auf solche Krankheiten, bei denen Aspekte der Laboratoriumsdiagnostik im Vordergrund stehen. Hier sollte der Laborbericht mehr sein als eine bloße Kolonne analytischer Daten. Anzustreben ist die Interpretation eines Resultatmusters, das auf einer multivariaten Beurteilung basiert, wobei nicht nur Laborresultate, sondern auch klinische Beobachtungen berücksichtigt sind.

Verschiedene Methoden wurden beschrieben, um dieses Ziel zu erreichen. Unser eigenes Vorgehen (1) basiert auf dem „Bayes' theorem“ und ist mit den Überlegungen von Gerhardt und Olsen (2) und Van der Helm und Hische (3, 4) vergleichbar.

Der Grundgedanke ist folgender:

Wenn durch einen quantitativen klinisch-chemischen Test zwei Populationen („krank“ versus „gesund“) nicht vollständig voneinander getrennt werden, so resultiert eine mehr oder weniger breite Überlappungszone. Durch Einführung einer Entscheidungsschwelle werden „falsch positive“ und „falsch negative“ Resultate in Kauf genommen. Um dies zu vermeiden, kann die Überlappungszone in Klassen eingeteilt werden und das Verhältnis der relativen Frequenzen „Gesunder versus Kranker“ in jeder einzelnen Klasse betrachtet werden. Diese Quotienten bilden – in Abhängigkeit von der Verteilung der Prüfpopulationen – auf- oder absteigende konvexe Kurven, die in einem halblogarithmischen Netz durch Gerade approximiert werden können. Diese „Risikostrahlen“ repräsentieren das dem Testresultat in bezug auf die diagnostische Fragestellung immanente Risiko. An verschiedenen Beispielen wird die Anwendbarkeit dieses Verfahrens dargelegt: Das Risiko einer EPH-Gestose im Vergleich zum Risiko eines Gichtanfalls als Funktion der Serum-Harnsäure (5); das Risiko einer multiplen Sklerose als Funktion des Laurell-Index (6–9). Diese Beispiele sind in der Literatur beschrieben und haben sich in verschiedenen Laboratorien als substantieller Beitrag zur klinischen Diagnostik bewährt.

Das Verfahren ist aber auch auf multidimensionale Probleme anwendbar: Anstatt der einfachen Testklassen werden zwei- oder mehrdimensionale „Risiko-sektoren“ gebildet und in analoger Weise wiederum die Quotienten der relativen Frequenzen in den einzelnen Sektoren ermittelt. Als Beispiel dafür dient die Berechnung des Risikos eines Pankreascarcinoms aus den Konzentrationen von CEA und  $\beta_2$ -Mikroglobulin im Serum (10). Ein vier-parametrisches Beispiel stellt die Risikoberechnung eines primären Hyperparathyroidismus als Funktion von Calcium, Phosphat, Chlorid, und Hämokrit dar. Die diesem Beispiel zugrunde liegende Datenbasis (11) wurde auch mit einer schrittweisen Computer-generierten Diskriminanzanalyse untersucht. Die Ergebnisse dieser Analyse stimmen mit den Berechnungen der Risikoquotienten hervorragend überein, obwohl die zugrunde liegenden mathematischen Überlegungen grundsätzlich unterschiedlich sind.

Zusammenfassend kann festgestellt werden: Die Vielfalt der heute in einem modernen klinischen Labor zur Verfügung stehenden Tests ist auch für den erfahrenen Kliniker nicht mehr überschaubar. Ebenso

wenig kann er Physiologie und Pathologie des Analyts oder die Interpretationsmöglichkeiten von breiten Resultatmustern ständig gegenwärtig haben.

Andererseits ist das Laboratorium in der Lage, dank seiner analytischen Möglichkeiten und seiner Kompetenz auf dem Gebiet der Datenverarbeitung viele spezifische Fragen besser zu beantworten als es auf anderen Wegen möglich ist.

#### Literatur:

1. KELLER, H., GESSNER, U.: Zur Frage der Validität klinisch-chemischer Befunde. Med. Lab. 34, 3–7 u. 31–39 (1981).
2. GERHARDT, W., OLSEN, J. S.: „Predictive values“ versus „odds“ in quantitative diagnostic tests. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 677 (1981).
3. VAN DER HELM, J. J., HISCHE, E. A. H.: Application of Bayes' theorem to results of quantitative clinical chemical determination. Clin. Chem. 25, 985–988 (1979).
4. VAN DER HELM, J. J., HISCHE, E. A. H., BOLHUIS, P. A.: Bayes' theorem and the estimation of the likelihood ratio. Clin. Chem. 28, 1250–1251 (1982).
5. HAECKEL, R., RIEDEL, H., BÜTTNER, J.: Estimation of decision criteria for the uric acid concentration for the early diagnosis of gout. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 173–176 (1981).
6. GAWROT, K., LAURELL, C. B.: Measurement of IgG and Albumin content of cerebrospinal fluid, and its interpretation. Clin. Chem. 20, 571–573 (1974).
7. HISCHE, E. A. H., VAN DER HELM, J. J., VAN WALBECK, K. H.: The cerebrospinal fluid immunoglobulin G index as a diagnostic aid in multiple sclerosis: a Bayesian approach. Clin. Chem. 28, 354–355 (1982).
8. ALBERT, A.: On the use and computation of likelihood ratios in clinical chemistry. Clin. Chem. 28, 1113–1119 (1982).
9. KELLER, H., KESSELING, J., KETZ, E.: Wenigkeit der Liquor-Immun-Globulin-Index-Bestimmung. Soc. Suisse Neurol., Assem. 1982, Bienne.
10. HANNIG, C.: Wenigkeit der Bestimmung von  $\beta_2$ -Mikroglobulin und CEA in der Diagnostik maligner Tumoren unter besonderer Berücksichtigung des Pankreascarcinoms und seiner Abgrenzung gegenüber anderen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes. Dissert. Med. Fakult. München, 1981.
11. LAFFERTY, F. W.: Primary hyperparathyroidism. Arch. Intern. Med. 141, 1761–1766 (1981).

### Endokrinologie der Hypertonie

H. Vetter

Med. Poliklinik, Universität Münster

Die Verbindungen zwischen Endokrinologie und Hypertonie sind vielfältig. So greifen sowohl das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System als auch Kalikrein und Prostaglandine sowie Neuropeptide in die normale Kreislaufregulation ein; inwieweit ihnen allerdings in der primären Hypertonie eine Bedeutung zukommt, ist umstritten und oftmals spekulativ.

Eindeutig pathogenetische Zusammenhänge zwischen Hochdruck und Endokrinologie bestehen bei einem Teil der sekundären und hier insbesondere bei den sog. adrenalen Hochdruckformen. Dabei ist entweder die Nebennierenrinde (primärer Aldosteronismus, Cushing-Syndrom u.a.) oder das Nebennierenmark (Pheochromozytom) Ausgangspunkt der für den Hochdruck verantwortlichen hormonellen Überproduktion.

Die beim primären Aldosteronismus nachweisbaren klinischen und klin.-chemischen Veränderungen mit dem Leitsymptom der hypokaliämischen Hypertonie sind alle Ausdruck einer pathologisch gesteigerten Nebennierenrindensekretion von Aldosteron. Als Ursache der Erkrankung findet sich bei der Mehrzahl der Patienten ein solitäres Nebennierenrindenadenom, seltener eine bilaterale idiopathische Nebennierenrindenhyperplasie. Bei einigen wenigen Patienten liegen beidseitige Adenome oder ein Nebennierencarcinom vor. Eine Unterscheidung zwischen den verschiedenen Formen des primären Aldosteronismus ist notwendig, da unterschiedliche Behandlungsformen

(Adrenalektomie versus medikamentöse Dauertherapie) angezeigt sind.

Beim primären Aldosteronismus findet sich als Leitsymptom eine Hypokaliämie bei gleichzeitig gesteigerter renaler Kaliumexkretion. Normokaliämie ist selten; und auch bei diesen Patienten liegt die 24-h-Urinausscheidung von Kalium immer oberhalb von 30 mval/24 Stunden. Aufgrund der aldosteronbedingten Salz- und Wasserretention mit intravasaler Hypovolämie wird die renale Reninfreisetzung supprimiert. Die Konstellation einer hypokaliämischen Hypertonie mit erhöhter Aldosteronsekretion bei erniedrigtem Plasmanrenin ist somit beweisend für das Vorliegen eines primären Aldosteronismus. Eine Unterscheidung zwischen aldosteronproduzierendem Nebennierenrindenadenom (oder Carcinom) und bilateraler idiopathischer Nebennierenrindenhyperplasie ist allerdings aufgrund peripher veränderter hormoneller Parameter mit Renin- und Aldosteronbestimmungen nicht sicher möglich. Auch ein konstanter Abfall der Plasmaaldosteronkonzentration nach aktiver Orthostase schließt nicht mit Sicherheit eine bilaterale Nebennierenrindenhyperplasie als Ursache der Erkrankung aus. Somit werden zur Differenzierung der verschiedenen Formen des primären Aldosteronismus Lokalisations- bzw. Lateralisationsmethoden notwendig. Hierbei sind insbesondere die Nebennierenzintigraphie mit Jod-Cholesterol sowie die Computertomographie zu nennen. Nur in seltenen Fällen wird heute noch die seitengrenzte Aldosteronbestimmung im Nebennierenvenenblut notwendig.

Das gemeinsame Charakteristikum aller Patienten mit Cushing-Syndrom ist die chronische Cortisolsekrete (Hypercortisolismus). Dieser kann sowohl durch exogen erhöhte Zufuhr von Steroiden oder ACTH als auch durch eine endogene Überproduktion von Cortisol hervorgerufen werden.

Eine endogene Überproduktion von Cortisol hat ihre Ursache entweder in einer hypothalamisch-hypophysären Dysfunktion mit gesteigerter ACTH- und/oder CRF-Sekretion, oder in einer extrahypophysären Bildung von ACTH oder ACTH-ähnlichen Substanzen (sogenanntes ektope ACTH-Syndrom) oder in einer primär adrenal erhöhten Cortisolsekretion aufgrund eines Nebennierenrindenadenoms oder Nebennierenkarzinoms.

Die Diagnose eines Cushing-Syndroms bereitet in der Regel keine differentialdiagnostischen Schwierigkeiten sobald die Grunderkrankung aufgrund der klinischen Symptomatik mit Stammfettsucht, Vollmondgesicht, Büffelnacken, Hypertonie, Hirsutismus, Muskelschwäche, Menstruationsstörungen, Akne und Striae rubrae vermutet wurde. Dabei ist besonders zu beachten, daß keines der klinischen Zeichen für sich allein typisch oder obligat für das Vorliegen eines Cushing-Syndroms ist. Das klinische Bild kann sehr wechselnd ausprägen, wobei auch milde, intermittierende oder periodische Verlaufsformen der Erkrankung mit in die differentialdiagnostische Erwägung eingeschlossen werden müssen. Auch das Vorhandensein einer schweren Osteoporose oder eines Hirsutismus oder einer hypokaliämischen Alkalose ohne das Vorliegen einer Stammfettsucht und Hypertonie erfordern im Einzelfall eine weitergehende hormonelle Abklärung mit Einbeziehung des Cushing-Syndroms.

Der Nachweis eines Cushing-Syndroms erfordert den Nachweis eines Hypercortisolismus durch Bestimmungen der Hormonkonzentration im Plasma (wegen circadianer Rhythmik des Plasmakortisol sind mehrere Blutentnahmen über den Tag verteilt notwendig) und/oder im 24-Stunden-Urin. Wegen der einfacheren und weniger aufwendigen Durchführbarkeit empfehlen sich hierbei Hormonbestimmungen im 24-Stunden-Urin. Oftmals wird zusätzlich die Durchführung eines sogenannten Dexamethasonhemmtests erforderlich, der eine pathologische nicht suppressible Cortisolsekretion aufdeckt. Dexamethason wird dabei entweder über 2 Tage mit jeweils 4 x 0,5 mg Dexamethason oral/Tag oder aber als Kurztest mit 1 mg Dexamethason am Abend zwischen 22.00 und 24.00 Uhr vor einer morgendlichen Plasmakortisolbestimmung appliziert. Die ätiologische Zuordnung zu einer der verschiedenen Formen des Cushing-Syndroms aufgrund spezieller hormoneller Untersuchungen und Funktionstests (Dexamethasonhemmtest, 8 mg/Tag für 2 Tage; Metopiryon-Test; Lysin-Vasopressin-Test) kann bis heute nicht ganz befriedigen und ist in Einzelfällen oftmals problematisch. Zusätzlich vermag die radioimmunologische Bestimmung von ACTH zwischen ACTH-abhängigem bzw. ACTH-unabhängigem Cushing-Syndrom zu unterscheiden.

Die Anwendung neuerer radiologischer (Computertomographie der Hypophyse und der Nebennieren) und nuklearmedizinischer Methoden (Nebennierenzintigraphie mit  $^{131}$ -Jod-Methylcholesterol) scheint ein entscheidender Fortschritt in der Lokalisation und somit in

der ätiologischen Zuordnung des Krankheitsprozesses zu bringen. Invasive Katheteruntersuchungen mit arteriographischer und phlebographischer Darstellung der Nebennieren sowie damit kombinierte vorangehende Blutentnahmen zur Hormonbestimmung treten in den Hintergrund und können eventuell auf spezielle Indikationen beschränkt bleiben.

Das Phäochromozytom ist ein Tumor neuroektodermalen Ursprungs, der aus chromaffinen Zellen des sympathoadrenalen Systems entsteht. 90% der Phäochromozytome sind gutartige Geschwülste, die restlichen 10% sind maligne infolge invasiven Wachstums und/oder Metastasierung. Die überwiegende Zahl der Tumoren (90%) geht vom Nebennierenmark aus. Die meisten Phäochromozytome sezernieren sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin im Exzess, wobei Noradrenalin überwiegt. Gelegentlich findet sich ein rein Noradrenalin-sezierender Tumor.

Das klinische Erscheinungsbild des Phäochromozytoms erklärt sich aus den kardiovaskulären und metabolischen Nebenwirkungen einer vermehrten Sekretion von Noradrenalin und/oder Adrenalin. Führende Symptome des Phäochromozytoms sind neben dem arteriellen Bluthochdruck starke Kopfschmerzen, generalisierter Schweißausbruch und Herzklopfen, die einzeln oder in Kombination bei 95% der Patienten beobachtet werden. Bei erwachsenen Patienten treten in der Hälfte der Fälle paroxysmale Blutdruckkrisen auf, während die andere Hälfte eine persistierende und chronische Hypertonie aufweist. Bei Kindern mit Phäochromozytomen liegt in über 90% eine Dauerhypertonie vor. Zur Abklärung eines Phäochromozytoms werden Bestimmungen von Plasma und/oder Urinkatecholaminen erforderlich. Asymptomatische Patienten mit Hochdruck sollten immer dann in die differentialdiagnostische Abklärung mit einbezogen werden, falls ihre Hypertonie durch Therapieresistenz auffällt oder falls eine paradoxe Reaktion des Blutdrucks auf Antihypertensiva bekannt bzw. zu beobachten ist.

Bei Patienten mit persistierender Hypertonie bereitet die hormonelle Sicherung der Diagnose in der Regel keine Schwierigkeiten, da erhöhte Werte der Katecholamine gefunden werden.

Patienten mit paroxysmalen Hochdruck weisen allerdings manchmal während des anfallsfreien Intervalls mit Vorliegen eines normalen Blutdrucks Normalwerte der Plasma- und Urinkatecholamine auf. Hier sollten mehrfache Bestimmungen an unterschiedlichen Tagen möglichst im Anschluß an eine Krisensymptomatik oder aber Plasmakatecholaminbestimmung im Anschluß an einen Provokationstest durchgeführt werden.

Nach der hormonellen Sicherung der Diagnose werden verschiedene Verfahren zur präoperativen Lokalisation des Krankheitsprozesses erforderlich. Hierbei haben sich in letzter Zeit besonders die Computertomographie sowie die neuartige Nebennierenmarkszintigraphie mit Benzylguanidin ausgezeichnet bewährt.

## Zum Stellenwert von Tumormarkern in der klinischen Onkologie

K. Moser, M. Francesconi, W. Gräninger, R. Lenzhofer, A. Pohl  
Universitätsklinik für Chemotherapie, Wien

Die meisten derzeit verfügbaren Tumormarker sind weder ausreichend sensitiv noch tumorspezifisch. Wir haben in unserem Laboratorium 10 der aussichtsreichsten tumorsassoziierten Antigene untersucht und auf ihren Wert für eine breitere klinische Anwendung überprüft. Zwei davon, CEA und AFP, sind bereits fest etabliert und ausgezeichnet charakterisiert. Die anderen 8 untersuchten Tumormarker sind TPA (tissue polypeptide antigen), Tennessen-Antigen, Galactosyltransferase, Sialyltransferase, Fucosyltransferase, Ribosyltransferase, 5'-Nucleotidase und Ribonuclease.

Karzinembryonales Antigen (CEA) hat seinen Hauptanwendungsbereich bei colo-rektalen Tumoren. Stark erhöhte oder ansteigende CEA-Werte markieren oft, aber nicht immer, eine beginnende Metastasierung. Unsere Untersuchungen ergaben nur einen geringen prognostischen Wert für die Verlaufskontrolle bei Mammakarzinomen.

Alphafoetoprotein (AFP) hat seine klinische Hauptanwendung beim primären Leberzellkarzinom und beim Hodentatkarzinom. Ebenso wie beim CEA sind beim AFP Konzentrationsanstiege im Serum für ein

Tumorscreening weder sensitiv noch spezifisch genug. Da Serum-AFP nach erfolgreicher Totalresektion eines Tumors gewöhnlich zurückgeht, deutet eine weiterhin hohe Serumkonzentration auf ein Weiterbestehen von Tumormasse im Körper des Patienten hin.

„Tissue polypeptide antigen“ (TPA) ist ein Proliferationsparameter, der ebensowenig wie die anderen onkofetalen Antigene bei Malignomen qualitativ einzigartig ist. Nach unseren Untersuchungen gibt TPA beim Mammakarzinom wertvolle Zusatzinformationen, ist aber für kolorektale und Gastrointestinaltumoren kein besserer Marker als das CEA.

*Tennessee-Antigen* kommt vor allem bei kolorektalen und gastro-intestinalen Tumoren vor. Anfangs in seiner Wertigkeit stark überschätzt, zeigten neuere Untersuchungen seine ungenügende Spezifität wegen eines hohen Prozentsatzes von falsch positiven Befunden.

Die *Glycosyltransferasen* Galactosyltransferase, Sialyltransferase und Fucosyltransferase wurden in Sera und Tumorbiopsien von Mammakarzinompatientinnen bestimmt. Trotz einer höheren Aktivität in Tumorzellen ist nur bei einem Fünftel der Patientinnen auch der Serumspiegel dieser Enzyme erhöht. Eine genaue statistische Auswertung ihrer Verteilung auf Zellkompartimente und Serum unterstützt die praktische Erfahrung ihrer nur sehr begrenzten klinischen Anwendbarkeit.

Das „tumorspezifische“ Isoenzym II der Galactosyltransferase wiederum ist wegen seiner arbeits- und kostenaufwendigen Nachweismethodik, die noch dazu schlecht reproduzierbar ist, und der ungenügenden Selektivität derzeit ebenfalls klinisch nicht anwendbar.

*5'-Nucleotidase* hat eine gewisse Bedeutung in der Diagnostik der Leberkarzinome und Lebermetastasen. Wir untersuchen die Verteilung dieses „Plasmaproteinmarkerns“ auf Zellkompartimente von Mammatumorzellen und fanden dabei interessante Korrelationen mit der Sialyltransferase.

*Poly(ADP-Ribosyl)Polymerase* (Ribosyltransferase) ist ein Strukturparameter des Chromatins. Bei unseren Untersuchungen in Tumorbiopsien fanden wir auffällige Zusammenhänge zwischen der Ribosyltransferaseaktivität und der von Galactosyltransferase und Fucosyltransferase. Sie können als weiterer Hinweis dafür gelten, daß die Genstruktur des Zellkerns die Eigenschaften der Zellmembran reguliert.

*Ribonuclease*-(RNase-)aktivität ist bei Patienten mit Ovarialkarzinom, Lungenkrebs und Malignomen des Dickdarms erhöht. Bei der Interpretation erhöhter Serumwerte muß vor allem die Altersabhängigkeit des Enzyms, aber auch eine gestörte Nierenfunktion oder eine katabole Stoffwechselsituation in Betracht gezogen werden.

Im allgemeinen bestätigen unsere Untersuchungen die bekannte Unspezifität der getesteten Tumormarker. Wir empfehlen ihre Anwendung daher nur eingeschränkt für die Therapiekontrolle und evtl. zur Rezidivverknüpfung.

## Angeborene Stoffwechselerkrankungen – ein Beitrag zu deren Abklärung und Diagnose

J. P. Colombo

Chemisches Zentrallabor der Universitätsklinik, Inselspital Bern

Am Beispiel angeborener Stoffwechselerkrankungen des Kohlenhydrat- und Aminosäurestoffwechsels soll auf die Spezialisierung innerhalb des Fachbereiches der klinischen Chemie eingegangen werden und auf die wichtige diagnostische Bedeutung der Spezialanalytik hingewiesen werden. Es wird auf den diskriminatorischen Wert beim Screening der Phenylalaninämien eingegangen. Ebenso wird auf die notwendige Qualitätskontrolle bei solchen Suchtesten aufmerksam gemacht. Durch das Screening sind verschiedene Varianten einzelner klinisch einheitlicher Krankheitsbilder entdeckt worden. Eine davon ist die atypische Hyperphenylalaninämie. Auch bei der Galactosämie sind Varianten zu unterscheiden, wobei vor allem die Messung des Galactose-1-Phosphates in den Erythrocyten für die Behandlung dieser Erkrankung ein wichtiger Parameter bildet. Bei den Leucinosen wird gezeigt, daß frühzeitig einsetzende Diagnostik Voraussetzung für eine fachgerechte Behandlung ist. Werden Neugeborene nicht durch Siebtestprogramme erfaßt, ist die Mehrzahl der angeborenen Stoffwechselerkrankungen wird nicht mit diesen Methoden

diagnostiziert, so zeigen diese Kinder nach der ersten Nahrungsaufnahme ein gewisses einheitliches Bild klinischer Symptome, die in der Regel zu einer raschen Klinikeinweisung führen. Die hier in Frage kommenden Syndrome werden kurz erwähnt, vor allem die Erfassung der organischen Acidurien. An den erwähnten Beispielen wird die Relevanz der Spezialgebiete innerhalb des Fachbereiches der klinischen Chemie aufgezeigt und diskutiert.

## Recht und Labormedizin

W. Holzabek

Institut für Gerichtliche Medizin, Universität Wien

Auch der Laboratoriumsarzt ist – so wie jeder Arzt – bei allen seinen Arbeiten verpflichtet, die größtmögliche Sorgfalt walten zu lassen. Die Pflicht zur Sorgfalt, die Sorgfaltspflicht, ist der Angelpunkt jenes Paragraphen des Strafgesetzbuches, der dann angewendet wird, wenn geprüft werden soll, ob der Arzt eine Fahrlässigkeit begangen hat. Der Jurist unterscheidet zwischen der objektiven und der subjektiven Sorgfaltspflichtverletzung. Zunächst ist zu untersuchen, ob eine objektive Verletzung der Sorgfaltspflicht vorliegt. Dabei erwächst die Frage, nach welchen Gesichtspunkten, nach welchem Maßstab eine solche Prüfung zu erfolgen hat. Während für viele Tätigkeiten im Bereiche des alltäglichen Lebens Gesetze oder zumindestens Vorschriften vorliegen, gibt es solche verständlicherweise für den Bereich der Heilkunde nicht. Aber es gibt doch ein feststehendes, bewährtes, allen Anforderungen und Prüfungen gerecht werdendes Wissen, das man zu den sogenannten „Kunstregeln“ – „Leges artis“ – zusammenfassen kann. Der Jurist anerkennt die Kunstregeln unerblickt in ihnen den Maßstab, nach welchem ein Handeln oder Unterlassen beurteilt werden kann. Wenn aber für ein bestimmtes Sachgebiet solche Kunstregeln nicht vorhanden sind, dann belehrt uns der Jurist, man soll sich an einer theoretisch gedachten Maßstabsfigur eines „ordentlichen“ Arztes orientieren und sich fragen, wie dieser in der gleichen Situation handeln würde. Nur, wenn eine Verletzung der objektiven Sorgfaltspflicht vorliegt, liegt ein „Unrecht“ vor und es muß zur Beantwortung der zweiten Frage geschritten werden, ob auch subjektiv eine Verletzung der Sorgfaltspflicht begangen worden ist. Wird auch diese Frage bejaht, dann muß festgestellt werden, ob diese Folgen, nämlich eine Gefährdung, eine Körperverletzung oder den Tod, nach sich gezogen hat.

## Labor – Arzt – Patient

Dr. Dr. h.c. E. Deutsch

Erste Medizinische Universitätsklinik der Universität Wien

In der Trias „Labor – Arzt – Patient“ kommt dem Patienten das Primat zu. Labor und Arzt erbringen Dienstleistungen für den Patienten. Hier wieder kommt dem Arzt die Führerrolle zu. Er trägt auch die Verantwortung für die Auswahl des Untersuchungsanges und für die Interpretation der Ergebnisse. Die Dienstleistungen sollen richtig, rasch, effizient und kostengünstig, auf das Notwendige limitiert erbracht werden. So einfach dieses Postulat auch klingt, so schwierig kann es durchzusetzen sein. Es gilt in gleicher Weise in der freien Praxis, im Ambulatorium und im Krankenhaus, wenn es sich auch im Detail nach der Art des Krankheitsgeschehens und nach der jeweiligen Aufgabenverteilung unterschiedlich auswirken mag.

Lassen Sie mich mit der einfachsten Situation beginnen, der Behandlung und Kontrolle eines Patienten mit bereits bekannter Erkrankung. So wird z.B. durchaus indiziert sein, daß man bei der Einstellung eines Diabetikers zunächst gelegentlich ein Profil mit mehreren Blutzuckerbestimmungen am Tag, später vielleicht den Blutzucker eine zeitlang zweimal täglich, dann einmal täglich und nach erfolgter Einstellung in der Verlaufskontrolle mag die Blutzuckerbestimmung mehr eine erzieherische als eine medizinische Bedeutung haben, sie ist aber deshalb keineswegs weniger gerechtfertigt.

Oder bei der Behandlung einer Leukämie ist während einer intensiven zytostatischen Therapie die tägliche Bestimmung von Leukozyten und Thrombozyten erforderlich, später wird man nach Erreichen einer

Remission je nach der Art der Leukämie mit 14tägigen, monatlichen oder vierteljährlichen Blutbildkontrollen auskommen.

Als weiteres Beispiel sei die Behandlung mit Marcoumar genannt. Hier wird man anfangs jeden 2. Tag, später einmal wöchentlich, dann alle 14 Tage und schließlich alle 4 bis 6 Wochen kontrollieren. Zur Kontrolle stehen Prothrombinzeit nach Quick und Thrombostest zur Verfügung. Hier genügt zur Orientierung des behandelnden Arztes nicht die Angabe des für das Laboratorium gültigen Referenzbereiches, der für beide Methoden in gleicher Weise zwischen 75 und 120% liegt, sondern es ist die Kenntnis der angewandten Methode erforderlich, da der therapeutische Bereich unterschiedlich ist. Es ist daher eine Rückkoppelung zwischen Arzt und Laboratorium notwendig.

Ein enger Kontakt zwischen Arzt und Labor ist meines Erachtens von großer praktischer Bedeutung. Die in verschiedenen Laboratorien angewandten Methoden sind häufig, diktiert durch die angeschafften Analysengeräte, unterschiedlich, mit unterschiedlicher Genauigkeit und Reproduzierbarkeit, die zu einer unterschiedlichen Wertung der Ergebnisse führen, und unterschiedlichen Referenzbereichen. Wenn diese auch am Befundblatt angegeben werden können, so reicht dies bezüglich der erstgenannten Punkte nicht aus. Die Unterschiede zwischen den Laboratorien sind oft beträchtlich. Selbst in großen Instituten bereitet es oft Schwierigkeiten, z.B. aus dem Routine-laboratorium und dem Akutlaboratorium vergleichbare Befunde zu erhalten. Hier ist der Kontakt zwischen dem Arzt und dem Laboratorium wichtig. Oft bemerkt der Kliniker früher, daß eine Methode außer Kontrolle gerät, bevor es dem Laboratoriumsarzt auffällt. Es wäre daher auch für den praktizierenden Arzt zweckmäßig, wenn er die Laborbefunde seiner Patienten im allgemeinen und besonders bei ein und demselben Patienten immer vom gleichen Laboratorium erhielte. Bedauerlicherweise führen derartige gerichtete Zuweisungen gelegentlich zu Mißverständnissen.

Schwieriger ist die Situation, wenn ein Patient erstmals einen Arzt (oder ein Krankenhaus) zur Diagnostik (und Therapie) aufsucht. Die eingehende Anamnese und physikalische Untersuchung sind die Grundpfeiler des Vorgehens. Aufgrund ihrer Ergebnisse wird eine hypothetische Diagnose gestellt. Um diese zu beweisen oder zu widerlegen sollte nun die Anordnung der erforderlichen Untersuchungen (Laboratorium, Röntgen, EKG etc.) in selektiver Weise erfolgen. Die Ergebnisse werden im günstigsten Fall die Vermutungsdiagnose bestätigen, meist jedoch noch andere Untersuchungen nach sich ziehen, ein Vorgang, der sich stufenweise mehrmals wiederholen kann. Am Ziel angekommen, kann mit der spezifischen Therapie begonnen werden. Es bleibt aber immer noch die Möglichkeit, daß ein anderes noch völlig asymptomatisches Leiden nebenher besteht, das man bei einer breiter angelegten Untersuchung hätte erkennen können.

Die Alternative zu diesem Vorgehen ist, von Anfang an die Untersuchung breiter anzusetzen, alle möglicherweise (und zum Teil bei stufenweisem Vorgehen auch tatsächlich) erforderlich werdenden Untersuchungen a priori anzuordnen. Dieses Vorgehen wird zur Durchführung einer Reihe überflüssiger Untersuchungen führen. Es wird andererseits das Verfahren abkürzen. Für die Praxis bedeutet dies weniger Konsultationen bei dem an sich überlasteten Arzt, im Krankenhaus eine Abkürzung der Aufenthaltsdauer und für die Patienten eine Zeitersparnis (fast nicht zeitaufwendig aufwendige Untersuchungen unnötig gemacht werden). Es werden also die Kosten der unnötigen Untersuchungen gegen die Kosten eines verlängerten Krankenhausaufenthaltes und Verdienstentfall bzw. Produktionsausfall bei dem Patienten und seinem Betrieb gegeneinander abzuwägen sein, ein Problem, mit dem sich Wirtschaftswissenschaftler auseinandersetzen müssen. Der Arzt ist hier überfordert.

Eine Frage ist, wie weit die vielerorts bei jeder Spitalsaufnahme übliche Anforderung eines Chemogramms, Blutbildes und Harnbefundes, Lungenröntgenbefundes und EKGs gerechtfertigt ist. Meines Erachtens kann beim Fehlen einer entsprechenden Anamnese am ehesten auf EKG und Elektrolytbefunde verzichtet werden. Im Lungenröntgen findet man doch gelegentlich ein noch asymptomatisches Bronchuscarcinom, Hilus- oder mediastinale Veränderungen, Residuen nach intrapulmonalen Prozessen oder auch noch frische asymptomatische.

Im Chemogramm werden immerhin die üblicherweise untersuchten Risikofaktoren cardiovasculärer Erkrankungen erfaßt und eine Übersicht über die Funktion von Leber und Niere vermittelt. Auf die Elektrolytbefunde kann am ehesten verzichtet werden. Meines Erachtens ist eine derartige Basisuntersuchung auch bei bereits bekannten Patienten bei neuerlicher Krankenhausaufnahme zweckmäßig, weil

während der folgenden Behandlung durchaus unerwartete Komplikationen, Medikamentennebenwirkungen etc. auftreten können und dann das Vorliegen eines Vergleichswertes sehr wertvoll sein kann und weil auch zusätzlich noch gering symptomatische Erkrankungen hinzukommen können, die hierdurch früher entdeckt werden.

Die größte Schwierigkeit besteht, wenn „gesunde“ Patienten zu einem sogenannten „Check up“ kommen. Wie weit soll in diesen Fällen gegangen werden? So weit es sich nur um Blutbefunde, wie Chemogramm, Blutbild und Harnbefund handelt, kann eine freizügige Einstellung durchaus vertreten werden, wobei die cardiovasculären Risikofaktoren, Kreatinin, Leberenzyme und Eiweiß erfaßt werden sollen. Eine Harnkultur sollte nur bei Vorliegen einer entsprechenden Anamnese oder eines Sedimentbefundes durchgeführt werden. Viel schwieriger ist die Frage zu beantworten, wie breit die Röntgenuntersuchungen ausgedehnt werden sollen. Hier können wahrscheinlich mit Ultraschalluntersuchung des Oberbauches und der Niere einige Röntgenuntersuchungen vermieden werden. Auch Gastroskopie und Sigmoidoskopie können Röntgenuntersuchungen ersetzen, sind aber ebenfalls aufwendig, für den Patienten belastend und ihr Wert bei Gesunden ist fraglich.

## Labormedizin: Eine sterbende Disziplin?

W. Bürgi

Zentrallaboratorium, Kantonsspital, CH-5001 Aarau

In den 60er Jahren herrschte allgemein Genugtuung über das rasche Wachstum der Klinischen Chemie. Die Analysenzahlen schnellten in die Höhe. Neue wissenschaftliche Erkenntnisse und verfeinerte analytische Möglichkeiten bereicherten das diagnostische Rüstzeug des fortschrittlichen Arztes. Automation und Datenverarbeitung hielten Einzug in dem mit der Zeit gehenden medizinischen Laboratorium. Mit immer weniger Blut ließen sich immer mehr und immer neuere Parameter mit immer empfindlicheren Methoden immer spezifischer, immer zuverlässiger und immer rascher messen. Es war das goldene Zeitalter der Klinischen Chemie, welches seine Faszination auf das gesamte Gesundheitswesen und auf die breite Öffentlichkeit ausübte. In den 70er Jahren begann sich das Szenario zu ändern. Ein neuer Zeitgeist, der seinen Schatten schon Jahre voraus geworfen hatte, erfaßte die gesamte Medizin und mit ihr die Klinische Chemie. Der Umbruch, der sich vor diesem Hintergrund abspielte, gibt seit einigen Jahren namhaften klinischen Chemikern Anlaß zu Betrachtungen über die zukünftige Rolle ihres Fachgebietes. Es herrscht zwar Übereinstimmung darüber, daß die Laboratoriumsmedizin als rein technischer Dienstleistungsbetrieb ungefährdet weiterbestehen und sich mehr und mehr ausgeklügelter technischer Raffinessen bedienen wird. Technologie alleine, und darüber besteht ebenso Einigkeit, macht jedoch noch keine Disziplin aus. Unverkennbar sind die Anstrengungen, die unternommen werden, die Laboratoriumsmedizin auch als wissenschaftliches Hauptfach, als Pathobiochemie, an der Seite der Biochemie zu etablieren, in Analogie zur Pathologischen Anatomie. Die auf dieses Bestreben zurückgeführte Herausforderung wird durch nationale und internationale Fachgremien wahrgenommen. Es eröffnen sich verschiedene Möglichkeiten zum Handeln. Anhand eines Beispiels wird zu zeigen versucht, wie der Einzelne, der sich aufgerufen fühlt, einen Beitrag zugunsten der wissenschaftlichen Pathobiochemie zu leisten vermag. Eines steht schon jetzt inmitten der Zeit des Umbruchs fest: Die Klinische Chemie wird sich als wissenschaftliches Hauptfach nur dann durchsetzen können, wenn es ihr gelingt, sich mit Leistungen – und nicht nur mit Forderungen – Bedeutung zu geben, und die nötige Achtung zu verschaffen. □

## Abstracts

### Einfluß von Paraproteinämien und Rheumafaktoren (RF) auf einen kompetitiven enzyme-linked-immunoassay (ELISA)

R. Allner, G. Kolb

Zentrallaboratorium der Städtischen Kliniken Fulda,  
akademisches Lehrkrankenhaus der Philipps-Universität Marburg

Folgend den Erfahrungen in unserem Hause, daß ELISA-Techniken auch bei Ausschaltung der bekannten Störfaktoren (1, 2) manchmal falsch positive Ergebnisse liefern, untersuchen wir den Einfluß der Gammaglobulinkonzentration und den möglichen Einfluß von Rheumafaktoren (RF) auf einen Digoxin-ELISA.

Unsere bisherigen Untersuchungen lassen folgende Aussagen zu:

1. Die gemessene Digoxinvortäuschung hängt wahrscheinlich von der spontanen Aggregationsneigung der Immunglobuline bzw. ihrer unspezifischen Bindung an den wandständigen Antikörper (solid phase) und vice versa ab – wie an einem artifiziellen System mit steigenden rel. IgG-Konzentrationen gezeigt werden konnte.
2. Paraproteininhaltige Seren können ähnliche Effekte liefern, wobei jedoch auffällt, daß offenbar (nicht alle) Paraproteine entsprechend deutliche Vortäuschungen bewirken.
3. RF können, wenn auch in wesentlich geringerem Umfang als etwa bei den entsprechend einschlägig als durch RF störfähig bekannten ELISAS zum Nachweis humaner Antikörper (Rubella, Masern etc. [3]), als Störfaktor im untersuchten Digoxin-ELISA wirken. In einem solchen Falle folgt dann das Maß der Vortäuschung der Höhe des RF-Titers.

#### Literatur:

1. BÖRNER, K.: Bestimmung von Digoxin im Serum. Vergleich von Radioimmunoassay und heterogenem Enzymimmunoassay. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 16, 335 (1978).
2. ALLNER, R., KRÖPE, H.: Störungen der Digoxin-Bestimmung beim Enzym-Immunoassay (ELISA-Prinzip). Arch. Lab. 27, 69 (1981).
3. ZIEGELMAIER, R.: Einfluß von IgM-Rheumafaktoren auf den Nachweis (virus-)spezifischer IgM-Antikörper im indirekten Immunoassay und ihre Beseitigung. Laboratoriumsblätter 32, 35 (1982).

### Schilddrüsen-Laborparameter bei Neugeborenen mit hoher Hyperbilirubinaemie

A. Andzejewski, H. Krawczyńska, D. Łozińska,  
E. Niedzicka, J. Krawczyński

Lehrstuhl für Labordiagnostik und  
Kinder-Endokrinologie-Abteilung; Zentrum für Ärztliche Fortbildung,  
Warszawa  
Abteilung für Neugeborenen-Pathologie:  
Kinderspital in Dziekanów Leśny

Bei Neugeborenen von der Blut-Umtausch-Station führen wir Screening-Untersuchungen für angeborene Hypothyreose. Es entstand das Problem, ob hohe Hyperbilirubinaemie die Resultate der Schilddrüsen-Laborteste beeinflussen kann, so daß die Entdeckung einer Hypothyreose erschwert ist.

Es wurden 136 Neugeborene mit akuter Hyperbilirubinaemie (10–28 mg/dl) im Alter von 1–7 Lebensstage untersucht (HB). Bei 79 Patienten wurde ABO oder Rh-Inkompatibilität festgestellt und bei übrigen 45 war die Ätiologie der Hyperbilirubinaemie unbekannt. Die Bestimmungen wurden im Blut vor der ersten Umtauschtransfusion gemacht. Als Kontrollgruppe dienten 222 gesunde Neugeborene in demselben Alter.

In der HB-Gruppe wurde TSH,  $T_4$  und  $T_3$  bei allen Kindern,  $T_3$ -in vitro Test (RT<sub>3</sub>U) bei 52 und TBG (RIA Corning) bei 40 Neugeborenen bestimmt.

In der K-Gruppe wurde TSH und  $T_4$  bei allen und TBG bei 20 Kindern bestimmt.

Serum-TSH-Konzentrationen waren in HB-Gruppe signifikant niedriger als in K, besonders in den ersten 3 Tagen nach Geburt ( $p < 0.001$ ).

$T_4$ -Werte in HB waren auch niedriger als in K, aber die Differenz war nur am 2. Tag nach Geburt signifikant ( $p < 0.05$ ).

Die von uns gefundene  $T_3$ -Konzentrationen in HB waren niedriger als bei normalen Neugeborenen (nach anderen Autoren).

Der TBG-Mittelwert war mit 34 µg/ml in HB signifikant niedriger als in K – 45 µg/ml.

Die Resultate unserer Untersuchungen lassen feststellen, daß der TSH-Anstieg nach der Geburt bei HB ungefähr viermal niedriger ist als bei gesunden Neugeborenen (7,9 gegen 30 µU/ml). Die Erniedrigung der  $T_4$ - und  $T_3$ -Werte kann sowohl mit erniedrigten TBG-Konzentrationen als auch mit schwächerer Stimulation der Schilddrüse erklärt werden.

Diese Veränderungen der Schilddrüsen-Laborparameter stehen aber nicht in Kollision mit Entdeckung der angeborenen Hypothyreose. Unter den Neugeborenen mit hoher Hyperbilirubinaemie haben wir bei 3 Kindern Hypothyreose festgestellt: zwei haben Struma gehabt und bei einem war eine transitorische Hypothyreose unbekannter Ätiologie.

### Drug monitoring bei antibakterieller Chemotherapie mit dem Hemmstofftest

R. Ansong

Hygiene-Institut der Universität Göttingen

Systemisch wirkende Antibiotika werden in aktiver Form zumindest teilweise über die Nieren ausgeschieden. Durch Untersuchung der antibakteriellen Aktivität des Urins kann somit geprüft werden, ob Antibiotika appliziert werden oder nicht.

Ein einfaches, empfindliches und ökonomisches Testverfahren ist der sog. Hemmstofftest mit *Bacillus subtilis* ATCC 6051 als Testorganismus (1). Er erlaubt unter Normaldosierung auftretende Urinspiegel und bei vielen Antibiotika auch weit geringere Konzentrationen. Von 2649 Patienten, die nach Angaben der behandelnden Ärzte keine antibakterielle Therapie erhielten, wiesen 217 (8%) eine antibakterielle Aktivität im Urin auf. In diesen Fällen lag mit ziemlicher Sicherheit eine Antibiotikamedikation ohne Kenntnis des Therapeuten vor. Von 382 Patienten, die angeblich unter antibakterieller Therapie standen, zeigten 97 (25%) keine antibakterielle Aktivität im Urin. Bei diesen Patienten wurde mit ziemlicher Sicherheit vor der Urinabnahme die verordnete Therapie nicht durchgeführt.

Zum Ausschluss einer der bakteriologischen Diagnostik verfälschenden Antibiotikaapplikation und zur Absicherung der Durchführung der Chemotherapie ist der routinemäßige Einsatz des Hemmstofftests indiziert.

#### Literatur:

1. ANSONG, R. et al.: Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 230, 482–507 (1975).

## Die endotracheale Intubation als praedisponierender Faktor für Candida-Invasion

R. Ansgor, U. Würz, B. Bittrich

Hygiene-Institut und Zentrum Anaesthesiologie der Univ. Göttingen

Bei anaesthesiologischen Intensivpflegepatienten mit endotrachealer Intubation wurden Candida-Besiedelung und Candida-Antikörper im ind. IFT (1) und ind. HAT (2) prospektiv untersucht. 20 Patienten mit einer durchschnittlichen Intubationszeit von 12 Stunden erhielten keine antimykotische Prophylaxe (Gruppe I), 20 Patienten mit einer durchschnittlichen Intubationszeit von 17 Tagen wurden nach folgendem Schema behandelt (Gruppe II):

Bronchialbereich	– Inhalation, 1 ml 0,25% Pimafucin-Susp., 4 x tgl.
Mundhöhle	– Austupfen mit 1% Pimafucin-Susp., 4 x tgl.
Nase	– Instillation, 10 Tr. 1% Pimafucin-Susp., 4 x tgl.

Die mykologischen Untersuchungen ergaben folgende Resultate:

Pat.-Gruppe	Candida-Besiedelung in resp. Sekreten		Candida-Antikörper Anstieg nach Intubation			
	vor Intubation	nach Intubation	IFT			HAT
			lgG	lgM	lgA	
I n = 20	4 (10 <sup>4</sup> –10 <sup>5</sup> )	16 (10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup> )	14	12	9	12
II n = 20	0	5 (10 <sup>3</sup> –10 <sup>4</sup> )	1	1	0	3

( ) = Durchschnittl. Anzahl KBE/ml Sekret.

Durch endotracheale Intubation wird offenbar eine Candida-Kolonisation sowie Candida-Invasion via Schleimhaut des Respirationstraktes gebahnt. Die nebenwirkungsfreie lokale antimykotische Prophylaxe vermindert auch bei prolongierter Intubation diese Candida-Exposition und damit das Risiko intubationsbedingter Candida-Endomykosen.

Literatur:

1. ANSGOR, R. et al.; Mykosen 20, 167–177 (1977).
2. ANSGOR, R.; Arztl. Lab. 27, 106–110 (1981).

## Apolipoproteinopathien

G. Assmann

Zentrallaboratorium der Medizinischen Einrichtungen der Westfälischen Wilhelms-Universität, 4400 Münster

Apolipoproteine sind als Bestandteile der verschiedenen Serumlipoproteine am Stoffwechsel der Lipide maßgeblich beteiligt. Genetischer Polymorphismus sowie Strukturdefekte der Apolipoproteine können Störungen der Biosynthese, der Sekretion und des Katabolismus der Lipoproteine bedingen und Fettstoffwechselkrankheiten zur Folge haben. Die neueren Kenntnisse dieser vielfach nur als Lipoprotein-Phänotypen klassifizierten Lipoproteinopathien erlauben es, diese Krankheiten als Lipoproteinopathien zu definieren. Bisher bekannte Apolipoproteinopathien betreffen folgende Apolipoproteine:

A-I: a) Tangier Krankheit; b) Apo A-I-Milano-Variante; c) Apo A-I-Marburg, Giessen-Varianten; d) Apo A-I-Münster 1-4-Varianten; e) HDL-Defizienz mit planaren Xanthomen; f) familiäre Apo A-I, C-III-Defizienz; g) kompletter Apo A-I-Mangel; h) Hypoalphalipoproteinämien.

A-IV: a) Apo A-IV-Gießen-Varianten; b) Apo A-IV-Münster-Varianten.

B: a) Rezessive Abetalipoproteinämie; b) homozygote Hypobetalipoproteinämie; c) normotriglyceridämische Abetalipoproteinämie;

d) Chylomikronen-Retentions-Krankheit; d) familiäre Hypobetalipoproteinämie mit Chylomikronämie.

C: a) Apolipoprotein C-II-Mangel; b) Apolipoprotein C-II-Strukturdefekte.

E: a) Apolipoprotein E-2-Homozygotie (Dysbetalipoproteinämie; Typ III-Hyperlipoproteinämie); b) Typ V-Hyperlipoproteinämie assoziiert mit Apo E-4-Phänotyp; c) Apolipoprotein E-Defizienz; d) andere Apo E-Varianten.

Die biochemischen und klinischen Aspekte dieser Apolipoproteinopathien unter besonderer Berücksichtigung von Apo A-I und Apo E werden diskutiert.

## Das Seralyzer®-System im praktischen Einsatz

W. Appel, S. Appel

Zentrallaboratorium der St.-Vincentius-Krankenhäuser Karlsruhe (Prof. Dr. med. P. M. Reiser)

Das Seralyzer®-System wird einer praktischen Erprobung im Routinebetrieb eines Kliniklaboratoriums unterzogen. Qualitätssicherungsdaten für Bilirubin, Cholesterin, Kreatinin, LDH und CK sowie Glucose, Harnstoff und Harnsäure werden unter realisierbaren Alltagsbedingungen erarbeitet. Sie liegen im Bereich konventioneller „naßchemischer“ Verfahren. Praktikabilität und Betriebssicherheit des Systems werden kritisch beleuchtet und die Grenzen aufgezeigt. Das System hat für die meisten Parameter einen hohen Reifegrad erreicht.

## Thrombozytenzahl, Volumen und Größenverteilung: Verhalten in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht. Referenzwertbereiche für den Coulter Counter S Plus II

Christiana Artmann, K. Mayr

Zentrallaboratorium des Allgem. Öffentl. Krankenhaus Wels

Bei insgesamt ca. 3000 Probanden aller Altersstufen, deren übrige hämatologische Befunde normal waren, wurden mit dem Coulter Counter S Plus II die Thrombozytenzahl, das mittlere Thrombozytenvolumen, der Thrombokrit und ein numerischer Index der Größenverteilungsbreite der Plättchen ermittelt. Die Daten wurden nach Alter und Geschlecht der Probanden in elf Gruppen aufgeteilt und statistisch ausgewertet, mit folgenden Zielen:

1. Erstellung von gruppenspezifischen Referenzwertbereichen (MW  $\pm$  2s Bereiche).
2. Prüfung auf geschlechts- und altersspezifische Unterschiede und deren Signifikanz; Vergleich der Verteilungshistogramme der einzelnen Parameter.

Es zeigt sich, daß für eine korrekte Beurteilung der Plättchenzahl, deren Volumen und Größenverteilungsbreite, Lebensalter und Geschlecht des Probanden zu berücksichtigen sind, da signifikante Unterschiede der Referenzwertbereiche der einzelnen Gruppen bestehen.

## Einfluß des Substrates auf die Bestimmung von $\alpha$ -Amylase

L. Axelsson

Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Schweden

Zur Bestimmung von  $\alpha$ -Amylase stehen viele verschiedene Substrate zur Verfügung, von den langkettigen Molekülen (Stärke) bis zu den kurzkettigen („definierten“) Molekülen, die kürzlich in Verwendung kamen.

Bei der Untersuchung verschiedener Substrate für  $\alpha$ -Amylase gibt es zwei Versuche, die leicht durchgeführt werden können.

1. Überprüfung der Linearität durch Verdünnung einer Probe mit hoher  $\alpha$ -Amylaseaktivität.

2. Verdünnungsreihen humaner Pankreasamylasen und humaner Speichalamylasen testen, wobei die  $\alpha$ -Amylaseaktivität mittels einer Referenzmethode (= Saccharogene Methode) überprüft worden ist.

Der erste Versuch zeigt, daß es nicht immer eine lineare Beziehung zwischen Aktivität und Absorption ( $\Delta$ Absorption) gibt.

Der zweite Versuch zeigt, daß die zwei humanen Isoamylasen unterschiedliche Antwort in der Absorption ( $\Delta$ Absorption) geben. Der Grund dafür kann durch verschiedene Hydrolysemuster und durch unterschiedliche Geschwindigkeit der Reaktion erklärt werden.

#### Literatur:

- SAITO, N. et al.: Action of human pancreatic and salivary amylase on maltotrioseosaccharides: evaluation of kinetic parameters. Clin. Chim. Acta 97, 253–280 (1979).  
KACZMAREK, M. S., ROSENTHAL, H.: The action of human pancreatic and salivary amylase on starch and glycogen. Clin. Chim. Acta 78, 69–73 (1977).  
ROBYT, J. F., FRENCH, D.: The action pattern of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase in relationship to the substrate binding site of the enzyme. J. Biol. Chem. 245, 3917–3927 (1970).

## Enzymimmunoassay zur Bestimmung von AFP im Serum

M. Baier, H. v. d. Eltz, H. G. Batz, J. Schrenk, R. Linke, G. Kleinhammer

Boehringer Mannheim GmbH, Forschungszentrum Tutzing

Ein Enzymimmunoassay zur Bestimmung von humanem AFP im Serum und in der Amnionflüssigkeit wird beschrieben. Der Test arbeitet nach dem Sandwich-Prinzip, wobei 200  $\mu$ l Probe im ersten Inkubationsschritt mit den anti-AFP-Antikörpern an der Röhrchenwand reagieren.

Nach einem Waschschrift mit Leitungswasser und einer zweiten Inkubation mit Peroxidase-markierten anti-AFP-Antikörpern wird die ungebundene Peroxidase-Aktivität durch einen weiteren Waschschrift entfernt.

Die an der Röhrchenwand verbliebene Peroxidase-Aktivität wird mit  $H_2O_2$ /ABTS\* bestimmt. Die Messung der Absorption bei 405 nm erfolgt nach 1 Stunde Inkubation bei Raumtemperatur.

Die Testpackung enthält 5 Standards, die den Konzentrationsbereich von 0 bis 140 IU/ml abdecken. Die Standardkonzentrationen wurden anhand von WHO-Standards bestimmt.

Die untere Nachweisgrenze des Tests liegt bei 0,7 IU/ml. Die Intra- und Interassay-Präzision über den gesamten Konzentrationsbereich liegt zwischen 4 und 9%.

Vergleiche mit anderen RIA- oder EIA-Methoden zeigen gute Korrelationen.

## Posttransfusionelle Purpura

J. Bauer<sup>1</sup>, E. Küenzlen<sup>2</sup>, C. Mueller-Eckhardt<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Chirurgische Klinik Innenstadt der Universität München

<sup>2</sup> Institut für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin der Universität Gießen

Thrombozytopenien sind für den Kliniker eine geläufige Ursache hämorrhagischer Diathesen. Wenig bekannt ist jedoch die posttransfusionelle Purpura (PTP) als Ursache einer thrombozytopenischen Blutung. Das Syndrom der PTP ist dadurch gekennzeichnet, daß etwa eine Woche nach Transfusion einer erythrozytenserologisch verträglichen Blutkomponente eine Blutungsneigung als Folge einer Thrombozytopenie ausgelöst wird. Die Analyse der gesicherten Fälle zeigt, daß es sich fast ausschließlich um Frauen mittleren bis höheren Lebensalters handelt, die Schwangerschaften durchgemacht und/oder Blutübertragungen erhalten haben.

Die Blutungsneigung ist meist sehr ausgeprägt mit großen Hämatomen, Petechien und inneren Blutungen. Die thrombozytopenische Phase dauert zwischen 5 und 60 Tage.

Die Pathogenese der PTP kann als geklärt gelten: Die Patienten tragen in homozygoter Ausprägung ein genetisch vererbtes Merkmal ihrer Thrombozyten, das  $Pl^{A2}$  (=  $Zw^b$ )-Antigen. Da ihnen das allele

Antigen  $Pl^{A1}$  (=  $Zw^a$ ) fehlt, können sie gegen dieses durch vorangegangene Schwangerschaften und/oder Blutübertragungen immunisiert werden. Wird auf so vorimmunisierte Patienten Blut übertragen, das Thrombozyten eines  $Pl^{A1}$ -positiven Spenders enthält, kommt es zunächst zur Boosterung des Patienten durch das fremde  $Pl^{A1}$ -Antigen und nach einer Latenzzeit zur Immunreaktion zwischen den  $Pl^{A1}$ -Antikörpern des Patienten und den fremden, durch die Bluttransfusion zugeführten Thrombozyten des Spenders. Ungewöhnlich an der PTP ist, daß durch die Thrombozytenantikörper nicht nur die zugeführten fremden, sondern auch die patienteneigenen, das  $Pl^{A1}$ -Antigen nicht tragenden Thrombozyten durch die Antigen-Antikörper-Reaktion im Sinne einer innocent bystander-Reaktion mitgeschädigt werden. Die relative Seltenheit des Syndroms wird dadurch erklärlich, daß nur etwa 2% der deutschen Bevölkerung das  $Pl^{A1}$ -Antigen nicht tragen ( $Pl^{A2}/Pl^{A2}$ ).

Beim Auftreten einer akuten thrombozytopenischen Blutungsneigung nach Blutübertragungen sollte differentialdiagnostisch an die PTP gedacht werden. Die endgültige Diagnose ist nur durch die thrombozytenserologische Untersuchung zu sichern.

#### Literatur:

- MUELLER-ECKHARDT, C., LECHNER, K., HEINRICH, D., MARKS, H.-J., MUELLER-ECKHARDT, G., BETTELHEIM, P., BREITHAUP, H.: Posttransfusion Purpura. Immunological and clinical studies in two cases and review of the literature. Blut 40, 249 (1980).

## Hämoglobin $D_{Punjab}$ in einer österreichischen Familie

K. Bauer<sup>1</sup>, A. Pollak<sup>2</sup>, H. Aschauer<sup>3</sup>, A. Lischka<sup>3</sup>, G. Braunitzer<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik und

<sup>2</sup> Department für Neonatologie der Kinderklinik, Universität Wien,

<sup>3</sup> Max-Planck-Institut für Biochemie, München

Hämoglobin  $D_{Punjab}$  tritt im Rahmen einer genetisch determinierten Hämoglobinopathie auf. Gegenüber der normalen Globin- $\beta$ -Kette ist dabei in Position 121 eine Glutaminsäure durch Glutamin ersetzt. In der indischen Region Punjab findet sich diese Hämoglobinopathie bei etwa 1–2% der Bevölkerung.

In vielen Ländern Europas sowie in den USA (= Hb  $D_{Los Angeles}$ ) sind sporadische Fälle beschrieben.

Im Rahmen eines Screeningprogrammes für Risikoschwangerschaften wurde bei einer klinisch unauffälligen Gravididen ein aberrantes Hämoglobin entdeckt, das in der Zelluloseacetat-Folielektrophorese eine Mobilität wie Hb S (oder Hb C1) aufwies.

Mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatografie konnte ein atypisches Peptid der  $\beta$ -Kette isoliert werden, dessen Aminosäuresequenzanalyse den charakteristischen Befund für ein Hb  $D_{Punjab}$  ergab.

Die genetische Erfassung des gesamten Großfamilie der Patientin ist im Gange.

#### Literatur:

- VELLA, F., LEHMANN, H.: Hemoglobin  $D_{Punjab}$ . J. Med. Genet. 11, 341–348 (1974).

## Elastase-Inhibitor-Komplexe in der Differentialdiagnose von Pleuraergüssen

P. M. Bayer, Henrike Lanschütz, Eva Knoth, H. Klech, F. Kummer

Zentrallaboratorium und II. Med. Abt. des Wilhelmskrankenhauses der Stadt Wien

Trotz ausgedehnten Schrifttums über die biochemische Differenzierung von Pleuraergüssen sind die Ergebnisse der chemischen Laboratoriumsdiagnostik auf diesem Gebiet enttäuschend geblieben. Selbst einer extrem verfeinerten Analytik entziehen sich die meisten Ergüsse einer direkten Diagnostik, was durch die Komplexität ihrer Entstehungsursachen erklärt werden kann. Insbesondere die Differentialdiagnose von proteinreichen Exsudaten in bezug auf Malignität oder reiner Entzündung kann große Probleme aufwerfen.

Aus diesem Grunde untersuchten wir bei 26 Patienten mit Pleuraergüssen das Verhalten der Elastase-Inhibitor-Komplexe mittels Enzymimmunoassay (E. Merck, Darmstadt) in Serum und Ergußflüssigkeit. Die Differentialdiagnose maligne-entzündlich wurde mittels Zytologie und ev. Biopsie etc. gesichert.

Von den 26 Patienten hatten 17 Personen Ergüsse aufgrund von primären oder sekundären Malignomen, 9 Patienten wurden als entzündlich eingestuft. Bei allen Patienten mit malignen Ergüssen war die Elastase-Inhibitor-Komplex-Konzentration im Plasma wesentlich höher als in der Ergußflüssigkeit (Ratio-Mittelwert 6,01,  $s = 4,06$ ), bei den entzündlichen Ergüssen umgekehrt: Hier fanden wir immer eine wesentlich höhere Konzentration im Erguß (Ratio-Mittelwert: 0,35,  $s = 0,24$ ). Wenn sich diese Beobachtung an einem größeren Krankengut reproduzieren läßt, stellt die Bestimmung der Elastase-Inhibitor-Komplexe eine wesentliche Bereicherung der Laboratoriumsdiagnose von Pleuraergüssen dar.

## Die klinische Anwendung der Isoamylasebestimmung

Katharina Birath, L. Axelsson

Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Schweden

Gesamterumamylasebestimmung wurde lange Zeit – und wird noch immer – zur Diagnose von Pankreas-Störungen durchgeführt. Wie auch immer, es besteht ein allgemeiner Wunsch nach organspezifischen Analyten. Unter den Pankreas-spezifischen Analyten gibt es – unter anderem – Pankreasamylase, für die zwei Haupttechniken entwickelt wurden, Elektrophorese und Inhibitionstest.

Die Anwendung der Bestimmung der Isoamylase anstatt der Gesamtamylase hebt den diagnostischen Wert. Bei gesunden Patienten können etwa 50% der Gesamtkonzentration auf Pankreasamylase bezogen werden, was bedeutet, daß diagnostisch mäßige Änderungen der Pankreasamylase nicht feststellbar sind, wenn nur die Gesamtamylase gemessen wird. In einer Studie, die ungefähr 2800 Patientenproben umfaßte, wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- Bei 24% aller Proben ergab die Gesamtamylase unrichtige Informationen bezüglich Pankreasamylase.
- Von 548 Proben mit erhöhter Gesamtamylaseaktivität hatten 17% normale Pankreasamylase.
- Von 1785 Proben mit normaler Gesamtamylase hatten 11,5% erhöhte und 7,9% verringerte Pankreasamylase.
- Von 457 Proben mit vermindelter Gesamtamylase hatten 49% normale Pankreasamylase.

Aus diesen Beispielen kann geschlossen werden, daß die Bestimmung der Pankreasamylase in vielen Fällen den Wert der Laborergebnisse heben wird, was für den Patienten eine bessere Diagnose bedeutet.

Literatur:

- SKUDE, G.: Unveröffentlicht.  
 TSIAIOS, E. B. et al.: Ethnic "hyperamylasemia": clarification by isoamylase analysis. Clin. Chim. Acta 124, 13–21 (1982).  
 KOLARS, J. et al.: Sensitivity of serum total amylase, pancreatic isoamylase, lipase measurement in the diagnosis of acute pancreatitis. Gastroenterology 82, 1104 (1982).  
 KOEHLER, F. H. et al.: Diagnostic value of routine isoamylase assay of hyperamylasemic serum. Gastroenterology 82, 887–890 (1982).

## Immunoassays mit fluorimetrischer Detektion – eine Übersicht

K. Borner

Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Klassische fluorimetrische Techniken haben lange Zeit in der Klinischen Chemie eine geringe Rolle gespielt. Dem offensichtlichen Vorteil der höheren Sensitivität standen zu gravierende Nachteile gegenüber, z.B. eine höhere Störanfälligkeit durch Verunreinigungen

und Matrix-Effekte sowie Probleme in der aufwendigeren Meßtechnik im Vergleich zur Absorptionsphotometrie. Die Weiterentwicklung des quantitativen Immunoassays einerseits sowie die Fortschritte in der Meßgeräte-Technik andererseits haben in den letzten Jahren eine Renaissance der Fluorometrie in Form des Fluoreszenz-Immunoassay (FIA) ermöglicht. Leider wird dieser Fortschritt durch den Einsatz von sogenannten geschlossenen Systemen erkauft, in denen Reagenzien und Meßgerät nur noch von einem einzigen Hersteller bezogen werden können. Inzwischen gibt es eine große Zahl von unterschiedlichen Verfahren, sowohl von heterogenen als auch homogenen Fluoreszenz-Immunoassays, die kommerziell erhältlich sind oder deren Einführung in den Markt angekündigt ist. Das Referat beschreibt die Prinzipien, meßtechnischen Erfordernisse und Anwendungsgebiete folgender Immunoassays:

1. Heterogene FIA
  - 1.1 Solid phase FIA
  - 1.2 Time-resolved FIA
2. Homogene FIA
  - 2.1 Homogener Enzymimmunoassay (EMIT) mit Fluoreszenz-Detektion
  - 2.2 Quench FIA
  - 2.3 Substrate labelled FIA (SLFIA)
  - 2.4 Polarisation FIA (FPFA)
  - 2.5 Fluorescent excitation transfer immunoassay (FETI)

Soweit bereits eigene praktische Erfahrungen mit den genannten FIA vorliegen, werden diese im Referat berichtet und diskutiert.

## Externe Qualitätskontrolle von Pharmaka

K. Borner, H. Reinauer

Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Steglitz, Freie Universität Berlin

Die routinemäßige Qualitätskontrolle der Analytik von Pharmaka folgt den üblichen Regeln und beinhaltet labor-interne und labor-externe Maßnahmen. Während für die laborinterne Qualitätskontrolle seit vielen Jahren ein ausreichendes Angebot an kommerziellem Kontrollmaterial besteht, ist das gegenwärtige Angebot von Ringversuchen im deutschsprachigen Raum gering. Aus diesem Grunde führt das Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (INSTAND), Düsseldorf, seit 1981 Ringversuche für Pharmaka auf freiwilliger Basis durch. Zum Zeitpunkt der Niederschrift sind 6 Ringversuche abgeschlossen und ausgewertet. Die Zahl der Teilnehmer variierte zwischen 93 und 160. Es konnten 12 Bestandteile in je 2 Proben bestimmt werden: Digoxin, Digitoxin, Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin, Primidon, Ethosuximid, Valproinsäure, Theophyllin, Gentamicin oder Tobramycin oder Amikacin, Lithium. Als methodenunabhängiger Zielwert wird die Einwaage der Reinsubstanzen der Auswertung zugrunde gelegt. Die Zielwerte werden vor der Durchführung des Ringversuchs durch Referenz-Analysen überprüft. Als ausreichend werden Teilnehmer-Ergebnisse bezeichnet, die nicht mehr als 20% vom Zielwert abweichen. Dieses einfache und preiswerte Modell eines Ringversuchs hat sich bisher gut bewährt. Detaillierte statistische Auswertungen werden im Poster berichtet. Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß auch die Analytik von Pharmaka durch externe Qualitätssicherung erfolgreich unterstützt werden kann und sollte.

## Wann liegt ein „negativer“ TRH-Test vor? Versuch einer funktionellen Definition einer ausreichenden TSH-Antwort im i.v.-TRH-Test

P. Bottermann, U. Henderkott, Th. Gain, H. Gyaram

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar

Problemstellung: Der i.v.-TRH-Test (200 µg) wird an unserer Klinik dem oralen TRH-Test (40 mg) aus Praktikabilitätsgründen vorgezogen. Der orale TRH-Test ist jedoch stimulationsstärker und führt weniger häufig zu „negativen“ Testausfällen, wenn ein TSH-Anstieg



( $\Delta$ TSH) von  $>2\text{ mE/l}$  als „normal“ angesehen wird. Wenn jedoch unabhängig von der Art der Stimulation (i.v. oder oral) ein normaler TSH-Anstieg eine hyperthyreote Regelkreisstörung ausschließt, so ist bei allen Pat., die im oralen TRH-Test mit einem TSH-Anstieg  $>2\text{ mE/l}$  reagieren, der TSH-Anstieg nach i.v.-TRH-Gabe ebenfalls als normal zu bezeichnen, auch wenn dieser Anstieg weniger als  $2\text{ mE/l}$  betragen sollte. Daher wurde durch intraindividuellen Vergleich der TSH-Stimulierbarkeit versucht, an Hand des oralen TRH-Testes einen niedriger liegenden Grenzwert für den i.v.-TRH-Test festzulegen, unter dem erst von einem „negativen“ Testausfall gesprochen werden kann.

Pat. und Methodik: Verglichen wurde der TSH-Anstieg von 47 Pat., bei denen im i.v.-TRH-Test  $\Delta\text{TSH} <2\text{ mE/l}$  betrug und die Schilddrüsenhormonkonzentration im Normbereich lag, also keine manifeste Hyperthyreose bestand. TSH wurde als Dreifachbestimmung mit einer laboreigenen Doppelantikörpermethode gemessen, deren untere Nachweisgrenze  $0,37 \pm 0,11\text{ mE/l}$  ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ) beträgt. Ein signifikanter TSH-Anstieg (95% Vertrauenswahrscheinlichkeit) liegt bei  $\Delta\text{TSH} >0,55\text{ mE/l}$  vor.

Ergebnisse: 1. Bei 9 Pat. (19%) betrug  $\Delta\text{TSH}$  nach oraler Stimulation  $>2\text{ mE/l}$ . Alle diese Pat. zeigten beim i.v.-TRH-Test einen TSH-Anstieg von  $>1-2\text{ mE/l}$ , so daß bei  $\Delta\text{TSH} >1\text{ mE/l}$  von einer normalen Stimulierbarkeit gesprochen werden kann.

2. Bei den anderen Pat. mit  $\Delta\text{TSH}$  von  $>1,0-2,0\text{ mE/l}$ ,  $>0,55-1,0\text{ mE/l}$  und  $<0,55\text{ mE/l}$  im oralen TRH-Test fiel der i.v.-TRH-Test unterschiedlich aus (Einzelheiten s. Tab.).

Schlußfolgerung: 1. Ein TSH-Anstieg  $>1,0\text{ mE/l}$  im i.v.-TRH-Test schließt eine hyperthyreote Regelkreisstörung aus.

2. Bei einem TSH-Anstieg  $\leq 1,0\text{ mE/l}$  im i.v.-TRH-Test kann der stimulationsstärkere orale TRH-Test angeschlossen werden, wenn zwischen fehlender ( $<0,55\text{ mE/l}$ ) oder verminderter ( $>0,55-1,0\text{ mE/l}$ ) Stimulierbarkeit differenziert werden soll.

## Wertigkeit des intravenösen und oralen TRH-Stimulationstestes

P. Bottermann, U. Henderkott, C. Glogger, Th. Gain

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar

Fragestellung: In der Diagnostik von Schilddrüsenfunktionsstörungen wird meist der i.v.-TRH-Test durchgeführt. Der orale TRH-Test gilt jedoch als stimulationsstärker. Zur Beurteilung der Wertigkeit beider Tests wurde der Stimulationseffekt intraindividuell bei schilddrüsengesunden Personen ( $n = 19$ ) sowie Pat. mit euthyreoter Struma ( $n = 15$ ), Pat. mit klinisch manifesten Hypothyreose ( $n = 7$ ) und klinisch manifesten Hyperthyreose ( $n = 14$ ) verglichen.

Methodik: Die TSH-Bestimmung erfolgte als Dreifachbestimmung mit einer laboreigenen Doppelantikörpermethode, deren untere Nachweisgrenze  $0,37 \pm 0,11\text{ mE/l}$  ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ) beträgt. Der i.v.-Test wurde mit  $200\text{ µg}$  (Blutabnahmen nüchtern, 20, 25, 30, 35 Min.), der orale Test (Blutabnahmen nüchtern, 2, 3, 4, 5 Std.) mit  $40\text{ mg}$  TRH durchgeführt.

Ergebnisse: Mit Ausnahme der hyperthyreoten Pat., bei denen ein TSH-Anstieg fehlte, kam es in allen anderen Gruppen nach oraler TRH-Gabe zu einem signifikanten ( $p < 0,001$ ) höheren TSH-Anstieg als nach i.v.-TRH-Gabe. (Mittelwerte des TSH-Anstieges i.v. versus oral: Schilddrüsengesunde  $6,4$  v.s.  $11,8$ ; euthyreote Struma  $8,6$  v.s.  $17,9$ ; Hypothyreose  $33,7$  v.s.  $89,1$ ; Hyperthyreose  $<0,55$  v.s.  $<0,55\text{ mE/l}$ ).

Schlußfolgerung: 1. Euthyreote sowie hypothyreote und klinisch manifeste hyperthyreote Funktionslagen können mit dem intravenösen und oralen TRH-Stimulationstest gleichermaßen gut erfaßt werden.

2. Wegen der regelhaft zu beobachtenden stärkeren TSH-Stimulation nach oraler TRH-Gabe ist anzunehmen, daß bei einem Teil der Pat. mit fehlender oder „unzureichender“ TSH-Stimulation im i.v.-TRH-Test, aber normaler Schilddrüsenhormonkonzentrationen („praeklinische“ oder „latente“ Hyperthyreose) mit oraler TRH-Gabe noch ein regelrechter TSH-Anstieg ( $\Delta\text{TSH} >2\text{ mE/l}$ ) zu erzielen ist. Bei diesen Pat. sollte deswegen zusätzlich ein oraler TRH-Test durchgeführt werden.

## Messung der Granulozytenaktivität und der Oponisierungskapazität des Serums durch Chemilumineszenz

G. Bruchelt, J. Ollhoff, K. Schmidt

Chirurgische Universitätsklinik, D-7400 Tübingen

Während der Phagozytose bilden Neutrophile Granulozyten reaktive Sauerstoffverbindungen, die die aufgenommenen Partikel oxidativ angreifen. Mit diesem Prozess verknüpft ist die Emission von Photonen. Diese „native“ Chemilumineszenz (CL) ist allerdings sehr schwach und energetisch uneinheitlich, kann aber durch Zugabe von Substanzen wie Luminol verstärkt und für analytische Zwecke zugänglich gemacht werden (1, 2). Das Ausmaß der CL ist sowohl von der Zahl und vom Funktionszustand der Granulozyten als auch vom Oponisierungsgrad der aufgenommenen Partikel abhängig. Bei Konstanthaltung eines der beiden Parameter läßt sich unter bestimmten Bedingungen die Aktivität des anderen ermitteln. Auf dieser Grundlage wurde das folgende Testsystem aufgebaut: Granulozyten von Kontrollpersonen (K) und Patienten (P) wurden mit Hilfe eines Stufengradienten isoliert ( $500\text{ µl}$  EDTA-Blut/ $500\text{ µl}$  55% Percoll/ $500\text{ µl}$  70% Percoll). Die Oponisierung des Zymosans als zu phagozytisches Partikel wurde extern durchgeführt, da Serum im Testansatz das CL-Signal unspezifisch beeinflusst. Der vollständige Testansatz besteht aus:

Kontrollwert Granulozyten:	Granulozyten (K) + ops. Zymosan (Standard)
Kontrollwert Oponisierung:	Granulozyten (K) + ops. Zymosan (K-Serum)
Patientenwert Granulozyten:	Granulozyten (P) + ops. Zymosan (Standard)
Patientenwert Oponisierung:	Granulozyten (K) + ops. Zymosan (P-Serum)

Der Verlauf der CL-Antwort wird über einen Rechner verfolgt und kann zu Dokumentationszwecken ohne weitere Nachkorrekturen verwendet werden. Die Meßwerte werden mit den zuvor ermittelten Werten eines Normalkollektivs verglichen. An jedem Versuchstag wird eine Kontrollperson mitgemessen. Anwendungsbeispiele dieses Testsystems werden gezeigt.

### Literatur:

1. ALLEN, R. C., STJERNHOLM, R. L., STEELE, R. H.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 47, 679–684 (1972).

2. ALLEN, R. C., LOOSE, L. D.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 69, 245–252 (1976).

## Trockenchemie: Erste Ergebnisse von internen Evaluierungen

E. W. Busch

Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Forschung + Entwicklung

Unter „Trockenchemie“ versteht man Teststreifen oder Chips, die alle benötigten Reagenzien für eine Analyse in trockener Form enthalten. Diese Tests sind einfach auszuführen, da Kapillarblut oder venöses Blut direkt aufgegeben und nach einer bestimmten kurzen Zeit gemessen werden kann. Die Vorteile dieser Technologie werden bei Einzeltests oder kleinen Serien wirksam, wo kein ausgebildetes Laborpersonal zur Verfügung steht und das Ergebnis in wenigen Minuten vorhanden sein muß.

Die Entwicklung einer integrierten Plasmaseparation auf dem Teststreifen war nicht einfach, ebenfalls die Adaptierung und Veränderung chemischer Methoden zur Analyse von unverdünnten Blutproben.

Das System für die Analyse der wichtigsten Parameter weist folgende Merkmale auf:

- Gebrauch von Voll- oder Kapillarblut ohne vorherige Plasmatrennung als wesentlicher Bestandteil eines jeden Tests.
- Automatische Zeit- und Temperaturkontrolle durch einen magnetischen Barcode.
- Informationen über Wellenlänge, Eichkurven, Algorithmen zur Transformation und chargenspezifische Kalibrierung ebenfalls durch den Barcode.

– Automatische Kalibrierung der Geräte. Möglichkeiten von Endpunkt und kinetischen Bestimmungen.

– Probenauftragung ist mit 30 µl (± 5%) unkritisch.

Erste interne Evaluierungen zeigen, daß die Ergebnisse für Substrate und Enzyme eine befriedigende Präzision und Richtigkeit aufweisen und den Erfahrungen mit herkömmlichen Methoden entsprechen.

## Evaluation der Bestimmungen von Glucose, Harnstoff-N, Harnsäure, Bilirubin, Cholesterin und Lactat-Dehydrogenase mit dem Seralyzer®-System

E. Burger, A. Lapin, F. Gabl

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Universität Wien

In den Monaten Februar bis April 1982 wurde das bis dato verfügbare Programm des Seralyzer-Systems evaluiert. Die Präzision und Richtigkeit von Bestimmungsmethoden für Glucose, Harnstoff-N, Harnsäure, Bilirubin, LDH und Cholesterin wurden ermittelt und mit laboratoriumseigenen Methoden verglichen.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt: Die Variationskoeffizienten (VK) in der Serie lagen bei allen Methoden unter 1,6% sowie die VK von Tag zu Tag unter 3,5% (für Bilirubin 10,4%). Die Korrelationskoeffizienten (R) für den Vergleich zu laboratoriumseigenen Methoden lagen über 0,97. Die Arbeiten für weitere Serumkonstituenten werden fortgesetzt.

Eine Evaluierung bezüglich Praktikabilität und Brauchbarkeit als einfaches Analysensystem für eine Arztpraxis und Notfalldienst im Krankenhaus wird diskutiert.

### Literatur:

1. APPERL W.: Das Seralyzer-System, Einführung und Erfahrungsbericht. Med. Lab. 34, 314–371 (1981).
2. GREYSON, I.: Analytische Chemie auf trockenen Reagenzien. Probleme und Möglichkeiten. Med. Lab. 34, 209–215 (1981).
3. THOMAS, L., PUSCHKE, W., STORZ, G.: Evaluation of a quantitative Solid Phase Reagent System for Determination of Blood Analytes. Annals of Clin. Biochem. 19, 214–223 (1982).
4. BURGER, E., LAPIN, A., GABL, F.: Das Seralyzer®-System, Evaluation der Bestimmung von Glucose, Harnstoff-N, Harnsäure, Bilirubin, Cholesterin und Lactat-Dehydrogenase. Med. Lab. 35 (6), 153–157 (1982).

## Die Bestimmung von Apo-B mittels immunochemischer Methoden

P. Dz-Cl, G. M. Kostner

Institut für Medizinische Biochemie, Universität Graz, Österreich

Unter den Risikofaktoren für Atherosklerose und Herzinfarkt nimmt die Erhöhung der Serum-Apolipoprotein-B (Apo-B) Konzentration einen vorrangigen Platz ein. Apo-B ist wegen seines hohen Molekulargewichtes in lipidgefreier Form praktisch unlöslich. Es ist im Serum über mindestens 5 distinkte Lipoproteinfraktionen verteilt (CYM, VLDL, IDL, LDL und Lp(a)), die sich in ihren chemischen und physikochemischen Eigenschaften drastisch voneinander unterscheiden. Eine Immunoquantifizierung ergibt daher nur dann brauchbare Werte, wenn es gelingt, Apo-B-enhaltende Lipoproteine in eine einheitliche Form mit gleicher Zugänglichkeit der antigenen Determinanten zu bringen. Dies wurde in der Vergangenheit teilweise dadurch erreicht, indem dem Verdünnungspuffer Detergenzien zugesetzt wurden. Andere Arbeitsgruppen verwendeten Lipasen, um Triglyceride (TG) abzubauen.

Wir haben den Einfluß verschiedenster, in der Literatur beschriebener, sowie selbst zusammengestellter Detergenzien auf die Ergebnisse der Apo-B Quantitierung untersucht, und den Ergebnissen mit Lipoproteinlipase sowie mit Bakterien „Lipase-TG“ gegenübergestellt. Als Referenzmethode diente eine gravimetrische Apo-B Bestimmung nach Ultrazentrifugation. Folgende Methoden wurden angewandt: Rate- und Endpunktnephelometrie, Laurell Elektrophorese, Radiale

Immunodiffusion und Zonenelektrophorese nach Vesterberg. Letztlich wurde der Einfluß der Probenlagerung auf die Ergebnisse der verschiedenen Methoden untersucht. In fast allen Assays erwies sich die Behandlung der Proben mit Lipase als optimal. Der Einsatz von Detergenzien ergab nur bei der Endpunktnephelometrie bedingt brauchbare Werte. Es werden optimierte Methoden für die einzelnen immunochemischen Methoden angegeben, sowie Richtigkeit, VK, und Korrelationen untereinander diskutiert.

## Enzymatische Harnsäurebestimmung mit Azofarbstoff als Meßsignal

J. Danninger, U. Engels, R. Spaeth

American Hospital Supply, Abt. Merz + Dade, D-8000 München

Die Bestimmung der Harnsäure wird heute unter Verwendung enzymatischer Methoden mit Uricase (E.C. 1.7.3.3) durchgeführt. Der enzymatische Abbau von Harnsäure kann dabei entweder direkt bei 293 nm verfolgt werden (1), oder das entstehende Wasserstoffperoxid wird zur Bildung eines Meßsignals verwendet (2, 3, 4). Unser Meßprinzip beruht auf der Wasserstoffperoxid und Peroxydase (E.C. 1.11.1.7) abhängigen Kopplung von zwei Chromogenen zu einem stabilen Azofarbstoff. Als Chromogen I dient dabei in Phosphatpuffer gelöstes N-Aethyl-N-(2-hydroxyethyl)-3-toluidin. Chromogen II ist 2,3 dihydro-2-hydraxono-3-methylbenzothiazolsulfonat, das tabletiert in Alufolie versiegelt bis zum Testeinsatz vor Feuchtigkeit, Luftsaurestoff und UV-Licht geschützt ist.

	Merz + Dade	Prätorius (1)	Kageyama (2)	Haeckel (3)	Trinder (4)
Meßsignal $\Delta E$ pro 1 mg/dl (59,5 µmol/l) Harnsäure	0,034	0,015	0,040	0,018	0,020
Volumenverhältnis Probe: Reagenz	1:50	1:50	1:10	1:20	1:50
Extinktion, relativ bezogen auf Probe/Reagenz 1:50	0,034	0,015	0,008	0,007	0,020
Meßsignalhöhe in % bei gleichem Probe/Reagenzverhältnis	100%	44%	24%	21%	59%

Vergleich der Meßsignale gemessen nach den Arbeitsanleitungen.

Das Testreagenz ist 2 Tage bei Raumtemperatur bzw. 5 Tage bei 2–8°C stabil. Die Bestimmung kann sowohl im kinetischen als auch im Endpunktverfahren mit 10 Min. Reaktionszeit durchgeführt werden. Das Lambert-Beers-Gesetz bis 20 mg/dl bzw. 1,2 mmol/l Harnsäure ist erfüllt. Das Mitführen eines Probenreagenztes ist nicht notwendig, da Additive zu einer Klärung lipämischer Proben während der Meßzeit führen. Die Bestimmung der Präzision in der Serie n = 10 bei 5,6 mg/dl Harnsäure ergab einen VK von 2,3% bei 14 mg/dl Harnsäure einen VK von 1,8%. Die Präzision von Tag zu Tag über 10 Tage wurde bei 5,6 mg/dl Harnsäure mit einem VK von 3,6% und bei 14 mg/dl mit einem VK von 2,1% bestimmt.

### Literatur:

1. PRATORIUS, E. et al.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5, 273 (1953).
2. KAGEYAMA, N.: Clin. chem. Acta 31, 421 (1971).
3. HAECKEL, R.: Z. Klin. Chem. Biochem. 14, 101–107 (1976).
4. TRINDER P. et al.: Analyst 97, 142 (1972).

## Lipase-Enzymimmunoassay: Normalwerte und diagnostische Relevanz

F. Dati, G. Grenner

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, D-3550 Marburg

Durch die Isolierung der Human-Pankreaslipase und die Gewinnung von Antikörpern gegen dieses Enzym ist es möglich geworden, einen sehr empfindlichen und spezifischen Enzymimmunoassay zu entwickeln, der die Pankreaslipase quantitativ anhand ihrer Antigen-eigenschaften erfaßt.

Diese immunchemische Methode ist unabhängig von spezifischen Substraten, Cofaktoren und erlaubt eine exakte Erfassung der Lipase auch im normalen und subnormalen Konzentrationsbereich. Der Meßbereich liegt zwischen 3 und 300 µg/l, als untere Nachweisgrenze wurde 0,3 µg/l ermittelt.

Der neue Enzymimmunoassay ist sehr spezifisch, da Lipasen nicht-pankreatischen Ursprungs, wie z.B. die Postheparin-Lipoprotein-Lipase und hepatische Triglycerid-Lipase nicht erfaßt werden. Ebenso werden keine Störungen weder bei hämolytischen, lipämischen, ikterischen Seren und hohen Rheumafaktor-Konzentrationen noch durch Antikoagulantien wie Heparin, EDTA und Citrat beobachtet. Die Linearität des Tests ist in allen Konzentrationsbereichen gewährleistet, so daß Verlaufsbeobachtungen sowohl von akuten wie auch von akut- und chronisch-rezidivierenden Pankreatitiden möglich sind.

Aus der Lipasebestimmung in 369 Seren von gesunden Erwachsenen errechnete sich ein Referenzbereich von 7,7 bis 56,4 µg/l (2,5–97,5 Perzentile; Median: 23 µg/l). In Nabelschnurseren wurden Lipasewerte bis max. 15 µg/l gemessen (Median: 3,8 µg/l; 97,5 Perzentile: 9,6 µg/l). Die Lipasenkonzentrationen steigen sehr schnell nach der Geburt an, um dann zwischen dem 3. und 40. Lebensjahr annähernd konstant zu bleiben (Median: 16–25 µg/l). Zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr wird eine kontinuierliche Verschiebung des unteren Referenzbereiches von 8 bis 15 µg/l und des oberen Referenzbereiches von 54 bis 68 µg/l festgestellt.

Neben dem zeitlichen Vorteil der längeren Nachweisbarkeit von erhöhten Konzentrationen in der akuten Phase von Pankreaserkrankungen zeichnet sich die Serum-Lipase gegenüber der Amylase im Serum und im Urin noch durch eine höhere Organspezifität aus. Diese Vorteile verbunden mit der hohen Methodenspezifität des Enzymimmunoassays geben der neuen Lipasebestimmung einen hohen Wert in der Diagnostik von akuten Pankreatitiden. Erhöhte Lipasekonzentrationen werden sowohl im Blut von Neugeborenen mit Mucoviszidose und bei bestimmten Formen von Diabetes wie auch bei einigen Pankreaskarzinomen gemessen. Erniedrigte Lipasekonzentrationen sind hingegen ein Hinweis für eine chronische Pankreasinsuffizienz, die u.a. auch bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Mucoviszidose bzw. bei bestimmten Pankreaskarzinomen beobachtet wird. Bei Pankreasfunktions testen (wie z.B. Sekretin-Pankreozymin- bzw. Sekretin-Ceruletid-Test) wird im Serum nach Sekretin-Gabe keine signifikante Konzentrationsänderung der Lipase-Basalwerte bei normaler und hochgradiger exokriner Pankreasinsuffizienz beobachtet. Bei leichter bis mittelgradiger Funktionseinschränkung wird hingegen eine mehrfache Erhöhung der vor Stimulation gemessenen Serum-Lipasewerte festgestellt. Patienten mit Steatorrhoe und Obstruktion des Pankreaspfades stellen eine Sonderform dar, da sie abnorm hohe Anstiege der Serumlipase nach Sekretin aufwiesen.

## Die diagnostische Bedeutung der SP1-Bestimmung in der Schwangerschaft und Onkologie

F. Dati, G. Grenner, H. Bohn

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, D-3550 Marburg

Das schwangerschaftsspezifische  $\beta_2$ -Glykoprotein (SP1) ist ein Protein, das in den Syncytiotrophoblasten der Plazenta gebildet wird.

Während im Serum nicht-schwangerer gesunder Personen SP1-Werte unter 1 µg/l bestimmt werden, kann SP1 im mütterlichen Blut

bereits ab dem 6. Tag nach Konzeption in Konzentrationen über 1 µg/l nachgewiesen werden. Im Verlauf der Schwangerschaft steigt der SP1-Spiegel kontinuierlich an und erreicht in der 38.–39. Schwangerschaftswoche seine höchsten Werte (Median: 180 mg/l; 10. Perzentile: 110 mg/l; 90. Perzentile: 260 mg/l; Maximum: 310 mg/l; Minimum: 80 mg/l). Im Rahmen der Schwangerschaft liegt die diagnostische Bedeutung der SP1-Bestimmung in:

- Frühnachweis einer Schwangerschaft (u.a. okkulte Schwangerschaften),
- Entscheidungshilfe bei Verdacht auf extrauterine Gravidität,
- Überwachung der Schwangerschaft bei klinischen Symptomen eines drohenden Abortes (erniedrigte SP1-Werte bei Schwangerschaften mit schlechter Prognose)
- Beurteilung von Komplikationen in der Spätschwangerschaft (bei EPH-Gestosen insbesondere mit intrauteriner Wachstumsretardierung oder mit Präeklampsie bzw. bei Rh-Isomunisierung).

Im Rahmen des malignen Wachstums findet die SP1-Bestimmung eine Anwendung bei trophoblastischen Erkrankungen in der Differenzierung zwischen Blasenmolten und Chorionkarzinomen und in der Verlaufsbeobachtung nach Therapie.

SP1 kann auch bei anderen Tumoren, wie z.B. bei ca. 14% der Mammakarzinome, oder bei Lungen-, Ovarial- und Uteruskarzinomen nachgewiesen werden. Bei nicht-seminomatösen Hodentumoren kann SP1 als ein nützlicher zusätzlicher Marker neben ChH und AFP angesehen werden, da in einigen Fällen deutliche Unterschiede zwischen diesen 3 Proteinen vorliegen und gelegentlich nur die SP1-Bestimmung klinisch wertvolle Informationen liefert.

## Antithrombin III-Bestimmung mit einem neuen chromogenen Substrat

F. Dati, H. Heber

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, D-3550 Marburg

Antithrombin III (AT III) ist der wichtigste physiologische Inhibitor der Blutgerinnung, der Thrombin und andere Gerinnungsfaktoren hemmt und als Heparin-Cofaktor für die antikoagulatorische Wirkung des Heparins verantwortlich ist. Heutzutage ist eine Substitution von AT III in den Fällen möglich, wo es vermindert ist, wie z.B. bei Leberzirrhose, angeborenem Mangel, akutem Leberversagen, nephrotischem Syndrom und bei Verbrauchskoagulopathien. Da bei der AT III-Substitutionstherapie eine Überwachung notwendig ist, werden schnelle und praktikable Methoden zur AT III-Bestimmung im Plasma benötigt.

Die neue Methode zur Bestimmung der AT III-Aktivität im Plasma (Berichrom®-Antithrombin III, Behringwerke AG, Marburg) beruht auf der Hemmung einer vorgelegten Menge von humanem  $\alpha$ -Thrombin durch das in der Plasmaprobe vorhandene AT III in Gegenwart von Heparin. Die Rest-Thrombinaktivität wird mit Hilfe eines chromogenen Peptidsubstrates (Cyclohexylalanyl-L- $\alpha$ -Aminobutyryl-Arginyl-p-Nitroanilin), von dem p-Nitroanilin abgespalten wird, bestimmt. Die Geschwindigkeit, mit der p-Nitroanilin entsteht, ist der AT III-Aktivität der Probe umgekehrt proportional. Die Messung wird photometrisch bei 405 nm bei 25°C, 30°C und 37°C durchgeführt. Die Auswertung erfolgt hauptsächlich anhand eines in % der Norm kalibrierten Human-Kontroll-Plasmas über eine Bezugskurve. Für die Gewinnung der Plasmaprobe kann als Antikoagulant sowohl Citrat wie auch EDTA verwendet werden.

Die Präzision für die kinetische und die Zwei-Punkt-Methode ist durch Intraassay-Variationskoeffizienten zwischen 1 und 7% für AT III-Werte von 90–100% der Norm charakterisiert. Bei extrem niedrigen AT III-Konzentrationen (20–30% der Norm) lag der Intraassay-VK für die kinetische Methode bei 5,2% und für die Zwei-Punkt-Methode bei 15,1%.

Die Linearität der AT III-Aktivitätsbestimmung ist von Werten zwischen 130 und 20% der Norm gewährleistet. Die prozentuale Thrombinhemmung bei einem AT III-Wert von 100% der Norm liegt bei 45% des vorgelegten  $\alpha$ -Thrombins.

Eine gute Vergleichbarkeit mit anderen enzymatischen AT III-Bestimmungsmethoden wurde für die geprüfte Temperatur besonders unter

Verwendung von Patientenseren gefunden (Methode 1:  $r = 0,95 - 0,97$ ; Methode 2:  $r = 0,84 - 0,96$ ). Der Normalbereich für die AT III-Aktivität ( $n = 60$ ), gemessen bei 25°C und 37°C betrug 75–120% der Norm.

Weitere Charakteristika für die Methode sind: einfache Reagenzienvorbereitung, sehr gute Langzeit-Stabilität, Adaptierbarkeit an Analysenautomaten.

## Photometrische Methode zur Bestimmung von Chymotrypsin im Stuhl – Erste Ergebnisse aus der klinischen Erprobung

R. Deeg, P. Kaspar, R. Portenhauser, G. Möller

Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica Werk Tutzing

Die Bestimmung von Chymotrypsin im Stuhl ist ein anerkannter Test auf Pankreasinsuffizienz (1). Kürzlich wurde über eine neue photometrische Bestimmung berichtet (2), bei der das spezifische Substrat Succ-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA Verwendung findet. Durch Vorbehandlung der Stuhlprobe (ca. 100 mg) mit der 100fachen Menge eines detergens- und salzhaltigen Reagens wird das Chymotrypsin von den Stuhlpartikeln abgelöst. 2 ml der Substratlösung werden mit 100 µl Stuhlsuspension versetzt. Die Kinetik der Farbstofffreisetzung wird bei  $\lambda = 405$  nm gemessen. Die Methode wird z.Z. in klinischen Labors erprobt. Erste Ergebnisse über Korrelation zum titrimetrischen Test (3), Präzision und Einsatz einer stabilisierten Chymotrypsin-Präparation als Qualitätskontrolle werden mitgeteilt.

Literatur:

1. AMMAN, R.: *Fortschritte in der Pankreasfunktionsdiagnostik*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1987).
2. KASPAR, P., MÖLLER, G., WAHLEFELD, A. W., STÄHLER, F.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 331, 391–392 (1981).
3. HAVERBACK, B. J., GUTENBERG, P. J., MONTGOMERY, D. W.: *Gastroenterology* 44, 558–557 (1963).

## Indikation und Ergebnisse aktiver und passiver Hepatitisprophylaxe

F. Deinhardt

Max von Pettenkofer-Institut, München

Eine passive Immunisierung gegen Hepatitis B ist durch Inokulation von Antikörpern gegen das Hepatitis B Oberflächenantigen (HBsAg) möglich. Normales Immunglobulin enthält aber im allgemeinen nicht genügend Antikörper, um einen effektiven Schutz gegen Hepatitis B zu verleihen. Zur passiven Immunisierung gegen Hepatitis B wird deshalb ein spezielles Hepatitis B Immunglobulin (HBIG) verwendet, das hohe Antikörpertiter gegen das HBsAg enthält. Prophylaktisch vermittelt das HBIG einen passiven Schutz bis zu etwa drei Monaten und kann eine Infektion verhüten oder zumindest abschwächen, wenn es innerhalb von Stunden (wenn möglich innerhalb von sechs Stunden) nach einer Infektion gegeben wird. Eine Infektion von Neugeborenen von chronisch mit Hepatitis B Virus infizierten Müttern kann durch Inokulation von HBIG direkt nach der Geburt zwar nicht immer verhindert werden, doch kann durch eine dreimalige Gabe von HBIG (gleich nach der Geburt und etwa drei und sechs Monate später) eine klinische Erkrankung zu einem hohen Prozentsatz und die Ausbildung eines chronischen Trägerstatus praktisch vollständig verhindert werden.

Zur aktiven Immunisierung gegen Hepatitis B ist während der letzten Jahre ein Impfstoff, bestehend aus gereinigtem HBsAg, das aus dem Blutplasma von chronischen HBsAg-Trägern gewonnen wird, entwickelt worden. Dieser Impfstoff enthält kein infektiöses Virus, verursacht keine wesentlichen Nebenerscheinungen, und es bestehen praktisch keine Kontraindikationen zur Immunisierung mit diesem Impfstoff. Der Impfstoff induziert Antikörper gegen HBs (Anti-HBs) in 95–100% der Geimpften und verhindert dadurch weitestgehend eine Infektion mit Hepatitis B Virus und fast zu 100% eine Erkrankung und die Ausbildung eines Virusträgerstatus. Die aktive Impfung gegen Hepatitis B wird für folgende Personengruppen empfohlen: Gruppen

des medizinischen und zahnmedizinischen Personals, die besonders infektionsgefährdet sind; Dialysepatienten, Patienten, denen häufig Blut oder Blutbestandteile übertragen werden, sowie Patienten vor ausgedehnten chirurgischen Eingriffen; Patienten und Pflegepersonal in psychiatrischen Anstalten oder vergleichbaren Fürsorgeeinrichtungen für Zerebralschädigte oder Verhaltensgestörte mit erhöhtem Auftreten von Hepatitis B Infektionen; Personen mit engem Kontakt mit Hepatitis B Virus-positiven (HBsAg oder HBsAg und HBeAg) Personen, Neugeborene Hepatitis B Virus-positiver Mütter; sowie besondere Risikogruppen wie z.B. Personen mit häufigem Wechsel der Sexualpartner, Drogenabhängige oder länger einsitzende Strafgefangene, und auch Reisende in Hepatitis B-Endemiegebiete, bei denen ein enger Kontakt zur einheimischen Bevölkerung zu erwarten ist.

Eine kombinierte passiv-aktive Immunisierung ist gleichfalls möglich durch die simultane Applikation von HBIG und Hepatitis B Vakzine, und wird für die Fälle empfohlen, in denen ein sofortiger Impfschutz notwendig ist. Dieser Impfmodus hat heute die alleinige Anwendung von HBIG fast vollständig verdrängt und wird vor allem auch nach Nadelstichverletzungen und für Neugeborene von Hepatitis B Virus-positiven Müttern empfohlen.

## Rötelnspezifischer IgM- und IgG-Antikörnernachweis mit dem ELISA. Praxisprüfung Enzygnost®-Rubella

H. W. Doerr

Institut für Med. Virologie der Univ. Heidelberg

In 100 Serumproben von 20 Probanden mit artifizieller (Vakzination) oder natürlicher Rötelninfektion wurden mit dem Enzygnost®-Rubella-Verfahren in einer Serumverdünnung (1:40) die spezifischen Antikörper in den Klassen IgM und IgG gemessen und mit anderen Nachweismethoden verglichen.

Röteln-IgM-Antikörper ließen sich mit diesem ELISA bei allen Probanden zuverlässig nachweisen, bei zweien allerdings vergleichsweise zum IgM-HHT mit Mikroimmunobeads [J. Virol. Meth. 3, 45–49 (1981)] relativ unempfindlich. In 6 ausgewählten Fällen ergab die Zugabe von Rheumafaktor bzw. Röteln-Hyperimmunglobulin in verschiedenen Verhältnissen keine Verfälschung des Testresultates.

In demselben System wurden auch die IgG-Antikörper bestimmt. Die Ergebnisse entsprachen denen des HHT mit der Serokonversionsstufe 1:≥8, wobei in Übereinstimmung mit dem HHT-Test unsichere HHT-Werte (1:8, 1:16) abgeklärt werden konnten. Analog zum HHT, aber im Gegensatz zu anderen kommerziellen IgG-ELISAs wurden mit dem Enzygnost®-Rubella-System auch die frühen IgG-Antikörper erfaßt. Somit werden bei frischen Rötelninfektionen signifikante Antikörpertiteranstiege nicht verpaßt; allerdings ist die Abklärung von Rötelnreinfektionen nicht möglich.

## Nachweis von IgG- und IgM-spezifischen Rötelnantikörpern mit Hilfe des ELISA

H. W. Doerr

Institut für Med. Virologie der Univ. Heidelberg

Zur Bestimmung von Rötelnantikörpern werden 4 verschiedene, kommerziell erhältliche ELISA-Systeme (Mikroplatten-, Kugel-, Küvetten-Systeme) erprobt und mit dem HHT, dem HHT und dem IgM-Fraktion-HHT verglichen. Mit allen 4 Verfahren lassen sich die IgG-Antikörper ab der 3. Woche nach Beginn der Rötelerkrankung sicher feststellen und in Übereinstimmung zum HHT unsichere HHT-Titer (1:8, 1:16) abklären. Frühe IgG-Antikörper gegen das Rötelnvirus werden nur im Enzygnost®-Rubella der Fa. Behring erfaßt.

Unter Verwendung monoklonaler Antikörper (Fa. Nordic) haben wir in einem 4-Phasen-Test die Rötelnantikörper in den 4 Subklassen des IgG bestimmt. IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>2</sub>-Antikörper erscheinen nach akuter

Rotelninfektion oder -impfung vor den anderen Subklassen. Dies wird bestätigt durch die Serum-Vorabsorption mit Protein A; die verbleibenden Rotelnantikörper der Subklasse IgG<sub>2</sub> übertreffen ihren quantitativen Anteil am Gesamt-IgG (ca. 5–7%) um ein Vielfaches.

Die Bestimmung der IgM-spezifischen Rotelnantikörper nach dem konventionellen ELISA-Prinzip (d.h. mit Träger-fixiertem Antigen) belegt im Vergleich zum IgM-HIT eine hohe Sensitivität und gute Zuverlässigkeit des Enzygnost<sup>®</sup>-Rubella<sup>®</sup> (Fa. Behring) und des Rubazyme M-Systems (Fa. Abbott). Wegen vereinzelter Divergenzen empfiehlt es sich jedoch, im grenzwertigen Bereich ein zweites, nach einem anderen Prinzip aufgebautes System (s. Poster) anzuwenden. Mit dem Rubazyme G-Test (Fa. Abbott) werden nach Beginn einer Rotelnkrankung signifikante Antikörpertiteranstiege oft nur mit erheblicher Verspätung nachgewiesen; bei positivem IgM-Test ergibt sich jedoch damit die Möglichkeit, eine (seltene) perinatalmedizinisch harmlose Rotelnzweitinfektion zu diagnostizieren.

## Tumorassoziierte Hyperamylasämie vom Typ S

E. Dworzak<sup>1</sup>, L. Fuith<sup>2</sup>, E. Bichler<sup>2</sup>,  
D. Gruber<sup>1</sup>, H. Grunick<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Med. Chemie und Biochemie, Universität Innsbruck

<sup>2</sup> Universitäts-Frauenklinik, Universität Innsbruck

<sup>3</sup> Universitätsklinik für HNO-Krankheiten, Universität Innsbruck

Die Einführung einer neuen Methode zur Bestimmung der Serumisomylasen macht es möglich, das pankreatische Isoenzym „Typ P“ vom salivären Isoenzym „Typ S“ auf einfache Weise zu trennen (1). Es wird dabei eine selektive Inhibiertechnik angewandt, wobei die Enzymaktivität vor und nach Inkubation mit einem Weizenkeimprotein bestimmt wird. Das inhibierend wirkende Protein hat eine besondere Affinität zum Isoenzym vom S-Typ, das Isoenzym vom P-Typ wird kaum beeinflusst. In vorliegender Studie wurden die beiden Isoenzyme bei gesunden Kontrollpersonen mit dem Verteilungsmuster bei Patienten mit entzündlichen Erkrankungen der Parotis und des Ovars bzw. mit Tumorträger beider Organe verglichen. Frühere Untersuchungen zeigten (2), daß das Isoenzym vom S-Typ nur in einem kleinen Prozentsatz pankreatischen Ursprungs ist. Es wird vor allem von Zellen der Parotis, der Tränendrüsen, der Leber, der Lunge und der Genitalorgane produziert. Bei gesunden Kontrollpersonen konnte gezeigt werden, daß das Verhältnis S-Typ zu P-Typ etwa 60:40% der Gesamtzymaktivität beträgt. Bei entzündlichen Erkrankungen der Parotis bzw. des Ovars konnte in einigen Fällen eine leichte Erhöhung der Gesamtaktivität nachgewiesen werden, wobei das Isoenzym vom S-Typ etwa 70–75% der Gesamtaktivität betrug. Adenocarcinome des Ovars und Mischtumoren der Parotis zeigten eine deutliche Steigerung der Aktivität des S-Typs, diese nahm 80–90% der erhöhten Gesamtaktivität ein. Das S-Typ-Isoenzym, das in Speichel und Tränenflüssigkeit zu 95–100% nachgewiesen werden konnte, hat dasselbe elektrophoretische Verhalten, wie das bei Parotis- und Ovarialtumorträgern nachgewiesene Isoenzym. Die Bestimmung der Amylase-Isoenzyme im Serum ist von klinischem Interesse, da die Frühdiagnose bestimmter Tumoren erleichtert werden sollte. Vorliegende Arbeit gibt einen Hinweis, daß Karzinome der Parotis und des Ovars mit der Erhöhung des Isoenzym vom S-Typ versgesellschaftet sein können.

Literatur:

1. HUANG, W. Y., TIETZ, N. W.: Clin. Chem. 28/7, 1526–1527 (1982).
2. WARSAW, A. L., LEE, K.-H.: J. Surgical Research 22, 362–369 (1977).

## Nachweis der Rötelninfektion und der Rötelnimmunität

G. Enders

Virol. med. diagn. Institut, Hölderlinplatz 10, D-7000 Stuttgart

Ein wichtiger Teil der Maßnahmen zur Verhütung einer Rötelnembryopathie und unnötiger Schwangerschaftsunterbrechungen ist eine exakte Rötelnserologie. Im Vordergrund stehen die Diagnose von frischen und kürzlichen Infektionen sowie Reinfektion nach früherer

Impfung in der Schwangerschaft und die Feststellung des Immunstatus in der Schwangerschaftsvorsorge und im gebärfähigen Alter. Seit der Einführung des Hämagglutinationshemmtestes (HAH) zum Rotelnantikörpernachweis vor 15 Jahren und der Anwendung der Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation (SDG) zum Nachweis von IgM-Antikörpern wurden viele Modifikationen dieser beiden Methoden sowie zahlreiche neue Testarten entwickelt. Diese werden heute z.T. als Kits angeboten. Deshalb ist es wichtig, die Vorteile, Fehlermöglichkeiten und Grenzen der in der Praxis am häufigsten verwendeten Kits im Vergleich zu den Standardmethoden des HAH und des SDG für den IgM-Antikörpernachweis zu kennen und für eine optimale Labordiagnostik die Kombination verschiedener Testarten zu ermitteln. Zu diesem Zwecke führten wir mit dem ELISA Enzygnost IgG- und IgM-Test (Behring), dem ELISA Rubazyme IgG- und IgM-Test (Abbott), dem Hämolysis in Gel-Test (Merck) und dem nicht-kommerziellen Hämoagglutinationshemmtest-IgM-Test (HIT) vergleichende Untersuchungen mit dem HAH Stgt. und dem SDG an großen Patientenkollektiven verschieden lange nach Exanthembeginn, bei Impfungen verschieden lange nach Impfung, bei Rötelnembryopathien verschieden lange nach Geburt und bei schwangeren Frauen und Frauen im gebärfähigen Alter durch. Dabei wurde festgestellt, daß zum IgM-Antikörpernachweis die beiden ELISA's besonders früh und später nach Exanthembeginn bei vergleichbarer Spezifität empfindlicher sind als der SDG und der HIT. Keiner der IgM-Teste einschließlich des SDG ist perfekt. Deshalb sollte die IgM-Bestimmung bei Verdacht auf frische Infektion in der Schwangerschaft in zwei IgM-Testarten durchgeführt werden. Der Vergleich der HAH- und IgG-Antikörperentwicklung nach Exanthembeginn mit dem HAH, den beiden ELISA's und dem HIG ergab, daß der Stuttgarter HAH und der ELISA Enzygnost IgG schon 1–3 Tage nach Exanthembeginn Antikörper nachweisen, während dies mit dem ELISA Rubazyme IgG und dem HIG (Merck) regelmäßig erst nach mehr als 10 Tagen nach Exanthembeginn möglich ist. Nach mehr als 20 Tagen nach Exanthembeginn und nach mehr als 4 Wochen nach Impfung können alle 4 Testarten Antikörper langfristig nachweisen, auch wenn sie später in niedrigen Titern vorliegen. Bei Kombination von HAH oder ELISA Enzygnost IgG mit dem HIG oder dem Rubazyme IgG weisen positive Titer im HAH und ELISA Enzygnost IgG und negative bzw. schwachpositive Befunde im HIG bzw. Rubazyme IgG auf eine frische Infektion hin. Bei Einsatz des Rubazyme erhält man den gleichen Hinweis bei negativem Ausfall des IgG- und positivem Ausfall des IgM-Testes. Im Falle einer Schwangerschaft sollte eine 2. Blutprobe zum Nachweis eines Titeranstieges angefordert werden.

Zur Feststellung der Immunitätslage in der Schwangerschaft und im gebärfähigen Alter wurde bisher nur der HAH in seinen verschiedenen Versionen in den meisten Laboratorien mit Hilfe von Kits durchgeführt. Hierbei ist die Spezifität und Empfindlichkeit vor allem in den niedrigen Titerbereichen, die aufgrund der vermehrten Impfung im Zunehmen begriffen sind, problematisch. Deshalb erscheint eine neue Strategie mit der Kombination von 2 Testarten z.B. HAH und HIG bzw. HAH und ELISA IgG bzw. ELISA IgG und IgM nicht nur in den niedrigen Titerbereichen zum Nachweis einer belastbaren Immunität bzw. zum Ausschluss einer klinisch unauffälligen Infektion in der Frühschwangerschaft angezeigt. Eine Testkombination wird auf allen Gebieten der Laboratoriumsdiagnostik besonders z.B. auf dem Hepatitis-Sektor als selbstverständlich akzeptiert. Warum also nicht auch für die Röteldiagnostik?

## Röteln-Antikörper-Bestimmung: Vergleich von ELISA und Hämagglutination (HAH)

G. Enders<sup>1</sup>, P. Krauledat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Virol. med. diagn. Institut, Hölderlinplatz 10, D-7000 Stuttgart

<sup>2</sup> Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, D-3550 Marburg

Aufgrund des bekannten Risikos von schweren Schädigungen des Embryos durch eine Rötelninfektion der Mutter, besonders in den ersten drei Schwangerschaftsmonaten, hat im Rahmen der Prophylaxe die zuverlässige Feststellung des Antikörper-Schutzniveaus bei jungen Mädchen und Frauen, möglichst vor einer geplanten Schwangerschaft bzw. so früh wie möglich während einer solchen, erhebliche

Bedeutung erlangt. Ebenso wichtig ist diese Schutztitel-Bestimmung für die Kontrolle von prophylaktischen bzw. therapeutischen Maßnahmen, da deren Erfolg unter Umständen sogar über den Fortgang bzw. Abbruch einer Schwangerschaft entscheiden kann.

Unter den in den letzten 12 Jahren eingeführten Labormethoden zum Röteln-Antikörper-Nachweis haben die Hämagglutinations-Hemmungstests die größte Verbreitung und Anerkennung gefunden. In neuerer Zeit ist jedoch die Technik des Enzymimmunoassays (ELISA) auch in der Röteln-Diagnostik gebräuchlich geworden, zumal dieses System automatisierbar ist sowie objektivierbar durch die photometrische Ableitung.

Um der Forderung nach einer Korrelation des neuen ELISA-Systems mit der etablierten Hämagglutination gerecht zu werden, wurden die Ergebnisse von zwei verschiedenen HAH-Tests zunächst miteinander und dann mit denen eines ELISA verglichen. Die HAH-Tests wurden in 375 Seren eines Kollektives aus Röteln-Verdachtsfällen, Schwangerenvorsorge und Imperfolgskontrolle durchgeführt, wobei eine gute Korrelation beider Methoden ( $r = 0,941$ ) gefunden wurde. Bei diesen Tests liegt der Antikörperschutztitel bei 1:16 bis 1:32. In gleichzeitig zusammengesetzten Kollektiven von 533 bzw. 233 Seren wurde in unabhängigen Untersuchungen der ELISA mit beiden HAH-Tests verglichen. Aus den Korrelationsanalysen ging hervor, daß der Antikörperschutztitel gut mit dem HAH-Test vergleichbar ( $r > 0,85$ ) jedoch empfindlicheren ELISA-Bereich, den HAH-Testwerten entsprechend, bei 1:204 liegt. Bei Verwendung des ELISA als Screening-Test kann also bei Erreichen eines Titers von 1:256 der Patient als geschützt betrachtet werden oder z.B. eine Impfung als erfolgreich angesehen werden.

## Aussagekraft des Tennessee-Antigens als Tumormarker

A. T. Endler<sup>1</sup>, A. Lapin<sup>1</sup>, W. Schröcksnadel<sup>1</sup>, K. Pirich<sup>2</sup>, R. Lenzhofer<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik  
<sup>2</sup> Universitätsklinik für Chemotherapie der Universität Wien, A-1090 Wien

Das Tennessee-Antigen ist ein Tumormarker mit besonderer Spezifität für gastrointestinalen Tumore. Auf Grund der erneuten Herausgabe eines verbesserten Testkits untersuchten wir an 50 klinisch Gesunden und an 50 Patienten mit einer malignen Erkrankung (hauptsächlich Carcinome des Gastrointestinaltraktes) den Tennessee-Antigen-Serumspiegel. Weiter werden auch Patienten mit entzündlichen Erkrankungen, insbesondere des Gastrointestinaltraktes, mit in das Untersuchungskollektiv aufgenommen. Bei allen Probanden wird auch das CEA (Carcinoembryonales Antigen) im Serum bestimmt und mit dem Tennessee-Antigenspiegel verglichen.

Das Tennessee-Antigen wird mit dem Testkit Tennagen® der Firma Lancer bestimmt und beruht auf dem Prinzip der Hämagglutinationsinhibition. Es wurde die Präzision von Serie zu Serie mit Tennagen Kontrollseren untersucht, wobei Level II einen Variationskoeffizienten von 0% ( $n = 14$ ,  $s = 0,0 \text{ U/ml}$ ,  $\bar{x} = 7,7 \text{ U/ml}$ ,  $\text{soll} = 7,7 \text{ U/ml}$ ) und Level III einen Variationskoeffizienten von 14,9% ( $n = 14$ ,  $s = 3,0 \text{ U/ml}$ ,  $\bar{x} = 20,0 \text{ U/ml}$ ,  $\text{soll} = 21,9 \text{ U/ml}$ ) ergab.

Das Hauptaugenmerk wird hierbei auf die Sensitivität, Spezifität des Tennessee-Antigens als Tumormarker und auf die Praktikabilität der Testkits gelegt.

Literatur:

1. ABEL, TELKEB, B., ENDLER, A. T., DITTRICH, Ch., MERYN, S.: Vorläufige Erfahrungen mit dem Tennessee-Antigen im Hinblick auf seine Aussagekraft als Tumormarker. Ber. OGK, 4, 58–60 (1981).

## Neues Verfahren zur wirtschaftlichen Probenverteilung, ein Weg zur sicheren Labororganisation

F. Eßer

Dr. B. Lange GmbH, D-1000 Berlin

Seit nahezu einem Jahrzehnt ist sichere, zuverlässige, leicht handhabbare und wirtschaftliche Probenverteilung der Wunsch vieler Laboratorien. Das hier beschriebene modulare Analysensystem „MOSY“

wurde so konzipiert, daß die o.a. Voraussetzungen erfüllt sind. Das Analysensystem besteht aus zwei Hauptmodulen der Probenverteilung und dem Analysator. Das System ist sowohl als Ganzes als auch als Probenverteilung allein einsetzbar. Im letzteren Fall wird nur der Verteilermodule benötigt.

Die Steuerung des Systems erfolgt über Markierungskarten. Die Wirtschaftlichkeit und Aufwärtskompatibilität konnte durch arbeiten mit einem „Master“- und einem „Slave“-Rechner erzielt werden. Der Master-Rechner befindet sich im Probenverteiler, dadurch sind alle Steuerungs- und Verarbeitungsfunktionen in diesem Modul enthalten, so daß eine Aufrüstung zum System keine Schwierigkeiten oder zusätzlichen Kosten verursacht. Der Slave-Rechner im Analysator-Modul gibt wiederum alle Informationen an den Master-Rechner ab, so daß sofortige Endverarbeitung erfolgt.

Der Probenverteiler bildet einen modernen Baustein der Labororganisation. Über den Markierungskartenleser werden alle notwendigen Informationen in das System eingelesen. Die vom Einsender markierten Anforderungsbelege werden direkt eingelesen, Laborfehler sind an dieser Stelle ausgeschlossen. Über Parameterkarten können Informationen in das System eingelesen werden, die – solange die Karte nicht geändert wird – in immer gleicher Weise eingelesen werden. Der Probenverteiler erstellt Arbeitslisten für alle eingegebenen Arbeitsplätze des Labors. Er liefert schließlich – bei Gesamtsystemeinsetzung – die Ergebnisse verfahrens- und patientensortiert. – Es folgen Meßdaten aus dem Analysatorteil, Statistik etc.

## $\beta_2\text{M}$ -Mikroglobulin: Erfahrungen mit einer enzymimmunologischen Methode

A. Fateh-Moghadam, E. Franzen, K. v. Stetten, D. Neumeier

Institut für Klinische Chemie, Direktor: Prof. Dr. M. Knebel  
Klinikum Großhadern der LMU München, D-8000 München 70

Die Bedeutung der  $\beta_2\text{M}$ -Bestimmung im Serum und Urin liegt hauptsächlich in der Diagnostik der glomerulären und tubulären Nephropathien (1, 2). Nach vorliegenden Untersuchungen kommt der  $\beta_2\text{M}$ -Bestimmung im Serum auch eine gewisse Bedeutung in der Diagnostik und Verlaufsbewertung von Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphomen zu (2, 3). Ein erhöhtes  $\beta_2\text{M}$  im Liquor bei Leukämien deutet auf einen ZNS-Befall hin (4). Die gleichzeitige Bestimmung von CEA und  $\beta_2\text{M}$  verbessert die serologische Diagnostik des Pankreaskarzinoms (5). Für die routinemäßige Bestimmung von  $\beta_2\text{M}$  wurden bisher nur radioimmunologische Verfahren eingesetzt mit den bekannten Nachteilen bei Arbeiten mit radioaktivem Material. Wir berichten über unsere Erfahrungen mit einer neuentwickelten enzymimmunologischen Methode, die nach dem Prinzip eines Solidphase-Enzymimmunoassay in der Sandwich-Technik aufgebaut ist (Enzygnost- $\beta_2\text{M}$ , Behring-Werke).

Die untere Nachweisgrenze der Methode liegt bei  $0,3 \mu\text{g/l}$ , der durch 5 Standardproben abgedeckte Meßbereich zwischen 10 und  $1000 \mu\text{g/l}$  bei 1:20 verdünnten Proben. Die Untersuchungen von 3 Konzentrationen ( $n = \text{jeweils } 15$ ) ergaben im Serum einen VK von  $1,08\% - 8,6\%$ , im Urin von  $4,64\% - 7,89\%$ . Die entsprechenden Werte der Interassay-Varianz bewegen sich in Serum und Urin zwischen  $6,9\%$  und  $9,5\%$ .

Die Linearität ist im Bereich von  $0,3 - 1270 \mu\text{g/l}$  gut. Die Wiederfindungsrate liegt zwischen  $96$  und  $107\%$ .

Die Vergleichbarkeit mit dem RIA ist gut ( $r = 0,94$ ).

Die Methode zeichnet sich durch eine einfache Handhabung und kurze Arbeitszeit aus.

Über die Beeinflussung der Werte durch Hämoglobin, Lipämie, hohe Bilirubinkonzentration, Rheumafaktor, Immunglobuline sowie Lagerung der Proben wird berichtet.

Referenzbereich: Bei Untersuchungen von 54 Seren gesunder Probanden wurden folgende Werte erhoben:  $\bar{x}$ : 1686, Median: 1664, 2S-Bereich: 1177–2194. Es wurde keine signifikante Abweichung von der Normalverteilung festgestellt. Bei Untersuchungen von Patienten mit glomerulären und tubulären Erkrankungen sowie Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphomen wurden die mit RIA-Methoden erzielten Ergebnisse bestätigt. Die Ergebnisse unserer

Untersuchungen rechtfertigen den Einsatz dieser Methode bei gegebenen klinischen Indikationen.

## Literatur:

1. WIBELL, L., EVRIN, P. E., BERGGARD, I.: *Nephron* 10, 320 (1973).
2. COOPEN, E. H., PLESNER, T.: *Med and Ped. Oncol.* 8, 323 (1980).
3. FATH-MOGHADAM, A., MANTEL, W. et al.: *Dtsch. med. Wochschr.* 103, 1703 (1978).
4. MAVLIGIT, G. M., STUCKEY, S. E. et al.: *New Engl. J. Med.* 303, 712 (1980).
5. FATH-MOGHADAM, A., MANTEL, W., NEUMEIER, D.: *Klin. Wochschr.* 56, 287 (1978) und in: CEA und andere Tumormarker (Uhlenbruck, G., Wintzer, G.), Tumor Diagnostik Verlag 1981, S. 390.

## Endotoxinämie bei Intensivpflegepatienten

Fink, P. C., Grunert, J. H.

Institut für Laboratoriumsmedizin,

Zentralkrankenhaus St. Jürgen-Strasse, D-2800 Bremen 1

Bei Patienten mit schwerem Grundleiden oder Unfallverletzungen wird nach der Operation mit zunehmender Häufigkeit das Auftreten eines septischen Krankheitsbildes, bedingt durch die Infektion mit gramnegativen Keimen beobachtet (1, 2). In der vorliegenden Arbeit wurden bei 42 Intensivpflegepatienten (a: Patienten mit unterschiedlichem Grundleiden, b: Patienten mit Zustand nach Polytrauma, c: Patienten mit Zustand nach Lebertransplantation) nach der Operation Verlaufsuntersuchungen mit dem Limulus-Amöbozyten-Lysat-Test durchgeführt (3, 4). 41 Patienten entwickelten ein septisches Krankheitsbild unterschiedlicher Ausprägung mit Körpertemperaturen  $\geq 38,5^\circ\text{C}$ . Der individuelle Krankheitsverlauf wurde nach dem Fieberverhalten in 3 Phasen (A–C) eingeteilt. Es konnte gezeigt werden, daß unabhängig vom Schweregrad des klinischen Bildes bei einem hohen Anteil (38/41) der Patienten eine positive LAL-Reaktivität nachweisbar war. In Phase B (Körpertemperatur  $\geq 38,5^\circ\text{C}$ ) wurden deutlich mehr Plasmaproben mit positiver LAL-Reaktivität gefunden als in den Phasen A und C (Körpertemperatur  $< 38,5^\circ\text{C}$ ). Beim Wechsel von Phase B zu Phase C (Abfall des Fiebers) ließ sich bei signifikant ( $p < 0,05$ ) mehr Patienten ein Übergang von positiver zu fehlender LAL-Reaktivität als umgekehrt sowie eine deutlich häufigere Abnahme der Intensität der LAL-Reaktivität beobachten. Bei Patienten mit hohen Bluteukozytenzahlen ( $15 \cdot 10^9/\text{l}$ ) war häufiger eine positive LAL-Reaktivität nachweisbar. Am Tag nach dem Wechsel der Antibiotikatherapie konnten mehr Proben mit positiver LAL-Reaktivität festgestellt werden. Die Mehrzahl (21/27) der Patienten, die überlebten, wurden mit fehlender LAL-Reaktivität auf die Allgemeinstation verlegt. Die Ergebnisse zeigen, daß Einzelbestimmungen der LAL-Reaktivität nur eine begrenzte Aussagekraft haben. Erst die Berücksichtigung des individuellen LAL-Reaktivitätsprofils durch Verlaufsuntersuchungen kann Aufschluß über Tendenzen bezüglich der Entwicklung des Krankheitsgeschehens geben.

<sup>1</sup> Unterstützt durch die Sachbeihilfe Fi 281/3-3 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

## Literatur:

1. COHEN, P. S., MAGUIRE, J. H., WEINSTEIN, L.: *Prog. Cardiovasc. Dis.* 22, 215–242 (1980).
2. MAKI, D. G.: *Amer. J. Med.* 70, 719–732 (1981).
3. FINK, P. C., LEHR, L., URBASCHKE, R. M., KOZAK, J.: *Klin. Wochenschr.* 59, 213–218 (1981).
4. FINK, P. C., SCHULTZE, K. D.: *J. Lab. Clin. Med.* 99, 853–865 (1982).

## 3 Chromogene Peptid-Substrate-Kits für die Überwachung der Intensiv-Patienten

\*P. Friberger<sup>1</sup>, L. Aurell<sup>1</sup>, M. J. Gallimore<sup>2</sup>, F. W. Rabe<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kabi Peptide Research, S-43122 Mölndal

<sup>2</sup> Channel Diagnostics Ltd., Deal, England

<sup>3</sup> KabiVitrum GmbH, D-8000 München

Zur Bestimmung von Präkallikrein, Plasminogen und Endotoxin wurden einfache, hochspezifische Testsysteme mit chromogenen Substraten entwickelt, durch den Einsatz von neuen Substraten und anderen Reagenzien wie Aktivatoren der Proenzyme und geeignetem Limuluslysate (VK  $\approx 3\%$ ).

Signifikanter Verbrauch von Plasminogen und Präkallikrein wurden als frühe Marker einer DIC gefunden, z.B. durch Sepsis, Pankreatitis und andere bösartige Erkrankungen hervorgerufen.

Der Möglichkeit einer frühzeitigen Diagnose einer Sepsis durch die Endotoxinbestimmung ermöglicht die rechtzeitige Behandlung dieser Patienten.

## Neopterin, ein neuer Tumormarker

D. Fuchs, A. Hausen, G. Reibnegger, H. Wachter

Institut für Medizinische Chemie und Biochemie,

Universität Innsbruck, A-6020 Innsbruck

Erhöhte Pteridinausscheidung, korrelierend zu malignen Erkrankungen wurde bei EAT-tragenden Mäusen (7,8-Dihydro-6-hydroxylumazin) und bei Patienten mit unterschiedlichen Tumoren (Neopterin) nachgewiesen (1, 2). Neuere Untersuchungen zeigten, daß Neopterin im Rahmen der T-Lymphozyten-Immunantwort ausgeschieden wird (3). In vitro gelingt ein Nachweis von Neopterin nur in Überständen von T-Lymphozyten, nicht dagegen von B-Lymphozyten, Makrophagen, großen granulären Lymphozyten oder von Tumorzelllinien.

Neopterin im Harn (bezogen auf Kreatinin) wurde bei 417 gesunden Personen, bei Patienten mit Neoplasien aus der hämatologischen, gynäkologischen, urologischen und pädiatrischen Onkologie bestimmt. Die Bestimmung erfolgte mit HPLC an reversed phase unter spektralfuorometrischer Detektion.

Bei den untersuchten Erkrankungsgruppen fanden wir vor Therapie signifikant erhöhte Durchschnittswerte. Die Häufigkeit der Erhöhungen lag bei aktiven Erkrankungen zwischen 60% und 95%, dagegen bei Remission erwartungsgemäß unter 20%.

Das Ausmaß der Erhöhung korrelierte bei homogenen Patientengruppen mit der Tumorbelastung und der klinischen Beurteilung des Einzelpatienten.

Die Signifikanz der Neopterinbestimmung zeigte sich besonders bei Verlaufskontrollen. In Langzeituntersuchungen reflektiert Neopterin gut das Tumorverhalten und ermöglicht eine Rezidiverkennung vor dem Ansprechen klinischer Parameter. Die Bestimmung ist rasch durchführbar und belastet den Patienten nicht.

## Literatur:

1. WACHTER, H., HAUSEN, A., GRASSMAYR, K.: *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 360, 1957–1960 (1979).
2. HAUSEN, A., WACHTER, H.: *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 20, 593–602 (1982).
3. HUBER, Ch., FUCHS, D., HAUSEN, A., MARGREITER, R., REIBNEGGER, G., SPIELBERGER, M., WACHTER, H.: *J. Immunol.* in press.

## Probenaufbewahrung vor Bestimmung glykosylierter Hämoglobine

Th. Gain, U. Henderkott, P. Bottermann

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar,

D-8000 München 80

Die Hb A<sub>1c</sub>-Bestimmung dient als Langzeitparameter zur Beurteilung der Stoffwechsel Einstellung des Diabetikers. Sie findet vor allem bei der ambulanten ärztlichen Kontrolle Anwendung. Da häufig Insulindelays die Analysen durchführen, muß die Frage nach der bestmöglichen Probenaufbewahrung gestellt werden.

Hierzu wurden venöse EDTA-Blutproben von vier Diabetikern und zwei stoffwechselgesunden Probanden am gleichen Tag abgenommen und die Proben zur Hb A<sub>1c</sub>-Bestimmung jeweils aufbewahrt als Haemolysat bei 4°C, als Vollblut bei 4°C, als Vollblut bei Raumtemperatur und als Haemolysat bei -20°C.

Die Hb A<sub>1c</sub>-Analyse erfolgte mit einer eigenen Mikrosäulenchromatographie (Interassay VK 2,38%, Interassay VK 3,68%) jeweils als Dreifachbestimmung im gleichen Probenansatz nach Blutentnahme, dann an den Tagen 1, 3, 4, 5, 8 und 12.

Hämolyt und Vollblut bei 4°C gelagert weisen Schwankungen der Hb A<sub>1</sub>-Werte während zwölf Tagen auf, die im Bereich des Interassay-VK der Methode liegen. Vollblutproben bei Raumtemperatur gelagert bleiben über einen Zeitraum von vier Tagen weitgehend stabil.

Bei Lagerung des Hämolytates bei -20°C treten signifikante Schwankungen vom Ausgangswert auf.

#### Schlussfolgerung:

Als günstigste Probenaufbewahrung erweist sich die Lagerung von Hämolyt oder Vollblut bei 4°C.

Der Versand von EDTA-Vollblutproben zur Hb A<sub>1</sub>-Analyse ist während 3–4 Tagen möglich.

## Klinische Relevanz der Aldimin-Form bei der routinemäßigen Hämoglobin A<sub>1</sub>-Bestimmung

Th. Gain, U. Hendekott, P. Bottermann

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar, D-8000 München 80

Die Hämoglobin A<sub>1</sub> (Hb A<sub>1</sub>)-Bestimmung gilt als Langzeitparameter zur Beurteilung der Stoffwechseleinstellung des Diabetikers. Die Bildung von Hb A<sub>1</sub> verläuft über eine direkt blutzuckerabhängige, labile Aldimin-Form (labiles Hb A<sub>1</sub>), die sich langsam in eine irreversible Ketoamin-Form (stabiles Hb A<sub>1</sub>) umlagert. Bei der chromatographischen Analyse von Hb A<sub>1</sub> geht die Aldimin-Form in die Bestimmung ein, dies kann den Aussagegehalt der Methode als Langzeitparameter der Blutzuckermittelwerte einschränken. Um die Größenordnung der labilen Phase bei Routinebestimmungen zu erfassen, wurde bei 61 Blutproben von Diabetikern Hb A<sub>1</sub> jeweils bestimmt als Gesamt-Hb A<sub>1</sub> (labile und stabile Form) und als stabiles Hb A<sub>1</sub> nach Entfernung der Aldimin-Form durch Inkubation der Erythrozyten in 0,9% NaCl im Überschuß (1:20) über zwölf Stunden bei 37°C. Die Hb A<sub>1</sub>-Bestimmung erfolgte mittels Mikrosäulentechnik (Intraassay VK 2,38%, Interassay VK 3,68%).

In Versuchsansatz an sechs Proben mit Hb A<sub>1</sub>-Ausgangswerten von 7,92% bis 16,60% wurde die Kinetik der Rückbildung der labilen Aldimin-Form durch ständige Analyse während NaCl-Inkubation der Erythrozyten untersucht. Sie ist nach 6 bis 8 Std. abgeschlossen.

Bei den 61 Patientenproben lagen Hb A<sub>1</sub>-Ausgangswerte von 7,99% bis 16,65% vor, im Mittel  $10,52 \pm 2,34\%$  ( $\bar{x} \pm S.D.$ ). Nach Kochsalzinkubation betrug der maximale Abfall der Hb A<sub>1</sub>-Konzentration 1,28%, im Mittel  $0,41 \pm 0,31\%$  ( $\bar{x} \pm S.D.$ ). Es bestand keine Korrelation zwischen den Hb A<sub>1</sub>-Ausgangswerten und dem Anteil der durch Kochsalzinkubation entfernten Aldimin-Form.

Obwohl der direkt blutzuckerabhängige Anteil am Gesamt-Hb A<sub>1</sub> in der Regel gering ist, sollte der Bestimmung des stabilen Hb A<sub>1</sub> der Vorzug gegeben werden, da einfache Methoden hierzu zur Verfügung stehen.

## Störfaktoren bei der chromatographischen Hb A<sub>1</sub>-Bestimmung mittels Mikrosäulentechnik

Th. Gain, U. Hendekott, P. Bottermann

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar, D-8000 München 80

Zur routinemäßigen Bestimmung glykosylierter Hämoglobine (Hb A<sub>1</sub>) hat sich vor allem die Mikrosäulenchromatographie durchgesetzt. Mit einer eigenen Mikrosäulentechnik werden die glykosylierten Hämoglobine A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> gemeinsam als Hb A<sub>1</sub> erfaßt und von der Hämoglobin-Hauptfraktion Hb A<sub>0</sub> abgetrennt. Hierzu werden Chromatographiesäulen (7,0 x 1,3 cm) bis zu einer Höhe von 3 cm mit Bio-Rex 70 gefüllt. Hämoglobin wird als Hämolyt (ca. 1,8 mg in 200 µl) aufgegeben und mit zwei Natrium-Phosphat-Puffern (jeweils 18 ml) unterschiedlicher Ionenstärke (51 mMol/l bzw. 150 mMol/l) und unterschiedlichem pH-Wert (6,74 bzw. 6,42) in zwei Fraktionen als

Hb A<sub>1</sub> und Hb A<sub>0</sub> eluiert. Die Säulen werden anschließend äquilibriert und können ca. 30–40mal verwendet werden.

Als besonders kritische Faktoren für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erwiesen sich die Konstanzhaltung der Elutionstemperatur (21,5°C), weiter pH-Wert (6,74) und Molarität (51 mMol/l) des ersten, zur Trennung verwendeten Puffers.

Temperaturschwankungen von  $\pm 1^\circ\text{C}$ , pH-Verschiebungen von  $\pm 0,02$  sowie Änderung der Molarität um  $\pm 5\text{ mMol/l}$  des ersten Puffers führen durch Änderung des Trennverhaltens bereits zu statistisch signifikant höheren bzw. niedrigeren Hb A<sub>1</sub>-Werten ( $p < 0,001$ ).

Auch verschiedene Ionenaustauscherchargen können unterschiedliche Ergebnisse bewirken.

Bei exakter Standardisierung der Elutionsbedingungen lassen sich jedoch sehr gut reproduzierbare Ergebnisse erzielen (Intraassay VK 2,38%, Interassay VK 3,68%).

## Orale Glukosebelastung und Hb A<sub>1</sub>-Bestimmung zur Erfassung einer gestörten Kohlenhydrattoleranz

Th. Gain, U. Hendekott, P. Bottermann

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar, D-8000 München 80

Bei Personen mit gestörter Glukosetoleranz kann angenommen werden, daß die Blutzuckerwerte im Tagesmittel höher liegen als bei Personen mit ungestörter Glukosetoleranz. Entsprechend müßte hier der Anteil von Hb A<sub>1</sub> erhöht sein, daß heißt die Normgrenze überschreiten. Sie beträgt bei der angewandten Mikrosäulenchromatographie 7,7%.

Daher wurde bei insgesamt 228 Pat. (16 bis 82 Jahre), bei denen eine orale Glukosebelastung (OGTT mit 100 g Oligosacchariden) durchgeführt wurde, Hämoglobin A<sub>1</sub> bestimmt.

Nach den Grenzwertempfehlungen der europäischen Diabetesgesellschaft wurden die Ergebnisse in normale, herabgesetzte und pathologische Glukosetoleranz eingeteilt. Bei 103 normalen Glukosetolerantesten fand sich im Mittel eine Hb A<sub>1</sub>-Konzentration von  $6,45 \pm 0,069\%$  ( $\bar{x} \pm S.E.M.$ ), dabei 99mal unter 7,7%. Bei 66 Pat. mit herabgesetzter Glukosetoleranz betrug die Hb A<sub>1</sub>-Konzentration im Mittel  $6,99 \pm 0,085\%$ , davon 58mal  $< 7,7\%$  und 8mal  $\geq 7,7\%$ . 59 Pat. mit pathologischer Glukosetoleranz wiesen im Mittel Hb A<sub>1</sub>-Werte von  $7,79 \pm 0,108\%$  auf. Davon fand sich 20mal ein Wert unter 7,7% und 30mal  $\geq 7,7\%$ .

Während bei Pat. mit normaler OGTT auch die Hb A<sub>1</sub>-Konzentration in der Regel normal ist, nimmt bei Pat. mit herabgesetztem und pathologischem OGTT der Prozentsatz erhöhter Hb A<sub>1</sub>-Konzentrationen zu. Da nur bei Pat. mit erhöhten Hb A<sub>1</sub>-Werten unter ihren individuellen Ernährungsgewohnheiten in den zurückliegenden Wochen eine erhöhte Blutzuckermittelwerte anzunehmen ist, scheint die klinische Relevanz einer herabgesetzten oder pathologischen Glukosetoleranz gering. Diätetische Maßnahmen und Nachuntersuchung sind besonders bei solchen Pat. indiziert, die neben einer gestörten Glukosetoleranz erhöhte Hb A<sub>1</sub>-Werte aufweisen.

## Untersuchungen zur Bildung und Elimination der Aldimin-Form

Th. Gain, U. Hendekott, H. Gyaram, P. Bottermann

II. Med. Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Ley) – Klinikum rechts der Isar, D-8000 München 80

Die Bestimmung von Hb A<sub>1</sub> (= HbA<sub>1a+b+c</sub>) dient als integraler Langzeitparameter zur Beurteilung der Stoffwechseleinstellung des Diabetikers. Ziel der Untersuchung war, die Größenordnung und den zeitlichen Verlauf blutzuckerabhängiger Schwankungen der HbA<sub>1</sub>-Konzentration zu erfassen, sowie Verfahren zur Elimination der Aldimin-Form zu untersuchen. HbA<sub>1</sub> wurde mit Mikrosäulentechnik



bestimmt (Intraassay VK 2,38%, Interassay VK 3,68%). 14 Patienten (HbA<sub>1c</sub>-Ausgangswerte 7,48% bis 16,25%) wurden zur Ermittlung des Insulinbedarfs über 24 Std. am GC/IS (Biostator) behandelt. Innerhalb von 120 Minuten wurde die Blutzuckerkonzentration (Ausgangswerte 390 mg/dl bis 50 mg/dl) auf 100 mg/dl eingestellt und konstant gehalten. Während der ersten 6 Std. kam es in allen Fällen zu einem Abfall der HbA<sub>1c</sub>-Konzentration ( $\Delta$  max. 1,55%,  $\Delta$  min. 0,1%), danach erfolgte keine Änderung über 18 Std. Normoglykämie. Bei 5 Patienten wurden zusätzlich Blutproben vor HbA<sub>1c</sub>-Bestimmung über 8 Std. in 0,9% NaCl bei 37°C inkubiert. Hier tritt keine Änderung der HbA<sub>1c</sub>-Werte auf, die von Beginn der Untersuchung auf niedrigerem Ausgangsniveau liegen.

In-vitro-Untersuchungen wurden durch Inkubation von Blutproben über 32 Std. in 300 mg/dl Glukose ( $n = 6$ ) und 500 mg/dl Glukose ( $n = 10$ ) bei 37°C, pH 7,40 durchgeführt (HbA<sub>1c</sub>-Ausgangswert 6,60% bis 16,08%). HbA<sub>1c</sub> wurde anfangs stündlich analysiert als totales HbA<sub>1c</sub>, sowie jeweils nach Elimination der labilen Phase durch den Aldimin-Eliminator und nach NaCl-Inkubation. Der Anstieg der HbA<sub>1c</sub>-Konzentration erfolgt innerhalb von 6 bis 8 Std., er beträgt bei Inkubation in 300 mg/dl Glukose  $0,44 \pm 0,23\%$  ( $\bar{x} \pm SE$ ), bei 500 mg/dl Glukose  $1,45 \pm 0,42\%$  ( $\bar{x} \pm SE$ ). Nach Elimination der Aldimin-Form in allen Proben beträgt der Anstieg bei Inkubation in 500 mg/dl Glukose über 8 Std. bei Anwendung des Aldimin-Eliminators  $0,51 \pm 0,14\%$ , bei Inkubation in 0,9% NaCl  $0,22 \pm 0,11\%$ , die entsprechenden Ergebnisse bei Inkubation in 500 mg/dl Glukose lauten  $0,91 \pm 0,20\%$  bzw.  $0,29 \pm 0,20\%$ .

Der Bestimmung des stabilen HbA<sub>1c</sub> sollte der Vorzug gegeben werden.

## Toxicological Drug Screening

H. J. Gibitz

Zentrallaboratorium der Landeskrankenanstalten, A-5020 Salzburg

Unter Drug Screening wird das Suchen nach unbekannten Giften in Blut, Harn und Mageninhalt bei akuten Vergiftungen sowie das Suchen nach Suchtgiften im Harn von Drogenabhängigen verstanden. Zur Überwachung der Giftelimination ist bei Anwendung invasiver therapeutischer Maßnahmen in seltenen Fällen zusätzliches, gezieltes Drug Monitoring erforderlich. Die Analytik besteht bei akuten Vergiftungen in dem vorgestellten Konzept aus einem relativ einfachen Screeningprogramm, das auf erster Ebene in jedem Schwerpunktkrankenhaus rund um die Uhr verfügbar sein sollte, und aus aufwendigeren Bestätigungs- und Ergänzungsuntersuchungen, die auf zweiter Ebene in Zentrallaboratorien mit besonderer toxikologischer Erfahrung oder entsprechenden Hochschulinstituten durchgeführt werden.

Das toxikologische Screeningprogramm umfaßt in unserem Zentrallaboratorium derzeit folgende Nachweise in Blut, Harn oder Magensaft: Äthanol, Barbiturate, bromhaltige Sedativa, Methaqualon, Paracetamol, Paracetyl, Phenazetin, Salizylate, basische Gifte, Benzodiazepine, Phenothiazine, tricyclische Antidepressiva, Amphetamine, Opiate, Cannabis, Kohlenmonoxyd. Die Bestimmung von Äthanol, Barbituraten, Paracetamol und COHb erfolgt im Blut quantitativ, alle übrigen Nachweise werden qualitativ geführt. Ein negatives Resultat erlaubt den Ausschluß einer akuten Vergiftung mit dieser Substanz, ein positives Resultat macht eine solche wahrscheinlich, beweist sie aber noch nicht. Der Beweis wird im Verlaufe des folgenden Tages in der toxikologischen Abteilung des Zentrallaboratoriums durch gezielte Ergänzungsuntersuchungen und Bestätigungsanalysen erbracht, wobei dem Nachweis von Medikamenten der sauren und basischen Gruppe mittels Dünnschicht-, Gas- und Hochdruckflüssigchromatographie besondere Bedeutung zukommt. Aus der Kombination dieser Verfahren ergibt sich eine für klinische Fragestellungen ausreichende Zuverlässigkeit des toxikologischen Befundes. Ist eine Substanz damit ausnahmsweise nicht zu identifizieren oder besteht zusätzlich eine forensische Fragestellung, so wird auf dritter Ebene in einem auswärtigen Institut eine Nachuntersuchung mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie durchgeführt.

In Österreich wurden im Jahre 1982 in 11 Schwerpunktkrankenhäusern toxikologische Screeninguntersuchungen mit unterschiedlichen Programmen vorgenommen. Ergänzungs- und Bestätigungsanalysen sind in 4 Hochschulinstituten und im Zentrallaboratorium eines Zentralkrankenhauses möglich. In einem ersten toxikologischen Rundversuch, an dem 13 Laboratorien teilnahmen, wurden in

2 Harnproben mit je 4 unbekannten Giften insgesamt 49% richtig positive und 7% falsch positive Resultate erzielt. Weitere Rundversuche sowie die Abhaltung von Kursen über toxikologische Screeninguntersuchungen für in Schwerpunktkrankenhäusern tätige Laborarzte und MTA sind geplant und sollen dazu beitragen, die toxikologische Erstversorgung der Patienten weiter zu verbessern.

## Keimspektrum und Resistenzverhalten auf einer Intensivstation

H. P. Geisen, C. Krier, B. Winkler

Klinisches Laboratorium und Blutbank und Abteilung für Anesthesiologie der Chirurgischen Universitätsklinik, D-6900 Heidelberg

Infektion und Sepsis sind wesentliche Faktoren der Mortalität intensivmedizinisch behandelter Patienten.

Ziel unserer Untersuchungen war, die mögliche Ursache der Infektion, das Keimspektrum und das Resistenzverhalten der Keime festzuhalten, um gezielt entsprechende hygienische und therapeutische Konsequenzen ziehen zu können.

Bakteriologisch untersucht wurden bei allen Patienten 2 x wöchentlich Trachealsekrete und Katheterurine. Weiterhin wurden neben allen parenteralen Kathetern gezielt Wundabstriche und Blutkulturen untersucht. Pathogene Keime wurden am häufigsten im Trachealsekret (45%) nachgewiesen. Im Katheterurin fanden sich dagegen nur in 15% pathogene Keime. In fallendem Prozentsatz fanden sich positive Kulturen bei Wundabstrichen, parenteralen Kathetern und Blutkulturen. Das Infektionsrisiko ließ sich dabei direkt zur Liegedauer korrelieren. Das Erregerspektrum zeigte ein Zurückweichen der klassischen Problemkeime, wie Klebsiella und Proteus-Arten bei Zunahme von Enterokokken und Enterobacter-Arten. Weiterhin wurden gehäuft Pseudomonas und Staphylokokkus aureus isoliert. Die Zunahme von Enterokokken und Enterobacter läßt sich auf einen vermehrten Einsatz moderner, für diese Keime nicht wirksamer Cephalosporine zurückführen. Eine getrennte Analyse für 1. und 2. Halbjahr zeigte bei einigen Erregern zudem erhebliche Wechsel im Resistenzverhalten.

Zur Reduktion des Infektionsrisikos und gezielter Therapie sind daher stationsspezifische „bakteriologische Bulletins“ in regelmäßigen Abständen erforderlich.

## Beta-2-Mikroglobulin als Parameter zur Beurteilung der Nephrotoxizität verschiedener Kontrastmittel

H. P. Geisen, U. Uthmann, R. Birk, E. Glück

Klinisches Laboratorium und Blutbank und Urologische Abteilung der Chirurgischen Universitätsklinik, D-6900 Heidelberg

Beta-2-Mikroglobulin gehört zu den sogenannten tubulären Proteinen. Bei intakter Nierenfunktion wird es als kleinemolekulares Protein (11600 Dalton) vollständig glomerulär filtriert und zu über 99% tubulär reabsorbiert und im Tubulus verstoffwechselt. Anstiege im Plasma sprechen für eine Verminderung der glomerulären Filtrationsrate, vermehrte Urinausscheidung zeigt empfindlicher als alle klassischen Laborparameter eine tubuläre Funktionsstörung an. Es ist bekannt, daß jodhaltige Röntgenkontrastmittel zu Nierenfunktionsstörungen bis hin zur terminalen Niereninsuffizienz führen können. Ziel unserer Untersuchungen war, festzustellen, ob verschiedene handelsübliche Kontrastmittel mit gleichem Jodgehalt, aber unterschiedlicher Osmolalität die Nierenfunktion unterschiedlich beeinflussen. Im Rahmen einer randomisierten, prospektiven Studie wurden folgende Kontrastmittel untersucht:

Urovist 65%, Rayvist\*, Ampaque\*, Hexabrix 59%\* und Jöhexol.

Hierbei zeigte sich, daß mit ansteigender Osmolalität des applizierten Kontrastmittels die Beta-2-Mikroglobulin-Urinausscheidung signifikant zunahm. Die Plasmakonzentration blieb unverändert. Nach 24 Std. hatte sich die Beta-2-Mikroglobulin-Ausscheidung in den meisten Fällen normalisiert. Jedoch bei präexistenter Nierenschädigung persistierte eine gegenüber dem Ausgangswert erhöhte Beta-2-Mikroglobulin-Ausscheidung in Abhängigkeit von der Osmolalität des applizierten Kontrastmittels.

## Die integrierte Lösung, ein Beitrag für die Labororganisation

B. Gurath

Data Systems Handelsges. m.b.H., A-4020 Linz

Unter dem Motto: „Die Labororganisation fängt bei der Probenverteilung und Probenverwaltung an“ wurde ein Konzept für die Integration dieser Aufgaben und deren Lösung in die übergeordnete Laborationsverwaltungsanlage erarbeitet. Die durch die Labor-EDV unterstützte zentrale Probenverteilung wird durch eine automatisierte Probenverteilung realisiert. Dadurch sind alle Proben zentral vorhanden und über die in der Datenverarbeitungsanlage verwalteten Probenidentifikationsnummer (Tag-Nr., Arzt-, Patienten-Nr.) für jeden im Zugriff.

Die Arbeitsplatz- und Analysengeräte-spezifischen Arbeitslisten, die von dem Labor-EDV-System aufgebaut sind, werden gleichzeitig an das Probenverteilungssystem übertragen um die vorgegebene Volumina von Seren oder Seren und Reagenzien aus dem Mutterröhrchen in die Reaktionsgefäße zu überführen. Beim Aufbau der Arbeitslisten wird die apparative Ausstattung des Laboratoriums berücksichtigt und den Reagenzgefäßträgern – Kette, Rotor, Rack – entsprechende Listen erstellt. Plausibilitätskontrollen verhindern eine mögliche Verwechslung zwischen Verteilerliste und inadäquatem Reaktionsgefäßträger.

Die Problematik bei der Erkennung der Grenzschicht Blutkuchen/Serum während der Serumverteilung und dessen qualitative Beurteilung, wie klar, lipämisch hämolytisch, ikterisch, wird anhand von Lösungsverfahren diskutiert. Weiterhin wird eine Lösung der verschleppungsfreien Reagenz-Dosierung und Serumverteilung dargestellt.

Die Zielvorstellungen gehen dorthin, die Labor-EDV und Probenverteilung soweit zu integrieren, daß von der Probenannahme bis zu den Analyseergebnissen und deren Zuordnung die manuellen Eingriffe minimiert werden.

## Immunoelektrophorese: Verifizierung und Klassifizierung von Gammopathien

M. Hardel

Abt. Laboratoriumsdiagnostik des Ev. Waldkrankenhauses Spandau,  
D-1000 Berlin 20

Die von Grabar und Williams (1) beschriebene Methode der Immunoelektrophorese wird als diagnostisches Verfahren zur Erkennung und Klassifizierung monoklonaler Gammopathien angewandt.

Apparative und methodische Aspekte werden dargestellt.

An ausgewählten Beispielen primärer Gammopathien (plasmazytoides- und lymphoplasmazytoides Lymphom) wird die Aussagefähigkeit der Immunoelektrophorese in der Hämatologie diskutiert.

Etwas 80% der immunoelektrophoretisch nachgewiesenen monoklonalen Gammopathien haben ihr Korrelat in malignen Erkrankungen des Immunsystems.

Literatur:

1. GRABAR, P., WILLIAMS, C. A.: Biochim. Biophys. Acta 10, 193 (1953); 17, 67 (1955).

## Agardiffusionstest versus Agardilutionstest – Bemühungen zur Methodenstandardisierung

P. Haußmann, V. Oeding

api bioMérieux GmbH/Wiss. Abteilung, D-7440 Nürtingen

Bei einer der zentralen Aufgaben im Bereich der Mikrobiologie, den Resistenztests, wird die klassische Methode des Agardiffusionstests zunehmend kritisch diskutiert, neuere Entwicklungen zeigen sich als

praktikabler hinsichtlich der erwünschten und notwendigen Standardisierung.

Am Beispiel von Antibiotogrammen zur Ermittlung der Empfindlichkeit von Bakterien gegen Antibiotica und Chemotherapeutica wurden erstmals in der Mikrobiologie Standardisierungsarbeiten geleistet. Man kennt heute verschiedene Methoden zur Resistenzermittlung: Agardiffusionstest, Agar- oder Bouillondilutionstest, Breakpoint-Methode, Automaten.

Diese Tests haben Vor- und Nachteile.

– **Agardiffusionstest:** Konventionelle Methode, relativ einfach zu handhaben, erkennen von Einzelkolonien (Reinheitkontrolle), Standardisierungsarbeiten nach DIN, Standardisierungsmöglichkeiten jedoch begrenzt, Flexibilität bei der Auswahl der Chemotherapeutika, viele Faktoren können das Testergebnis beeinflussen: Schichtdicke des Nährbodens, Alter des Nährbodens, Beschichtung der Wirkstoffträger, Aufliegen der Wirkstoffträger auf das Medium, Dichte der Keimsuspension, Ungenauigkeiten beim Ablesen u.a.m.

– **Dilutionstests:** Hohe Präzision, gute Standardisierbarkeit, hohe Aussagekraft, Reinheitskontrollen nur im Agardilutionstest möglich, relativ arbeits- und kostenintensiv, Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) nicht in jedem Fall sinnvoll, z.T. keine Flexibilität bei der Auswahl der Antibiotica, z.T. Aufbewahrung bei sehr tiefen Temperaturen.

– **Automaten:** Sehr schnelles Testergebnis, gute Standardisierbarkeit, für langsam wachsende Bakterien problematisch, Reinheitskontrolle nur durch Ausstrich, nicht direkt, z.T. Verklumpung einzelner Bakterienzellen, was zu Fehldiagnosen führen könnte, hohe Anschaffungskosten.

– **Breakpoint-Methode:** Einfache Handhabung, Flexibilität bei der Auswahl der Chemotherapeutica bzw. Antibiotica, hohe Präzision, gute Standardisierbarkeit, Möglichkeit der Reinheitskontrolle bei Verwendung von Agar-haltigem Medium, Kombinierbarkeit mit MHK-Bestimmung, falls erforderlich, auch für langsam-wachsende Bakterien geeignet.

Auf der Basis der genannten Kriterien wird die Praktikabilität des Agardilutionstests bzw. der Breakpoint-Methode diskutiert.

Literatur:

Forum Mikrobiologie, Jg. 2, Heft 3, Juli 1979, VDGH  
DIN 58940: „Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutica“, Beuth Verlag GmbH, Berlin 30

## Qualitätskriterien für Kontrollblut

P. Haußmann

api bioMérieux GmbH/Wiss. Abteilung, D-7440 Nürtingen

Neben zytochemischen und anderen Verfahren muß die Untersuchung und Auszählung der Blutkörperchen besondere Beachtung finden. Alle Zellpopulationen, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten müssen auf Besonderheiten hinsichtlich Form, Größe, Beschaffenheit sowie Zellzahlen überprüft werden. Pathologische Links- bzw. Rechtsverschiebungen bei der Leukozytenauszählung sind ebenso bedeutungsvoll wie Hämoglobinanalysen. Neben der Zählkammermethode haben hierzu mehr oder weniger automatisierte Geräte zunehmend an Bedeutung gewonnen. Diese Geräte, die nach konduktometrischen oder optischen Prinzipien arbeiten, bieten eine Reihe von Vorteilen hinsichtlich Genauigkeit, sowie Probenbewältigung. Trotz dieser Vorteile können, bei nicht optimalem Arbeiten, ungenaue oder falsche Ergebnisse erhalten werden.

Um diesen Gefahren zu begegnen, wird die Verwendung von Kontrollblut zur Präzisions- und Richtigkeitkontrolle sowie zur Eichung und Kontrolle der Geräte empfohlen. Nach Arbeiten des Deutschen Instituts für Normung (DIN), des Instituts für Standardisierung und Dokumentation in medizinischen Laboratorien (INSTAND), des Internationalen Komitees für Standardisierung in der Hämatologie (ICHS), sowie der Internationalen Gesellschaft für Hämatologie (ICH) sind hierbei folgende Kriterien bedeutungsvoll:

– **Hämoglobinbestimmung:** Störende Bestandteile mit Extinktion im Spektralbereich 500–800 nm, störende Trübungen, mikrobiologische Reinheit, Haltbarkeit, Photolabilität der Lösungen, Reagens zur Hämolyse für die Cyanmethämoglobin-Methode.

– Erythrozyten/Leukozyten: Partikelkonzentration, Partikelbeschaffenheit, unspezifische Partikel in der Größenordnung der Erythrozyten bzw. Leukozyten, Störung durch Bakterienwachstum, Verdünnung der Suspension, Haltbarkeit.

– Hämatokrit: Partikelgröße, Partikelbeschaffenheit, Partikelstabilität (Haltbarkeit).

Bei Beachtung der genannten Faktoren, speziell auch im Rahmen einer entsprechenden Qualitätskontrolle bei Kontrollblut durch den Hersteller, sind zuverlässige Resultate beim Blutbild erzielbar.

#### Literatur

Arzt Lab 26 113 - 118 (1980). H. Pralle „Das Differenzialblutbild in der Laborumarmendun“  
PTB-Mitteilungen 90 2/80. K. Müller „Meßtechnische Probleme bei der elektronischen Zählung von Blutzellen“

## Qualitätssicherung im Notfall-Labor

S. Heller

Krankenhaus Moabit, Zentrallabor und INSTAND-Berlin,  
D-1000 Berlin

In einer Umfrage wurden Analysenspektren, personelle, räumliche und Geräteausstattung sowie Qualitätssicherungsprotokolle im Notfall-Labor ermittelt. Auf Grund der mehr als 50 eingegangenen Antworten aus allen Teilen der Bundesrepublik und aus den Nachbarländern wurde festgestellt, das in etwa 2/3 der Fälle 11 bis 20 klinisch-

chemische und in 4/5 der Fälle zusätzlich 6 bis 15 hämatologische Analysenbestandteile in den Notfall-Laboratorien untersucht werden können. Der Häufigkeit nach sind Glukose, Hämoglobin, Leukozytenzahl, Kalium, Quick, dann  $\alpha$ -Amylase, Thrombozytenzahl, Kreatinkinase und Kreatinin die wichtigsten Analyte. In den meisten Krankenhäusern-Zentrallaboratorien sind besondere Notfall-Laboratorien eingerichtet, z.T. in besonderen Räumen, zum größeren Teil mit besonderen Geräten und besonderem Personal. Ein durchgehender Schichtdienst ist in etwa 1/4 der Notfall-Laboratorien vorhanden, in den meisten anderen nachts nur ein Bereitschaftsdienst.

Die Analytik im Notfall-Labor wird mit der internen Qualitätssicherung (Kontrollkarten, Vergleichsbestimmungen in der Routine, usw.) zum großen Teil erfaßt, aber nur wenige Notfall-Laboratorien nehmen an Ringversuchen teil. Deshalb wurden in Berlin (West) Ringstudien für Notfall-Laboratorien in der Abteilung Methodologie von INSTAND veranstaltet. An diesen Ringstudien nahmen 15 bis 20 Laboratorien teil, sowohl mit ihren Notfall-Labor-Geräten (ACA, Astra, Hitachi usw.) als auch mit ihren Routine-Arbeitsplätzen. Gefordert wurden Doppelbestimmungen an 5 Tagen, so daß eine mehrstufige varianzanalytische Auswertung möglich war (Wiederholbarkeit in der Serie, Vergleichbarkeit von Tag zu Tag, zwischen Arbeitsplätzen eines Zentrallaboratoriums, zwischen Laboratorien, vergleichend alle Notfall- mit allen Routine-Arbeitsplätzen, usw.).

Durch das gute Vertrauensverhältnis, das unter den Laboratorien in Berlin herrscht, wurden die Ergebnisse so wie sie anfielen, „unge-schönt“ mitgeteilt. Aus diesen Ringstudien konnten interessante Schlüsse gezogen werden, die z.T. auf dem Poster, in extenso auch an anderem Ort veröffentlicht werden sollen.

## Mechanisierte Auswertung von Urinesteststreifen: Der Rapimat®

P. Hagemann

Zentrallaboratorium, Kantonsspital, CH-8500 Frauenfeld

Ziel der mechanisierten Ablesung von Teststreifen ist es, die durch unterschiedliche Beleuchtung und subjektive Farbempfindung des Beobachters verursachte Streuung der Resultate zu verringern. Beim Rapimat ergibt sich durch die Verwendung von Papier als Teststreifen

fensträger darüber hinaus eine hygienische Benutzung und Entsorgung.

Die dargestellten Versuche wurden mit dem Teststreifen Rapignost 5\*-Total-Screen A mit den Parametern Glucose, Ascorbinsäure, Proteine, pH, Nitrit, Blut, Bilirubin, Urobilinogen, Ketone durchgeführt. Konzentrationsangaben wurden bei unserem Gerät in Masseneinheiten ausgedrückt – ein Nachteil in Ländern, in denen Stoffmengenkonzentrationen üblich sind; zusätzlich erfolgte eine Bewertung mittels Kreuzchen.

Die hier auszugsweise präsentierten Resultate sind Bestandteil einer multizentrischen Studie, die als Ganzes anderswo publiziert wird.

	Präzision (VK in %)		Wiederfindung (in %)		Richtigkeit, mg/dl, gemessen		Korrelation (zu Ref. Methode)	
	Serie	d	Serie	d	Serie	d	n	r
Glucose								0,849
0 mg/dl	3,8	4,2	0	0				
50 mg/dl	8,1	8,5	100	80	61,7	57,6		
500 mg/dl	13,5	16,3	100	100	450	488		
Ketone								
0 mg/dl	1,2	2,0	0	0				
10 mg/dl	6,2	10,7	20(?)	100				
300 mg/dl	8,6	8,1	100	100				
Ascorbat								
0 mg/dl	6,1	8,0	0	0				
20 mg/dl	21,2(?)	23,4(?)	95	100				
40 mg/dl	5,1	7,2	100	100				
Proteine							30	0,938
0 mg/dl	0,9	1,7	0	0				
15 mg/dl	1,8	1,7	80	75	19,3	16,9		
30 mg/dl	1,9	1,6	100	95	32,6	28,4		
500 mg/dl	2,6	2,6	100	100				

## Hämoglobinbindungsfähigkeit (HbBF) der Haptoglobine (Hp) nach Wärmebehandlung

Ö. Hevér

Staatliches Institut für Rehabilitationsmedizin,  
H-1528 Budapest, Ungarn

Besondere Funktion des Serum-Hp ist, Hämoglobin (Hb) zu binden. Ist diese Funktion durch Wärmebehandlung beeinflusst?

Methoden. 1) HbBF-Messung: a) kolorimetrisch, peroxidase-guajakol Reaktion; b) Agargel Elpho, HYLAND-Hp-Kit; 2) Hp-Protein-Messung BEHRING-RID-Platte; 3) Phänotypen: Stärkegel Elpho; 4) Ultrathermostat, Regulierung  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ . — Material: menschliche Sera.

Resultate. Die HbBF wird durch Wärmebehandlung der Sera in Funktion der Temperatur, Zeit, und Phänotyp vermindert. Zwischen  $50^\circ\text{C}$  und  $65^\circ\text{C}$  nimmt die HbBF stufenweise ab: Hp 1-1 < Hp 2-1 < Hp 2-2. Bei  $65^\circ\text{C}$  gibt es keine HbBF mehr. Bei  $56^\circ\text{C}$ : Je länger die Behandlungszeit, desto größer die Verminderung der HbBF.

Agargel-Elpho-Trennung des freien Hb und des Komplexes beweist, daß es keinen Komplex ohne Peroxidase-Aktivität in wärmebehandelten Sera gibt, daher: kolorimetrische Werte widerspiegeln wahre HbBF Werte.

Die immunchemische Bindungsfähigkeit des Hp mit seinem Antikörper geht nach Wärmebehandlung nur teilweise mit HbBF parallel. Ein auf  $65^\circ\text{C}$  vorbehandeltes Serum-Hp bewahrt noch etwa 10–20% seiner immunchemischen Bindungsfähigkeit.

Folgerungen: Wärmebehandelte Sera (z.B. inaktivierte) sind für Hp-Bestimmung ungeeignet. — Hp-Präparate für intravenöse Anwendung in der Therapie der Hämolyse werden auf  $60^\circ\text{C}$  stundenlang behandelt, zur Vermeidung der Übertragung von Hepatitis-Viren (2, 3, 4). Das Vorhandensein Hp-bindender Hp-Moleküle in solchen Präparaten hängt von der Wärmebehandlung, und stellt meistens nur einen Bruchteil der Konzentration des Ausgangsmaterials dar. Dasselbe ist gültig für Laborstandard- und Kontrollpräparate. Immunchemische Bestimmung des Hp kann irreführend sein, da sie noch über die Anwesenheit von Hp-Molekülen informiert, die aber keine HbBF mehr haben.

### Literatur:

1. POLONOVSKI, M., JAYLE, M. F.: *CR Soc. Biol.* 129, 457 (1938).
2. HÖMANN, B., KULT, J., WEISS, K. H.: *Anaesthesist* 28, 485 (1977).
3. OHSHIRO, T., KOSAKI, G.: *Med. J. Osaka Univ.* 28, 151 (1978).
4. PINTER, J.: *The biochemical, genetic, and clinico-pathological aspects of haptoglobin*. Ser. Haematol. 4, 7–183 (1971).

## Freisetzung von Granulozyten-Elastase bei akutem Nierenversagen und während der Hämodialysebehandlung bei chronisch niereninsuffizienten Patienten

W. H. Hörl<sup>1</sup>, M. Jochum<sup>2</sup>, S. Neumann<sup>3</sup>, A. Heidland<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Universitätsklinik Würzburg

<sup>2</sup> Chirurgische Universitätsklinik München

<sup>3</sup> E. Merck, Darmstadt

Trotz intensiver experimenteller und klinischer Untersuchungen ist die Pathogenese der katabolen Stoffwechsellaage in Kombination mit einer chronischen oder akuten Niereninsuffizienz weitgehend unklar. Solche Patienten leiden häufig an Malnutrition und werden durch Komplikationen hyperkatabolisch. Glukose-, Aminosäuren- und Eiweißverluste während der Häm- oder Peritonealdialyse begünstigen zusammen mit dem Verlust an wasserlöslichen Vitaminen die Entstehung der katabolen Stoffwechselsituation.

Zwei Ursachen sollen für den Eiweißkatabolismus während der Dialysebehandlung verantwortlich sein: 1. Aktivierung der Glukoneogenese, um die Glukoseverluste zu ersetzen, 2. Eiweißabbau, um die Aminosäurenverluste auszugleichen. Die Zugabe von Glukose ins Dialysat läßt jedoch den dialyseinduzierten Katabolismus unbeeinflusst. Die kontinuierliche Zufuhr von Aminosäuren während der Dialysebehandlung führt nicht immer zu einer Abnahme des dialysebedingten Proteinatabolismus.

Eigene Ergebnisse belegen die Beteiligung proteolytischer Enzyme an der katabolen Stoffwechsellaage von Patienten mit chronischem und akutem Nierenversagen. Mit Azocasein als Substrat lag die proteolytische Aktivität des Plasmas unbehandelter Kontrollen bei  $0,052 \pm 0,004$  U/mg Protein, während die Vergleichswerte für Patienten mit ANV  $0,255 \pm 0,044$  U/mg und für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz  $0,127 \pm 0,019$  U/mg betrugen. Unter der Hämodialysebehandlung kommt es zu einer Abnahme der erhöhten Plasmaproteinasen-Aktivität, gemessen mit Azocasein als Substrat, sowohl bei Patienten mit chronischer als auch akuter Niereninsuffizienz.

Der cytochemische Nachweis von Leukozytenproteasen wurde bei Patienten mit akuter und chronischer Niereninsuffizienz nach Klessen durchgeführt. Nach Fixierung mit Formalin/Sublimat und Inkubation mit Borat-Puffer läßt sich bei Blutaustriichen gesunder Kontrollen ein Proteasenhof rund um die Leukozyten nachweisen, hervorgerufen durch eine proteolytische Verdauung benachbarter Erythrozyten. Ein derartiger Proteasenhof um die Leukozyten fehlt bei Patienten mit akutem Nierenversagen. Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz ist nur ein schmaler Proteasenhof um die Leukozyten nachweisbar. Unmittelbar nach Einleitung der Hämodialysebehandlung fehlt der Proteasenhof rund um die Leukozyten gänzlich und läßt sich in nahezu „normaler“ Ausprägung etwa 4 Stunden nach Beginn der Hämodialysebehandlung wieder in vitro induzieren.

Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz sind die Plasmaspiegel der Granulozyten-Elastase, gemessen als Elastase- $\alpha_1$ -Proteasen-Inhibitor-(E $\alpha_1$ PI)-Komplex etwa um den Faktor 3 erhöht, dagegen bei Patienten mit akutem Nierenversagen bis zum Faktor 10. Mit Ausbildung der Leukopenie unter der Hämodialysebehandlung läßt sich ein maximaler Anstieg der Plasmaspiegel der Granulozytenelastase im Komplex mit  $\alpha_1$ PI etwa 3 Stunden nach Beginn der Hämodialysebehandlung nachweisen ( $+409\%$ ,  $p < 0,001$ ). Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz auf dem Boden einer diabetischen Glomerulosklerose zeigen nach unseren bisherigen Untersuchungen die höchsten Plasmaspiegel an E $\alpha_1$ PI während der Hämodialysebehandlung.

Als Ursache der Proteasenfreesetzung nach Einleitung der Hämodialyse vermuten wir eine Granulozyten- und Komplement-Aktivierung durch Kontakt des Blutes mit dem Membransystem des Dialysators. Die Proteasenfreesetzung ist von potentieller klinischer Relevanz für verschiedene Langzeitkomplikationen der Hämodialysetherapie.

## Eine neue immunologisch-colorimetrische Methode zur Bestimmung der Sauren Prostate Phosphatase (PAP)

E. F. Hohenberger

Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31

Es wird eine neue Methode zur direkten Bestimmung der Sauren Prostate-Phosphatase (PAP) vorgestellt. Bei dieser Methode wird die Saure Prostate-Phosphatase (PAP) an einen spezifischen Antikörper Anti-PAP-IgG aus Kaninchenserum gebunden und der lösliche Immunkomplex mittels eines zweiten Antikörpers (Anti-Kaninchenserum-IgG aus Ziegen Serum) präzipitiert. Nach Abtrennung des Niederschlags wird die enzymatische Aktivität der Sauren Prostate-Phosphatase im Immunpräzipitat mit p-Nitrophenylphosphat als Substrat bestimmt. Eine Eichkurve ist nicht erforderlich. Die Methode wird bezüglich Präzision, Linearität und Wiederfindung charakterisiert. Anhand von Methodenvergleichen wird die gute Korrelation mit anderen immunologischen Methoden aufgezeigt. Die Ergebnisse einer Normalwertermittlung werden vorgestellt. Anhand einer klinischen Studie wird gezeigt, daß der Test gut zur Abgrenzung von Patienten mit progredienten Prostatakarzinomen gegenüber Patienten mit Prostatakarzinomen ohne Progression geeignet ist und insbesondere zur Verlaufskontrolle beim Prostatakarzinom eingesetzt werden kann.

Wegen der kurzen Inkubationszeiten, des Verzichtes auf Eichkurven und der Durchführbarkeit mit herkömmlicher Laborausstattung ohne Einsatz radioaktiver Substanzen, stellt der neue Test einen methodischen Fortschritt dar. Die diagnostische Wertigkeit der neuen Methode ist deutlich höher als die bisheriger enzymatischer Tests auf der Basis der Träthermierung.

## Labor-EDV – ein Steuerungssystem aus der Sicht des Laborarztes

W. Hohenwallner

Zentrallaboratorium, Krankenhaus der Barmherzigen Schwestern, A-4020 Linz

Im folgenden soll über Forderungen vonseiten des Laborarztes im Krankenhauslaboratorium ein schlusselartiges Labor-EDV-System im Sinne eines Übersichtsreferates gesprochen werden.

1. Forderungen, die unbedingt notwendig sind:
  - a) Grundkonzept,
  - b) Bedienungskomfort,
  - c) On-line-Betrieb,
  - d) „Dynamische Kommunikation“ mit dem Analysengerät,
  - e) Betriebssicherheit,
  - f) Kapazität.
2. Forderungen, die realisierbar sind:
  - a) Verbindung zur „Außenwelt“,
  - b) Computergesteuerte Probenverteilung und Analyse,
  - c) Plausibilitätskontrolle,
  - d) Formulargenerator,
  - e) Statistikpaket,
  - f) Auswertung der „Historie“.

## Referenzbereiche für die alpha-Amylase in Serum und Harn mit PNP-Maltoheptaosid als Substrat

W. Hohenwallner, E. Wimmer, R. Sommer

Zentrallaboratorium des Krankenhaus der Barmherzigen Schwestern, A-4020 Linz

Untersucht wurden die Referenzbereiche für die Bestimmung der alpha-Amylase in Serum und Harn mit dem Substrat p-Nitrophenyl-Maltoheptaosid bei 25 und 30°C am ACP-5040 Eppendorf.

Ergebnisse: U/l

1. Serum (Blutspender ; und \*)

Temp.	N	$\bar{x}$	2s-Bereich	Median	95% Perz.	97,5% Perz.
25°	194	68,8	22–115	65	37–111	34–121
30°	197	88,0	29–147	73	46–146	39–158

2. Spontanharn ; und ..

25°	91	282,3	0–576	257	37–529	32–557
30°	138	312,3	0–672	285	77–645	57–703

3. 24-h-Harn ; und :

25°	57	172,0	0–346	170	44–332	34–335
30°	57	241,0	0–484	245	64–453	57–505

Literatur:

1. HALL, L. M.: Colorimetric determination of amylase with p-nitrophenylmaltoheptaoside as substrate. Clin. Chem. 25, 1068 (1979).
2. HOHENWALLNER, W., WIMMER, E., SOMMER, R.: Evaluation of the colorimetric determination of alpha-amylase with 4-nitrophenylmaltoheptaoside on ABA-100. 10th Int. Congress on Clinical Enzymology, 21–24 April, Abano, Italien (1982).

## Spurenbestimmung von Herbiziden im Blut mit multidimensionaler HPLC

J. F. K. Huber, H. R. M. Lang, J. Jusiak, E. Kaiser

Institut für Analytische Chemie der Universität Wien, Institut für Medizinische Chemie der Universität Wien

Der Nachweis und die quantitative Erfassung von UV-absorbierenden Herbiziden im Blut im ng/ml-Bereich erfordert saubere Isolierung der Herbizide aus dem Untergrund der endogenen UV-absorbierenden Verbindungen im Plasma. Bisher war eine arbeitsintensive und zeitraubende Vortrennung in mehreren Schritten notwendig, bevor die Chromatographie mit Aussicht auf Erfolg angewendet werden konnte. Die mehrdimensionale Operation des Säulenschaltens erlaubt eine on-line-Isolierung und Bestimmung von Herbiziden im Blut ohne extensive Vortrennung durch Ausnützung der unterschiedlichen

Selektivität der Trennsäulen in einem mehrstufigen Trennprozeß, mit einer drastischen Erhöhung der Trennleistung.

Die Leistungsfähigkeit der Methode wird für die Getreideherbizidpyridate und 2,4-DP demonstriert, wobei für 10 ml Blut eine Erfassungsgrenze von 1 ng/ml erreicht werden konnte.

Die Untersuchungen wurden zur Methodenentwicklung mit dotierten Plasmaproben ausgeführt, und in der Anwendung zur Kontrolle von exponierten Personen erprobt.

## Arzneimittelspurenbestimmung im Blut mit mehrdimensionaler HPLC

J. F. K. Huber, M. Maurer, G. Reich

Institut für Analytische Chemie der Universität Wien

Die Bestimmung von extrem niedrigen Arzneimittelkonzentrationen im Blut gewinnt zunehmende Bedeutung, da immer wirkungsstärkere Präparate eingesetzt werden. Bei der einstufigen chromatographischen Analyse ergeben sich oft Arzneimittelpeaks, die kaum vom Untergrund der übrigen Plasmaplastanteile unterschieden werden können. Den besten Weg zur Erhöhung der Trennleistung und Isolierung der Arzneimittel aus dem Untergrund bietet die mehrdimensionale Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Bei diesem mehrstufigen Trennverfahren werden die Selektivitätsunterschiede der Phasensysteme ausgenutzt. Mit Hilfe des Säulenschaltens kann das Verfahren on-line durchgeführt werden.

Um Zeit zu gewinnen, soll die Trennung nur soweit vorangetrieben werden, daß die Proben der zu bestimmenden Analyten mit der geforderten Präzision und Richtigkeit bestimmt werden können. Die chromatographische Auflösung, die dazu erforderlich ist, hängt vom Algorithmus der Auswertung ab. Durch Anwendung eines rechnerunterstützten Verfahrens, das eine Peakdekonvolution ermöglicht, konnte die Analysenzeit ohne Beeinträchtigung der Güte der Daten stark reduziert werden.

Die Anwendung der Kombination dieser beiden Verfahren wird für die Bestimmung niedriger Konzentrationen eines  $\beta$ -Blockers (CELIPROLOL\*) im Blut demonstriert.

Dabei konnte unter Verwendung von UV-Detektion eine Erfassungsgrenze von 1 ng/ml bei einer Analysenzeit von wenigen Minuten erreicht werden.

## Erythrozytenprotoporphyrin der Wiener Bevölkerung im Rahmen der Wiener Gesundheitsstudie

O. Jahn, A. Weiss

Universitätsklinik für Arbeitsmedizin, A-1090 Wien

Haem entsteht unter Mitwirkung der Ferrochelatase aus dem Erythrozytenprotoporphyrin (FEP). Erhöhungen dieser Haem-Vorstufen kommen bei Bleiexposition, schweren Anämien, sowie der sehr selten auftretenden Erythrozytenprotoporphyrin vor. Die Konzeption der Wiener Gesundheitsstudie, die sich aus freiwilligen Probanden der zufällig ausgewählten Jahrgänge 1920, 1940 und 1955 zusammensetzt, ermöglicht die Ergebnisse als repräsentativen Querschnitt der Wiener Bevölkerung zu interpretieren. Die Bestimmung erfolgte mit der haemofluorimetrischen Methode nach Blumberg et al., die Kadmiumbestimmung mittels AAS, das Blutbild mit Coulter-Counter.

Der Mittelwert von FEP bei Männern betrug 13,7 (3–48), bei Frauen 15,1 (3–63)  $\mu\text{g/l}$ . Die Mittelwerte der Altersgruppen waren bei Männern und bei Frauen im gleichen Bereich. Ein geringer altersmäßiger Anstieg war bei den Männern zu beobachten (12,1, 13,6, 18,4). Bei Frauen war der höchste Mittelwert (15,6) in der jüngsten Gruppe. Raucher zeigten in allen Altersgruppen einen gering höheren Mittelwert als Nichtraucher. Exraucher lagen zwischen beiden Mittelwerten. Gewicht und Alkoholkonsum hatten keinen Einfluss auf die Mittelwerte der einzelnen Gruppen.

Der Vergleich der Ergebnisse mit den Werten einer Feldstudie in einem Bürobetrieb erbrachte keinen Unterschied. Somit können diese Ergebnisse als Referenzwerte einer nichtbelasteten Bevölkerung herangezogen werden.

## Betriebssicherheit und Back-up in der Labor-EDV

E. Jarosch

Universitätskinderklinik Innsbruck, Laboratorien, A-6020 Innsbruck

Die Grundstrukturen der Labor-EDV im Rahmen der Labororganisation bedingen die apparative und Programm-mäßige Gestaltung der Betriebssicherheit und Daten- wie Programmsicherung (Back-up) als wesentliches Element bei der Nutzung von EDV im Laborbereich.

Zentrale Computerorganisation mit Einfach- oder Doppelrechner im Parallel- oder Komplementärbetrieb erfordert eine andere Back-up-Struktur wie dezentrale, Arbeitsplatzcomputer bzw. Geräte-eigene Minicomputer integrierende oder als Netzwerk verbundene Rechnerstrukturen.

Die grundsätzliche Sicherung des Gesamtbetriebes, von Betriebssystemen und Anwenderprogrammen sind im ersten Falle anders zu organisieren und die eigentliche Schwäche rein zentraler Betriebsorganisation erweist sich hier noch stärker bei der eigentlichen Patientendaten- und Analyseergebnis-Sicherung.

Peripherie oder zentrale Datenreduktion, anzuwendende Datenträger, Häufigkeit des „Up-Datings“ sowie notwendige Stammdaten-Länge und Datenbankorganisation müssen so gesteuert werden, daß alle Grundinformationen erhalten bleiben, sollte das eine oder andere Glied der Gesamt-EDV-Kette ausfallen. Die Steuerung muß redundant genug gehalten werden, daß im „schlimmsten Falle“ (worst case) der Datenverlust ein vorher definiertes Minimum bleibt. Andererseits ist durch entsprechende „Erholungs-(Recovery-)Programme“ mit einem Minimum an Grundinformationen das notwendige Maß an Daten-Rückgewinnung zu erzielen.

Ein Überblick über die derzeit verfügbaren Back-up-Strategien und Maßnahmen zur Erzielung einer brauchbaren Betriebssicherheit in der Labor-EDV wird gegeben und die zugrundeliegenden Betriebsphilosophien werden diskutiert.

### Literatur:

GLIESER, M.: The medical event vector. Meth. Inform. Med. 18, 127–131 (1979).

## Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplex (E- $\alpha_1$ PI): ein Indikator für pathobiochemische Veränderungen in der Sepsis und nach Polytrauma

M. Jochum<sup>1</sup>, K. H. Duswald<sup>2</sup>, H. Dittmer<sup>2</sup>, H. Fritz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Abteilung Klinische Chemie und

<sup>2</sup> Chirurgische Kliniken der Universität München

PMN-Granulozyten setzen im Verlaufe von Entzündungen neutrale Proteinase wie Elastase in das umgebende Milieu frei. Solche Proteinase sind unter geeigneten Bedingungen in der Lage, viele Plasmaproteine unspezifisch zu inaktivieren, bevor sie durch endogene Inhibitoren (z.B. dem  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor) komplexiert und eliminiert werden. Mit Hilfe eines Enzymimmunoassays [Neumann et al., J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 232 (1981)] haben wir den Gehalt des Plasmas an E- $\alpha_1$ PI bei 1. Patienten nach schweren abdominalchirurg. Eingriffen und 2. bei Mehrfachverletzten nach Verkehrsunfällen untersucht: 1. Patienten ohne postoperative Infektion zeigten 12 Std. nach dem Eingriff eine Erhöhung auf das Dreifache der Norm ( $86,5 \pm 25,5 \mu\text{g/ml}$ ) und danach eine rasche Normalisierung. Ein signifikanter Anstieg des E- $\alpha_1$ PI auf das 10- bis 20fache der Norm wurde beim Auftreten einer postoperativen Sepsis beobachtet. Bei genesenden Patienten kehrte die E- $\alpha_1$ PI-Konz. während des Heilungsprozesses wieder zur Norm zurück, wohingegen bei persistierender Sepsis anhaltend hohe Werte bis zum Tode zu beobachten waren. Weiterhin konnte eine Korrelation zwischen der Zunahme an zirkulierendem E- $\alpha_1$ PI und der Aktivitätsabnahme von Antithrombin III, Faktor XIII und  $\alpha_2$ -Makroglobulin gemessen werden. 2. Polytraumatisierte Patienten zeigten in Abhängigkeit vom Schweregrad der Verletzung hochsignifikante Anstiege

des E- $\alpha_1$ PI bis ca. 16 Std. nach Unfall. Im Verlaufe der weiteren Beobachtungsphase (bis 84 Std.) sanken die Spiegel des Komplexes deutlich ab, bei unkompliziertem Heilungsverlauf bis zur Norm. Aufgrund der z.T. sehr massiven Bluttransfusionen ist es derzeit noch verfrüht, eine sich abzeichnende Korrelation zwischen der Höhe des E- $\alpha_1$ PI-Gehaltes und der Aktivität verschiedener Gerinnungs- und Fibrinolysefaktoren im Plasma als ursächlich anzunehmen. Die bei der Bluttransfusion substituierten E- $\alpha_1$ PI-Mengen müßten dabei berücksichtigt werden.

## Das FETI-Prinzip in Theorie und Praxis

Dr. L. Kadehjian

Syva Corporation, Palo Alto, Ca., U.S.A.

Within the past several years there has been a great deal of activity in the development of new non-isotopic immunoassays. In particular, fluorescence methods are regarded as the key technic which can obviate the well-known problems inherent with RIA and yet maintain high sensitivity. Notable amongst these developments is the fluorescence excitation transfer immunoassay (FETI). The FETI design involves the quenching of fluorescently-labeled antigens by quencher-labeled antibodies upon binding due to proximity effects. The FETI technique has been successfully applied to the detection of a wide variety of mono- and polyvalent haptens, macromolecular protein antigens, and antibodies. FETI provides significant advantages over other immunoassays in terms of simplicity of protocols, high sensitivity, ease of labeling and stability of fluorescent labels. The theory, development and applications of this significant advance in fluorescence immunoassays methodology will be presented.

## Überprüfung der CK-MB-Bestimmung am ACA (DuPont) mit gereinigter CK-MB

C. Kaul (1), S. W. Golf, L. Roka

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Zur Bestimmung der Creatinkinase-Isoenzym-MB-Aktivität (CK-MB) mit dem ACA wird eine Ionenaustauschersäule verwendet, auf welcher die Isoenzyme MM und BB sowie 30% der CK-MB zurückgehalten werden (2). Als Alternative zur ACA-Methode steht die Immuno-inhibitions-methode (MB-Merck) zur Verfügung (3). Eine Korrelation zwischen beiden Bestimmungsmethoden ergab einen Koeffizienten von 0,90 mit Abweichungen bis zu 170% im Einzelfall. Steigungsgerade:  $y = 1,64x - 7,4$ , Streuung =  $15,71 \text{ U/l}$ ,  $y = \text{U/l ACA}$ ,  $37^\circ$ ,  $x = \text{U/l MB-Merck}$ ,  $25^\circ$ . ACA-Parameter: Startpunkt = 0, Skalenfaktor = 0,6068.

Zur Überprüfung der CK-MB Methode mit dem ACA wurde die humane CK-MB (Herz) mit Athanol-fällung, DEAE-Sephrose- und Affiglobulin-Säule gereinigt. Die so erhaltene CK-MB wurde mit Humanserum oder Albuminlösung verdünnt und die Aktivität am ACA überprüft. Keinen Einfluß auf die gemessenen CK-MB-Aktivitäten hatten folgende Substanzen (bis zu dreifacher Konzentration der oberen Grenze der Referenzwerte): Palmitin-, Stearin-,  $\alpha_1$ -Linol-, Arachin- und Cholesterin, Cholesterin, Lecithin, Bilirubin, pH 7,2–7,6, Lactat, Pyruvat, ebenso Glutamatdehydrogenase, Alaninaminotransferase, Aspartataminotransferase (bis zu 1000 U/l im Specimen). Der Gesamteiweißgehalt des Specimen hat großen Einfluß auf die CK-MB-Aktivität, die mit zunehmendem Eiweißgehalt ansteigt (bis zu 1 U/l pro g/l). Wird die CK-MB vor der Säulenchromatographie am CK-MB-Pack aktiviert, so ergibt sich ein Anstieg der Aktivität: mit N-Acetylcystein um 55% und mit  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  Maleat und Oxoglutarat um 100%. Wird letztgenannte Mischung im Patientenserum eingesetzt, so ergibt sich folgende Regressionsgerade im Vergleich mit MB-Merck:  $y = 2,15x - 2,19$ , Korrelationskoeffizient = 0,93, Streuung =  $17,33 \text{ U/l}$ .

### Literatur:

1. Diese Arbeit enthält wesentliche Teile der Dissertation von C. Kaul.
2. STOREY, J. D., SASS, M. L.: Clin. Chem. 25, 1088 (1979).
3. WÜRZBURG, U., HENNICH, N. et al.: Klin. Wochenschrift 54, 357 (1976).

## Anforderungen an mechanisierte Methoden in der Mikrobiologie

F. H. Kayser

Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich

Diagnostische Mikrobiologie erfordert die kontinuierliche Beurteilung von Teilergebnissen im Laufe einer Untersuchung. Diese Aufgabe basiert auf dem Wissen, dem Können und der Erfahrung des Fachmanns und wird auch in Zukunft im Mittelpunkt der Arbeit des klinischen Mikrobiologen stehen. Instrumente können vollumfänglich diese Aufgabe nicht erfüllen. Daraus ergibt sich, daß die Mechanisierung in der Mikrobiologie nur Teilbereiche erfassen kann.

Für das indirekte Vorgehen bei der Labordiagnose einer Infektionskrankheit – die Antikörperbestimmung – können Instrumente zur Herstellung von Verdünnungsreihen und zum Ablesen der Resultate eingesetzt werden. Bei der direkten Diagnostik – dem Nachweis der Erreger – können Bildanalysegeräte für die Mikroskopie (Tuberkelbakterien, Immunfluoreszenz) verwendet werden. Instrumente für den Nachweis von Bakterien im Blut (Ja-nein-Resultat) sind vorhanden. Verschiedene Systeme erlauben die Keimzahlbestimmung im Urin. Auf dem Gebiet der Identifizierung von Bakterien und der Resistenzbestimmung wurden große Fortschritte im Hinblick auf Mechanisierung erzielt.

Die Mikrobiologie stellt an mechanisierte Methoden folgende Anforderungen:

1. Mechanisierung von arbeitsintensiven, repetitiven Arbeitsgängen.
2. Übereinstimmung der Ergebnisse mit den Resultaten konventioneller Methoden.
3. Reproduzierbarkeit (Qualitätskontrolle).
4. Keine Kostensteigerung.
5. Schnelle Ergebnisse.

Mechanisierte Systeme sollen die Arbeit des Mikrobiologen erleichtern, damit ihm mehr Zeit für komplizierte Aufgaben zur Verfügung steht. Sie können ihn nicht ersetzen.

## Evaluierung eines Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Thyroxin bindendem Globulin (TBG)

A.-Ch. Kessler, G. Moeller, J. Mattersberger

Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica-Forschungszentrum, D-8132 Tutzing

Die Konzentration des Thyroxin bindenden Globulins (TBG) kann neuerdings mit einem Enzymimmunoassay bestimmt werden. Der Test beruht auf dem Wettbewerbsprinzip bei dem TBG und POD-markiertes TBG um eine vorgegebene Menge von spezifischen Antikörpern konkurrieren, die an der Innenseite der Teströhrchen fixiert sind.

Die vorliegende Arbeit stellt klinische und methodische Ergebnisse der in 12 Laboratorien durchgeführten Erprobung vor. Die Präzisionsmessungen in der Serie ( $VK = 1,7 - 8,3\%$ ) und von Tag zu Tag ( $VK = 2,9 - 8,6\%$ ) bei 10–43 mg TBG/l ermöglichten eine zuverlässige Differenzierung einzelner Kollektive. Eine gute Reproduzierbarkeit von Labor zu Labor war gegeben. In einem Kollektiv gesunder Erwachsener (18–49 Jahre) lag die mittlere TBG-Konzentration bei 14,3 mg/l, 90% aller Werte zwischen 9,9 und 18,7. Der Referenzbereich für Frauen (10,5–19,0 mg/l, Median 14,8) war im Vergleich zu dem der Männer (9,5–18,1 mg/l, Median 13,6) signifikant erhöht; hyperthyreote Patienten lagen im Referenzbereich, hypothyreote Patienten zeigten erhöhte TBG-Spiegel. Bei Frauen unter Östrogen-Therapie und in der Schwangerschaft wurden stark erhöhte TBG-Konzentrationen gemessen. Die Quotienten  $T_4$ :TBG und  $T_4$ :TBK waren vergleichbar und ermöglichen die Zuordnung zu euthyreoten-, hyper- und hypothyreoten Stoffwechsellaagen.

## Eine Routinemethode zur Bestimmung des Low-Density Lipoprotein-Cholesterins

P. T. Kirch, U. Würzburg

E. Merck, Darmstadt, Biochemische Forschung, D-6100 Darmstadt 1

LDL-Cholesterin ist unter den Lipidparametern der wichtigste Risikofaktor für kardioskuläre Erkrankungen. Die direkte Bestimmung war

bisher nur mit aufwendigen Methoden wie der quantitativen Lipoprotein-elektrophorese oder der Ultrazentrifugation möglich.

In der Routine wurde LDL-Cholesterin nach der Nährungsformel von Friedewald berechnet. Bei erhöhten Triglyceridwerten ist sie jedoch nicht anwendbar (1).

Jetzt konnte gezeigt werden, daß LDL beim pH-Wert 5,12 durch Heparin spezifisch ausgefällt werden (2). Davon ausgehend wurde ein Fällungsreagenz für die Bestimmung des LDL-Cholesterins entwickelt. Die Differenz aus Gesamt-Cholesterin subtrahiert um die Cholesterin-Konzentration im Überstand der Zentrifugation ergibt den LDL-Cholesterin-Wert. Der Einfluß des pH-Wertes, der Puffer und Heparin-Konzentrationen, des Probe/Reagenz-Verhältnisses, der Temperatur und der Zentrifugationsbedingungen werden dargestellt.

Unter optimalen Bedingungen ist die Fällung der LDL spezifisch und vollständig. Die Methode zeigt eine sehr gute Präzision ( $VK = 2,5\%$ ) und eine sehr gute Korrelation mit der Bestimmung durch Lipoprotein-elektrophorese oder Zentrifugation bei Eigendichte des Serums. Der lineare Meßbereich erstreckt sich bis 700 mg/dl LDL-Cholesterin. Triglyceride stören auch in hoher Konzentration nicht.

Literatur:

1. HOFFMAN, G. E., SCHLEICHER, E., WEISS, L., HOFFMANN, S.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 457 (1982).
2. SEIDEL, D., WIELAND, H.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 684 (1982).

## Elastase-Inhibitor-Komplexe in Plasma und Synovialflüssigkeit bei chronischen Gelenkerkrankungen

K. Kleesiek<sup>1</sup>, D. Brackertz<sup>2</sup>, H. Greiling<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Abteilung Klinische Chemie und Pathobiochemie der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen,

<sup>2</sup> Abteilung Rheumatologie am St. Vincenz- und Elisabeth-Hospital, Mainz

Die Elastase aus Granulozyten besitzt eine zentrale Bedeutung in der Destruktion des Gelenkknorpels (1). Dieses Enzym ist in der Lage, das Coreprotein der Proteoglykanmonomere zu spalten (2). Außerdem ist es wesentlich an dem Abbau der Kollagenfasern während des Entzündungsstoffwechsels beteiligt (2). Im Extrazellulärraum (Synovialflüssigkeit, Plasma) liegt die Elastinase als Komplex mit dem  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor ( $\alpha_1$ -PI) oder  $\alpha_2$ -Makroglobulin ( $\alpha_2$ -M) vor, zum größten Teil gebunden an  $\alpha_1$ -PI (3). Zur Prüfung der differentialdiagnostischen Validität von Elastase-Inhibitor-Komplexen bei chronischen Gelenkerkrankungen ( $n = 115$ ) bestimmten wir die Konzentration des Elastase- $\alpha_1$ -PI-Komplexes gleichzeitig in der Synovialflüssigkeit und im Plasma mit Hilfe eines Enzymimmunoassays (4) sowie die Aktivität des Elastase- $\alpha_2$ -M-Komplexes gegenüber Methoxysuccinyl-(Ala)<sub>2</sub>-Pro-Val-4-nitroanilid als Substrat in der Synovialflüssigkeit. Die Konzentration des Elastase- $\alpha_2$ -M-Komplexes korreliert in der Synovialflüssigkeit mit der Granulozytenzahl (Entzündungsaktivität). Die Elastaseaktivität ist ausschließlich an den Elastase- $\alpha_2$ -M-Komplex gebunden. Bei einer Granulozytenzahl > 1000/ $\mu$ l werden gehäuft enzymatisch aktive Elastase- $\alpha_2$ -M-Komplexe gemessen. Zellkulturversuche mit Synovialzellen, in denen wir eine stimulierende Wirkung des Elastase- $\alpha_2$ -M-Komplexes auf die Hyaluronat synthese nachgewiesen haben, sprechen für eine wesentliche pathobiochemische Rolle des Enzym-Inhibitor-Komplexes bei der Entstehung des Gelenkergusses. Das ausgeprägte Konzentrationsgefälle des Elastase- $\alpha_1$ -PI-Komplexes zwischen entzündlicher Synovialflüssigkeit (bis 100000  $\mu$ g/l) und Plasma (normal bis 250  $\mu$ g/l) führt bei der chronischen Polyarthrits auch zu einem Anstieg der Plasmaproteinkonzentration, während bei der Osteoarthritis normale Plasmaproteinkonzentrationen gefunden werden. Unter der Therapie einer chronischen Polyarthrits sinkt die erhöhte Plasmaproteinkonzentration bei Abnahme der Granulozytenzahl in der Synovialflüssigkeit und Besserung des klinischen Bildes in den Normbereich ab. Die Bestimmung des Elastase- $\alpha_1$ -PI-Komplexes im Plasma kann wertvolle Hinweise in der Diagnostik der chronischen Polyarthrits geben und eignet sich für eine objektive Therapiekontrolle.

Literatur:

1. KLEESIEK, K., MICHELS, P., MÜLLER, K. H., GREILING, H.: In: Gelenkdestruktion bei Polyarthrit (P. Ott, Hrsg.), D. Dietrich, Stuttgart-Verlag, S. 57 (1981).
2. KEISER, H. D.: In: The cell biology of inflammation (G. Weismann, ed.), Elsevier/North Holland, Amsterdam, S. 431 (1980).
3. KLEESIEK, K., NEUMANN, S., GREILING, H.: Fresenius J. Anal. Chem. 311, 434 (1982).
4. NEUMANN, S., HENRICH, N., GUNZER, G., LANG, H.: Proc. 11th Int. Congr. Clinical Enzymology (Salzburg, Sept. 1981), in Druck (1982).

## Fehlermöglichkeiten bei der Adaptation des Enzym-Immuno-Assays EMIT auf zwei mechanisierte Mikrolitersysteme

T. O. Kleine

Funktionsbereich Neurochemie im Med. Zentrum für Nervenheilkunde der Universität, D-3550 Marburg/Lahn

Die anfallenden hohen Reagenzienkosten bei der Enzyme-Multiplex-Immunoassay-Technique (EMIT, Reagenzien von E. Merck, Darmstadt) können durch Verringerung des Testvolumens und Verdrünnung der Reagenzien gesenkt werden:

Durch Adaptation der EMIT auf den kinetischen Enzymanalyser 5080 Eppendorf (Gesamtvolumen 300 µl) werden die Kosten eines Tests um das 3- bis 4fache der Kosten der Originalmethode Syva-Gilford vermindert (1, 2). Hierbei werden 20 µl 1:4 verdünnte Probe 6 min mit 200 µl 1:15 verdünntem Reagenz A inkubiert, im 3-s-Intervall mit 40 µl 1:3 verdünntem Reagenz B beschickt und nach 90 s die Extinktionszunahme von jeweils 6 Tests im 3-s-Taktkinetisch gemessen. Die genaue Zeiteinhaltung der manuell durchgeführten schnellen Pipettierschritte und die Ableitung der Ergebnisse an einer selbst gezeichneten Eichkurve führen bei diesem mechanisierten Mikrolitersystem zu großen individuellen Fehlern mit Variationskoeffizienten (VK) bis zu 20%.

Bei Verwendung des vollmechanisierten programmgesteuerten Systems Stasar III (System 103 Gilford) mit Probentisch für 22 Proben werden die Reagenzienkosten auf ein Viertel der Syva-Gilford-Originalmethode gesenkt bei einer interseriellen Präzision von  $\leq 10\%$  VK, wenn das Testvolumen auf 330 µl reduziert wird (3).

Hierbei ist zu beachten: 1. Der Verschleppungsfehler muß auf  $< 5\%$  reduziert werden durch Veränderung des Waschvorganges: Reinigung von Ansaugnadel und Schlauch außen und innen mit verdünntem Puffer durch volles Eintauchen der Ansaugnadel in das Waschgefäß. 2. Die Vorinkubation von 15 µl 1:59 verdünnter Probe mit 15 µl 1:7,7 verdünntem Reagenz A darf 10 min nicht übersteigen, um eine befriedigende Richtigkeit zu erhalten. Damit dürfen nur 11 Proben auf einmal mit Reagenz A beschickt werden.

### Literatur:

1. KLEINE, T. O.: Lowering the cost of enzyme immunoassay (EMIT) for carbamazepine by its adaptation to a mechanized microtiter system. Clin. Chim. Acta 82: 193-195 (1978).
2. KLEINE, T. O.: Kostenverminderung des Enzym-Immuno-Assays (EMIT) für Antikonsultiva durch Anwendung eines mechanisierten Mikrolitersystems. In: Kontrolle der Plasmaspiegel von Pharmaka. Sommer, R. (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart, S. 25-28 (1980).
3. KLEINE, T. O., MERTEN, B., SINGH, A.: In: Methodische Fortschritte im Laboratorium, Kurzeferate 1981. Rösch-Enghardt, A. (Hrsg.), Kirchheim + Co. Verlag, Mainz, S. 102 (1981).

## Liquorzytologie mit farbeschichteten Objektträgern: Kombination mit der Zytocentrifuge bei zellarmen Liquorproben

T. O. Kleine

Funktionsbereich Neurochemie im Med. Zentrum für Nervenheilkunde der Universität, D-3550 Marburg/Lahn

Mit dem Vitalläufverfahren mit farbeschichteten Objektträgern (Testsimplex\*, Boehringer Mannheim) können die im Liquor cerebrospinalis vorkommenden Zellen, einschließlich Tumorzellen, aus 10 bis 20 µl Nativ-Liquor befriedigend charakterisiert werden (1-3). Da bei Untersuchung zellarmer Liquorproben das ganze Präparat unter größerem Zeitaufwand durchmustert werden muß, lag es nahe, bei diesen Proben eine Zellanreicherung mittels Zytocentrifuge durchzuführen. Hierzu wurden 50 bis 300 µl Nativ-Liquor auf den farbeschichteten Objektträger mittels Zytocentrifuge (Zytospin, Fa. Shandon) niedertourig zentrifugiert. Das noch feuchte Präparat wurde mittels Deckglas eingedeckt und nach ca. 10 min Anfahrzeit in Osmierion bei 800facher Vergrößerung mit dem Zeiss-Photomikroskop differenziert und dokumentiert. Zum Vergleich wurden von der gleichen Liquorprobe 10 bis 20 µl nativ auf den Objektträger gebracht und untersucht (1, 2). Von 20 bis 50 photographierten Zellen wurde der mittlere Durchmesser in µm (Mittelwert aus größtem und kleinstem Zelldurchmesser) von nativen Zellen und abzentrifugierten Zellen (in Klammern) ermittelt (3): Kleine Lymphozyten  $6.7 \pm 1.9$  ( $7.8 \pm 0.9$ ); transformierte Lymphozyten  $8.9 \pm 2.7$  ( $10.6 \pm 1.3$ ), monozytäre Zellen  $11.1 \pm 3.7$  ( $10.9 \pm 1.1$ ), neutrophile Granulozyten  $9.6 \pm 2.5$  ( $11.5 \pm 2.7$ ) ( $\bar{x} \pm s$ ). Diese Befunde zeigen, daß nach Zytocentrifugation die meisten der untersuchten noch lebenden Liquorzellen ihre Kugelform verlieren und eine mehr flach ausgebreitete Form annehmen, wie sie beim Syaschen Sedimentkammerverfahren beobachtet wird (2, 3). Trotz dieser und weiterer Unterschiede in der Zellanfärbung ist der statistische Fehler bei der Zeldiagnostik mit dieser neuen Modifikation der Objektträgermethode in zellarmen Liquorproben geringer als mit der Objektträgermethode mit 20 µl Nativ-Liquor.

— Mit Unterstützung durch die P.-E.-Kempkes-Stiftung. —

### Literatur:

1. KLEINE, T. O., FLURY, R., TRITSCHLER, W.: Liquorzytologie mit vorgefärbten Objektträgern. Dtsch. med. Wochschr. 102: 1216-1221 (1977).
2. KLEINE, T. O.: Zeldiagnostik des Liquor cerebrospinalis, ein Methodenvergleich. In: Kleine, T. O.: Neue Labormethoden für die Liquordiagnostik. G. Thieme Verlag, S. 76-92 (1980).
3. KLEINE, T. O.: Liquorzytologie mit farbeschichteten Objektträgern. Vergleich mit Sedimentkammerverfahren und Zytocentrifuge. Dtsch. med. Wochschr. 106: 865-870 (1981).

## Heterogener Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Ferritin im Serum

D. Klenner, U. Flügel, J. Friedrich, H. Lenz, H. G. Batz, G. Kleinhammer, R. Linke

Boehringer Mannheim GmbH, Forschungszentrum, D-8232 Tutzing

Der Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Ferritin im Serum oder Plasma arbeitet nach dem Sandwichprinzip.

Die Gesamtkubationsdauer beträgt 3 Stunden bei Raumtemperatur. 100 µl Ferritin-Standard oder Probe reagieren mit den an die Röhrchenwand gebundenen Schaf-Anti-Ferritin-Antikörpern. Diese erste Inkubation ist nach einer Stunde abgeschlossen, das ungebundene Probenmaterial wird durch Waschen entfernt.

Im zweiten Inkubationsschritt (1 h) reagiert der mit Meerrettichperoxidase markierte anti-Ferritin-Antikörper mit dem wandgebundenen Ferritin. Nichtgebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Eine Stunde nach Zusatz des Substrat- und Chromogen (ABTS\*) Gemisches wird die gebundene Enzymaktivität bei 405 nm photometrisch bestimmt.

Die untere Nachweisgrenze des Tests liegt bei 2 ng Ferritin/ml. Der Meßbereich erstreckt sich von 0 bis 500 ng/ml. Auch bei Serumproben mit mehr als 10 µg Ferritin/ml ist kein Hook-Effekt nachweisbar. Die Intra- und Interassay-Präzision über den gesamten Konzentrationsbereich liegt zwischen 2,5 und 11%.

Der beschriebene Ferritin-Enzymimmunoassay erlaubt schnelle und genaue Serum-Ferritin-Bestimmung.

## Auftrennung der Apoproteine der High-Density-Lipoproteine mittels Chromatofokussierung

G. Knipping, E. Steyer, A. Holasek

Institut für Med. Biochemie, Universität Graz

Eine relativ neue Methode zur Auftrennung von Apolipoproteinen stellt die Chromatofokussierung dar, die Proteine aufgrund ihrer unterschiedlichen isoelektrischen Punkte trennt. Wir untersuchten diese Methode daraufhin, ob sie Vorteile gegenüber bisher gebräuchlichen (1, 2) aufweist.

Die Säule (40 x 1 cm) wurde mit „Polybuffer-exchanger“ (Pharmacia) gefüllt und mit Startpuffer (0,025 M Imidazol-HCl Puffer, pH 7,4, 6 M am Harstoff) equilibriert. 40 mg ApoHDL wurden in Startpuffer gelöst und durch Chromatofokussierung aufgetrennt. Der pH-Gradient (pH 7-4) wurde durch den Elutionspuffer (Polybuffer 74, Pharmacia) eingestellt, der ebenfalls 6 M am Harstoff war. Harstoff und „Polybuffer“ wurden anschließend über Phenylsepharose von den Proteinen entfernt, wobei die Proteine mit 0,01 M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  eluiert wurden.



Durch diese Methode konnten nur ApoC I und 2 Peptide, die wahrscheinlich den „Threonin-poor“-Peptiden entsprechen, rein dargestellt werden, was bei allen weiteren Peptiden nicht möglich war. Ein Elutionsprofil wie in (3) konnten wir nicht erhalten. Wir halten daher eine Vortrennung mittels Gelfiltration für unerlässlich, wie es auch in (4) aufgezeigt wurde. Bei der anschließenden Chromatofokussierung können dann engere pH-Gradienten gewählt werden, wodurch eine eindeutige Trennung der Peptide ermöglicht wird.

Die Chromatofokussierung erscheint uns von Vorteil unter 3 Gesichtspunkten: 1. Hohe Auftragsmengen, 2. Große Durchflüssen, 3. Wiedergewinnungsfaktor nach Chromatofokussierung und Phenylsepharose ca. 70%.

#### Literatur

- KNIPPIG, G., KOSTNER, G., HOLASEK, A.: BBA 393, 86 (1975).
- NESTRUCK, A. C., SUZUKI, G., MARCEL, Y. L.: BBA 617, 110 (1980).
- JAUHAINEN, M. S. et al.: Clin. Chim. Acta 122, 110 (1982).
- WEISWEILER, P., SCHWANDT, P.: Clin. Chim. Acta 124, 45 (1982).

## Durchführung und Kontrolle der Antithrombin-III-Bestimmung

E. Knöth

Zentrallaboratorium des Wilhelminenspitals der Stadt Wien

Die diagnostische Bedeutung von AT-III ist durch den zunehmend häufigeren Einsatz von AT-III-Konzentrationen zu therapeutischen Zwecken in der Intensivmedizin stark angestiegen. Für die Diagnostik und Therapiekontrolle sind rasch verfügbare und zuverlässige Methoden erforderlich, die rund um die Uhr einsatzbereit sind.

Prinzipiell kann die AT-III-Bestimmung funktionell oder immunologisch erfolgen. Zu den funktionellen Tests zählen die Gerinnungsmethoden einerseits und die Methoden, die sich synthetischer chromogener Substrate bedienen andererseits. Letztere sind mechanisierbar und z. B. am ACA (Fa. DuPont) jederzeit ohne größeren Aufwand verfügbar.

Die immunologischen Methoden werden üblicherweise mittels radialer Immundiffusion durchgeführt, Laurell-Elektrophorese oder Nephelo-, resp. Turbidimetrie sind möglich und verkürzen die Analysenzeiten.

Während man mit den zuerst genannten Methoden nur das funktionell zur Verfügung stehende AT-III mißt, erfährt die immunologische Methode (zumindest mit den meisten polyklonalen Antikörpern) freies und komplexiertes AT-III.

Zur Qualitätskontrolle von AT-III empfiehlt es sich, für die Richtigkeitskontrolle standardisierte Plasmen zu verwenden, für die Präzisionskontrolle ist es günstig frisch gefrorenes Humanplasma in Einzelportionen einzufrieren. Für niedrige Werte in der Präzisionskontrolle sind auch die meisten Kontrollseren geeignet.

## Diagnostik mit einem Enzymimmunoassay für prostataspezifische saure Phosphatase

E. Knöth<sup>1</sup>, K. Batelka<sup>2</sup>, E. Wagner<sup>3</sup>, P. M. Bayer<sup>1</sup>

- Zentrallaboratorium,
- Urologische Abteilung,
- Medizinische Abteilung und Boltzmann Forschungsstelle für Langzeittherapie und Rehabilitation am Wilhelminenspital der Stadt Wien

In einer prospektiven Studie wurde bei 196 konsekutiv im Spital aufgenommenen Männern (Alter = 50a) die Konzentration der PAP mittels Enzymimmunoassay (Enzygnost-PAP, Behringwerke, Marburg) bestimmt. Ein möglicher Einfluß anderer Isoenzyme der sauren Phosphatase wurde durch Untersuchung von Kindern (Knochenisozenzym) und Zell-Lysaten (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) überprüft. Der Einfluß einer mechanischen Irritation der Prostata wurde nach rektaler Tastung und bei Dauerkatheträgern untersucht.

Trotz der gegebenen Überschneidungsbereiche zwischen Gesunden und Personen mit Frühstadien eines Prostatacarcinoms stellt die enzymimmunologische Bestimmung der PAP wegen ihrer hohen Spezifität eine diagnostische Bereicherung dar. Erythrozyten- und Thrombozytenisoenzyme scheinen keine, Leukozytenisoenzyme nur bei sehr hohen Zellzahlen eine Kreuzreaktion zu bewirken. In 13% der

männlichen und in 21% der weiblichen Kinder fanden wir erhöhte Konzentrationen für PAP. Dies könnte auf eine Kreuzreaktion mit Knochenisozenzym hinweisen.

Eine Erhöhung der PAP-Konzentration durch mechanische Irritation der Prostata scheint, wie unsere Ergebnisse an Dauerkatheträgern und nach diagnostischer rektaler Austastung zeigen, überbewertet zu werden.

## Die Bestimmung des carcino-embryonalen Antigens (CEA) mittels monoklonaler Antikörper. Ein Methodenvergleich

E. Knöth, P. M. Bayer

Zentrallaboratorium des Wilhelminenspitals der Stadt Wien

Anhand von rund 130 Serumproben aus dem Routineuntersuchungsmaterial wurden zwei, mit unterschiedlichen Antikörpern arbeitende Methoden der CEA-Bestimmung miteinander verglichen. Der für die Routinebestimmung verwendete Testkit (CEA-EIA, Fa. Abbott) wurde als Beispiel eines Tests angesehen, der mit polyklonalen Antikörpern arbeitet. Als Testsystem mit monoklonalen Antikörpern wurde der CEA-EIA-Test „Roche“ eingesetzt.

Die Auswertung der Ergebnisse mittels t-Test und mittels Spearman-Test ergab keine Unterschiede (t-Test:  $r = 0.8443$ ,  $y = 0.5921x + 5.8857$ ,  $p < 0.001$ ; Spearman-Test:  $r = 0.8439$ ,  $y = 0.5915x + 5.945$ ,  $p < 0.001$ ).

Bei einer Gruppe von Patienten mit Leberzirrhosen ( $n = 17$ ) und einer Patientengruppe mit gesicherten intestinalen Tumoren und erhöhten CEA-Konzentrationen ( $n = 26$ ) fand sich ebenfalls kein statistisch gesicherter Unterschied in den Ergebnissen beider Methoden. Alle Ergebnisse beider Methoden waren in ihrer Aussage konkordant, was insbesondere bei den „unspezifisch“ erhöhten CEA-Konzentrationen bei Patienten mit Leberzirrhose die Erwartungen, die in die Analytik mit monoklonalen Antikörpern gesetzt wurden, nicht erfüllt.

## Eine neue Methode zur schnellen Adsorption von Rheumafaktoren (RF)

G. Kolb, R. Allner

Zentrallaboratorium der Städtischen Kliniken Fulda (Akad. Lehrkrankenhaus der Universität Marburg), D-6400 Fulda

Es ist bereits hinreichend bekannt, daß Antikörper gegen humanes Gammaglobulin, sogenannte „Rheumafaktoren“ (RF), immunologische Bestimmungsmethoden (i.e. enzyme-linked-immunoassay, ELISA und radio-immunoassay, RIA) stören (1). Insbesondere die ELISA-Techniken zum Nachweis spezifischer Antikörper bei viralen Infektionen (z.B. Röteln, Masern) zeigen falsch positive Ergebnisse, wenn die Proben Autoantikörper vom RF-Typ (IgM RF) enthalten (2).

Sowohl die bekannte Methode der Latex-Adsorption (Bindung von RF an mit komplexierten IgG beschichteten Latex-Partikeln) als auch die Bindung von RF an lösliche Komplexe von hitzeaggregiertem IgG zeigten neben anderen Nachteilen nur einen unvollständigen Adsorptionseffekt – insbesondere bei Seren mit hohen RF-Titern.

Die von uns entwickelte Festphase-(Solid-phase-)Technik stellt eine neue Methode zur rapiden Adsorption von RF dar. Wir konnten zeigen, daß Antikörper, gerichtet gegen IgG aus Serumproben von Patienten mit und ohne klinisch manifesten rheumatoiden Arthritis (RA), mit einem einmaligen Adsorptionsvorgang entfernt werden können. Selbst hochtitrige Seren (i.e. RF-Titer 1:600 in der Latex-Agglutination) zeigten keinerlei weitere RF-Aktivität im Latex-Test.

In einem zweiten Schritt können bei saurem pH die RF wieder desorbiert werden, so daß das Adsorptionsmaterial nach Waschen im neutralen Puffer bzw. Kochsalzlösung erneut verwandt werden kann.

#### Literatur:

- BUTLER, R., BRUNNER, E.: Vox Sang. 25, 466 (1973).
- MEURMAN, O. H., ZIOLA, B. R.: J. Clin. Pathol. 3, 483 (1978).

## Grundlagen und Methodik des Enzymimmunoassays (EIA) anhand eines EIA zum quantitativen Nachweis von humanem Choriongonadotropin (hCG)

H. Kofler, P. Berger, G. Wick

Institut für Allgemeine und Experimentelle Pathologie, Universität Innsbruck

Der Enzymimmunoassay (EIA) wurde vor ungefähr zehn Jahren erstmals beschrieben und wird seither in verschiedenen Gebieten der Medizin, wie Immunologie, Endokrinologie, Mikrobiologie und Parasitologie eingesetzt. Diese Technik beruht auf Grundlagen anderer, bereits etablierter Immunoassays. Die lange Haltbarkeit der Reagenzien, die Möglichkeit der Automatisierung sowie die fehlende Strahlenbelastung ließen den EIA zu einer attraktiven Alternative zu anderen, bereits etablierten Immunoassays werden. Ein enzymimmuno-metrischer, hochspezifischer Assay zum quantitativen Nachweis von humanem Choriongonadotropin (hCG) wurde unter Verwendung monoklonaler Antikörper (MKA) etabliert (1).

In einem ersten Inkubationsschritt wird ein MKA gegen die  $\beta$ -Kette des hCG-Moleküls an eine Festphase adsorbiert. In einem zweiten Schritt wird hCG des Standards bzw. der Testproben von diesem Antikörper spezifisch gebunden. Es wird mit einem zweiten, Peroxidase-markierten MKA mit Spezifität für die konformationelle Determinante des hCG-Moleküls nachgewiesen. Diese Determinante findet sich nur auf intakten hCG-Molekülen. Nach Ablauf der Enzym/Substratreaktion wird die Farbreaktion photometrisch gemessen, und hCG der Testproben anhand einer Standardkurve quantitativ bestimmt. Dieser Assay dient als Beispiel für die Etablierung und Optimierung eines EIA. Die Verwendung genau charakterisierbarer MKA ermöglicht einen empfindlichen (Nachweisgrenze: 10 mU/ml) Nachweis von hCG, der durch die hypophysären Glykoprotein-hormone LH, FSH, TSH nicht beeinträchtigt wird. Anwendungsmöglichkeiten für diesen EIA sind Schwangerschafts- und Tumordiagnostik.

### Literatur:

1. KOFLER, R., BERGER, P., WICK, G.: Am. J. Reprod. Immunol. 2, 212–216 (1982).

## Lipoproteine und Apolipoproteine des Humanserums

G. M. Kostner

Institut für Medizinische Biochemie, Universität Graz

Die Lipoproteine des menschlichen Serums umfassen ein weites Spektrum von Lipid-Protein-Komplexen, welche sich nicht nur chemisch, sondern vor allem physikochemisch und immunochemisch voneinander unterscheiden. Zum Verständnis des Metabolismus sowie der Rolle für die Pathogenese vaskulärer Erkrankungen ist die Einteilung in TG-reiche, cholesterinreiche, und phospholipid- bzw. proteinreiche Lipoproteine (Lp) zweckmäßig. Da die Anzahl unterschiedlicher Lp-Partikel im menschlichen Serum viel größer ist als noch vor etwa 10 Jahren angenommen, gelingt eine Darstellung des gesamten Lp-Spektrums nur unter Zuhilfenahme kombinierter Analyseverfahren. Dies gilt im besonderen für die Analyse pathologisch veränderter Lipoproteine. Hier steht die analytische Ultrazentrifuge im Vordergrund, wenn es darum geht, physiko-chemische Lp-Einheiten zu erfassen. Dies bezieht sich auf die hydratisierte Dichte und teilweise auch auf die Partikelgröße. Mittels Elektrophorese trennt man Lipoproteine aufgrund unterschiedlicher Ladungen, für die vor allem der Proteanteil verantwortlich ist. Schließlich existieren noch Fällungsmethoden, welche nach unterschiedlicher Hydratation gewisse Lp-Klassen präzipitieren und im Überstand die Analyse von Lipiden und Apo-Lp erlauben.

Für den Metabolismus der Serumlipide sowie von pathophysiologischem Interesse sind vor allem die Apo-Lp. Derzeit sind unter Einbezug genetischer Varianten mindestens 20 verschiedene Apo-Lp bekannt. Von einem Großteil von ihnen kennt man bereits die Funktion. Einige dieser Apo-Lp haben sich als bedeutende Risikofaktoren für verschiedene Formen von Atherosklerose, Herzinfarkt und Apoplexie erwiesen, und werden bereits in fortschrittlichen Fettstoffwechsella-bors routinemäßig analysiert. Auswertungen unserer eigenen Studien mittels Multivarianz und Diskriminanzanalyse

weisen darauf hin, daß Apo-Lp den herkömmlichen Lipid und Lp-Lipidparametern bezüglich Risikovorhersage signifikant überlegen sind.

## Zytomegalievirus-Diagnose bei verschiedenen Krankheitsbildern

T. Kreck, U. Kreck

Institut für Medizinische Mikrobiologie, CH-9000 St. Gallen

Die Virusausscheidung kann nach stattgefundener Zytomegalievirus-(ZMV-)Infektion monatelang andauern. Deshalb ist die Virusisolierung beim Erwachsenen keine geeignete Methode für die Diagnostik akuter ZMV-Infektionen. ZMV-Antikörper der IgM-Klasse hingegen sind nur während 3 bis 4 Monaten nach Krankheitsbeginn nachweisbar. Ihre Bestimmung ist ein geeignetes Hilfsmittel zur Unterscheidung zwischen früher durchgemachter und akuter Infektion. Der Nachweis der spezifischen IgM kann mit einer Vielzahl von Methoden durchgeführt werden, unter anderem durch Immunfluoreszenz und ELISA unter Anwendung eines gegen IgM gerichteten Konjugates oder durch den ELA-SPIT<sup>1</sup>, basierend auf der anti- $\mu$ -Technik. Letzterer wurde mit den beiden vorhergenannten verglichen und auf Kreuzreaktionen mit anderen Antigenen untersucht.

Eine gute Korrelation zwischen den verschiedenen Methoden wurde gefunden, obwohl der ELA-SPIT seltener positiv reagierte als der ELISA.

Kreuzreagierende IgM-Antikörper gegen verschiedene Antigene konnten sowohl im ELA-SPIT als auch im ELISA beobachtet werden. Diese Reaktionen waren manchmal sehr stark, sogar gegen so unterschiedliche Antigene wie Toxoplasma gondii, Legionella pneumophila, Chlamydia und Mumps. Kreuzreagierende IgM-Antikörper nahmen in Serien, die in zeitlichen Abständen vom gleichen Patienten gesammelt wurden, parallel ab, womit kurz aufeinanderfolgende Infektionen als Ursache der Kreuzreaktion ausgeschlossen werden konnten.

Bei sorgfältiger Diagnostik unter gleichzeitiger Verwendung verschiedener Techniken und bei Prüfung des Serums gegen verschiedene Antigene können falsch positive Resultate durch kreuzreagierende Seren vermieden werden.

Die Häufigkeit der verschiedenen ZMV-assoziierten Krankheitsbilder wurde unter Zuhilfenahme des IgM-ELA-SPIT zusammengefasst.

<sup>1</sup> ELA-SPIT: Enzyme Linked Antigen Solid Phase Immunosorbent Technique.

## Die Bedeutung der Ristocetin-Cofaktor-Bestimmung zur Diagnostik des von-Willebrand-Syndroms

M. Krentzlin, M. Barthels, P. Fuhge

Abteilung Hämatologie, Medizinische Hochschule Hannover und Forschungslaboratorium der Behringwerke Marburg/Lahn

Es wird über einen neuen Schnelltest zur Bestimmung des Ristocetin-Cofaktors berichtet. Es handelt sich um einen makroskopischen Agglutinationstest, wobei Reagenz (Präparierte Thrombozyten + Ristocetin) und Plasma in verschiedenen Verdünnungen zusammengegeben werden. Bei der Präzision in der Serie ( $n = 20$ ) beträgt der Variationskoeffizient 5%. Die Empfindlichkeit schwankt zwischen 1,0 und 1,6%. Mittels Zwischenverdünnungen können Konzentrationsunterschiede von 4% erfaßt werden. Der von uns ermittelte Normalbereich bei 109 anamnestisch blutungsnormalen Personen liegt zwischen 50 und 150%. Es handelt sich um eine Normalverteilung, die für beide Geschlechter gleich ist. Mit zunehmendem Alter nimmt die Konzentration des Ristocetin-Cofaktors geringfügig zu. Wesentlich höhere Konzentrationen finden sich in bestimmten Krankheitsgruppen, insbesondere bei Patienten mit Leberkrankungen, Gefäßwandprozessen und Tumoren. Wie schon andere Autoren fanden wir bei 2,7% unseres Normalkollektivs eine subnormale von-Willebrand-Konstellation (subnormale Werte von Faktor-VIII-Aktivität, Faktor-VIII-assoziiertem Antigen und Ristocetin-Cofaktor). Diese subnormalen Befunde wurden besonders häufig bei Angehörigen von

Patienten mit erwiesenem von-Willebrand-Syndrom festgestellt. Zusätzlich zur neuen Agglutinationsmethode wurde der Ristocetin-Aggregat mit der bislang gebräuchlichen Aggregationsmethode im Aggregometer bestimmt. Zwischen beiden Testen bestand eine hochsignifikante Korrelation ( $p < 0,0005$ ). Von allen Testen zum Nachweis des von-Willebrand-Syndroms erwies sich nach unseren Untersuchungen die Ristocetin-Cofaktor-Bestimmung als derjenige Test mit der höchsten Sensitivität. Die mit der Agglutinationsmethode ermittelten Ergebnisse sind mit denjenigen anderer Autoren identisch.

## Sensitivität der Creatin-Kinase, Creatin-Kinase MB, des Magnesiums und Myoglobins bei Diagnose und Verlaufskontrolle des Myokardinfarktes

E. Kreuzfelder<sup>1</sup>, E. Kuwert<sup>1</sup>, P. Doumanis<sup>2</sup>, W. Wirth<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Medizinische Virologie und Immunologie, Universitätsklinikum Essen

<sup>2</sup> Innere Abteilung, St.-Marien-Hospital, Mülheim/Ruhr

Neben den klassischen klinisch-chemischen Parametern Creatin-Kinase (CK) und dessen Isozym MB (CKMB) finden das Myoglobin sowie das Magnesium zunehmendes Interesse bei der Diagnose und Verlaufskontrolle des Myokardinfarktes. In einer prospektiven Studie sollte deshalb präzisiert werden, in welchem Maße Magnesium und Myoglobin zur Beurteilung der Diagnose und Verlaufskontrolle beim Myokardinfarkt beitragen.

So wurden bei 35 Personen mit der Verdachtsdiagnose „Myokardinfarkt“ neben CK (optimierte Standardmethode), CKMB (Immuninhibitionsmethode) auch das Myoglobin (Radioimmunoassay) und das Magnesium (Atomabsorption-Spektrophotometrie) bestimmt. Sämtliche Bestimmungen wurden bei Aufnahme und in zweistündigem Abstand bis zu 20 Stunden (h) durchgeführt.

Die Sensitivität des Magnesiums betrug bei Aufnahme 32%. Die CKMB wies mit 40,7% eine etwas höhere Sensitivität auf (Kriterium: CK  $\geq 160$  U/l, CKMB  $\geq 6\%$ ). Deutlich höher war mit 66,7% die Sensitivität der CK und des Myoglobins (Kriterium: > Referenzbereich). Jeweils 3 der 27 Patienten mit Myokardinfarkt zeigten bei Aufnahme nur eine CK- oder Myoglobin-Konzentrationserhöhung. Bei zweistündiger Verlaufskontrolle über 20 h war die Sensitivität des Magnesiums mit 50% gegenüber 85,2% der anderen Parameter deutlich niedriger.

Die mit zunehmendem Meßzeitraum zunehmende Sensitivität zeigt, daß, neben der Bestimmung bei Aufnahme, zumindest eine weitere Bestimmung durchgeführt werden sollte. Zur Erfassung der CK, CKMB und des Myoglobins sollte die Blutentnahme 8 h nach der Aufnahme erfolgen, da der Referenzbereich des Myoglobins spätestens nach 2 h, der der CK nach 4 h und der der CKMB (siehe entsprechende Kriterien) spätestens nach 8 h überschritten wurde.

Der Zeitpunkt für eine weitere Magnesium-Bestimmung läßt sich nicht definieren, da das Magnesium-Konzentration nur in wenigen Fällen die bei den anderen Parametern übliche Gipfelbildung erkennen läßt. In der Mehrzahl der Fälle verbleibt das Magnesium im Referenzbereich, in wenigen Fällen sinkt es darunter ab. Bei Patienten mit Magnesium-Gipfelbildung ließen sich ausgeprägte Arrhythmie, eingeschränkte Nierenfunktion oder ausgedehntes infarziertes Areal feststellen; außerdem ließ sich bei 5 von insgesamt 6 verstorbenen Patienten eine hohe Magnesium-Konzentration beobachten.

Die zusätzliche Bestimmung des Myoglobins erlaubt eine frühere und sicherere Diagnose des Myokardinfarktes und Abschätzung des Verlaufes. Die Änderung der Magnesium-Konzentration im Hinblick auf den Myokardinfarkt scheint durch andere Faktoren beeinträchtigt zu sein. Der diagnostische Wert der Magnesium-Bestimmung scheint in der Erfassung besonders schwerer Verlaufsformen des Myokardinfarktes zu liegen.

Sensitivität =  $TP \cdot 100 / (TP + FN)$ .

TP: Anzahl der Patienten mit Meßwerten außerhalb des Referenzbereiches;

FN: Anzahl der Patienten mit Meßwerten innerhalb des Referenzbereiches.

## Permanente On-line-Qualitätskontrolle im RIA-Labor

D. Kuschak, H. Reinauer

Diabetesforschungsinstitut an der Universität Düsseldorf, Abteilung Klinische Biochemie Prof. Dr. H. Reinauer

Mit der Option S-60-23 steht in Verbindung mit dem neuen LKB Gamma-Meßplatz 1260 Multi Gamma II zum erstenmal eine Möglichkeit der internen Qualitätskontrolle (QK) für das RIA-Labor zur Verfügung.

Für 6 verschiedene RIA-Tests lassen sich über 20 Arbeitstage maximal 12 Parameter als testspezifische Kriterien in der Charakteristik der Inter-Assay-Varianz speichern und auf Wunsch abrufen, wie z.B. Total-Aktivität (total); NSB (= unspezif. Bindung);  $B_0$ ;  $B_0$ /total; NSB/total, sowie die Konzentrationswerte für 100%, 80%, 50% und 20% Bindung. Eine Zusammenfassung dieser Rohdaten führt zu einem summarischen Ausdruck unter Angabe von Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizienten sowie eines Plots in Form der bekannten Präzisionskontrollkarten der internen QK der Klinischen Chemie unter Einbeziehung der kritischen 2-Sigma-Grenzen.

Eine besondere Bedeutung kommt dem Ausdruck der 50%-Bindung zu, da damit dem Anwender ein objektives Beurteilungskriterium für die Testpackungen verschiedener RIA-Kit-Hersteller gegeben ist, um z.B. Güte der Analyse und Aktivität der Reagenzien zu erkennen. Es wird auch evident, ob ein Kit im geforderten relevanten Bereich (z.B. therapeutischer Bereich eines Pharmakons oder physiol. Bereich eines Hormons) liegt und dort seine größte Empfindlichkeit zeigt.

Von der Geräteseite ist sichergestellt, daß die im Mikroprozessor des Multi Gamma abgespeicherten Werte auch nach einer Netzunterbrechung unbegrenzt zur Verfügung stehen (EEPROM-Technik).

## FPIA (Fluoreszenz-Polarisations-Immuno-Assay) zur Bestimmung der Valproinsäure – Evaluation und Methodenvergleich

D. Kuschak, H. Reinauer

Diabetesforschungsinstitut an der Universität Düsseldorf

Der neue kommerziell erhältliche Kit wird in Verbindung mit dem Abbot-TDX-System vorgestellt und evaluiert.

Anhand von Kontroll- und Patientenseren wurden Präzision, Richtigkeit und Nachweisgrenze des Testsystems überprüft. Für die Intra-Assay-Varianz ergaben sich konzentrationsabhängige VK-Werte von 1,6–2,2 bei  $N = 20$ . Bei einem Serum im toxischen Konzentrationsbereich fanden wir nach 1:2-Verdünnung einen VK von 2,5%. Die Inter-Assay-Varianz lag bei VK = 2,4% (Konz.: 75 mg/l). In puncto Richtigkeit ermittelten wir eine mittlere Wiederfindung von 102,5%. Die Nachweisgrenze der Methode errechnet sich aus der Mehrfachbestimmung von Leerserum als 0,8 mg/l (95% Vertrauensbereich). Die exzellenten Qualitätsdaten des Abbot-Systems lassen sich ab aus der idealen Kombination von hochwertiger Hard- und Software unter Ausnutzung der extrem empfindlichen Fluoreszenz-Polarisations-Technik. Die verwendete hohe Verdünnung ( $> 1:1000$ ) bietet in Verbindung mit einer Proben-Leerwert-Speicherung noch unausgeschöpfte Leistungsreserven und erklärt auch die ausgezeichnete Störnempfindlichkeit gegenüber hoch lipämischen, iterischen bzw. hämolytischen Seren. Einfaches Handling, schneller Methodenwechsel und Wegfall einer Reagenzienvorbereitung bieten ideale Voraussetzungen für den Notfalleinsatz. Der Probendurchsatz liegt theoretisch bei max. 100 Analysen/h. Beachtlich ist weiterhin die Speicherfähigkeit der Standardkurve bei gleichbleibender Analysenqualität. Die Korrelationsdaten zum EMIT lauten bei  $N = 43$ ;  $TDX = Y$ ;  $EMIT = X$ ;  $Y = 0,99X - 0,06$ ;  $R = 0,995$ .

Literatur:

KUSCHAK, D., MILLER, B., GROTE, H., JACOBS-STURM, REINAUER, H.: Analysis of total and free valproic acid in serum/plasma by GC and enzyme-immunoassay. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 743 (1981).

## Moderne Methoden und Trends in der Virusdiagnostik

C. Kunz

Institut für Virologie der Universität Wien

Seit einigen Jahren hat in der Virologie rasant eine Entwicklung eingesetzt, die es bei immer mehr Viruskrankeiten möglich macht, die Diagnose innerhalb von Stunden nach Eintreffen der Untersuchungsprobe im Labor zu stellen. Dies gelingt sowohl mit Methoden zum direkten Nachweis von Viren, deren Antigenen oder Nukleinsäuren in Krankheitsmaterialien, als auch mit Techniken zur Bestimmung spezifischer Antikörper vom IgM-Typ.

Vorreiter für den erstgenannten Weg waren die Elektronenmikroskopie und die Immunelektronenmikroskopie, die heute vorwiegend zum Nachweis von Erregern der viralen Gastroenteritiden im Stuhl des Erkrankten eingesetzt werden. Darüber hinaus gelang es aber sensitive Immunoassays zu entwickeln, mit denen man die wichtigsten respiratorischen Viren (s. Ref. Popow-Kraupp), aber auch Viren der Herpes-Gruppe (Herpes simplex, Zytomegalie) sowie Rotaviren rasch nachweisen kann. Neben RIA, ELISA und der konventionellen Immunfluoreszenz (IF), die von vielen Viruslaboratorien bereits routinemäßig eingesetzt werden, dürfte eine neue Variante des IF, der „time-resolved fluorimmunoassay (TR-FIA)“ eine zukunftsreiche Methode darstellen. Bei diesem Verfahren werden die Indikator-Antikörper mit Eu-Chelat, einer Substanz mit langer Fluoreszenzdauer, markiert. Die Anregung erfolgt durch eine blitzende Lichtquelle und die Messung der Fluoreszenzintensität nach einem Intervall, wodurch die kurzlebige unspezifische Fluoreszenz praktisch ausgeschaltet und eine Empfindlichkeit wie etwa beim RIA erreicht wird.

Eine aussichtsreiche Alternative zu den genannten Verfahren ist der Nachweis von viralen Nukleinsäuren in klinischen Proben mittels Hybridisierungstechniken, wie sie mit Erfolg für das Zytomegalievirus und für Adenoviren ausgearbeitet wurden.

Techniken zur IgM-Bestimmung sind vor allem in der Diagnostik der klassischen Viruskrankeiten des Kindesalters gebräuchlich. Hier gibt es wiederum eine Reihe von neueren Verfahren, wie den SPIT (Solid Phase Immune Test) bzw. den HIT (Hemadsorption Immunosorbent Technique), den RIA und mehrere Spielarten des ELISA, sowie den ELA mit der Markierung des Antigens. Zum Unterschied von den klassischen serologischen Verfahren mit Titerangaben wird die Quantifizierung der Ergebnisse entweder überhaupt nicht oder noch nicht einheitlich vorgenommen. Die Vielfalt dieser neuen Tests macht es selbst dem Fachmann schwer, die richtige Wahl für seine Zwecke zu treffen. In Zukunft werden weitere Verbesserungen auf dem Gebiete der Spezifität der Nachweismethoden durch den verstärkten Einsatz monoklonaler Antikörper möglich sein.

## Schwermetallbestimmung im Blut. Ihre Interpretation in der Arbeitsmedizin

V. Lachnit

Universitätsklinik für Arbeitsmedizin, Wien

Einfache Probenvorbereitung und geringer Probenbedarf sind der Grund für die Bevorzugung der Atomabsorptionsspektrophotometrie (AAS) bei der Bestimmung von Schwermetallen in der Arbeitsmedizin. Spektrophotometrie erfordert mehr an Probenmaterial und Analysenzeit, polarographische Methoden einen schwierigen Aufschluß der Probe, Neutronenaktivierungsanalyse einen hohen technischen Ausrüstungsstand. Die Konzentration des Schwermetalls im Blut entspricht der aktuellen Exposition des Arbeiters. Zu berücksichtigen ist die Art der Verbindung des Schwermetalls, da diese eine unterschiedliche Toxizität aufweisen.

1. Blei: wird im Blut oder Harn mittels AAS und Verwendung der Graphitrohrkette, bzw. Carbon-Rod-Atomizer (L'VOY-Plattform) durchgeführt. Nachweisgrenze 10 µg/dl, Grenzwert für Normalbevölkerung 40 µg/dl, empfohlener Grenzwert für Bleiexponierte 70 µg/dl. Bei Bleiwerten über 40 µg/dl sinkt als erstes die Deltaaminolävulinat-säuredehydratase, bei höheren Werten findet sich vermehrt Koproporphyrin und Deltaaminolävulinat im Harn, steigt das Zinkprotoporphyrin im Blut an. Bei hohen Werten sinkt Hämoglobin und findet sich

eine basophile Tüpfelung. Die unterschiedliche individuelle Reaktion erfordert daher neben der Schwermetallbestimmung auch die Untersuchung der genannten Parameter, evtl. sogar die Harnausscheidung nach  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$ -Belastung.

2. Cadmium: wird mittels AAS bestimmt, gelegentlich auch voltammetrisch. Bei dieser beruflichen Belastung sind auch Umwelteinflüsse zu berücksichtigen, bzw. die Rauchgewohnheiten. Als indirektes Kriterium gilt das Beta-2-Mikroglobulin im Harn und evtl. im Blut.

3. Quecksilber: wird mit AAS bestimmt unter Verwendung der Kältdampftechnik (Hatch und Ott), bzw. Hydridtechnik. Normalwerte im Harn unter 10 µg/l, als Grenzwert für Exponierte 300 µg/l. Kurzfristige Überschreitung dieses Grenzwertes mit metallischer Quecksilberexposition verursacht keine gesundheitlichen Schäden.

Die Exaktheit der Metallbestimmungen bedeutet in der Arbeitsmedizin die aktuelle Belastungssituation, zur Gesamtbeurteilung ist die Gegenüberstellung mit den indirekt bestimmbar Parametern notwendig. Auch Alter, Geschlecht, Begleitkrankheiten usw. müssen als wesentliche Mitentscheidungskriterien berücksichtigt werden.

## Schnelle Erfassung der Granulozytenfunktion im Vollblut mit Hilfe der Chemilumineszenz beim Intensivpatienten

H. Lamche, E. Paul, K. Czech, H. Redl, G. Schlag

Ludwig-Boltzmann-Institut für experimentelle Traumatologie, Wien

Die Phagozytose und anschließende intrazelluläre Abtötung der Bakterien durch Granulozyten (G) gehört zu den wichtigsten Funktionen der zellulären antimikrobiellen Abwehr im Organismus.

Die Messung der von Granulozyten stammenden Chemilumineszenz (CL) im Vollblut stellt eine relativ neue und einfache Methode zur Bestimmung der Phagozytose bzw. sauerstoffabhängigen bakteriellen Aktivität dar. Durch die Verwendung von Vollblutproben (0,5 µl) hat die Methode wesentlich an Schnelligkeit und Einfachheit gewonnen, da die aufwendige Zellisolierung wegfällt. Um den „quenching“-Effekt der Erythrozyten zu verringern, haben wir einen optimierten Reaktionsansatz (Lamche, Redl et al., in press) entwickelt. Durch entsprechende Verdünnung (1:5000), hohe Luminolkonzentration ( $10^{-4}$  M), optimale Zymosankonzentration (200 µg/ml) und Opsponierung (50%iges Serum für 15 Minuten bei 37°C) und entsprechender Pufferzusammensetzung konnte eine ausreichende und von Erythrozyten weitgehend unabhängige Lichtausbeute erzielt werden (Normalpersonen  $4570 \pm 370$  RLU,  $n = 8$ ). Somit ist es möglich, mit Standardgeräten, z.B. Biolumat LB9500, diese Messungen routinemäßig durchzuführen. In Vergleichsuntersuchungen zeigte sich die über die Meßdauer integrierte Lichtemission absolut oder bezogen auf Leukozytenzahl als Meßgröße dem Anstieg oder Maximum überlegen. Mit dieser Methode haben wir versucht, den Einfluß von in der Anästhesie und Intensivmedizin üblichen Medikamenten auf die Granulozytenaktivität zu prüfen. Dabei zeigte sich sowohl mit steroidal als auch nichtsteroidal Entzündungshemmern eine starke Einschränkung der Phagozytoseleistung. Teilweise fanden wir auch einen Effekt von Diuretika und Sedativa. Vorläufige Ergebnisse bei 12 IBS-Patienten zeigen eine interessante Wechselbeziehung zwischen Auftreten bzw. Beseitigung von septischen Herden und der Granulozytenaktivität.

## Qualitätskontrolle in der Hämatologie, M + D Control Blood Plus (mit Thrombozyten)

A. Lampart, Franziska Tenger, Mechthild Lay, R. Spaeth

Merz + Dade AG, CH-3186 Düringen und AHS/D Abt. Merz + Dade, München

Die Thrombozyten bereiten für die hämatologischen Zellzählungen, im Vergleich zu den Erythrozyten und Leukozyten, bisher die größten Schwierigkeiten. Dies liegt an der labilen biologischen Natur dieser Zellen, an der physikalischen Methodenvielfalt der zur Zählung

eingesetzten Geräte und ihrer Eichung und am Fehlen einer weitgehend stabilen und Vollblut-repräsentativen Thrombozytenkontrolle. Mit der Entwicklung des M + D Control Blood Plus wird eine erweiterte 3-Level-Vollblutkontrolle vorgestellt, die neben nicht-fixierten Humanerythrozyten und fixierten Vogelythrozyten (als Leuko-Substitute) auch stabilisierte Humanthrombozyten enthält. Neben den Zellen werden Methoden- und Geräte-spezifische Werte für folgende Parameter deklariert: Hb, Hk, MCV, MCH, MCHC, MPV.

Die gute Übereinstimmung der Kontrollblute mit normalem bzw. pathologischem (Patienten-)Vollblut wird belegt. Während fixierte Erythrozyten im Vergleich zu Frischblut starke Unterschiede in den Hk- und MCV-Werten ( $>20\%$ ) zeigen, sind die nicht-fixierten Erythrozyten in ihrem Verhalten nahezu identisch ( $<5\%$ ). Stabilitätsuntersuchungen über 7 Wochen unterstreichen diese vergleichenden Befunde. Die identische Verteilung der Thrombozyten im Kontrollblut mit Vollblut wird graphisch aufgezeigt und mit der Verteilungskurve von Latexpartikeln einheitlicher Größe verglichen. Einflußfaktoren auf die Qualität der Zellzählungen, wie z.B. Geräteeichung, Diskriminator/Threshold-Einstellung, Linearität, werden diskutiert. Die Eignung des neuen M + D Control Blood Plus für vielfältige labor- und gerätespezifische Anwendungen in der Qualitätskontrolle wird an den Ergebnissen eines internationalen Feldversuches (18 Labors, 16 Gerätetypen, 5 versch. Meß/Zählprinzipien) untersucht. Am Beispiel der Thrombozyten wird für alle Levels die Werteverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber dem Soll- und Mittelwert aufgezeigt (Histogramme,  $\pm 2s$ -Bereiche). Ferner werden die mit den verschiedenen Methoden/Geräten erzielten Richtigkeits- und Präzisionsergebnisse illustriert. Am Beispiel des Coulter Counter-S-Plus werden für alle Level und die wichtigsten Parameter (Ec, Lc, Tc, Hb, Hk, MCV) Richtigkeit, Präzision und Lage zum Richtwert belegt.

## Biolumineszenzmessung zum Nachweis einer signifikanten Bakteriurie

H. R. M. Lang, B. Beckers

Institut für Medizinische Chemie der Universität Wien,  
R.W.T.H. Aachen, Abtl. Mikrobiologie

300 Urinproben wurden routinemäßig mit dem Bacteriuria-Testkit der Firma Lumac 3M auf eine signifikante Keimdichte getestet. Die Methode beruht auf der Messung der bakteriellen ATP-Konzentration mit Hilfe der Biolumineszenz, wobei die somatischen Zellen zunächst lysiert, das dabei freiwerdende ATP durch Apyrase abgebaut und das verbleibende bakterielle ATP in Lichteinheiten (RLU) angezeigt wird.

RLU-Werte größer als 365 gelten in dem von uns benutzten Testsystem als Ausdruck einer signifikanten Keimdichte ( $>10^5$  Keime/ml). Eine Lichtausbeute von weniger als 146 RLU entspricht einer Keimzahl von  $<10^4$  Keime/ml.

78 der 300 untersuchten Urinproben zeigten eine Keimdichte von  $>10^5$  Keime/ml. 66 davon wurden mit der Biolumineszenztechnik als positiv ( $>365$  RLU) und 4 Proben als negativ ( $<146$  RLU) erfaßt. 8 Urinproben ergaben eine Lichtausbeute von 146–365 RLU. Die Gesamtauswertung zeigte, daß von den 300 Urinproben nur 4 (1,3%) falsch negativ und 10 (3,3%) falsch positiv erfaßt wurden und somit diese Methode für den frühzeitigen Nachweis einer signifikanten Bakteriurie geeignet ist.

## Ein vollmechanisiertes Elektrophoresesystem: Olympus Hite System 200 in der Routine

H. Lanschützer, M. Böhm, P. M. Bayer

Zentrallabor des Wilhelminenspitals der Stadt Wien

Es wird ein vollmechanisiertes Elektrophoresegerät der manuellen Methode gegenübergestellt. Ersteres besticht durch eine wesentlich höhere Präzision, großen Personalzeitgewinn, hohen Bedienungskomfort und gute Probenidentifikation, wie von W. Knüppel et al. (1) und P. C. Fink (2) beschrieben.

Unsere Erfahrung mit dem vollmechanisierten Olympus Hite System 200 erstreckt sich auf einen Zeitraum von 6 Monaten, bei einem täglichen Probendurchlauf von ca. 120 Proben.

Geprüft wurde die Präzision des Gerätes in der Serie und von Tag zu Tag. Für diese Zwecke brauchbar erwiesen sich an käuflichen Kontrollsera: Seronorm P (Fa. Merck), Validate A und N (Fa. Gödecke) und die Beckman-Kontrollsera Level 1, 2 und 3.

Die Präzision von Tag zu Tag und in der Serie ist gegenüber der manuellen Elektrophoresetechnik wesentlich verbessert ( $x = 5,06$ ,  $S = 9,06$ ,  $VK = 0,2$ ).

Der beträchtliche Personalzeitgewinn erklärt sich daraus, daß nach Serumgewinnung, Einpipettieren in die Probeschienen und Eingabe der Identifikationsnummern und Gesamtproteinwerte das Gerät alle weiteren Schritte der manuellen Elektrophorese, nämlich Probenapplikation, Auftrennung, Färbung, Entfärbung, Transparenzbild, Trocknung, Densitometrie und Auswertung mit Befundaufdruck, selbstständig übernimmt. Die Probenidentifikation ist problemlos; der zweifelhafte Befundaufdruck erleichtert die Dokumentation; der simultane Ausdruck von Absolutwerten und Relativprozenten erhöht die Brauchbarkeit für den Kliniker.

Zuletzt sei noch die flexible Densitometrie erwähnt, die eine nachträgliche Korrektur der Fraktionierungspunkte erlaubt.

Als Nachteil wird empfunden, daß in manchen Fällen eine Proteinbande an der Auftragsstelle liegen bleibt und als zusätzliche Fraktion ausgewertet wird; weiters die Schwerfälligkeit des elektronischen Steuerungssystems, die es nicht erlaubt, – meist bedienungsbedingt auftretende – Fehler wie fallweises Steckenbleiben der Folie oder schiefer Probenausdruck, während desselben Arbeitsganges zu korrigieren, ohne das System aus der Synchronisation zu bringen.

Neben der Beschreibung der Charakteristika des Gerätes werden Referenzbereiche für die Serumproteinfractionen, bestimmt aus Proben von 200 gesunden Blutspendern, erstellt.

### Literatur:

1. FINK, P., W. et al.: GIT Labor-Medizin 5, 121–128 (1982).
2. KNÜPPEL, P. C. J.: Clin. Chem. Biochem. 19, 379–386 (1981).

## Zweidimensionale hochauflösende Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese, Methodik und spezielle Anwendung

A. Lapin, A. T. Endler, F. Gabl

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Universität Wien

Die zweidimensionale Elektrophorese stellt derzeit die hochleistungsfähigste Trennmethode in der Proteinchemie dar. Durch eine Kombination von zwei elektrophoretischen Techniken – der isoelektrischen Fokussierung und der SDS-Gel-Elektrophorese – werden die einzelnen Proteine nach zwei unabhängigen physikalisch-chemischen Kriterien aufgetrennt und charakterisiert: Nach ihren isoelektrischen Punkten und nach ihren Molekulargewichten.

Durch Anwendung von besonders dünnen Elektrophoresegelen (unter 1 mm) sowie von den speziellen Färbetechniken (Silberfärbung, Autoradiographie) wurde die zweidimensionale Elektrophorese zu einer Mikromethode verfeinert. Einige Mikroliter Serum, Liquor cerebrospinalis oder Lyseate von einzelnen Zellen genügen, um mehrere Tausend „Proteinspots“ zu bekommen. Mit Hilfe von speziellen EDV-unterstützten Scanverfahren können diese „Proteinkarten“ qualitativ und semiquantitativ ausgewertet werden. Allerdings bleiben solche Anwendungen wegen des großen Aufwandes nur speziell ausgerüsteten biochemischen Forschungsgruppen vorbehalten.

Unsere Fragestellung war die laboratoriumsmedizinische Anwendbarkeit der zweidimensionalen Elektrophorese als eine physikalisch-chemische Charakterisierungsmethode für pathologische Proteine. Die in der Agarosegel-Elektrophorese als M-Gradienten erscheinenden pathologischen Proteine wurden isoliert und in einer zweidimensionalen Elektrophorese nach ihren isoelektrischen Punkten und Molekulargewichten ergänzend zur immunologischen Bestimmung untersucht. Als zweidimensionale Elektrophoresetechnik wurde das

Flachbettverfahren ausgewählt, das in überschaubarer Weise und mit hinreichender Reproduzierbarkeit die Untersuchung von mehreren Serumproben gleichzeitig erlaubt. Es werden hierfür einige Beispiele präsentiert.

## Literatur:

1. O'FARRELL, P. H.: High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins". J. Biol. Chem. 250, 4007-4021 (1975).
2. GÖRG, A., POSTEL, W., WESTERMEIER, R.: Gel gradient electrophoresis isoelectric focusing and two-dimensional techniques in horizontal ultrathin, polyacrylamide layers. J. Biochem. Biophys. Methods, 3, 273-284 (1980).
3. TRACY, R. P., CURRIE, R. M., KYLE, R. A., YOUNG, D. S.: Two-dimensional gel electrophoresis of serum components from patients with monoclonal gammopathies. Clin. Chem. 28(A), 900-907 (1982).
4. ENDLER, A. T., LAPIN, A., GABL, F.: Zweidimensionale Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese: Ein neuer Weg der Eiweißanalytik in der klinischen Chemie (7). Ber. ÖGCK, 5, 202-203 (1982).

## Evaluation der Kallikreinbestimmung mit dem chromogenen Substrat S-2266 im Nativharn und Harn nach Gelfiltration

H.-J. Lögering, D. Paar, D. Maruhn

Zentrales Klinik-Chemisches Laboratorium  
der Medizinischen Klinik, Universität/GHS, D-4300 Essen 1,  
Bayer AG, Institut für Toxikologie, D-5600 Wuppertal

Die Bestimmung der Kallikreinausscheidung im Harn hat seit der Einführung amylolytischer Verfahren zunehmende Verbreitung gefunden. Im Nativharn kann jedoch eine Störung durch eine kleinmolekulare inhibitorische Aktivität auftreten, die sich durch Gelfiltration eliminieren läßt (1). Im Einzelfall können Differenzen für die Kallikreinaktivität im Harn vor und nach Gelfiltration bis zu 110% beobachtet werden (2). In der vorliegenden Untersuchung wurde die Zuverlässigkeit von Kallikreinbestimmungen mit dem chromogenen Substrat S-2266 im Harn nach Gelfiltration (Sephadex G-25 M) geprüft.

Die Variationskoeffizienten für die Präzision in der Serie (4 Harn, jeweils 5 Untersuchungen) lagen beim Harn nach Gelfiltration zwischen 1,8 und 2,8% (Nativharn: 1,1 bis 2,8%). Für die Präzision von Tag zu Tag (4 Harn, jeweils 10 Untersuchungen) ergaben sich relative Standardabweichungen von 3,3 bis 9,1% (Nativharn: 5,6 bis 7,6%). Bei Zusatz von hochgereinigtem Kallikrein (Bayer AG, Wuppertal) zur Pufferlösung bzw. zum Harn betrug die analytische Wiederfindung nach Gelfiltration im Mittel 95,5 bzw. 99,2%. Wurde reine Kallikreinlösung erst nach Gelfiltration dem Harneluat zugesetzt, so lag die Wiederfindung bei 103% gegenüber 88,8% bei Zugabe zum Nativharn.

Die erhobenen Befunde zeigen, daß die Kallikreinbestimmung im Harn nach Gelfiltration bei vergleichbarer Präzision gegenüber der Bestimmung im Nativharn die höhere Richtigkeit aufweist.

## Literatur:

1. LÖGERING, H.-J., PAAR, D., MARUHN, D.: Agents and actions, Suppl. 9, 143-147 (1982).
2. LÖGERING, H.-J., PAAR, D., MARUHN, D.: Med. Welt (im Druck).

## Vergleich verschiedener Methoden zum IgM-Antikörperrnachweis bei Infektionen mit Treponema pallidum

S. Loeke, H. W. Doerr

Institut für Immunologie und Serologie und Institut für Virologie,  
Universität Heidelberg

Folgende Verfahren wurden miteinander verglichen und nach Spezifität, Sensitivität und Dauer der Durchführung bewertet: TPHA-Abs-Test nach Serum-IgM-Isolierung mit Ionenaustausch-(DEAE-Cellulose-), Immunitätstests- und Hochdruckflüssigkeitschromatographie; SPHA auf Mikrotiterplatten und in Reagenzglasröhrchen.

Die Trennverfahren waren den Festphasentechniken überlegen. Als optimales Trennverfahren erwies sich die Hochdruckchromatographie. Die gewonnenen IgM-Fractionen können sowohl in den Haemagglutinations-(TPHA-) als auch in den Fluoreszenz-(FTA-Abs-)Techniken eingesetzt werden.

## Endexpiratorische Wasserstoff-(H<sub>2</sub>)-Analyse als „bedside“-Methode – klinische Erprobung zweier Atemtestgeräte

B. Lembecke, S. Kirchhoff, W. F. Caspary

Medizinische Universitätsklinik Göttingen

Wasserstoff-(H<sub>2</sub>)-Atemtests werden zunehmend im Rahmen der Dünndarmfunktionsdiagnostik eingesetzt. Die endexpiratorische Bestimmung der H<sub>2</sub>-Konzentration mittels Gaschromatographie ergibt dabei sehr zuverlässige Analysenergebnisse [Lab. med. 6, 261 (1982)]; Nachteil der Methode ist ihre Ortsgebundenheit.

Ziel dieser Untersuchung war es, die klinische Anwendbarkeit neuer, mobiler, in der Praxis einsetzbarer H<sub>2</sub>-Meßgeräte zu überprüfen. Referenzmethode war die gaschromatographische H<sub>2</sub>-Bestimmung (Pye Unicam series 204).

Apparate: A. GMI-H<sub>2</sub>-Atemtestgerät der Fa. Stimotron, 8501 Wendelstein, Bundesrepublik Deutschland. B. H<sub>2</sub>-Atemtestgerät der Fa. Hoogstraat Medische Techniek (MediHolland), Zoetenmeer, Niederlande.

Testbedingungen: 1. Bestimmung des Variationskoeffizienten (VK) bei repetitiver Eichgasgabe (H<sub>2</sub> in synthetischer Luft). 2. Korrelation der H<sub>2</sub>-Exhalationswerte mit den gaschromatographisch gemessenen H<sub>2</sub>-Konzentrationen bei Verwendung von Gasgemischen verschiedener H<sub>2</sub>-Konzentration und bei klinischer Anwendung am Patienten.

Ergebnisse: Die Handhabung beider Apparate war denkbar einfach („push button“-Methode“). Der Tages-VK für einen 126-ppm-Standard betrug bei Gerät A 0,8% (n = 4). Die Korrelation der mit dem GMI-Gerät gemessenen H<sub>2</sub>-Konzentrationen (Y) mit der gaschromatographischen Analyse (X) wird bei den Gasgemischen (0–126 ppm) durch die lineare Regression  $Y = 0,92X + 1,14$  (r = 0,999) und bei der Anwendung am Patienten durch die Gerade  $Y = 0,884X + 4,2$  wiedergegeben (r = 0,938).

Der Tages-VK für einen 43-ppm-Standard betrug bei Gerät B 13,6% (n = 9). Bei der klin. Anwendung wies das Hoogstraat-Atemtestgerät erhebliche Mängel auf: Werte <10 ppm wurden unsicher registriert; weder entsprachen die Meßwerte („ppm“) denen der Referenzmethode (Faktor 4–5), noch bestand im Anwendungsbereich (0–87 ppm) Linearität in den gaschromatographischen Analysenergebnissen. Dagegen ergab sich unter Verwendung von H<sub>2</sub>-Gasgemischen (0–63 ppm) ein lineares „Meßverhalten“ (r = 0,977).

Schlußfolgerung: Mit dem GMI-H<sub>2</sub>-Atemtestgerät (A) steht eine valide Methode zur Messung von H<sub>2</sub>-Konzentrationen in der Exhalationsluft zur Verfügung, die als Alternative zur gaschromatographischen H<sub>2</sub>-Analyse anzusehen ist und zudem den Vorteil aufweist, unter Praxisbedingungen einsetzbar zu sein. Das Gerät B erwies sich als unzureichend für eine quantitative Bestimmung der endexpiratorischen H<sub>2</sub>-Konzentration; möglicherweise ist die Abweichung von der Linearität bei Anwendung am Patienten darauf zurückzuführen, daß bei diesem Gerät die Atemluft direkt in den Apparat geblasen wird.

## Standardisierung der Messung von Antikörpern der IgM-Klasse gegen Coxsackie-B-Virus mit Hilfe der Labor-EDV

B. Lorbeer, M. Roggendorf, F. Deinhardt

Max-von-Pettenkofer-Institut für Hygiene  
und Medizinische Mikrobiologie der Universität München

Zur Standardisierung der Testauswertung eines ELISA zum Nachweis von Antikörpern der IgM-Klasse gegen Coxsackie-B-Virus wurde ein EDV-Programm entwickelt. Um die Ergebnisse nicht in Titerstufen angeben zu müssen, wurden positive Standards hergestellt, die bei der hohen Empfindlichkeit der Tests sehr schwanken können. Diese Standards bestehen aus einem Pool von je 4–5 Seren aus der Akutphase der Infektion und sind willkürlich mit 100 Antikörper-einheiten festgesetzt.

Für jeden Testlauf wird eine Standardkurve mit 6 Meßpunkten erstellt, die jeweils 100: 50: 25: 12,5: 6,5 und 3,25 E hat. Die Absorptionswerte der Standardkurve und der zu untersuchenden Seren werden online mittels eines PET-Commodore-Computers erfaßt. Zunächst wird die neu erfaßte und mittels linearer bzw. nichtlinearer Regression analytisch beschriebene Eichkurve mit Eichkurven früherer Messungen verglichen, deren Daten auf einer Floppy Disc abgespeichert wurden. Betragen die Abweichungen in einem der Punkte z.B. weniger als das Dreifache einer in einer Vorperiode ermittelten Schwankungsbreite (Standardabweichung), werden die Messungen akzeptiert und für die jeweiligen Seren z.B. nach dem Fibonacci-Verfahren willkürliche Laborerheiten vom Laborcomputer direkt errechnet. Die graphische Ausgabe von Eichkurve und den Werten der untersuchten Seren gestatten eine weitere Kontrolle der Ergebnisse. Diese Auswertungsmethode hat sich im Vergleich mit der Auswertung der Ergebnisse in Form von P/N-Faktoren O.D. Probe

O.D. neg. Kontrolle als stabiler, d.h. von Tagesschwankungen der Testwerte unabhängiger erwiesen.

## Möglichkeiten zur Automatisierung des ELISA

G. Maass

Hygienisch-bakteriologisches Landesuntersuchungsamt,  
D-4400 Münster

ELISA haben eine weite Verbreitung zum Nachweis unterschiedlicher Antigene und Antikörper (IgM, IgG) in Sekreten, Exkreten und im Blut gewonnen. Die Technik besteht in einer Reihe von Antigen-Antikörperreaktionen, die letztlich in der Bindung eines Enzym-gekoppelten Reagenzien an eine feste Phase (Polystyrol, Polyvinyl, Polypropylen usw.) beruht. Die Menge des gebundenen Enzyms wird durch Konzentrationsbestimmung eines gefärbten oder auch fluoreszierenden Produktes ermittelt, das aus einer Enzym-Substrat-Reaktion in einer definierten Zeiteinheit entsteht. Die bei den verschiedenen Modifikationen des ELISA (Doppelantikörper-ELISA zum Antigen-nachweis, kompetitiver ELISA, zum Antigen-nachweis, indirekter ELISA zum Antikörper-nachweis usw.) stets erforderliche Trennung der an die feste Phase adsorbierten und nicht-adsorbierten Antikörper durch einfaches Waschen, die zeitgerechte Zugabe der Reagenzien, läßt sich automatisieren. Ebenfalls läßt sich die fotometrische Messung der entstehenden Farbreaktion gegenüber einem Referenz sowie die Ermittlung der Adsorptionsdifferenzen automatisieren. Die Erfahrungen mit einem Automaten, der diese verschiedenen Schritte übernimmt, beim Nachweis von Virusantigenen (Rotavirus) und viruspezifischen Antikörpern (Cytomegalievirus; IgG, IgM) werden diskutiert.

## Automatisierte Bestimmung von Cortisol im Serum

V. Maier<sup>1</sup>, G. Steinbach<sup>1</sup>, H. Jordan<sup>2</sup>, S. Pal<sup>1</sup>, H. L. Fehm<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Abteilung für Innere Medizin I, Universität Ulm und  
<sup>2</sup> Diagnostica Merck, Darmstadt

Cortisol beeinflusst eine Vielzahl physiologischer Prozesse einschließlich des Kohlehydrat-, Fett- und Eiweißstoffwechsels. Es fehlt nicht an exakten Methoden, Cortisolspiegel zu bestimmen. Sowohl die Proteinbindungsmethode als auch der Radioimmunoassay sind in der Diagnostik eingeführt. Nachteilig bei diesen Methoden wirkt sich aus, daß eine arbeitsaufwendige Extraktion erforderlich ist und daß die Beseitigung radioaktiver Abfälle zunehmend auf Schwierigkeiten stößt.

Es wurde deshalb ein Emit-Cortisolassay (SYVA, Palo Alto) entwickelt, bei dem Cortisol mit Glukose-6-Phosphatdehydrogenase markiert wird, und das enzymmarkierte Cortisol gebunden an den Antikörper in seiner enzymatischen Aktivität vermindert ist. In den USA wird das Verfahren hauptsächlich mit Hilfe des Abbott Bicromatic Analyzer 100 durchgeführt.

Da in Europa der Analysenautomat ACP 5040 (Eppendorf Gerätebau, Hamburg) weit verbreitet ist, wurde die Methode auf dieses Gerät adaptiert. Das Verfahren arbeitet im 60-Sekunden-Takt mit einem

Faktor von 25000. Trotz des hohen Faktors sind die Werte absolut reproduzierbar.

Plasma sowie stark hämolytische und lipämische Seren können nicht analysiert werden. Ovulationshemmer stören.

Die Reagenzienkosten liegen etwa gleich, doch ist die neue Methode wesentlich weniger arbeitsaufwendig.

Zusammenfassung: Der Enzymimmunoassay für Cortisol kann problemlos an den Eppendorf ACP 5040 adaptiert werden. Die Werte sind absolut vergleichbar sowohl mit der Proteinbindungsmethode als auch dem Radioimmunoassay.

## Blutgruppengenetik

W. R. Mayr

Institut für Blutgruppenserologie der Universität Wien

Nach einer einleitenden Schilderung der modernen Konzepte über den Aufbau und die Funktion des genetischen Materials wird die Vererbung der menschlichen Blutgruppeneigenschaften diskutiert. Die Methoden zur Genkartierung (Definition der Position einzelner Geneorte an spezifische Chromosomen) werden erläutert und die Lokalisation der Blutgruppene Gene besprochen.

## Mechanisierung in der klinischen Mikrobiologie – grundsätzliche Fragen

H. Mittermayer

Krankenhaus der Elisabethinen, Abt. Klinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, A-4070 Linz

Mikrobiologische Befunde entstehen aus einer komplexen Abfolge von technischen Arbeitsschritten und individueller Beurteilung von Teilergebnissen durch einen Fachmann, der sowohl mit den technischen Voraussetzungen als auch mit den Anforderungen der Klinik vertraut ist. Demzufolge ist eine Automation der Befundung weder möglich noch wünschenswert. Teilbereiche im Arbeitsablauf des mikrobiologischen Laboratoriums können jedoch sinnvoll durch mechanisierte Methoden ergänzt werden. Beispiele für bereits gängige Mechanisierungen sind der qualitative und quantitative Erregernachweis aus Körperflüssigkeiten (Blut, Urin), die Identifikation von Mikroorganismen und die Resistenzbestimmung.

Als Vorteile mechanisierter Methoden, die in den zur Zeit zur Verfügung stehenden Geräten in sehr unterschiedlicher Weise verwirklicht sind, können angeführt werden: die Verringerung des technischen Arbeitsaufwandes, die bessere Standardisierung der Versuchsbedingungen, die höhere Informationsausbeute bei gleichem Arbeitsaufwand wie bei konventionellen Methoden, die Beschleunigung der Diagnostik und die Möglichkeit der direkten Datenerfassung und -auswertung über EDV. Als Nachteile müssen z.T. hohe Investitions- und laufende Kosten angeführt werden, die nicht immer durch eine Reduktion von Personalkosten ausgeglichen, wohl aber durch eine finanziell nicht kalkulierbare Qualitätssteigerung aufgewogen werden können. Bei höher technisierten Systemen muß die fehlende Plausibilitätskontrolle während der Befundung, die Überbetonung exakt erscheinender Meßwerte und die Möglichkeit einer Überproduktion klinisch nicht relevanter Daten kritisch bewertet werden. Mechanisierte Systeme sind stets als Ergänzung im Methodenspektrum zu betrachten, da es bei alleiniger Anwendung notgedrungen zu einer Einschränkung der diagnostischen Möglichkeiten kommt. Die Entscheidung, welche Systeme im einzelnen Laboratorium eingeführt werden sollen, hängt im wesentlichen von der Organisationsstruktur, dem Arbeitsanfall, der personellen Ausstattung und den Anforderungen von seiten der Klinik ab. Im Falle der Resistenzbestimmung muß bedacht werden, in welchem Umfang Antibiotika außerhalb des Routineprogramms getestet werden, da infolge der Starrheit der meisten Systeme dann häufig auf manuelle Methoden zurückgegriffen werden muß.

Mechanisierte Methoden sind eine erfolversprechende Entwicklung in der klinischen Mikrobiologie. Ihre sinnvolle Anwendung stellt jedoch hohe Ansprüche an die fachliche Kompetenz des Untersu-

chers. Sie können die ärztliche Entscheidung des Mikrobiologen nicht ersetzen und sind daher keinesfalls für Laboratorien geeignet, denen die fachlichen Voraussetzungen für die Durchführung konventioneller Methoden fehlen.

## Das MS 2-System: Aufbau, Funktionsweise und Anwendungsbereiche

J. Möller

Abbott DP, D-6200 Wiesbaden

In der Zwischenzeit hat sich wohl, ähnlich wie in der klinischen Laboratoriumsdiagnostik während der letzten 20 Jahre, auch in der Mikrobiologie die Meinung durchgesetzt, daß Mechanisierung unerlässlich für standardisierbare Testverfahren und reproduzierbare Ergebnisse ist. Da es sich bei zu untersuchenden Proben um lebendes Material handelt, muß eine solche Mechanisierung adaptiv sein (Johnston et al.: Europ. J. Clin. Microb. 1982, 1, 4, S. 204ff.).

Im MS 2 sind Standardisierung und Adaptation vereint, besonders wegen der wertvollen Rückkopplung hunderter MS 2-Anwender. Mit dem MS 2 kann nämlich bereits in standardisierbarer Form der Hauptteil mikrobiologischer Tests an ein und demselben Gerät und zur selben Zeit durchgeführt werden. Dies betrifft die Resistenzbestimmungen, die Bakterienidentifikation und die Urinuntersuchungen, welche alle mit einer mittleren Testzeit von nur 4 Stunden für eine wesentliche Beschleunigung der Diagnostik sorgen (Wiebe und Linzenmeier, Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 251, 237ff. 1981; Weber et al., Arztl. Lab. 26, 239ff. 1980; Barnes et al., J. Clin. Microbiol. 1980, 12, 4, 527ff.; McCracken et al., J. Clin. Microbiol. 1980, 12, 5, 684ff.). Zusätzlich können mit dem MS 2 Problemkeime und mikrobiologische Detailfragen bei Testzeiten bis zu 35 h bearbeitet werden (z.B. Anaerobier- und Heferesistenzmessungen).

Ermöglicht wird diese vielseitige Verwendbarkeit des MS 2 durch sein Meßprinzip einer automatischen photometrischen Trübungs- oder Farbumschlagmessung und einer vollautomatischen Datenauswertung. Durch einfache Soft-ware-Veränderungen ist der MS 2 so flexibel, daß neue Testformen (z.B. Non-Fermenter- und Hefeidentifikationen, neue Antibiotika) kontinuierlich in bestehende Systeme integriert werden können. Ebenso kann durch den modularen Aufbau des MS 2 der Geräteumfang immer an die jeweilige Testfrequenz des Labors angepaßt werden. Durch „interfacing“ ist der MS 2 an vorhandene Laborcomputer anschließbar, wodurch fehlerfreie Datenübertragung, automatischer Patientenreport und -abrechnung sowie epidemiologische Studien ermöglicht werden.

## Simultane Bestimmung von Carbamazepin, Ethosuximid, Phenytoin, Phenobarbital

T. Müller, H. Winkelmann, I. Steinbach, S. Kapp  
Labor Dr. Kapp, Dr. Breuer, D-6500 Mainz

Zur routinemäßigen Bestimmung der Konzentration von Antikonvulsiva (AED) existieren zahlreiche immunologische (RIA, ETA, FPIA) und chromatografische (GC, HPLC) Methoden. Davis und Fenimore (2) wie auch Wad, Hanif und Rosenmund (1) benutzen zur Quantifizierung HPTLC bzw. TLC-Methoden mit In-situ-Auswertung der Chromatogramme durch Remissionsmessung im DC-Scanner. Beide Methoden messen die o.a. Antiepileptika nebst Metaboliten (1) außer Ethosuximid. Ethosuximid ist durch In-situ-Remissionsmessung bei 215 nm nicht erfassbar, da es als UV-Absorptionsspektrum auf der Platte lediglich eine auslaufende Flanke im Bereich von 200–215 nm hat.

Ziel unserer Arbeit ist es, eine HPTLC-Methode zu entwickeln, welche die simultane Bestimmung der o.g. AED erlaubt.

### Chromatografisches System:

Entwicklung: Aufsteigend bei Kammerstättung  
Laufmittel: Chloroform/Ethanol/Ammoniak (25%) = 80/15/5; organische Phase  
Laufzeit: 20 min; 23°C Raumtemperatur  
Auswertung: Die Auswertung erfolgt zweistufig.

Kieselgel 60 F 254, HPTLC Fertigplatten, Merck

Durch Remissionsmessung bei 215 nm können die Konzentrationen der Antiepileptika außer Ethosuximid und dem Primidonmetaboliten Phenylethylmalonamid (PENA) ermittelt werden. Die Detektion von Ethosuximid erfolgt nach Tauchen der Platte in Entwicklungssreagenz (2,6-Dibromchinon-4-Chlorimid in DMSO/CHCL<sub>3</sub>) durch Remissionsmessung bei 490 nm. Das Reagenz färbt außer Carbamazepin alle o.g. AED an, so daß auch eine Auswertung bei 490 nm, allerdings mit reduzierter Sensibilität und Sensitivität möglich ist. Wesentliche Daten zeigt die Tabelle.

Substanz	Nachweisgrenze 215 nm	(ng/spot)		Proportionalitätskonst. (Integraleinh./100 ng)		RF
		490 nm	215 nm	490 nm	215 nm	
Carbamazepin	10,0	—	880	—	0,75	
Ethosuximid	—	21,6	—	370	0,69	
Phenobarbital	41,0	55,2	195	145	0,21	
Phenytoin	26,3	38,1	304	210	0,47	
Primidon	43,0	64,0	188	125	0,41	

Zur Bestimmung aus Serum ist ein entsprechendes Clean-up der Probe notwendig: 200 µl–500 µl Probe werden über Extrelut®-Säulen extrahiert, wobei als interner Standard Atriprosulfat zugesetzt wird. Die Ergebnisse dieser Methodik werden mit Enzymimmunoassay-Resultaten verglichen und zeigen gute Übereinstimmung.

### Literatur:

1. WAD, N., HANIF, E., ROSENMUND, H.: Rapid TLC-method for the simultaneous determination of carbamazepine, diphenylhydantoin, mephentoin, phenobarbital and primidone in serum. J. Chrom. 143, 89–93 (1977).
2. DAVIS, C. M., FENIMORE, D. C.: Rapid microanalysis of anticonvulsants by HPTLC. J. Chrom. 222, 269–270 (1981).

## Postmortale Bestimmung des pulmonal-extravaskulären Albumingehaltes

A. G. Nerlich<sup>1</sup>, P. K. Müller<sup>1</sup>, M. L. Nerlich<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Max-Planck Institut für Biochemie, D-803 Martinsried

<sup>2</sup> Unfallchirurgische Klinik, Medizinische Hochschule, Hannover

Der Albumingehalt des extravaskulären Raumes ist bei einer Insuffizienz des cardiopulmonalen Systems stark verändert und wird als wichtiger Indikator für die pathogenetischen Veränderungen im akuten Lungenversagen angesehen. Oft ist es jedoch aus zeitlichen und technischen Gründen nicht möglich, Parameter für die Albumin- und extravasation intra vitam zu ermitteln. Wir erproben deshalb eine einfache Methode zur Bestimmung des postmortalen, extravaskulären Albumingehaltes. Dazu wurden 1–2 h nach Feststellung des Todes verschiedene Lungengewebsproben sowie Blutproben aus den Lungengefäßen entnommen. Die Gewebsproben wurden in 20 mmol/l Trisphosphat (pH 7,4) suspendiert und 30 Sek. bei 10000 rpm homogenisiert. Nach 20minütiger Zentrifugation bei 4500 x g wurde im Überstand der Gehalt an Hb und Albumin bestimmt. Die Albuminextraktionsrate dieser Methode lag bei ca. 90% des Gesamtalbumins. Verschiedene Albuminbestimmungsmethoden zeigten gut vergleichbare Werte. Die entnommenen Blutproben wurden ebenfalls auf Hb- und Albuminkonzentration hin analysiert. Die Blutmenge der Gewebsprobe konnte nun durch die Hb-Werte bestimmt werden. Ebenso konnte die intravaskuläre Albuminmenge der Probe errechnet werden. Die Differenz zwischen Gesamtalbumin und intravaskulärem Albumin läßt die extravaskuläre Albuminmenge beurteilen. Ein Einfluß durch Einfrieren der Gewebsproben konnte durch Vergleich mit operativ entnommenem Gewebe ausgeschlossen werden. Mit Hilfe dieser Methode konnte in 6 normalen Lungen ein extravaskulärer Albumingehalt von 4,9 ± 1,8 g pro Lunge (x ± SD) ermittelt werden. Ein Vergleich mit einer Gruppe von Patienten mit Lungenödemen im akuten Lungenversagen ergab demgegenüber mit 21,9 ± 3,8 g Albumin pro Lunge eine hochsignifikante Zunahme (p 0,0025). Die hier angewendete, einfache Methode kann zur Klärung wichtiger Abläufe der Albuminextravasion postmortal angewendet werden. Die Frage nach dem Protein Gehalt ödematischer Flüssigkeiten im extravaskulären Raum kann somit in Zukunft beim Lungenödem verschiedener Genese an großen Kollektiven überprüft werden.



## Enzymimmunoassay für Granulozyten-Elastase im Komplex mit $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor

S. Neumann, G. Gunzer, N. Hennrich, H. Lang

Biochemische Forschung, E. Merck, Darmstadt

Wir beschreiben Prinzip und Durchführung eines Enzymimmunoassays zur quantitativen Bestimmung des Komplexes aus Granulozyten-Elastase (E.C. 3.4.21.11) und  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor in biologischen Proben. Der Test erfolgt in fünf Arbeitsschritten:

1. Inkubation der Standards (Komplex aus Elastase und Inhibitor nach Reaktion *in vitro*) oder der unbekannten Proben 1 h in Polystyrolröhrchen, die mit Schaf-Antikörpern gegen menschliche Elastase beschichtet sind.
2. Auswaschen ungebundener Komplexe.
3. Inkubation der Röhrchen 1 h mit spezifischen Antikörpern gegen  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor, welche mit alkalischer Phosphatase markiert sind.
4. Auswaschen überschüssiger markierter Antikörper.
5. Nachweis der an die feste Phase fixierten Enzymaktivität mit p-Nitrophenylphosphat als Substrat. 90 min Inkubation.

Die Extinktion in den Ansätzen ist linear mit der Konzentration des Elastase/ $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes in der Probe korreliert.

Die Nachweisgrenze wurde mit 0,25 ng komplexierter Elastase in der Testprobe (0,5 ml) bestimmt. Plasmavolumina von 1 bis 80  $\mu$ l reagierten im Test linear. Die Wiederfindung von exogenem Standard in verschiedenen Plasmaproben war 74 bis 95%. Die Präzision wurde mit Gemischen von Plasmen bestimmt und lag bei 4 bis 8% Variationskoeffizient in Einzelserien und bei 3 bis 8% beim Vergleich verschiedener Serien. In Citratplasmen von 43 gesunden Personen wurde ein Normalbereich von  $98 \pm 26 \mu$ g komplexierter Elastase/l (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) gefunden. Deutlich erhöhte Plasmakonzentrationen wurden nach Operationstrauma oder bei Sepsis und in Patienten mit chronisch-entzündlicher Polyarthrit beobachtet.

Literatur:

NEUMANN, S., GUNZER, G., HENNRICH, N., LANG, H.: Enzyme-linked immunoassay for human granulocyte in complex with  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983), in press.

## Humane Granulozyten-Elastase

D. Neumeier<sup>1</sup>, H.-J. Hatz<sup>2</sup>, G. Menzel<sup>1</sup>, D. Nagel<sup>1</sup>, H. Kaiser<sup>2</sup>, A. Fateh-Moghadam<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern, München

<sup>2</sup> Medizinische Klinik, Zentralkrankenhaus Augsburg

Zur klinischen Wertigkeit einer enzymimmunologischen Bestimmung des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes bei entzündlichen Gelenkerkrankungen.

Aus der Bestimmung von Proteasen, die in biologischen Flüssigkeiten an Proteinaseinhibitoren gebunden werden, sind wichtige Informationen im Rahmen entzündlicher Prozesse zu erwarten. Ein heterogener Enzymimmunoassay zur Quantifizierung des aus Granulozyten-Elastase und  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor gebildeten Komplexes (E- $\alpha_1$ P) wurde kürzlich beschrieben (1). Nach einer klinisch-methodischen Prüfung dieses Assays (2) berichten wir zur klinischen Wertigkeit der E- $\alpha_1$ P-Bestimmung im Plasma bei 100 Patienten mit entzündlichen Gelenkerkrankungen, von denen 31 bis zu 6 Monate beobachtet wurden. 40 Patienten [19 mit gesicherter rheumatoider Arthritis (RA), 10 mögliche RA und 11 andere entzündliche Gelenkerkrankungen] wurden in einer Zwischenauswertung untersucht. Im Vergleich zu einem nicht kranken Kontrollkollektiv (Referenzbereich: 40–96 ng/ml, Median: 61 ng/ml, n = 98) fand sich unter den Patienten (Bereich: 60–1832 ng/ml, Median: 167 ng/ml) bei 34 in der Erstuntersuchung ein erhöhter E- $\alpha_1$ P-Wert. Bei gesicherter RA wurde bei 18 Patienten eine erhöhte E- $\alpha_1$ P-Konzentration gefunden. Diese Ergebnisse werden mit dem Aktivitäts- und dem Röntgenstadium der Erkrankung, der durchgeführten Therapie sowie mit 18 klinisch-chemischen und hämatologischen Parametern (u.a. CRP,  $\beta_2$ M,  $\alpha_1$ P,  $\alpha_2$ M, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, Ig, Leukozyten, BKS, Fe, Cu) korreliert.

Literatur:

1. NEUMANN, S., HENNRICH, N., GUNZER, G., LANG, H.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 232 (1981).

2. NEUMEIER, D., FATEH-MOGHADAM, A., MENZEL, G.: Fresenius Z. Anal. Chem. 311, 389 (1982).

## Farb-Strich-Symbole – Eine Möglichkeit zur rechnerunterstützten Kontrolle von Untersuchungsergebnissen

D. Neumeier, H. Sator, Ch. Pietrzyk, Ch. Schmidt, M. Knedel

Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern,

Ludwig-Maximilians-Universität, München

Die Kontrolle von Untersuchungsergebnissen, die von selektiven Vielkanalanalysatoren mit hoher Kapazität erstellt werden, ist wegen der Vielzahl der Einzelergebnisse schwierig und zeitaufwendig, insbesondere wenn neben der statistischen Qualitätskontrolle eine longitudinale Plausibilitätskontrolle der Untersuchungsergebnisse durchgeführt wird.

Eine Verbesserung wird durch eine symbolisierte, leicht perzeptible Darstellung relevanter Kontrollparameter wie Meßwertbereich, Abweichung vom Vorwert, Abarbeitungsstatus der Probe und Wertlage der Qualitätskontrollproben auf einem großformatigen Farbbildschirm erreicht. Dabei ist jeder Meßwert einer Untersuchungsserie durch einen Symbolblock von drei nebeneinanderliegenden Schreibpositionen dargestellt. Die Kontrollparameter werden voneinander unabhängig graphisch und durch Farbcodes symbolisiert. Der Ergebnisschirm des Analysen ist in fünf definierte Abschnitte gegliedert. Entsprechend der jeweiligen Wertlage wird im mittleren Feld des Symbolblocks höhenabhängig eine Linie, ähnlich einer Leitersprosse, eingeblendet. Die Hintergrundfarbe dieses Feldes symbolisiert die absolute oder relative Abweichung des Meßwertes von einem innerhalb eines definierten Intervalls erhobenen Vorwert. Es können vier Stufen der Meßwertabweichung dargestellt werden. Die Farbe der beiden äußeren Felder des Symbolblocks gibt an, ob das Ergebnis kontrolliert, nicht kontrolliert, durch Qualitätskontrollproben gesperrt oder gedruckt ist. Wird ein Symbolblock mit einem Lichtgriffel berührt, so werden die quantitativen Ergebnisse mit den demographischen Patientendaten am Fuß des Bildes eingeblendet. Insgesamt können auf dem Farbbildschirm 20  $\times$  25 Ergebnisse einer Untersuchungsserie dargestellt werden. Vor allem durch den Signalcharakter der Farbe wird eine rasche und sehr effektive Ergebniskontrolle ermöglicht.

## Vergleich der Methoden zur Analyse der glykosylierten Hämoglobine

C. M. Niederau

Diabetes-Forschungsinstitut an der Universität Düsseldorf

Zur Analyse der glykosylierten Hämoglobine sind eine Reihe von Verfahren bekannt und zum Teil am Markt verfügbar.

Die Makrosäulen-, Hochdruckflüssigkeits- und Mikrosäulenchromatographie, die Thiobarbitursäuremethode, Elektroosmose und das spektroskopische Verfahren werden geprüft.

Eigentliche Richtigkeitskontrollen für diese Verfahren existieren nicht; daher wurde ein Vergleich durch Analyse von 26 Patienten durchgeführt. Da die Gehalte an glykosylierten Hämoglobinen in verschiedenen Meßbereichen lagen, konnten Regressionsgeraden erstellt und Korrelationskoeffizienten berechnet werden. Zudem wurde die Präzision der verschiedenen Methoden bestimmt. Alle Analyseverfahren – ausgenommen die Spektroskopie – liefern vergleichbare und zuverlässige Ergebnisse.

Unter den verwendeten Methoden erwiesen sich für die Routine-analytik als geeignet:

Mikrosäulenverfahren, Thiobarbitursäuremethode sowie die Elektroosmose. Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie hatte eine gute Korrelation mit dem Makrosäulenverfahren, das eine sehr lange Analysenzeit erfordert. Somit ist die Hochdruckflüssigkeitschromatographie als Referenzmethode zu empfehlen.

Die Haltbarkeit von Kontrollproben (Richtigkeit und Präzision) ist eingeschränkt. Rekonstituierte lyophilisierte Proben haben auch bei 4°C nur eine beschränkte Haltbarkeit. Dennoch konnten 5 Ringversuche zur Analyse der glykosylierten Hämoglobine durchgeführt werden. Diese Ringversuche bestätigten die gute Richtigkeit und Präzision der Mikrosäulenverfahren. Bedauerlicherweise gibt es keine geeigneten Ringversuchsproben für die Thiobarbitursäuremethode.

## Evaluation von radioaktivitätsfreien Immunotests (EMIT, FPIA, SLFIA, NIIA) zur Bestimmung von Pharmakakonzentrationen im Serum

M. Oellerich<sup>1</sup>, W. R. Kulpmann<sup>1</sup>, M. Beneking<sup>1</sup>, H. Haindi<sup>2</sup>, H. Müller-Vahl<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie,

<sup>2</sup> Institut für Nuklearmedizin,

<sup>3</sup> Institut für Klinische Neurophysiologie und experimentelle Neurologie, Medizinische Hochschule Hannover

Wegen ihrer einfachen und raschen Durchführbarkeit gewinnen homogene Immunotests [EMIT, Fluoreszenz-Polarisations-Immunotest (FPIA), Substrat-markierter Fluoreszenzimmunotest (SLFIA), Nephelometrischer Immunotest (NIIA)] für die Routinediagnostik zunehmend an Bedeutung. Es wird ein Überblick über die Zuverlässigkeit und Praktikabilität dieser Verfahren gegeben. In vergleichenden Untersuchungen ergab sich beispielsweise mit dem FPIA für verschiedene Pharmaka bei Proben von Patienten eine gute Übereinstimmung mit EMIT, der Gaschromatographie (GC), der Hochdruck-flüssigkeitschromatographie (HPLC) und dem Radioimmunotest (RIA, Becton-Dickinson):

Carbamazepin: (FPIA) vs (EMIT):  $y = 0,93x + 0,29$  (mg/l),  $r = 0,96$ ,  $n = 43$

Primidon: (FPIA) vs (EMIT):  $y = 1,07x - 0,59$  (mg/l),  $r = 0,97$ ,  $n = 53$

Phenytoin: (FPIA) vs (GC):  $y = 0,94x + 0,36$  (mg/l),  $r = 0,98$ ,  $n = 42$

Theophyllin: (FPIA) vs (HPLC):  $y = 1,00x - 0,01$  (mg/l),  $r = 0,99$ ,  $n = 73$

Digoxin: (FPIA) vs (RIA):  $y = 1,04x + 0,01$  (µg/l),  $r = 0,98$ ,  $n = 56$ .

Außerdem wird über Ergebnisse mit einem neuen Ultrafiltrationsverfahren (EMIT Free Level System) zur Abtrennung des freien Phenytoins berichtet. Die hierbei für den Prozentsatz des freien Phenytoins mit der Ultrafiltration, Ultrafiltration und Gleichgewichtsdialyse bei Proben von Patienten erhaltenen Ergebnisse zeigten eine gute Übereinstimmung (Ultrafiltration vs Ultrafiltration:  $y = 0,94 + 0,60$ ,  $s_{xx} = 0,72$ ,  $n = 41$ ; Ultrafiltration vs Gleichgewichtsdialyse:  $y = 1,02 - 0,60$ ,  $s_{xx} = 1,25$ ,  $n = 40$ ).

## Glykosiliertes Hämoglobin (Ghb) als Langzeitparameter zur Einschätzung haemolytischer Anämien

S. Panzer, W. Graninger, R. Dudczak, E. Neumann

I. Medizinische Universitätsklinik Wien

Hämoglobin A (HbA) wird in Abhängigkeit von der Blutzuckerkonzentration zu HbA<sub>1c</sub> (Ghb) glykosyliert, und daher zur Langzeiterfassung der diabetischen Stoffwechsellaage eingesetzt. Da die Glykosylierung des Hb auch von der Erythrozytenlebenszeit (ELZ) abhängig ist, untersuchen wir, ob Ghb als Hämolyseparameter bei Patienten mit normaler Kohlehydratoleranz dienen kann.

Patienten mit hämolytischer Anämie ( $n = 20$ , HA) wurden Patienten mit nicht-hämolytischer Anämie ( $n = 20$ , NHA) und einer gesunden Kontrollgruppe ( $n = 30$ ) gegenübergestellt. LDH, Bilirubin, Haptoglobin, HK, Hb, Erythrozyten-, Retikulozytenzahl und Ghb wurden wiederholt bestimmt. Die C<sub>5</sub>-ELZ wurde bei 20 Patienten erfaßt.

Ghb war signifikant niedriger ( $p < 0,0005$ ) in der Gruppe der HA ( $3,9 \pm 0,1\%$  Ghb des gesamten Hb) als in der Gruppe der NHA ( $7,0 \pm 0,8\%$  Ghb) und in der Kontrollgruppe ( $6,7 \pm 0,7\%$  Ghb). Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen der C<sub>5</sub>-ELZ und Ghb ( $r^2 = 0,88$ ,  $p < 0,001$ ).

In der Gruppe der HA korrelierte Ghb mit den 3–5 Wochen zuvor erhobenen Hämolyseparametern [LDH, Retikulozyten  $r = -0,6$ , Haptoglobin  $r = 0,55$ , Bilirubin  $r = -0,55$ ,  $p < 0,02$ , HK, Hb, Erythrozytenzahl  $r = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ]. Keine Korrelation bestand zu den simultanen erhobenen Befunden.

Diese Ergebnisse zeigen, daß Ghb ein Indikator der Hämolyse ist, und, ähnlich wie zur Beurteilung der diabetischen Stoffwechsellaage, als ein Langzeitparameter hämolytischer Erkrankungen dienen kann.

## Interlaboratorielle Vergleichbarkeit der CAF-Elektrophorese (Ergebnisse eines regionalen Rundversuchs)

H. W. Pilgerstorfer

Linzer Laborrunde, Linz

Im Rahmen eines freiwilligen regionalen Rundversuchs wurde an 16 Laboratorien der Region Oberösterreich/Salzburg frisches Pool-Serum übersandt. Von allen Teilnehmern wurde Gesamt-Eiweiß als Doppelbestimmung und die CAF-Elektrophorese 10x unter Routinebedingungen durchgeführt. Beim Gesamt-Eiweiß ergab sich bei einem  $\bar{x}$  von 7,23 g/dl ein interlaboratorielles VK von 4,18%, in allen Fällen wurde nach der Biuret-Methode bestimmt, von 12 Teilnehmern mit Leerwertkorrektur, von 4 ohne Leerwertkorrektur. Die Kalibrierung erfolgte auf verschiedene Eiweiß-Standards oder Kontrollseren. Noch bunter ist das Bild bei der Elektrophorese. Es wurden Folien von drei verschiedenen Herstellern verwendet, der Puffer war in 1/4 der Fälle selbst zusammengemischt, das pH schwankte von 8,5 bis 8,8. Die Färbung erfolgte bis auf einen Teilnehmer, welcher Ponceau-Rot verwendete, durchwegs mit Amido-Schwarz. 13 Teilnehmer arbeiteten noch mit dem Transparenzbild Dioxan, während 3 bereits darauf verzichteten. Die Stromversorgung lag zwischen 200 und 300 Volt, die Laufzeit zwischen 15 und 35 Minuten. 2/3 der Teilnehmer verwendeten Einfachauftragstempel, der Rest 6- bzw. 8fach Auftragungen. 8 verschiedene Auswertegeräte waren eingesetzt. Folgende Ergebnisse konnten berechnet werden:

Albumin  $\bar{x}$  60,77% VK 5,38%, Alpha-1 Glob.  $\bar{x}$  3,21% VK 19,89%, Alpha-2 Glob.  $\bar{x}$  11,21% VK 8,36%, Beta-Glob.  $\bar{x}$  9,31% VK 11,63%, Gamma-Glob.  $\bar{x}$  15,04% VK 9,36%.

Die Ergebnisse wurden von allen Teilnehmern diskutiert und es wurde Übereinstimmung darüber erzielt, daß in den klinisch relevanten Eiweißfraktionen die Ergebnisse gut vergleichbar sind. Außerdem wurden folgende Richtwerte für die einzelnen Eiweißfraktionen festgelegt: Albumin 55–70 Relativ-%, Alpha-1 Glob. 2–4%, Alpha-2 Glob. 5–10%, Beta-Glob. 8–14%, Gamma-Glob. 10–20%. Gesamt-Eiweiß 6,5 bis 8,5 g/dl.

## Das Verhalten von Lp(a) bei verschiedenen Elektrophoresetechniken

W. Petek, G. Kostner, A. Holasek

Institut für Medizinische Biochemie, Universität Graz

Das Lp(a) muß nach Arbeiten von Dahlen und Berg sowie nach eigenen Ergebnissen als ein unabhängiger Risikofaktor für Koronarsklerose angesehen werden. Es ist in seinem Lipidgehalt dem LDL sehr ähnlich, besitzt jedoch eine hydratisierte Dichte wie HDL<sub>2</sub> und wandert elektrophoretisch in den Prä- $\beta$ -Bereich. Aufgrund dieses „paradoxen“ physikochemischen Verhaltens kann es unter Umständen mit prä- $\beta$  (VLDL) oder HDL ( $\alpha$ -LP) verwechselt werden.

Lp(a)-haltige Sera wurden mittels Lipoproteinelektrophorese in Agarosegelen und auf Acetatofiltern unter Verwendung verschiedener Puffer getrennt, wobei Proben mit 1, 2 und 3 prä- $\beta$ -Banden zur Darstellung gelangten. Um die Position der Lp(a)-Bande eindeutig zu identifizieren, wurden die Sera mit einem monospezifischen Antiserum gegen Lp(a) adsorbiert und hernach parallel mit dem unbehandelten Ausgangsserum elektrophoretisiert. Auf diese Weise konnte gezeigt werden, daß die Wanderung des Lp(a) von den Trennbedingungen, wie Puffer, pH, Trägermaterial und Agarosegelkonzentration, abhängig ist. Trotz Konstanzhalten dieser Bedingungen ist aber auch die elektrophoretische Mobilität des Lp(a), relativ zum LpB, mitunter different.

Quantitative Bestimmungen des Lp(a) wurden mittels der Laurell-Technik in 1% Agarosegelen durchgeführt. Um günstige Verhältnisse zwischen der Lp(a)-Konzentration und der Peakfläche zu erhalten, wurde das System optimiert: Verwendet wurde ein 1% Agarosegel in einem Tris-EDTA-Borsäurepuffer, pH 8,0; pro 6 ml Gel wurden 6 µl Triton-X 100 zugefügt. 4 µl Probe ergaben bei 60 mA/Gelplatte einen Trennzweig von 4 Stunden optimale Präzipitate (Rockets). Die Eichkurve Lp(a)-Konzentration gegen Peakfläche, war jedoch beim angewandten Antiserum nicht linear, sondern beschrieb eine typische Sättigungskurve (Parabel). Mit einem HP-41 C mittels Curve-Fitting-Programm ließ sich die Lp(a)-Konzentration in einem weiten Bereich von 3 mg/dl bis 120 mg/dl bei einem  $r = 0,94 - 0,97$  berechnen.

## Datenbankunterstützte Befunderhebung und Langzeit-Dokumentation beim niedergelassenen Laborfacharzt

H. W. Pilgerstorfer

Laboratorium Dr. H. W. Pilgerstorfer, Linz

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Informatik der Johannes-Keppler-Universität Linz und der Firma Honeywell-Bull wurde das Projekt ISMELA (Informationssystem für medizinische Labors) realisiert. ISMELA dieses Systems ist eine Datenbank, welche vom Betriebssystem verwaltet wird und patientenbezogene Daten, einweisende Ärzte, Kostenträger und alle Untersuchungen mit den Ergebnissen in jederzeitigem raschem direktem Zugriff bereithält. Als Zugriffspfad kann der Name, das Geburtsdatum, die Befundnummer, der einweisende Arzt, der Kostenträger und die Untersuchungsnummer dienen. Von Mitte 1980 bis Ende 1982 haben wir 75000 Patienten mit 125000 Tagesbefunden à durchschnittlich 7 Einzeluntersuchungen gespeichert, auf unseren Magnetplatten ist noch genügend Platz für mindestens 3 Jahre. Mit der Datenbank sind folgende Programmkreise verknüpft: Patientendatenaufnahme, Etikettendruck, Meßdatenaufnahme, Befunddruck, Honorarnotenschreibung, Krankenkassenabrechnung, Buchhaltung. Eine Reihe von Analysengeräten ist, teils bidirektional, mit dem Computer verbunden: der Selectivanalyzer Greiner G-300 erhält etwa vom Hauptcomputer direkt die Auswahl der zu bestimmenden Untersuchungen pro Probe überspielt und sendet die Ergebnisse zur EDV zurück. Als Hauptvorteil hat sich der jederzeitige rasche Zugriff auf alle Daten erwiesen. Vorbefunde und Befunderläute werden nicht mehr aus dem Archiv, sondern ausschließlich der Datenbank entnommen. Die Schreib- und Zuordnungsarbeiten sind minimiert worden und die Sicherheit für Patienten, Labormitarbeiter und Ärzte wurde durch das zentrale computer-gesteuerte Kontrollsystem während des gesamten Arbeitsablaufes entscheidend verbessert.

## Microprocessorunterstützte Leukozyten-differenzierung durch „pattern recognition“ mit dem OMRON-Microx-Cellanalyser. Eine Videodemonstration

H. W. Pilgerstorfer

Laboratorium Dr. H. W. Pilgerstorfer, Linz

In einem Videofilm wird der komplette Arbeitsablauf der Leukozyten-differenzierung am OMRON-Microx-Cellanalyser demonstriert.

Nach Aufnahme der Patientendaten in den Laborcomputer, der Blutabnahme und der Durchführung der hämatologischen Zellzählung geht das EDTA-Röhrchen weiter zur Anfertigung des Ausstriches. Dieser wird mittels eines Spinners angefertigt, nachdem 200 µl des gut gemischten EDTA-Blutes mit einer Kolbenhubpipette mit Einmalspitze auf die Mitte des Objektträgers aufgebracht wurde. Durch Schließen des Zentrifugendeckels wird der Spinner in Bewegung gesetzt und ein Ausstrich einer einstellbaren, durch Photozellen gemessenen Dicke innerhalb etwa 2 sec erzeugt. Die Objektträger werden zu jeweils 50 Stück gleichzeitig in einem Farbeautomaten nach Wright gefärbt. Unser OMRON-Microx-Cellanalyser hat eine manuelle Probenzuführung des Ausstriches, die Immersionszulführung und Fokussierung sowie das Programm zur Zelldifferenzierung laufen automatisch ab. Reife weiße Zellen werden zu 98% richtig differenziert, die Koordinaten nicht erkannter Zellen werden gespeichert und in einem Reviewvorgang auf Knopfdruck eingestellt. Die Beobachtung der Zellen erfolgt auf einem 15-cm-Farbfernsehmobil von sehr guter Bildqualität. Der Blick in das Mikroskop ist in der Routine nur sehr selten notwendig. Nach Differenzierung der unerkannten Zellen (im Schnitt unter 5%) und der Beurteilung des roten Blutbildes werden die gewonnenen Daten auf einem Belegdrucker ausgedruckt und on line an den Zentrallaborcomputer überspielt.

In der Videodemonstration werden Originalaufnahmen der Zellen vorgeführt. Außerdem wird die Möglichkeit gezeigt, das Gerät einer Qualitätskontrolle zu unterziehen und deren Ergebnisse diskutiert. Das Gerät steht nunmehr 1 1/2 Jahre im Routineeinsatz und hat sich bei unserem Untersuchungsgut, das zum Großteil aus hämatologisch gesunden Patienten besteht, bestens bewährt.

## „Trockenchemie“ – Teststreifenverfahren zur quantitativen Bestimmung von Blutbestandteilen – Darstellung des Prinzips am Beispiel der Harnstoff-N-Bestimmung

W. Plischke

Miles GmbH, Sparte Ames, Diagnostika-Erprobung, Frankfurt (Main)

Qualitative bzw. halbquantitative Schnelltests in Form von Teststreifen sind zu einem festen Bestandteil der klinischen Diagnostik geworden. In jüngster Zeit hat die Entwicklung solcher Verfahren einen neuen Aufschwung erfahren, da die Fortschritte bei der Herstellung von Teststreifen und die Mikroprozessortechnologie zusammen die Möglichkeiten eröffneten, auch quantitative Analysen von Blutbestandteilen durchzuführen (1,2). Da die Forschung auf diesem Gebiet vorwiegend von der Industrie getragen wird, liegen nur spärliche Informationen über den Aufbau und die Charakteristika dieser Verfahren vor. Aus diesem Grund soll im folgenden näher auf ein qualitatives Teststreifenverfahren zur Bestimmung von Harnstoff-N im Blut eingegangen werden (3).

Mit diesem Teststreifen wird Harnstoff in einer 2-stufigen Reaktion erfasst. Harnstoff reagiert zuerst mit o-Phthaldehyd zu 1,3-Dihydroxyisoinodin (4). In der zweiten Reaktion entsteht aus 1,3-Dihydroxyisoinodin und dem Indikator 3-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydrobenzochinolin bei stark saurem pH ein blauer Farbkomplex. Zwei Probleme sind bei diesem Verfahren zu lösen.

1. Der Indikator muß räumlich von o-Phthaldehyd getrennt sein;
2. Bei stark saurem pH ist die Zellulosematrix des Teststreifens instabil. Die Labilität von Zellulose bei stark saurem pH wird durch Einbau eines Kationenaustauscherharzes gelöst. Erst bei Benetzung der Testzone wird durch Dissoziation ein stark saures Milieu geschaffen. Die Trennung der Testkomponenten wird durch sequentielles Aufbringen von 3 verschiedenen Schichten auf die Zellulosematrix erreicht. Die proximale Schicht enthält den Indikator. Die Zwischenschicht ist eine polymere Trennschicht. Die distale Schicht enthält o-Phthaldehyd.

Die quantitative Erfassung der Farbentwicklung wird mit einem Reflektionsphotometer (Seralyzer, Ames) (1) bei 620 nm vorgenommen, wobei in dem Zeitraum von 40–70 sec nach Auftrag einer Serumprobe alle 5 sec die Reflektion der Testzone bestimmt wird. Die relativen Reflektionswerte werden anhand der Kubelk- a- und -Munk Gleichung (3) in K/S-Werte transformiert. Aus dem linearen Anstieg der K/S-Werte in Abhängigkeit der Zeit berechnet das Gerät die Größe  $\Delta K/S/min$ , die nach vorheriger Kalibrierung als Maß für die Harnstoffkonzentration dient. Die Begrenzung des Meßbereichs auf 60 mg/dl Harnstoff-N ergibt sich aus der Notwendigkeit, die relativen Reflexionswerte im Bereich von 20–80% zu halten.

### Literatur:

1. ZIPP, A.: J. Autom. Chem. 3, 71–75 (1981).
2. GREYSON, J.: J. Autom. Chem. 3, 68–71 (1981).
3. TURK, R. S., ZIPP, A.: Clin. Chem. 24, 1018 (1978).
4. JUNG, D. et al.: Clin. Chem. 21, 1138–1140 (1975).
5. KUBELKA, B., MUNK, F.: Z. techn. Phys. 12, 593–601 (1931).

## Diagnostik respiratorischer Erkrankungen durch den Nachweis viraler Antigene im Nasensekret

Therese Popow-Kraupp, C. Kunz

Institut für Virologie der Universität Wien

In den letzten Jahren wurden Methoden entwickelt, die den direkten Nachweis viraler Antigene in klinischen Untersuchungsmaterialien innerhalb weniger Stunden ermöglichen (1, 2). Dadurch kann die Diagnose viraler Infektionen bereits am Beginn der Erkrankung gestellt werden. Für den Nachweis viraler Antigene in Nasensekreten haben wir die Immunfluoreszenzmethode (IFT) und den Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet, die beide übereinstimmende Ergebnisse liefern. Beide Methoden ermöglichen den raschen direkten Nachweis auch geringster Antigenkonzentrationen.

Mit Hilfe des IFT haben wir von November 1978 bis April 1982 insgesamt 328 Nasensekrete von Kindern unter 6 Jahren, die wegen respiratorischer Erkrankungen hospitalisiert waren, auf folgende Viren untersucht: Respiratory Syncytial Virus (RSV), Influenza-A-Virus, Parainfluenza-Virus Typ 1 und 3 und Adenoviren. Die Untersuchung auf Adenoviren wurde erst ab November 1981 durchgeführt. In 112 der 328 Nasensekrete (34,1%) konnte Virusantigen nachgewiesen werden. Bei 101 Patienten (30,9%) waren RSV, bei 3 (0,9%) Parainfluenza-Virus Typ 1, bei 4 Parainfluenza Typ 3 (1,2%) und bei 3 Patienten (0,9%) Adenoviren die Ursache der Erkrankung. Influenza-A-Virus konnte in diesem Zeitraum nicht nachgewiesen werden. Die Diagnose wurde in allen Fällen innerhalb eines halben Tages gestellt. Die IFT hat unter anderem den Nachteil, daß die virusantigenhaltigen Epithelzellen so schnell wie möglich aus dem Nasensekret ausgewaschen und auf einem Objektträger fixiert werden müssen, um die Zellen für den Virusnachweis intakt zu erhalten. Seit 1982 verwenden wir den ELISA für den Nachweis viraler Antigene in Nasensekreten, da die Proben für diesen Test ohne weitere Aufarbeitung oder Kühlung versendet werden können. Wir haben bis Ende Januar 1983 96 Proben aus Kinderabteilungen in ganz Österreich untersucht. Bei 19 Patienten konnte RSV (19,8%), bei 3 Influenza-A-Virus (3,1%), bei 2 Parainfluenza Typ 1 (2,1%) und bei 2 Parainfluenza Typ 3 (2,1%) nachgewiesen werden.

## Literatur:

1. GARDNER, P. S., McQUILLIN, J.: Butterworth, London (1980).
2. YOLKEN, R. H.: J. Infect. Dis. 4, 35–68 (1982).

## Herzglykosidmonitoring an der 1. Medizinischen Universitätsklinik Wien 1979–1982

H. Rameis, Ingrid Rosei, Jutta Müntner, Margit Juran

1. Medizinische Universitätsklinik Wien,  
Abteilung für klinische Pharmakologie

Herzglykoside weisen eine enge therapeutische Breite auf und haben unter den gebräuchlichen Arzneimitteln die höchste Nebenwirkungsrate (1). Seit die Ausarbeitung zuverlässiger quantitativer Analysemethoden (2), die routinemäßige Überprüfungen der Serumkonzentrationen von Digoxin und Digitoxin auch in der Klinik ermöglichte, hat sich dieses Verfahren weit verbreitet mit dem Ziel, die Häufigkeit von Nebenwirkungen dieser Medikamente zu senken (3).

Seit 1979 werden an der 1. Medizinischen Universitätsklinik Wien im größeren Ausmaß Digoxin und Digitoxin routinemäßig radioimmunologisch bestimmt. Gemäß den internationalen Gepflogenheiten wurden die Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung folgendermaßen beurteilt: subtherapeutisch: Digoxin <0,8, Digitoxin <15 ng/ml; untere therapeutische Bereich: Digoxin 0,8–1,5, Digitoxin 15–25 ng/ml; obere therapeutische Bereich: Digoxin 1,5–2,5, Digitoxin 25–35 ng/ml; toxisch: Digoxin >2,5, Digitoxin >35 ng/ml.

Die Gesamtzahl der Digoxinbestimmungen stieg von 1979 bis 1982 von 410 auf 992, die der Digitoxinbestimmungen von 399 auf 999 pro Jahr an. Während bei Digitoxin in diesem Zeitraum ein statistisch signifikanter Abfall der subtherapeutischen und Anstieg der therapeutischen Serumkonzentrationen nachzuweisen war, konnte eine solche Veränderung bei der Inzidenz der Digoxinbestimmungen nicht nachgewiesen werden. Der Anteil der toxischen Serumkonzentrationen blieb unverändert, er betrug im Mittel für Digitoxin  $12,3 \pm 3,9$ , für Digoxin  $15 \pm 3,6\%$ .

Die Anforderungen von Herzglykosidbestimmungen im Serum stiegen im Zeitraum von 4 Jahren um mehr als das Doppelte an, sowohl bei Digoxin als auch bei Digitoxin, wobei sich der Anteil der toxischen Serumkonzentrationen nicht änderte. Ein erwünschter „ärztlicher“ Effekt des Herzglykosidmonitoring konnte nur beschränkt für Digitoxin (Veränderung der subtherapeutischen, Anstieg der therapeutischen Konzentrationen) gefunden werden.

## Literatur:

1. MOE, G. K., FARAH, A. F. in: The pharmacological basis of therapeutics, Ed Goodman, L. S., A. Gilman, The Macmillan Company, London, 4th edition, 877 (1971).
2. SMITH, T. W., BUTLER, V. P., JR., HABER, E.: Biochemistry 9, 331 (1970).
3. SMITH, T. W., HABER, E.: Annals New York Academy of Sciences 178, 332 (1971).

## Umweltverschmutzung „Passivrauchen“ – seine Objektivierung

F. Portheine

D-4460 Nordhorn

Das weltweite, luftunhygienische Übel „Passivrauchen“ hat durch höchstkritische Urteile hohen Stellenwert im Umweltschutz. Eigene elektronenmikroskopische, tyndallometrische und chemische Emissions- und Immissionsanalysen beweisen das lungengängige, biologisch und physikalisch aktive komplexe Aerosol. Stabiler Rauch enthält  $3 \times 10^9$  Partikel/ $\text{mm}^3$  Luft. Im Nebenstromrauch sind angereichert: 1. Wasserdampffüchtige Phenole, niedermolekulare Carbonylverbindungen, Nikotin; 2. Vierzeh verschiedene Carcinogene, wesentlich das hochaktive Nitrosamin 50mal stärker als im Hauptstrom; 3. Kohlenoxid hat sich mir als wichtigster Indikator für Ei-Untersuchungen in vielen tausenden Analysen bewährt; 4. Arsen, Cadmium und Polonium. Die komplexen, elektrophysikalischen Besonderheiten des Zigarettenrauches bewirken, daß Rauchmessungen wegen der Alterung der Aerosole, Adsorptionseffekte an amphoteren großflächigen Gebilden schlecht reproduzierbar sind.

Akutenwirkungen des Passivrauchens sind Augenbindehautreizung, Nasensymptome, Kopfschmerzen, Übelkeitsempfindungen. Die einfache „organoleptische, sinnesphysiologische allein relevante Prüfung“ beweist, daß 1. die Luft in verqualmten Räumen auf der Zunge brennt und die Augenschleimhäute reizt; 2. die Luft zum „Schneiden“ ist und Flachmatung bewirkt („Smoking stinks“).

Bereits Goethe hat die psychosomatische Problematik erkannt.

Es liegt ein multivectorielles System einer zivilisatorischen vermeidbaren aerogenen Belastung und unterschwelligen Intoxikation vor. Je nach Rauchkonzentration konnte ich 5–50 ppm CO nachweisen – in stark veräucherten Räumen CO-Werte bis zu 80 ppm. Stärkste Exposition fand ich in engsten, dichtgeschlossenen Kraftfahrzeugen. Hier ergab sich ein Gleichgewicht von 150–160 ppm durch Abatmung. Psychotrope, potentielle Verkehrsunfallgefährdung beim nichtrauchenden Kraftfahrzeuglenker! – Armster Passivraucher ist der Föt. Russels Untersuchung über Nikotingehalt von Blut, Urin sowie Speichel beim Passivrauchen werden diskutiert. Absoluter Rauchverbot in Flugzeugen, Speisegaststätten und Nahverkehrsmitteln ist ein Gebot der Mitmenschlichkeit.

## Biochemische und morphologische Aspekte verschiedener Osteosarkome

P. Quint<sup>1</sup>, J. Althoff<sup>1</sup>, H. J. Höhling<sup>1</sup>, A. Roessner<sup>2</sup>,  
E. Grundmann<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Medizinische Physik und

<sup>2</sup> Pathologisches Institut der Universität, D-4400 Münster

Um die Bildungsvorgänge bei Knochentumoren besser zu verstehen, wurden mit speziellen chemischen Verfahren, bei gleichzeitiger histologischer Kontrolle, vier Osteosarkome (OS) untersucht: A. eine seltene Variante eines multizentrischen sklerosierenden OS mit einer ungewöhnlich langen stationären Phase des OS-Wachstums, B. ein parossales OS, C. eine osteoblastische, die häufigste, OS-Form und D. ein anaplastischer hochmaligner Tumor. Die schockgefrorenen OS-Proben wurden in Kristallen in sich wiederholender Sequenz ca. 3 mm tief geschnitten. Zwischen jeder Schnittfolge von 100 µm wurde ein Schnitt für die histologische Kontrolle angefertigt. Alternierend wurden die Schnittereien ( $10 \times 10 \mu\text{m}$ ) einerseits direkt auf wichtige Ionen hin (Ca, K, Mg, P sowie  $\text{CO}_2$ ) untersucht. Andererseits wurde eine spezielle Pufferextraktion durchgeführt. Hierbei wurden die im Überstand befindlichen, also frei verfügbaren Ionen (Ca, K, Na und P) sowie Enzymaktivitäten (u.a. alkalische und saure Phosphatase) ermittelt. Im Rückstand wurden verbleibende Komponenten (z.B. K, Na, P, Hydroxyprolin) bestimmt (vgl. 1, 2).

Das OS C. entspricht in seiner Zusammensetzung der untersuchten Komponenten der Wachstumsphase im Bereich der maximalen Hypertrophie und des Ca-Einbaus, während das OS A. einen relativen P-Mangel und das OS B. einen relativen Ca-Mangel gegenüber der normalen Knochenbildung aufweist. Das OS D. entspricht einem nicht mineralisierten Gewebe unmittelbar vor Mineralisierungsbeginn. Die DNA-Gehalte und die K/Na-Verhältnisse der Rück-

stände der Sarkome zeigen eine interessante Abstufung entsprechend:  $D > C > B > A$ . Dieser Reihenfolge entspricht auch die Progredienz des klinischen Tumorwachstums.

## Literatur:

1. QUINT, P., ALTHOFF, J., HÖHLING, H. J. In: Osteogenese und Knochenwachstum. M. H. Hackenbruch, H. J. Reiter, M. Jägle (Hrsg.), S. 7–12. Thieme, Stuttgart (1982).
2. ALTHOFF, J., QUINT, P., KREFTING, E.-R., HÖHLING, H. J. Histochemistry 74, 541–552 (1982).

## Aminoglykosidantibiotika-Monitoring bei Frühgeborenen

H. Rameis, Ch. Popow

I. Medizinische Universitätsklinik Wien,  
Abteilung für klinische Pharmakologie und  
Department für Neonatologie der Universität Wien

Aminoglykosidantibiotika weisen eine enge therapeutische Breite auf und können bei Überdosierung erhebliche Nebenwirkungen, wie z. B. Nierenfunktionsstörungen, Gehörseinschränkungen etc., hervorrufen (1). Da diese Pharmaka vorwiegend renal eliminiert werden, empfiehlt sich die Überprüfung der Serumkonzentration und die Ausrichtung der Therapie nach diesen Ergebnissen besonders bei Patienten mit ungenügender Nierenfunktion (2).

Frühgeborene Kinder weisen eine Unreife der Nierenfunktion auf und müssen gegebenenfalls wegen schwerer Erkrankungen auch mit Aminoglykosidantibiotika behandelt werden.

Seit 1981 wird die Therapie von mit Aminoglykosidantibiotika behandelten Frühgeborenen mittels Drug-Monitorings überwacht, wobei „pre dose“ und „post dose levels“ gemessen und entsprechend den internationalen Gepflogenheiten beurteilt werden. Die Aminoglykosidkonzentrationen werden mittels Radioimmunoassay bestimmt: Gentamicin, Sisomicin und Tobramycin mit einem Clinical Assays-Kit, Amikazin und Netilmicin mit einem von American Diagnostics.

Im Beobachtungszeitraum wurde folgendes Befundmuster erhoben:

Medikament	Zahl	unterdosiert	therapeutisch wünschenswert	toxisch
Gentamicin	44	8	23	13
Sisomicin	8	0	7	1
Tobramycin	4	4	0	0
Amikazin	7	3	3	1
Netilmicin	14	1	9	4
Gesamt	77	16 (20,8%)	42 (54,5%)	19 (24,7%)

Die Serumkonzentrationen lagen insgesamt nur in etwa der Hälfte der Fälle in einem therapeutisch wünschenswerten Bereich, zu 20,8% waren sie therapeutisch nicht effektiv und zu 24,7% waren sie toxisch. Zur Optimierung einer Aminoglykosidantibiotikatherapie und zur Vermeidung unerwünschter Nebenwirkungen erscheint das Aminoglykosidmonitoring bei Frühgeborenen als unerlässlich.

## Literatur:

1. HITZENBERGER, G.: DMW 36, 1805 (1971).
2. RAMEIS, H., HITZENBERGER, G., JASCHKE, I., GRANINGER, W.: DMW 47, 1650 (1980).

## Neopterin als biochemischer Indikator zur Erfassung zellulärer Immunantworten

G. Reibnegger, D. Fuchs, A. Hausen, Ch. Huber,  
D. Niederwieser, H. Wachter

Institut für Medizinische Chemie und Biochemie,  
Klinik für Innere Medizin, Universität Innsbruck

Die Neopterinbestimmung im Harn wurde ursprünglich als Tumormarker eingeführt (1). Schon erste Untersuchungen zeigten erhöhte Neopterinwerte bei Patienten mit viralen Infekten (1). In-vitro-Experimente wiesen darauf hin, daß Neopterin von T-Lymphozyten bei allogener Stimulation ausgeschieden wird, nicht dagegen von

allen anderen Zellen des hämatopoetischen Systems oder von Tumorzellen (2, 3). Diese Ergebnisse veranlaßten uns, die Neopterinabscheidung bei anderen Erkrankungen zu untersuchen, bei denen eine Aktivierung von T-Lymphozyten erfolgt.

Bei Allotransplantatempfängern (Niere, Leber, Pankreas, Knochenmark), bei Patienten mit Tuberkulose, primärer chronischer Polyarthrit, Kontaktdermatitis, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und viralen Infekten wurden in aktiver Erkrankung signifikant erhöhte Durchschnittswerte gefunden. Langzeituntersuchungen ergaben, daß die Neopterinbestimmung im Harn sehr gut mit bisher in der klinischen Praxis verwendeten Parametern korreliert und z.T. früh und empfindlich Änderungen des Krankheitsbildes anzeigt.

Neopterin ist somit ein leicht bestimmbarer, biochemischer Marker zur Erfassung der T-Zell-vermittelten Immunantwort.

## Literatur:

1. WACHTER, H., HAUSEN, A., GRASSMAYR, K.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 360, 1957–1960 (1979).
2. FUCHS, D., HAUSEN, A., HUBER, Ch., MARGREITER, R., REIBNEGGER, G., SPIELBERGER, M., WACHTER, H.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 661–664 (1982).
3. HUBER, Ch., FUCHS, D., HAUSEN, A., MARGREITER, R., REIBNEGGER, G., SPIELBERGER, M., WACHTER, H.: J. Immunol. in press.

## Glykosylierte Hämoglobine. Bildung und Beseitigung der Aldiminform

H. Reinauer

Lehrstuhl für klinische Biochemie  
und Biochemische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts  
an der Universität Düsseldorf

Glykosylierte Hämoglobine (Glykohämoglobine, „schnelle Hämoglobine“, HbA<sub>1c</sub>) sind Kondensationsprodukte von Hämoglobin mit Glucose bzw. Glucosederivaten. Bei dieser nichtenzymatischen Reaktion von Aminogruppen mit der offenen Aldehydform der Glucose entsteht intermediär eine Aldiminform, die sich nach Amadori in eine stabile Ketoaminform umlagert. Die Umlagerung der Aldiminform in die stabile Ketoaminform verläuft 50–60mal langsamer als die Dissoziation der Aldiminform in Glucose und Hämoglobin. Da nur die offene Aldehydform der Glucose in die Reaktion eingeht, können Acetaldehyd aber auch andere im Blut vorkommenden Verbindungen mit den Aminogruppen der Hämoglobine zu einem entsprechenden Imin reagieren. Hieraus lassen sich die mannigfachen Störmöglichkeiten der Analyse der glykosylierten Hämoglobine ab, wenn die Analyse aufgrund der chromatographischen oder elektrophoretischen Eigenschaften der Glykohämoglobine erfolgt.

Bei schlecht eingestelltem Diabetes mellitus sind die glykosylierten Hämoglobine erhöht, sowohl die Aldimin- als auch die Ketoaminform. Da für die Langzeitkontrolle der diabetischen Stoffwechsellaage nur die Ketoaminform Auskunft gibt, muß die labile Aldiminform bei chromatographischen Analysen beseitigt oder gesondert erfaßt werden. Die Beseitigung der Aldiminform kann erfolgen durch Dialyse, pH-Shift oder chemische Elimination (Transschiffisierung). Die einzelnen Verfahren der Elimination werden erklärt. Die chemische Elimination gelingt mit Semicarbazid, das dem Hämoglobinsystem zugesetzt ist. Die Reaktion von Semicarbazid mit Schiff-Basen wird anhand von Modelluntersuchungen erklärt. Durch Beseitigung der Aldiminform wird die Richtigkeit der chromatographischen und elektrophoretischen Analyse verbessert.

Abschließend wird die Bedeutung der Aldiminform für die retrospektive Kurzzeitanalyse der diabetischen Stoffwechsellaage diskutiert.

## Leistungsanforderung an die Elementaranalytik in biologischen und medizinischen Proben

H. Reinauer

Lehrstuhl für klinische Biochemie und  
Biochemische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts  
an der Universität Düsseldorf

Während es für die Spurenelemente Eisen, Kupfer, Zink, Jod, und Fluor geeignete Analysenverfahren und definierte Normbereiche gibt, gibt es für andere Spurenelemente und Schadstoffe erhebliche

analytische Probleme und daher auch Schwierigkeiten bei der Definition von Normbereichen bzw. Toleranzgrenzen. Noch größer ist das Problem bei den Organgehalten dieser Spurenelemente.

Es wird daher ein Katalog der Leistungsanforderungen der Medizin an die Spurenelementanalytik vorgelegt. Diese Anforderungen betreffen:

1. Normalwerte der Konzentrationen in Körperflüssigkeiten.
2. Standardisierung der Probennahme.
3. Standardisierung der Probenvorbereitung.
4. Einfaches und empfindliches Analysenverfahren.
5. Bessere Richtigkeit und Präzision.
6. Kenntnis des Bedarfs.
7. Schicksal der Spurenelemente im Organismus.
8. Geeignete Therapiekontrollen.
9. Möglichkeit zur retrospektiven Aussage.

Ein weiterer Schwerpunkt künftiger analytischer Arbeiten muß die Bestimmung der chemischen Form und der freien Konzentration der Spurenelemente im Blut und in den Geweben berücksichtigen. Eine besondere Bedeutung kommt auch den Metallthionenen zu. Schließlich müssen weitere Kenntnisse über den Wirkungsmechanismus der Spurenelemente, aber auch der Schadstoffe und über ihre Elimination aus dem Organismus gewonnen werden. Ein Fortschritt in der klinischen Anwendung der Spurenelementanalytik kann nur bei intensiver Zusammenarbeit des Analytikers mit dem anfordernden Arzt bzw. der Institution erzielt werden.

## Therapeutic Drug Monitoring – Indikation und Interpretation

N. Rietbrock

*Abteilung für Klinische Pharmakologie, Klinikum der Universität Frankfurt (Main)*

„The time may be approaching when each patient might need an individualized dosage regimen.“ Diese Äußerung von B. Brodie anläßlich einer Gedächtnisvorlesung am New York University Medical Center im Jahr 1967 markiert eine Abkehr von einem Dosierungsschematismus und die Hinwendung zu einer individuell angepaßten Dosierung.

Das Konzept anhand klinischer Wirkungsparameter zu verwirklichen ist bislang aber nur in wenigen Fällen gelungen. Ob Konzentrationsbestimmungen von Arzneimitteln eine größere Bedeutung zukommt, wird nach wie vor kontrovers diskutiert. Da das eine Vorgehen das andere nicht ausschließt, hat der Arzt im Einzelfall das Für und Wider sorgfältig abzuwägen.

Die individuelle Dosisanpassung mit Hilfe von Konzentrationsmessungen resultiert aus der großen Variationsbreite der Dosis-Wirkungs-Beziehung von Arzneimitteln mit geringer therapeutischer Breite. Sie dient der Verbesserung der Wirksamkeit und der Verminderung des Intoxikationsrisikos. Sie erlaubt eine Anpassung der Dosis an die jeweilige Krankheitssituation.

Die Interpretation hat neben der spezifischen und genauen Messung von Ausgangssubstanz oder wirksamer Metaboliten, die Zeit zwischen Dosis und Probenentnahme und insbesondere den parallelen Verlauf von Wirkung und Konzentration zu berücksichtigen. Einen Nutzen darf man sich von den Arzneimitteln erwarten, die in erheblichem Umfang metabolisiert werden, die ein relativ kleines Verteilungsvolumen aufweisen oder ihre Wirkung nahe dem zentralen Kompartiment entfalten. Ein großes Verteilungsvolumen mindert aber in der Regel nicht den Wert einer Konzentrationsbestimmung, auch wenn diese Meinung häufig geäußert wird. Das Verhältnis von Serum- zu Gewebekonzentration ist wegen der großen Fluktuation der Serumkonzentrationen häufig nicht als konstant anzusehen. Erst wiederholte Messungen der Serumkonzentrationen ergeben in einem solchen Fall einen verlässlichen Eindruck über das Kumulationsverhalten eines Arzneimittels.

Konzentrationsbestimmungen dürfen und können eine subtile klinische Beobachtung niemals ersetzen. Häufig vermitteln sie eine unbegründete Sicherheit in den Fällen, wo eigentlich Skepsis gegenüber dem eingesetzten Dosierungsschema angebracht wäre.

## Grafische Dokumentation und systemtheoretische Auswertung endokrinologischer Funktionstests

W. Renn, J. Bohner, J. Dilger, M. Eggstein

*Medizinische Universitätsklinik Tübingen, Abt. Innere Medizin IV*

Um den Informationsgehalt endokrinologischer Funktionstests zu verbessern, werden neben den herkömmlichen Größen zunehmend neue Parameter bestimmt. So mißt man nach oraler Glukosebelastung häufig Blutglukosespiegel; Insulin und C-Peptid, beim TRF-Test sowohl TSH als auch Prolactin und STH. Die dabei entstehende „Datenfülle“ erfordert neue Methoden der Dokumentation und Auswertung. Die bloße Darstellung der Ergebnisse als reine Zahlenwerte ist unübersichtlich und verschleiert den eigentlichen Informationsgewinn.

Daher stellen wir die Befundausgabe endokrinologischer Funktionstests in Form einer Druckergrafik mit gleichzeitiger systemtheoretischer Auswertung vor. Das dabei benutzte mathematische Modell enthält die wesentlichen Charakteristika des zu untersuchenden biologischen Regelkreises. Mit Hilfe der Lösungskurven dieses Modells wird zwischen den Meßpunkten nicht-linear interpoliert; ein Schnelldrucker gibt neben den einzelnen Meßpunkten und Zahlenwerten die so ermittelten Kurvenzüge aus. Die Darstellung der Methode erfolgt anhand verschiedener Modifikationen der oralen Glukosebelastung und des TRF-Tests.

Ergebnisse:

1. Die Ausgabe mit dem Schnelldrucker gewährleistet eine rasche Befunderstellung.
2. Durch diese Befundpräsentation entsteht ein umfassendes und übersichtliches Bild vom Ablauf der Untersuchung.
3. Die mathematische Auswertung ermöglicht die exakte Bestimmung von Zeitpunkt und Höhe der Maxima aller Parameter. Auch bei festen Abnahmzeiten lassen sich so die interindividuellen Unterschiede dieser Größen erfassen.
4. Mit Hilfe der Systemtheorie können auch abgeleitete Größen, wie Clearance, Bioverfügbarkeit oder Insulinresistenz direkt berechnet und auf den Befunden ausgegeben werden.

Die grafische Dokumentation erweitert die diagnostische Aussage endokrinologischer Funktionstests und erleichtert deren Beurteilung durch den Kliniker.

## Die Bedeutung der Bestimmung von Apolipoproteinen im klinischen Labor

W. F. Riesen, R. C. Mordasini

*Institut für klinische Eiweißforschung der Universität Bern*

Die Analyse des Risikofaktors Hyperlipoproteinämie gehört zum Routineprogramm des kardiovaskulären Check-up. Zunächst wurden nur Cholesterin und Triglyzeride gemessen, später kamen die Lipoproteinelektrophorese und die Untersuchung der einzelnen Lipoproteinfraktionen nach Ultrazentrifugation hinzu. Die Messung von LDL- und HDL-Cholesterin ergab zwar gegenüber der Lipidbestimmung im Vollserum gewisse zusätzliche Informationen, die Abklärung der Atherogenität blieb jedoch eine aufwendige Arbeit ohne großen Ertrag für den Einzelfall. Mit der Messung der Trägereweisse der Blutfette, der Apolipoproteine, könnte sich diese Situation ändern. Im Vordergrund stehen heute die Bestimmungen der Apolipoproteine B und A-I. Apo B ist das einzige Trägereweisse der atherogenen LDL, apo A-I das dominierende Protein der HDL, denen eine anti-atherogene Wirkung zugeordnet wird. Erste Studien haben gezeigt, daß die Messung der Apolipoproteine B und A-I eine gegenüber der Lipidanalyse verbesserte Beurteilung der Atherogenität möglich macht. So wurde insbesondere deutlich, daß auch beim normolipidämischen Patienten mit koronarer Herzkrankheit erhöhte apo B-Werte ein atherogenes Risiko anzeigen können und daß in diesen Fällen oft verminderte apo A-I Spiegel vorliegen.

Die quantitative Bestimmung wichtiger Apolipoproteine, insbesondere von apo B und apo E-2 (Typ III-Hyperlipoproteinämie) gestattet ferner zusammen mit der Messung von Cholesterin und Triglyzeriden

eine recht gute Beschreibung der verschiedenen Typen von Hyperlipoproteinämien ohne Elektrophorese oder Ultrazentrifugation. Schließlich erlaubt die Messung bestimmter Apolipoproteine Aussagen über die Pathogenese gewisser Fettstoffwechselstörungen (so z. B. ein Mangel an apo C-II als Ursache einer Chylomikronämie), was zukünftig auch therapeutisch bedeutungsvoll werden könnte.

## Lymphozytäre Oberflächenmarker bei paraproteinämischen Hämoblastosen

C. Ricci, G. Cascio, D. Borrone, L. Marchi, T. Bozzone, P. Borello, M. Altissimo

Erste Medizinische Universitätsklinik Turin

Qualitative und quantitative Untersuchungen mit B- und T-Lymphozyten von Suspensionen lebender Zellen von peripherem Blut und Knochenmark werden bei paraproteinämischen Hämoblastosen zunehmend vorgenommen.

Sie verfolgen gemeinsame Ziele, die sich so zusammenfassen lassen:

1. Der Nachweis von Immunoglobulinen auf der Lymphozytenoberfläche durch fluoreszenzmarkierte, spezifische Schwer- und Leichtketten Fab-Antisera ermöglicht die Identifizierung von monoklonalen B-Lymphozyten.

2. Einblick in die Transformations- und Entwicklungsstadien der B-Lymphozyten durch ändernde Oberflächencharakteristika und die durch T-Lymphozyten gesteuerte Regulation der B-Proliferation. Dabei ist die Würdigung der zahlreichen Einzelbefunde nicht immer leicht, sie hat methodologische Schwierigkeiten zu berücksichtigen. Unsere Untersuchungen wurden an Knochenmarks- und Blutlymphozyten von 35 Fällen von paraproteinämischen Hämoblastosen durchgeführt. Bei verschiedenen, jahrelangen Kontrollen konnte bei allen Fällen von IgG-Plasmazytomen eine monoklonale Lymphozytenbevölkerung nachgewiesen werden. B-Lymphozyten-Oberflächenmarker waren häufig durch IgM und IgD-Koexpression gekennzeichnet.

IgM-Oberflächenmarker war bei den Blutlymphozyten der Walderströmschen Makroglobulinämie immer vorhanden.

Die Blutlymphozyten der Patienten, an monoklonalen Gammopathien von unklarer Bedeutung leidend, hatten keine IgG-Oberflächenmarker.

In mehr als 50% der gemeinsamen paraproteinämischen Hämoblastosen konnten wir eine quantitative und qualitative T-Lymphozytenkomposition nachweisen. Zusammenfassend sind wir überzeugt, daß die Oberflächenmarker-Bestimmung der Knochenmarks- und Blutlymphozyten tief in die verschiedenen Entwicklungsstadien der paraproteinämischen Hämoblastosen Einblick gewährt und so eine Klärung der Bedeutung einer Störung der Immunregulation in der Pathogenese dieser Erkrankungen erbringen kann.

## Alters- und geschlechtsabhängige Veränderungen humaner T-Lymphozytenpopulationen

U. Rodeck<sup>1</sup>, E. Kuwert<sup>1</sup>, H.-O. Keineke<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Medizinische Virologie und Immunologie und

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Informatik und Biomathematik am Universitätsklinikum der GHS Essen

Unter dem Eindruck der altersassoziierten Veränderung zahlreicher Immunparameter wurden bei 231 gesunden Probanden T-Lymphozyten (T3+-Zellen), T-Helfer-Lymphozyten (T4+-Zellen) und T-Suppressor-Lymphozyten (T8+-Zellen) mit Hilfe monoklonaler Antikörper der OK-Serie bestimmt.

In Vorversuchen zur Präzision der Methode konnten wir Variationskoeffizienten feststellen, die im Bereich der entsprechenden Koeffizienten bei Radioimmunoassays lagen. In beiden Geschlechtern ist ein progredienter Abfall von Suppressor-Lymphozyten mit fortschreitendem Alter anzutreffen (Abnahme von ca. 20% auf ca. 13% der Lymphozytenpopulation;  $p = 0,0004$  in der Varianzanalyse), während die T-Helfer-Zellen über alle Altersstufen relativ konstant blei-

ben. Diese Konstellation führt zu einer Verlagerung des Verhältnisses von Helfer- zu Suppressorzellen ( $T_H/T_S$ -Quotient) zugunsten der Helferzellen in höheren Altersstufen [ $T_H/T_S$ -Quotient in der Altersgruppe 15 bis 30 Jahre:  $2,6 \pm 0,1$  ( $\bar{x} \pm s_x$ ); in der Altersgruppe 60 bis 75 Jahre:  $4,7 \pm 0,7$ ]. Aufgrund der beim weiblichen Geschlecht höheren Helferzellzahlen haben Frauen gegenüber Männern in allen Altersstufen höhere  $T_H/T_S$ -Quotienten (z. B. in der Altersgruppe 30 bis 45 Jahre:  $\bar{x} = 2,6/3,4$ ). Es besteht allgemein eine sehr große physiologische Streuung der Einzelparameter sowie des  $T_H/T_S$ -Quotienten.

Die umfangreichen Untersuchungen an gesunden Probanden im Alter von 5 bis 97 Jahren unterstreichen alters- und geschlechtsabhängige Veränderungen der immunologischen Reaktivität, gemessen an den regulatorischen T-Zellpopulationen. Da gleichsinnige Veränderungen auch bei Autoimmunerkrankungen, z. B. beim Lupus erythematoses disseminatus in Abhängigkeit vom Krankheitsprozeß beobachtet wurden, kann man den insbesondere bei Frauen und in mittleren und höheren Altersstufen beobachteten zunehmenden Helferzeileinfluß als prädisponierenden Faktor im Sinne der Immunsregulation bei diesen Erkrankungen betrachten.

## Neue Möglichkeiten der Enterovirusdiagnostik durch den Nachweis spezifischer Antikörper der IgM-Klasse

M. Roggendorf, W. Blobner, W. Kallender, J. Niebel, F. Deinhardt

Max-von-Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität München

Zum Nachweis spezifischer Antikörper der IgM-Klasse gegen die 5 serologischen Typen der Coxsackie B-Viren wurde ein Enzymimmunoassay (EIA) entwickelt.

Das Testprinzip basiert auf der Bindung von Antikörpern der IgM-Klasse aus den Patientenserum an eine Festphase mit einem  $\mu$ -Ketten-spezifischen Antihuman-IgM. In einem weiteren Inkubationsschritt werden die verschiedenen Coxsackie B-Virusantigene zugegeben. In einem letzten Inkubationsschritt werden Peroxidase-gekoppelte Antikörper gegen Coxsackie B<sub>1</sub>–B<sub>5</sub> zugegeben. Als Substrat wurden Orthophenyldiamin und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zugesetzt. Die enzymatische Reaktion wurde nach 30 min durch die Zugabe von H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gestoppt.

Zur Bestimmung der Empfindlichkeit des Testsystems wurden Seren von Patienten aus der Akutphase und der Rekonvaleszenzphase der Infektion getestet. Bei diesen Patienten wurden Coxsackie B-Typen aus dem Stuhl isoliert. Zu Erkrankungsbeginn konnten spezifische Antikörper der IgM-Klasse bis zu Serumverdünnungen von  $10^{-4}$ – $10^{-2}$  Monate später immer noch in einer Verdünnung von  $10^{-2}$  nachgewiesen werden. Die Testung der Persistenz der IgM-Antikörper ergab, daß IgM-Antikörper in der Regel 2–3 Monate nach Erkrankungsbeginn nachweisbar bleiben. Zur Prüfung der Spezifität des Testsystems wurden Seren von Patienten mit anderen akuten Virusinfektionen getestet. Bei Seren von Patienten mit frischen Röteln (15), Hepatitis A (20), Hepatitis B (20), Epstein-Barr-Virusinfektionen (15) wurden keine falsch positiven Reaktionen beobachtet. In Seren von Patienten, bei denen Echoviren aus dem Stuhl isoliert worden waren (Echo 9, 11 und 25) wurden allerdings Kreuzreaktionen im ELISA zum Nachweis von spezifischen Antikörpern der IgM-Klasse beobachtet. Diese Kreuzreaktion mit IgM-Antikörpern gegen Echoviren mindert die Aussage der Testergebnisse in diesem ELISA. Ein positives Ergebnis ermöglicht allerdings die Aussage, daß bei dem Patienten ein frischer Enterovirus-Infekt vorliegt.

## Neonatale B-Streptokokken-Kolonisation in unserer Neugeborenen-Intensivereinheit

L. Salgó, P. Hencz, Anna Ábrahám

Universitäts-Kinderklinik, Szeged, und Röntgenologische Abteilung, Krankenhaus Szeged, Ungarn

In den Jahren 1977–1982 wurden in der Universitäts-Kinderklinik in Szeged 1504 Neugeborene untersucht, um die B-Streptokokken-Kolonisation und -infektion nachweisen zu können. In 39 Fällen

(25,9%/<sub>oo</sub>) wurde eine Kolonisation und in 10 Fällen (6,6%/<sub>oo</sub>) eine „Early Onset Sepsis“ gefunden.

In der durch die Verfasser untersuchten Region war die vaginale bzw. zervikale Kolonisation bei den Schwangeren, unmittelbar vor der Geburt, 160%/<sub>oo</sub>. Bei den angesteckten Neugeborenen war die Atemnot das wesentlichste klinische Symptom. Durch Abnahme von Abstrichkulturen vom äußeren Gehörgang (72,7%), durch Blutkultur (71,4%), und Kultur und sofortige Mikroskopie vom Magenspirat (69,5%) wurde die Diagnose gesichert.

Nach Ansicht der Verfasser bedeutet die B-Streptokokken-Kolonisation bei den Neugeborenen, und besonders bei den Frühgeborenen, nicht in jedem Falle eine Infektion, doch das Risiko der Sepsis steigt, deshalb wird für die kolonisierten Neugeborenen meistens eine engmaschige klinische Beobachtung empfohlen.

## Der Metabolismus Apo-B enthaltender Lipoproteine des Humanserums

F. Sandhofer

1. Medizinische Abteilung, Landeskrankenanstalten Salzburg

Apolipoprotein B (Apo-B) ist ein wesentliches Strukturprotein der Chylomikronen, Lipoproteine sehr niedriger Dichte (VLDL), Lipoproteine intermediärer Dichte (IDL), Lipoproteine niedriger Dichte (LDL) und des Lipoproteins (a) [Lp(a)]. Chylomikronen dienen dem Transport von Nahrungsfett. Lymphchylomikronen enthalten vorwiegend Apo-A und Apo-B-48, im Blut nehmen sie von Lipoproteinen hoher Dichte (HDL) zusätzlich Apo-C und Apo-E auf. Sie werden durch die Lipoproteinlipase rasch abgebaut, wobei „Oberflächen“- und „Kern-Remnants“ entstehen. Die Oberflächen-Remnants werden auf HDL übertragen, die Kern-Remnants werden über ihr Apo-E an Rezeptoren der Leberzellen gebunden und abgebaut. VLDL werden in der Leber synthetisiert. Sie dienen dem Transport von endogenen Triglyceriden und Cholesterin. Ihr Proteinanteil besteht vorwiegend aus Apo-C, Apo-B-100 und Apo-E. VLDL werden durch die Lipoproteinlipase über IDL zu LDL abgebaut. Dabei werden zugleich mit der Lipolyse Cholesterin, Phospholipide, Apo-C und Apo-E auf HDL übertragen. Beim Abbau der IDL scheinen ihr Apo-E-Anteil und die hepatische Triglyceridlipase eine Rolle zu spielen. Beim Abbau der VLDL wird Apo-B wieder abgespalten, noch ausgetauscht und bildet schließlich das alleinige Apolipoprotein der LDL. LDL werden zum größeren Teil über spezifische Membranrezeptoren, zum übrigen Teil über einen Rezeptor-unabhängigen Mechanismus („Scavenger-Pathway“) abgebaut. Diesen Mechanismus scheint eine wichtige Rolle in der Atherogenese zuzukommen. Lp(a) wird als selbständiges Lipoprotein synthetisiert und als intaktes Partikel aus dem Plasma abtransportiert. Lp(a) wird von denselben Rezeptoren gebunden wie LDL. Mit radioaktiv markierten Lipoproteinen können quantitative Aussagen über die oben skizzierten Stoffwechselwege bei Normalpersonen und bei verschiedenen Stoffwechselstörungen gemacht werden.

## Bestimmung der MHK auf der biochemischen Artdiagnose auf Mikrotiterplatten unter Verwendung me- chanisierter Verfahren

W. Schiek, W. Bockhorst

Landeshygieneinstitut, D-2900 Oldenburg

Am Landeshygieneinstitut werden seit Juli 1979 die Antibiotogramme für aerobe Bakterien routinemäßig durch Bestimmung der MHK auf Mikrotiterplatten durchgeführt.

Jede MHK-Platte enthält entsprechend der DIN-Norm 16 Antibiotika in jeweils 5 verschiedenen Verdünnungen und für die fermentierenden gramnegativen Bakterien 10 Substrate für die biochemische Identifizierung, sowie 8–18 Wachstumskontrollen.

Im Nährbodenlabor werden zur Vermeidung von Konzentrationsfehlern die erforderlichen Antibiotika-Verdünnungen mit Müller-Hinton-Bouillon in 400 ml Volumina hergestellt und mit einem 96-Kanal-Dispenser auf die Mikrotiterplatten übertragen.

Die Qualität einer jeden Charge (250 Platten) wird intern mit 4 ATCC-Stämmen mit bekanntem MHK-Wert und durch Sterilitätskontrollen und extern durch regelmäßige Ringversuche mit 4 weiteren beteiligten Medizinaluntersuchungslabors überprüft. Die Platten können ohne Qualitätsverlust mindestens 3 Monate bei –30°C bis –35°C aufbewahrt werden.

Die diagnostischen Laboratorien erhalten die fertigen Platten, die hier mit den zu prüfenden Bakterien nach 3stündiger Vorkultivierung aus Reinkulturen in BHI-Bouillon mit einem halbautomatischen 96-Nadel-Inkulator beimpft werden.

Die Auswertung der MHK-Platten – die grundsätzlich auch automatisch erfolgen kann – ist u.E. einfacher und wesentlich exakter als z.B. das Ausmessen der Hemmhöhe im Agar-Diffusionstest, weil jeweils nur die Trübung oder Nichttrübung bzw. ein Sediment oder kein Sediment festgestellt werden muß. Die Ergebnisse sind sehr gut reproduzierbar und der Informationsgehalt wesentlich höher als beim Agar-Diffusionstest.

Von den bis Dezember 1982 161000 produzierten Platten wurden 44700 an 4 weitere Laboratorien (unter Beteiligung an der Produktion) abgegeben.

In unserer Hand ist das beschriebene Verfahren kostengünstiger als käufliche Systeme oder als der Agar-Diffusionstest, weil auch die biochemische Differenzierung im Makroverfahren gewfällt.

## Struktur und Biosynthese der Blutgruppenantigene

H. Schenkel-Brunner

Institut für Biochemie der Universität Wien

Für die Blutgruppeneigenschaften der menschlichen Erythrozyten sind teils Peptid-, teils Kohlenhydratstrukturen verantwortlich. Zu den Peptidantigenen zählen vor allem die Rhesusmerkmale, zu den Kohlenhydratantigenen die der Systeme ABO(H), Lewis, I und P. Im Rahmen dieser kurzen Übersicht sollen vor allem die Verhältnisse beim ABO(H-) und Lewis-System besprochen werden. Die Strukturen der wichtigsten Determinanten dieser beiden Systeme sind:

A: GalNAc(α1,3)[Fuc(α1,2)]Gal(β1,3/4)GlcNAc-  
B: Gal(α1,3)[Fuc(α1,2)]Gal(β1,3/4)GlcNAc-  
H: Fuc(α1,2)Gal(β1,3/4)GlcNAc-  
Le<sup>a</sup>: Fuc(β1,3)[Fuc(α1,4)]GlcNAc-  
Le<sup>b</sup>: Fuc(α1,2)Gal(β1,3)[Fuc(α1,4)]GlcNAc-

Diese Ketten werden im Organismus durch sequentielles Aneinanderreihen der einzelnen Monosaccharidreste mit Hilfe eines Satzes von unabhängigen Glycosyltransferasen aufgebaut. Diese Strukturen werden also durch das Zusammenwirken einer Reihe von Genen determiniert, wobei die Produkte der Blutgruppengene, bestimmte Glycosyltransferasen, erst am Schluß in diesen Biosyntheseprozess eingreifen und die entsprechenden Zuckereinheiten an ein bereits präformiertes Molekül übertragen. Untersuchungen über die Struktur und die Biosynthese der ABO(H-) und Lewis-Antigene haben bisher wertvolle Aufschlüsse über die Zusammenhänge zwischen Genotyp und auftretendem Blutgruppenphänotyp geliefert.

## Bestimmung von trizyklischen Antidepressiva und ihrer Metabolite im Plasma mit Hilfe der Gaschromatographie unter Verwendung von Kapillarsäulen

R. Schmid

Abteilung für Biochemische Psychiatrie,  
Psychiatrische Universitätsklinik Wien

Die Kontrolle von Plasmaspiegeln antidepressiver Medikamente ist für eine optimale Therapieführung bei depressiven Erkrankungen von



wesentlicher Bedeutung. Zur Bestimmung von trizyklischen Antidepressiva stehen zum heutigen Zeitpunkt im wesentlichen nur chromatographische Methoden zur Verfügung. Bei fast allen beschriebenen gaschromatographischen Methoden wird die Trennung der Antidepressiva über gepackte Säulen durchgeführt. Auf Grund der begrenzten Trennleistung dieser Säulen muß dabei ein erheblicher Verlust an Spezifität und Empfindlichkeit der Analyse in Kauf genommen werden. Es wurde daher die Möglichkeit der Verwendung von Quarzkapillarsäulen für die gaschromatographische Trennung und Analyse trizyklischer Antidepressiva und deren desmethylierten Metabolite geprüft. Bei Verwendung einer 12 m langen, „bonded“ SE-54 Quarzkapillarsäule ist eine ausgezeichnete Trennung von Amityptilin, Imipramin, Clomipramin und deren Metabolite zu erreichen. Auf Grund des sehr starken adsorptiven Verhaltens der desmethylierten Metabolite auf der Trennsäule kann dies jedoch nicht zur quantitativen Bestimmung der Medikamente verwendet werden. Daher mußte ein geeignetes Desaktivierungsverfahren für Kapillarsäulen entwickelt werden, welches nun ermöglicht, trizyklische antidepressive Drogen und ihre desmethylierten Metabolite auch im untersten Nanogrammbereich gleichzeitig quantitativ zu bestimmen. Diese gaschromatographische Methode wird unter Verwendung moderner Quarkapillarsäulenteknologie in Kombination mit einer raschen und effizienten Extraktion der Drogen aus dem Plasma zur Routine-Messung von trizyklischen Antidepressiva an der Psychiatrischen Universitätsklinik Wien eingesetzt.

## Bestimmung von Benzodiazepinen im Plasma mit Hilfe einer Rezeptorbindungsmethode

R. Schmid, G. Drexler, W. Sieghart  
Abteilung für Biochemische Psychiatrie,  
Psychiatrische Universitätsklinik Wien

Die Bestimmung von Benzodiazepinen im Plasma ist vor allem bei der Kontrolle antikonvulsiver Therapien und bei pharmakokinetischen Untersuchungen von Bedeutung. In jüngerer Zeit wurde ein spezifischer und hochaffiner Rezeptor für Benzodiazepine in Gehirnmembranen gefunden (1, 2). Die Bindung von Benzodiazepinen an diesen Rezeptor kann für eine einfache empfindliche und spezifische quantitative Bestimmung der Benzodiazepine verwendet werden (3). Dazu müssen aber die Benzodiazepine vorerst aus dem Plasma extrahiert werden, um mögliche Störungen der Bestimmungsmethode durch Plasmaproteine auszuschalten. Zu diesem Zweck wurde ein Extraktionsverfahren unter Verwendung kleiner „Reverse-phase“-Silikagelsäulen ausgearbeitet. Bei diesem Verfahren wird das Patienten- bzw. Kontrollplasma, dem zur Erstellung einer Eichkurve bekannte Mengen des zu bestimmenden Benzodiazepins zugesetzt wurden, auf die Extraktionssäulen aufgetragen. Die Probenmatrix wird anschließend durch Waschen entfernt, und die Benzodiazepine werden hierauf mit einer kleinen Menge eines organischen Lösungsmittels von den Säulen eluiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Elutionsrückstand direkt für die Bestimmung der Benzodiazepine mittels der Rezeptorbindungsmethode verwendet. Dabei werden die zu bestimmenden Proben direkt mit Pufferlösung, Rattenhirnmembranen und radioaktivem Flunitrazepam inkubiert. Anschließend werden die Proben filtriert, die Filter gewaschen, und hierauf wird die Radioaktivität am Filter im Szintillationszähler bestimmt. Die Konzentration der Benzodiazepine in den Proben wird hierauf aus der durch die Probe bewirkten Hemmung der Bindung von <sup>3</sup>H-Flunitrazepam an Gehirnmembranen mittels einer geeigneten Eichkurve bestimmt. Die beschriebene Rezeptorbindungsmethode ist sehr spezifisch für Benzodiazepine und, je nach Affinität des zu bestimmenden Benzodiazepins für den Rezeptor, auch äußerst empfindlich. Für die Bestimmung von Benzodiazepinen mit Hilfe dieser Methode werden nur 100–200 µl Plasma benötigt, und auf Grund der Einfachheit der Methode kann eine große Anzahl von Proben gleichzeitig bestimmt werden.

## Bestimmung von Glucitolysin zur Quantifizierung von nichtenzymatischer Glykosylierung mittels Ionenaustausch- und „Reverse-phase“-Flüssigkeitschromatographie

R. Schmid, A. Pollak, W. Vycudilik, H. Coradello, A. Lischka, G. Lubec

Universitäts-Kinderklinik, Universitätsklinik für Psychiatrie und Gerichtsmedizinisches Institut der Universität Wien

Eine exakte Quantifizierung der nichtenzymatischen Glykosylierung (NEG) ist von großer Bedeutung, da diese postsynthetische Proteinmodifikation auch Veränderungen der Proteinfunktion zur Folge hat. Die derzeit angewendeten Markierungstechniken mit radioaktiven Substanzen zur Messung von NEG haben wesentliche Nachteile (1).

Es wird eine neue Methode zur Bestimmung von Glucitolysin aus reduzierten und hydrolysierten Seren von diabetischen und nichtdiabetischen Patienten beschrieben. Diese Methode ist empfindlich und spezifisch, und besteht aus einer Aminosäureionenaustauschchromatographie mit anschließender „High-performance-reverse-phase“-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Fluoreszenzdetektion. Die Charakterisierung und Identifikation von Glucitolysin wird mittels Massenspektroskopie durchgeführt. Es besteht eine signifikante lineare Korrelation von Glucitolysin, bestimmt mittels HPLC, und glykosyliertem Serumprotein (2) bestimmt mittels des Thiobarbitursäure-Assays ( $r = 0,88$ ;  $p < 0,001$ ). Mit der angegebenen Methode ist eine genaue Bestimmung von NEG der  $\epsilon$ -Aminogruppen von Lysinresten verschiedenster Proteine möglich.

### Literatur:

1. TRUEB, B., HUGHES, C. J., WINTERHALTER, K. H.: Synthesis and quantitation of glucitolysine, a glycosylated amino acid elevated in proteins from diabetics. *Analyt. Biochem.* 119, 330–334 (1982).
2. POLLAK, A.: Die Glykosylierung des Hämoglobins: Bedeutung für den Diabetes mellitus. *Probleme der perinat. Med.* Vol. 8, 1980.

## Möglichkeiten der Diagnostik akuter Epstein-Barr-Virus-(EBV-)Infektionen

H. Schmitz  
Abteilung für Virologie, Tropeninstitut, Hamburg

Die akute EBV-Infektion äußert sich klinisch meist als Infektiöse Mononukleose (IM). Zur Feststellung dieser Erkrankung haben wir kürzlich ein neues Verfahren publiziert: Hierbei werden ähnlich wie bei dem von uns entwickelten Cytomegalie-Virus-IgM-Test mit anti- $\mu$ -Antiserum beschichtete Mikrotiterplatten verwendet. Nach Bindung der menschlichen IgM-Antikörper wird die Anwesenheit virus-spezifischer IgM-Antikörper mit einem enzym-markierten Virusantigen (enzyme-labeled antigen: ELA) nachgewiesen (H. Schmitz, J. Clin. Microbiology 16, 361–366 (1982)).

Wir haben die Effizienz der neuen Methode mit einer ganzen Reihe anderer Tests (anti-EBNA-Test, indirekte Immunofluoreszenz auf IgM- und IgG-Antikörper gegen EBV, Paul-Bunnell-Test) verglichen.

Mit der Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen EBV-Virus lassen sich keine sicheren Hinweise auf eine akute IM erhalten. Dagegen ist für die Diagnostik akuter EBV-Infektionen der ELA-IgM-Test sehr geeignet. Auch zeigt er im Gegensatz zum indirekten Immunofluoreszenztest selten falsch positive Resultate. Auch mit der anti-EBNA-EBV-IgG-Kombination erhält man praktisch keine falsch positiven Resultate, allerdings kommen falsch negative Ergebnisse relativ häufig vor, weil in Spätersen von akut EBV-Infizierten bereits anti-EBNA-Antikörper nachzuweisen sind.

Nach Auswertung von 548 Patientenserum konnten wir zeigen, daß die anti-EBNA-EBV-IgG-Kombination die höchste Spezifität, jedoch geringere Sensitivität besitzt. Der ELA-IgM-Test zeigt eine gute Sensitivität und Spezifität. Allerdings können optimale Ergebnisse nur durch die Kombination beider Verfahren erhalten werden.

Abschließend muß betont werden, daß die hohe Empfindlichkeit des ELA-IgM-Testes ganz erheblich von der Qualität des ELA-Reagenzien abhängt, für dessen Herstellung nur gut Virus-produzierende Zellen verwendet werden dürfen.

### Literatur:

1. MÖHLER, H. et al.: *Science* 198, 849–851 (1977).
2. SQUIRES, R. C. et al.: *Nature* 266, 732–734 (1977).
3. SKOLNICK, P. et al.: *Arch. Gen. Psychiatry* 36, 78–80 (1979).

## Isoamylasebestimmung: Klinische Wertigkeit:

F. J. Schott, J. D. Kruse-Jarres

Klinisch-Chemisches Institut des Katharinenhospitals Stuttgart

$\alpha$ -Amylasewerte, die häufig nicht zum klinischen Bild passen, erfordern eine Trennung nach Pankreas- und Speichela Amylase. Die vorliegende Studie befaßt sich mit der Erstellung eines Normalbereichs für Isoamylasen, mit der Korrelation der Isoamylase zur Lipase und zum klinischen Bild und mit der Mechanisierbarkeit einer Isoamylasemethode.

Die  $\alpha$ -Amylasenbestimmung mit Maltotetraose als Substrat (2) wurde durch Zusatz von Speichela Amylaseinhibitor zu einem Isoamylasetest erweitert. Dabei zeigte sich, daß Maltotetraose ein viel leichter spaltbares Substrat für die Speichela Amylase ist als blockierte Stärke. Eine vorläufige Normalbereichsstudie an 200 Blutspendern ergab einen Normalbereich von 6–31 U/l für Gesamta Amylase, 2–11 U/l für Pankreasa Amylase und 1–23 U/l für Speichela Amylase (jeweils Mittelwert  $\pm$  2s). Demnach wird im Normalerum mit Maltotetraose im Gegensatz zu Stärke eine höhere Speichela Amylase im Vergleich zur Pankreasa Amylase nachgewiesen. Das Verhältnis beträgt ca. 2:1. Dagegen ist das Verhältnis mit Stärke als Substrat kleiner als 1 (1,3).

Die Untersuchung von 70 Patienten, bei denen erhöhte Gesamta Amylase gemessen wurden, ergab bei der Isoamylasebestimmung folgende Isoenzymverteilung: 21 Seren hatten erhöhte Werte für die Speichela Amylase, 39 Seren erhöhte Werte für die Pankreasa Amylase und bei 10 Seren waren die Aktivitäten beider Isoenzyme im oberen Normalbereich. Von den 39 Seren mit erhöhten Werten für die Pankreasa Amylase, hatten 31 auch erhöhte Lipasewerte, während bei 21 Seren mit erhöhter Speichela Amylase alle Lipasewerte im Normalbereich lagen. Eine Korrelation der Gesamta Amylasewerte mit den Lipasewerten zeigte einen Korrelationskoeffizienten von 0,4. Dagegen war der Korrelationskoeffizient mit 0,72 für die Korrelation der Pankreasa Amylase mit der Lipase deutlich besser. Bei 10 Patienten mit erhöhten Gesamta Amylasewerten, aber normalem Wert für Pankreasa Amylase konnte in keinem Fall eine Pankreaserkrankung nachgewiesen werden. Dagegen wurde in einem charakteristischen Fall mit normaler Gesamta Amylase (15 U/l) und erhöhter Lipase ein erhöhter Wert für die Pankreasa Amylase (13 U/l) gemessen. Hierbei handelt es sich trotz normaler Gesamta Amylase um eine klinisch gesicherte Begleitpankreatitis bei Cholestase nach OP.

Die Methode konnte inzwischen auf den Cobas adaptiert werden. Bei den Werten im mittleren Normalbereich ergab sich eine Präzision von besser als 10% von Tag zu Tag.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Isoamylasebestimmung die diagnostische Aussage der Amylasebestimmung entscheidend verbessert. Betrachtet man nur die Werte der Gesamta Amylasebestimmung als Parameter für die Pankreasdiagnostik, dann erhält man in über 30% der Fälle, bedingt durch die Speichela Amylase, falsch positive Ergebnisse.

### Literatur:

1. O'DONNELL, M. D., FITZGERALD, O., McGEENEY, K. F.: Clin. Chem. 23, 560–562 (1977).
2. PIERRE, K. J., TUNG, K. K., NADJ, H.: Clin. Chem. 22, 1219 (1976).

3. Studie der Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden.

## Plasminogen-, $\alpha_2$ -Antiplasmin- und Antithrombin-III-Bestimmungen bei Patienten mit Nieren- und Hochdruckkrankheiten

J. Schrader, C. Züchner, H. Köstering, F. Scheler

Medizinische Universitätsklinik, Abteilung für Nephrologie, Göttingen

Bestimmungsmethoden des Plasminogens, des  $\alpha_2$ -Antiplasmins und des Antithrombin III wurden anhand der Korrelationskoeffizienten (KK), der Mittelwerte und Standardabweichungen (MW  $\pm$  SD) und der Variationskoeffizienten (VK) von Tag zu Tag und in der Serie miteinander verglichen. Zusätzlich erfolgten Bestimmungen bei Patienten mit Nieren- und Hochdruckkrankheiten, bei denen Veränderungen dieser Parameter an dem gehäuft Auftreten von throm-

boembolischen und Blutungskomplikationen bei diesen Pat. mitbeteiligt sein können.

Plasminogen: Vergleichende Bestimmungen erfolgten bei 145 Pat. mit den chromogenen Substraten S-2251 u. Berichrom sowie immunologisch mit Partigen-Platten (PP). VK: 1,8–4,6; KK: S-2251/Beri, 0,98; S-2251/PP 0,96; Beri/PP 0,95. MW  $\pm$  SD: S-2251 78,1  $\pm$  30,5%; Beri. 84,0  $\pm$  29,7%; PP 8,6  $\pm$  3,9 g/dl.

Patienten: 17 von 28 Pat. mit akutem oligoanurischem Nierenversagen (ANV) hatten Werte unter 70%. Bei 62 Pat. mit terminaler Niereninsuffizienz (NI) fanden sich unter Hämodialyseverfahren (HD) im Mittel leicht erniedrigte, unter Peritonealdialyseverfahren (PD) deutlich erhöhte Werte. Bei 38 Pat. mit schwerer Hypertonie ergaben sich gegenüber einem Normalpersonenkollektiv keine Unterschiede.

$\alpha_2$ -Antiplasmin: Untersuchungen wurden bei 127 Pat. mit den chromogenen Substraten S-2251 u. Berichrom durchgeführt. VK: 2,3–4,1; KK: 0,97; MW  $\pm$  SD: S-2251 99,5  $\pm$  26,4%; Berichrom: 98,2  $\pm$  26,2%.

Patienten: 11 der 28 Pat. mit ANV hatten Werte über 120%. Bei den 62 Pat. mit NI fanden sich insgesamt erhöhte Aktivitäten, vor allem unter PD. 19 der 38 Pat. mit Hypertonie wiesen Werte über 120% auf.

Antithrombin III: An insgesamt 385 Pat. erfolgten Bestimmungen mit den chromogenen Substraten S-2238 u. Berichrom, mit dem gerinnungsphysiologischen Schnelltest nach Heimbruger/Karges und mit PP. VK: 2,8–4,3; KK: 0,83–0,87. MW  $\pm$  SD: S-2238 95,6  $\pm$  23,6%; Berichrom 94,9  $\pm$  26,6%; Schnelltest 111,7  $\pm$  30,8%; PP 29,5  $\pm$  7,7 g/dl.

Patienten: 16 der 28 Pat. mit ANV wiesen Werte unter 75% auf. Bei Pat. mit NI fanden sich unter HD leicht erniedrigte Werte, unter PD deutlich erhöhte. Von 15 Pat. mit nephrotischem Syndrom war das AT III bei 4 Pat. erniedrigt, bei 4 erhöht. Bei den 38 Pat. mit Hypertonie fanden sich nur z.T. gering erhöhte Aktivitäten.

## Ergebnisse von Blutgerinnungsuntersuchungen bei Patienten mit Hypertonie

J. Schrader, U. M. Salzer, H. Köstering, F. Scheler

Medizinische Universitätsklinik, Abteilung für Nephrologie, Göttingen

Bei bisher 38 Patienten mit schwerer, auf eine Dreifachkombination mit  $\beta$ -Blockern, Diuretika und Vasodilatoren resistenter Hypertonie erfolgten vor Therapiebeginn Untersuchungen der Blutgerinnung und Fibrinolyse.

Gegenüber einem Kollektiv gesunder Normalpersonen fand sich bei der Bestimmung der PTT im Mittelwert eine Verkürzung um 3,5 sec. Das Fibrinogen um ca. 100 mg-% erhöht. Als Ausdruck einer ausgeprägten Hyperkoagulabilität kam es im Protamin-Sulfat-Test zu einem deutlichen Anstieg der Fibrinmonomerkomplexe. Patienten, die nach Augenhintergrund- und EKG-Veränderungen die ausgeprägtesten Gefäßveränderungen aufwiesen, hatten die höchsten Fibrinmonomerkomplexe gegenüber den Patienten mit nur leichten Gefäßveränderungen. Im Thrombinbildungstest fand sich ebenfalls eine deutlich gesteigerte Thrombinaktivität.

Die Bestimmung des Faktor VIII ergab eine massive Erhöhung. 68% der Hypertoniepatienten hatten Werte über 160%, während kein Wert des Normalpersonenkollektivs über 160% lag. Die höchsten Faktor-VIII-Werte fanden sich ebenfalls bei den Patienten mit den ausgeprägtesten Gefäßveränderungen. Patienten, bei denen bereits vaskuläre Komplikationen (Myocardinfarkte, cerebrale Ischämien) aufgetreten waren, hatten gegenüber den Patienten ohne bisherige Komplikationen signifikant höhere Faktor-VIII-Werte. Keine Unterschiede gegenüber dem Normalpersonenkollektiv fanden sich bei der Bestimmung des Faktors X, des Antithrombins III, des Plasminogens, des  $\alpha_1$ -Antitrypsins und des  $\alpha_2$ -Makroglobulins.

Dagegen kam es als Ausdruck einer verminderten fibrinolytischen Aktivität zu einer erhöhten  $\alpha_2$ -Antiplasminaktivität (gemessen mit dem chromogenen Substrat S-2251) und verlängerten Eukobulinlysezeiten.

Zusammenfassend fand sich bei diesen Patienten mit Hypertonie eine deutliche Hyperkoagulabilität und eine verminderte Fibrinolyse, die ein Fortschreiten von Gefäßschäden und vaskuläre Komplikationen begünstigen können. Deshalb können Verlaufuntersuchungen nach den hier gefundenen Ergebnissen zur Beurteilung der Gefährdung dieser Patienten durch vaskuläre Komplikationen von Bedeutung sein.

## Laboruntersuchungen und Medikamente

G. Siest

*Centre de Médecine Préventive (Dir. Pr. Senault)  
Av. Doyen Jacques Parisot, F-54500 Vandœuvre-Nancy und  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,  
ERA CNRS 698, 7 rue A. Lebrun, F-54000 Nancy*

Werden Medikamente an Menschen oder Tiere verabreicht, so werden oft Laboruntersuchungen vorgeschrieben oder verlangt. Hierbei muß jedoch zwei entgegengesetzte Gesichtspunkte beachtet werden.

– Die Medikamente oder ihre Metabolite können die Laborresultate sowohl durch analytische wie auch pharmakologische Vorgänge beeinflussen (1). Dieses Problem muß auf sein richtiges Niveau zurückgeführt werden. Arbeitsgruppen internationalen Ranges versuchen Empfehlungen und Protokolle auszuarbeiten, um beide Faktoren von Veränderungen zu kontrollieren. Ebenso sind Empfehlungen für die Veröffentlichung solcher Resultate nötig. Die Informationen sollen exakt überprüft, genau ausgewählt und auf den neuesten Stand gebracht sein, dieses kann aber nur mittels Datenbanken leicht durchgeführt werden (2).

– Andererseits aber, werden Laboruntersuchungen zur Erprobung von Medikamenten mittels toxikologischer Versuche am Tier oder im Rahmen einer klinischen Erprobung am Menschen durchgeführt, so muß der Einfluß des Medikamentes von anderen biologischen Einflüssen unterschieden werden. Die Auswahl der Laboruntersuchungen sowie deren Interpretation hängt beim Tier von der Art sowie von genetischen und Umwelteinflüssen ab. Einzelne Länder, bestimmte staatliche Einrichtungen haben Gruppen von Laboruntersuchungen mit genau definierten Methoden vorgeschlagen.

Beim Menschen werden, nach der klinischen Erprobung, die Laboruntersuchungen gleichermaßen zur therapeutischen Überwachung, zur Vermeidung unerwünschter Effekte, zur Abschätzung von Risiken, zur frühestmöglichen Erkennung einer toxischen Reaktion, zur Bestimmung genetischer Verhältnisse und schließlich zur Funktionskontrolle der für den Medikamentenmetabolismus nötigen Enzyme benutzt.

Literatur:

1. Drug effects in clinical chemistry. Part 1. The basic concepts. A proposal recommendation of the International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Drug Effects in Clinical Chemistry (Chairman: G. Siest) (in preparation).
2. GALTEAU, M. M., NOTTER, D., GOSSET, J., LE PERRON, B., FLOCH, A., GUEGUEN, R., SIEST, G.: Laboratory tests and drug effects: usefulness of a data bank. In: XI. International Congress of Clinical Chemistry, E. Kaiser, F. Gabl, M. M. Müller, M. Bayer, Eds., Walter de Gruyter & Co., Berlin, pp. 849–856 (1982).

## Methodenvergleich zum Drogennachweis im Harn

R. Sommer

*Abteilung Medizinisches Labor, Wagner-Jauregg-Krankenhaus des Landes Oberösterreich, Linz*

1. Vollmechanisierter Drogennachweis im Harn auf dem Analysengerät ACP 5040 (Fa. Eppendorf).

Anhand von über 600 Harnanalysen wird ein Erfahrungsbericht gegeben über einen etwa 2jährigen Einsatz des Analysengerätes ACP 5040 zum Nachweis von Drogen im Harn mit Hilfe des Enzym-Immuno-Assays (EMIT-Dau der Fa. Syva-Merck). Sieben Parameter stehen derzeit zur Verfügung. Die einzelnen Methoden werden dargestellt und die Ergebnisse sowie Möglichkeiten der Qualitätskontrolle werden diskutiert.

2. Methodenvergleich zum Nachweis von Opiaten im Harn.

Es werden drei immunologische Methoden und eine dünnsschicht-chromatographische Methode miteinander verglichen:

Methode (A) Enzym-Immuno-Assay (EMIT-Dau, Syva-Merck); (B) Hämagglutinationshemmung (EM-Test, Fa. Boehringer); (C) Latex-Agglutinationshemmung (Agglutex-Morphine-Test, Fa. Roche); (D) Dünnsschichtchromatographie (Toxi-Lab, Fa. Paul Hauser-Cepharin). Anhand von 50 Harnproben wird die Übereinstimmung dieser Screening-Tests beim Nachweis von Opiaten im Harn überprüft sowie die Praktikabilität der einzelnen Methoden miteinander verglichen. Die Ergebnisse dieser Vergleichsuntersuchungen sind in Tab. 1 zusammengefaßt:

Methode	A	B	C	D
(Cut-off)	>500 ng/ml	>200 ng/ml	>300 ng/ml	>1000 ng/ml
Gesamtzahl	50	50	20	50
davon positiv	35	38	15	30
grenzwertig	1	–	–	3
negativ	14	12	5	17

Literatur:

1. OLLERICH, M.: Med. Labor, Band 33, 198–208 (1980).
2. OLLERICH, M., KULPMANN, W. R., HÄCKEL, R.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Vol. 15, 275–283 (1977).

## Diagnostische Probleme bei Infektionen in der Intensivmedizin und ihre therapeutischen Konsequenzen

W. Stille

*Zentrum der Inneren Medizin, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt (Main)*

Die schwierigsten aber auch reizvollsten Probleme der klinischen Bakteriologie stellen Infektionen auf Intensivstationen dar. Nahezu stets liegen Sekundärinfektionen vor; Grundkrankheiten, sekundäre Schädigungen im Rahmen der Intensivpflege, bakterielle Kolonisation, müssen von echten bakteriellen Infektionen abgetrennt werden. Die Hauptprobleme stellen Sepsikämien, Pneumonien sowie Harnwegsinfektionen dar. Die Diagnostik einer Sepsis bei Intensivpatienten ist relativ einfach – bei jedem Schüttelfrost sowie bei jedem unklaren Fieber ist die Durchführung von Blutkulturen sinnvoll. Eintrittspforten sind besonders häufig infizierte Venenkatheter, aber auch Harnwegsinfektionen, Dekubital-Ulcera sowie Kolonisationen. Staphylokokken, aber auch Enterobakterien, stellen die typischen Erreger dar. Mit einem schnellen Erregerwechsel muß gerechnet werden. Sepsikämien mit 2–4 verschiedenen Erregern im Laufe einer komplizierten Intensivpflege sind keine Rarität. Eine typische Fehlerquelle ist die Entnahme von Blutkulturen aus Venenkathetern (häufig Kontamination).

Pneumonien bei Intensivpatienten sind besonders häufig durch Klebsiellen, Pseudomonas, aber auch Staphylokokken verursacht. Schwer lösbar sind Atemwegsinfektionen bei längerer Beatmung. Durch Desensibilisierung von Mundflora kommt es nahezu immer zu Infektionen, bevorzugt mit Pseudomonas, die sich auch mit peniblen hygienischen Maßnahmen nicht verhindern lassen. Die Lokalinstillation von Antibiotika (Gentamicin) scheint bislang der einzige, wenn auch nicht unproblematische, Weg zur Verhinderung von Pneumonien bei Beatmung. Abszedierende Aspirationspneumonien ohne Beatmung sind dagegen typischerweise durch eine anaerobe Mischflora verursacht.

Trotz des hohen Risikos sind in vielen Fällen Urinkatheter unvermeidlich. Eine Antibiotikapharylaxe ist nahezu wirkungslos und führt nur zur Selektion von resistenten Erregern. Mit einer sterilen Drainage läßt sich der Zeitpunkt der Harnwegsinfektion verzögern. Regelmäßige bakteriologische Kontrollen bei Katheterismus sind notwendig. Häufig kommt es zu Infektionen durch mehrfach resistente gram-negative Stäbchen, die z.T. kaum noch behandelbar sind.

Das unübersichtliche Erregerspektrum von Infektionen auf der Intensivstation ist der Grund für eine ungezielte, möglichst breit wirksame Chemotherapie mit Omni-Spektrum-Kombinationen (z.B. Cefotaxim + Piperacillin).

## CEA in Kammerwasser u. Tränenflüssigkeit menschlicher Augen

Barbara Stiasny<sup>1</sup>, Erika Dworak<sup>2</sup>, M. Zirm<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universitätsklinik für Ophthalmologie, Innsbruck

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Chemie und Biochemie der Universität Innsbruck

Das carcinoembryonale Antigen (CEA) hat seit seiner Entdeckung (1965) als Tumormarker zusehends an Bedeutung gewonnen. Während bei gesunden Personen die CEA-Konzentration im Serum im Mittel 2,5 ng/ml beträgt, deuten Werte über 20 ng/ml mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine maligne Erkrankung hin.

In gleicher Weise liefert eine CEA-Bestimmung im Kammerwasser diagnostische Hinweise. Das Kammerwasser ist, wie Zirm (1980) beweisen konnte, ein Ultrafiltrat aus dem Plasma, in dem alle Proteine des Serums in etwa 100facher Verdünnung vorkommen. Daher sollte der normale Kammerwasser-CEA-Gehalt im Bereich von pg/ml liegen. Tatsächlich war bei den von uns untersuchten gesunden Personen die CEA-Konzentration im Kammerwasser unter der Nachweisgrenze der verwendeten Methoden. Patienten mit intraocularen Tumoren hingegen hatten bei völlig normalen Serum-CEA-Werten und intakter Blut-Kammerwasser-Schranke eine Kammerwasser-CEA-Konzentration von mehreren ng/ml. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß das von uns gemessene CEA ein Produkt des ophthalmologisch nachweisbaren Tumors war.

Obwohl die Gesamteiweißverhältnisse in der Tränenflüssigkeit ähnlich denen des Kammerwassers sind, fanden wir in den Tränen völlig gesunder Personen eine 50–100 × höhere CEA-Konzentration als im Serum. Ein diesem Ergebnis vergleichbares Blut-Kammerwasser-Konzentrationsverhältnis zeigt das Lysozym, das nachweisbar ein Produkt der Tränenrüse ist. Es ist daher wahrscheinlich, daß auch CEA lokal von der Tränenrüse produziert wird. Parallel durchgeführte CEA-Untersuchungen im Speichel brachten gleichfalls sehr hohe Werte. Albumin im Vergleich dazu erreicht im Speichel kaum 1/500 der Serumkonzentration. Die Schlußfolgerung liegt sehr nahe, daß CEA ein Produkt von Drüsenzellen ist und mit deren Sekret erst sekundär in das Blut gelangt.

## Falsch negative Bestimmung von immunreaktivem Insulin (IRI) mit kommerziellen Ria-Testkits

K. Stockinger

Privates Institut für Immunologie und experimentelle Pathologie GmbH (Prof. Dr. H. P. Seeliger, Dr. R. Seeliger), D-7500 Karlsruhe

Bei einer Patientin mit rezidivierenden Hypoglykämien (Blutzucker <30 mg/dl) wurde der Serumspiegel des immunreaktiven Insulins (IRI) mit zwei kommerziellen Kits bestimmt. Mit Kit A (Amersham-Buchler, Braunschweig) fanden sich 1230 µU/ml IRI im Nüchternserum (Normbereich 5–25 µU/ml), 1650 µU/ml IRI im hypoglykämischen Anfall, während mit Kit B (Serono, Freiburg) in beiden Fällen <1,0 µU/ml gemessen wurden; Diskrepanzen, die sich auch in der Folgezeit mehrfach bestätigen ließen.

Methodik: Insulin wurde aus je 1,0 ml Patientenserum mit HCl-Athanol extrahiert (Melani et al., 1970). 0,5 ml des in 3 M Essigsäure aufgenommenen Extrakts wurden auf Biogel P 30 in 3 M Essigsäure eluiert. Die einzelnen Fraktionen wurden mit den oben angegebenen Kits auf IRI untersucht. Auf derselben Säule wurden je 0,5 ml natives Patientenserum in 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,2, 0,15 M NaCl unter identischen Bedingungen chromatographiert. Das IRI wurde in den Eluat gemessen. Die Säule war mit <sup>125</sup>I-Insulin (0,125 mCi) sowie mit <sup>125</sup>I-Insulin-Albumingemisch (0,125 µCi Insulin, 3 mg Albumin in 0,5 ml) kalibriert.

Ergebnisse: Die Bestimmung des IRI in den Fraktionen des chromatographisch aufgetrennten HCl-Athanolextrakts führte zu identischen Ergebnissen mit beiden Testkits. Hohe Konzentrationen von IRI fanden sich im Bereich des bei der Kalibrierung erhaltenen Insulinpeaks. Dagegen wurden nach Gefiltration von nativem Patientenserum unterschiedliche Konzentrationen von IRI mit den beiden Kits erhalten. Mit Kit A fand sich IRI im Säulenausschlußvolumen

(MG ≥30000), während sich im Elutionsbereich normalen Insulins kein IRI nachweisen ließ. Mit Kit B dagegen konnte kein signifikanter Insulinpeak in den eluierten Fraktionen nachgewiesen werden.

Diskussion: Im Serum der Patientin scheint Insulin in einer Form vorzuliegen, die sowohl die biologische Aktivität (1230 µU/l bei normaler Blutzucker) als auch die immunologische Reaktivität partiell beeinträchtigt. Hierdurch wurden falsch niedrige Insulinwerte mit einem kommerziellen Testkit ermittelt. Durch Säure-Alkohol-Behandlung des Serums ließ sich die maskierende Substanz abtrennen. Mögliche Ursachen der Maskierung werden diskutiert.

Literatur:

MELANI, F., RYAN, W. G., RUBENSTEIN, A. H., STEINER, D. F.: Proinsulin secretion by a pancreatic beta-cell adenoma. *New Engl. J. Med.* 283, 713 (1970).

## Serum-Apolipoproteine A-I, A-II und B und Lipoproteine bei Kindern mit Diabetes mellitus Typ I

W. Strobl, K. Widhalm, H. Frisch, E. Schober, A. Pollak

Univ.-Kinderklinik Wien (Vorstand: Univ.-Prof. Dr. E. Zweymüller)

Das verfrühte Auftreten atherosklerotischer Gefäßveränderungen stellt eine der bedeutendsten Komplikationen des insulinabhängigen Diabetes mellitus dar. Die Ergebnisse jüngster Untersuchungen weisen darauf hin, daß hohe Apo B- bzw. niedrige Serum-Apo A-I- bzw. A-II-Serumkonzentrationen bessere Risikofaktoren der Atherosklerose darstellen als erhöhtes LDL- oder erniedrigtes HDL-Cholesterin (C) allein (1).

Bisher liegen nur wenige Studien bezüglich der Serumlipoproteine bei Kindern mit Diabetes mellitus vor (2, 3).

In unserer Untersuchung wurden bei 25 mit Insulin (0,82 ± 0,29 E/kg KG,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ ) behandelten diabetischen Kindern im Alter von 11–14 Jahren (12,2 ± 1,1 Jahre,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ ) (13 Knaben, 12 Mädchen) Apo A-I, Apo A-II, Apo B (Elektroimmunoassay), Serumlipide und Lipoproteine (Ultrazentrifugation und Polyionenaussäurepräzipitation), Nüchtern-glucose (BZ), HbA<sub>1c</sub> sowie die wichtigsten serumchemischen Parameter bestimmt. Die Ergebnisse von 15 der diabetischen Kinder (10 Knaben, 5 Mädchen) wurden denen von 15 gesunden Schulkindern mit gleichem Geschlecht, Alter und relativem Körpergewicht gegenübergestellt.

Ergebnisse (mg/dl,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , n = 15):

	C	TG	VLDL-C	LDL-C	HDL-C
Diabetiker	172 ± 19	88 ± 25	20 ± 5	100 ± 21	54 ± 5
Kontrollen	177 ± 16	95 ± 29	14 ± 5	112 ± 20	52 ± 5
p <	n.s.	n.s.	0,01	n.s.	n.s.
	Apo A-I	Apo A-II	Apo B	BZ	HbA <sub>1c</sub>
Diabetiker	129 ± 24	44 ± 12	67 ± 17	164 ± 80	9,9 ± 1,6%
Kontrollen	118 ± 38	44 ± 13	57 ± 16	86 ± 6	5,3 ± 0,5%
p <	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	0,001

Bei den Diabetikern konnten signifikante Korrelationen zwischen LDL-Chol. und Nüchtern-glucose ( $r = 0,47$ ,  $n = 25$ ) sowie zwischen HbA<sub>1c</sub> und Nüchtern-glucose ( $r = 0,40$ ,  $n = 25$ ) nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei diabetischen Kindern mit guter Einstellungsqualität nur geringe Veränderungen des VLDL-C, jedoch keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Konzentrationen von Apo A-I, Apo A-II und Apo B sowie von LDL- und HDL-C gegenüber gesunden Kontrollprobanden vorliegen.

Literatur:

1. AVOGARO, P. et al.: *Lancet* 1, 901 (1979).  
2. SWALD, U. et al.: *Acta Paediatr. Scand.* 71, 15 (1982).  
3. BACHEM, M. G. et al.: *Klin. Wochenschr.* 60, 497 (1982).

## Vergleich zweier photometrischer Methoden zur quantitativen Bestimmung des Low-Density-Lipoprotein-Cholesterins nach Fällung am isoelektrischen Punkt

N. Suhr, P. T. Kirch  
E. Merck, Darmstadt

Die direkte photometrische Bestimmung des Low-Density-Lipoprotein-Cholesterins (LDL-Cholesterin) ist durch die spezifische Präzipitation der LDL am isoelektrischen Punkt (pH 5,12) möglich (1). Dieses Verfahren erlaubt eine äußerst schnelle Bestimmung. Während die quantitative Lipoprotein-Elektrophorese mehrere Stunden, die klassische Ultrazentrifugation sogar Tage benötigt, liegen bei diesem neuen Verfahren die Ergebnisse innerhalb einer Stunde vor.

Es bestand die Frage, inwieweit gängige kommerzielle Testsätze nach diesem Verfahren vergleichbare Ergebnisse liefern.

Dazu wurden zwei Cholesterin-Bestimmungsmethoden (CHOD-PAP-Methode und CHOD-Jodid-Methode) miteinander verglichen.

Die Durchführung der Analysen mit beiden Methoden ist äußerst einfach und kann mit der in jedem Routine-Labor vorhandenen Ausrüstung bewerkstelligt werden.

Die lineare Regression der CHOD-Jodid-Methode (y) gegen die CHOD-PAP-Methode (x) zeigt eine sehr gute Übereinstimmung beider Verfahren ( $\bar{x} = 125,3$ ,  $\bar{y} = 128,0$ ,  $r = 0,994$ ,  $y = -4,91 + 1,06x$ ).

### Literatur:

1. SEIDEL D., WIELAND, H.: Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 684 (1982).

## Simultane und quantitative gaschromatographische Bestimmung von drei Antiarrhythmika: Lidocain, Tocainid und Spartein

F. Susanto, A. Neumann, H. Reinauer

Lehrstuhl für klinische Biochemie und Biochemische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts an der Universität Düsseldorf

Es wird eine gaschromatographische Methode zur simultanen und quantitativen Bestimmung von drei Antiarrhythmika, Lidocain, Tocainid und Spartein, im Serum beschrieben. Die Probenmenge beträgt ca. 1 ml.

Zur Aufarbeitung wird nach der Zugabe von Puffer (pH 8) die Probe über Clin-Elut-Säule mit Diethylether-Ethylacetat (1:1) extrahiert. Der Extrakt wird eingedampft und in Methanol aufgenommen. Als interner Standard dient Mepivacain ( $(\pm)$ -1-Methyl-2',6'-piperidolylid).

Die gaschromatographische Analyse erfolgt mittels Stickstoffdetektor. Der Meßbereich liegt zwischen 1–10 µg/ml und stimmt somit mit dem erwarteten Blutspiegel der Patienten überein. Die Wiederfindungsrate beträgt 70–80%, die Präzision liegt bei  $V_k = 4\%$ . Die Nachweisgrenze liegt bei 10 ng/ml Serum.

## Eine sensitive Bestimmung von Angiotensin II im peripheren Plasma

H. Templ, K. Silberbauer, U. Hallas

Ludwig-Boltzmann-Institut für klinische Endokrinologie, II. Medizinische Universitätsklinik, Wien

Bei der Untersuchung der Lopingwirkung auf blutdruckregulatorische Systeme (Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem) war eine Bestimmung von Angiotensin II (A II) im Plasma erforderlich. Radioimmunologische Bestimmungen sind jedoch nicht sensitiv genug, um

die geringe Plasmakonzentration des Peptids ohne Extraktions- und Konzentrationsschritte zu erfassen. In den letzten Jahren wurden Extraktionen an Dowex H+ (1) oder Konzentrationsmethoden mittels Äthanol-fällung (2) beschrieben, die uns jedoch nicht genügend effizient erschienen. Daher haben wir eine Extraktionsmethode an Fuller-Erde (3) weiterentwickelt, um die Nachweisgrenze des Peptids so weit zu senken, daß auch niedrige Konzentrationen nach Lopinggabe erfaßbar werden.

5 ml kaltes EDTA-Plasma wird nach Zugabe von 50 µl Phenylmethylsulfonyl-Fluoride gekühlt an Fuller-Erde adsorbiert, mittels eines Ammoniak-Methanol-Gemisches desorbiert, nach Zentrifugation der Überstand eingedampft. Der Trockenrückstand wird in Puffer aufgenommen und die Konzentrationsbestimmung erfolgt mittels RIA (Kit Bühlmann, Basel). Die Effizienz der Extraktion wird durch Zugabe von ca. 2000 cpm  $^3\text{H}$ -Angio II (NEN, spezifische Aktivität: 37,8 Ci/mMol) überwacht und beträgt  $54,2 \pm 10,3\%$  (SD) ( $n = 35$ ).

Die Sensitivität des Immunoassays ist 2p/Ansatz, das ergibt bei einem Probenvolumen von 5 ml und einer Wiederfindung von 54% eine Sensitivität von 0,74 pg/ml.

Unter basalen Bedingungen beträgt die A-II-Konzentration bei normotensiven Kontrollpersonen im peripheren Plasma 5–20 pg/ml, nach Lopinggaben werden auch Werte  $< 5$  pg/ml gemessen. Die Intraassay-Varianz beträgt 13,2%, die Korrelation mit Plasma-Renin-Aktivität ist signifikant ( $r = 0,83$ ,  $p = 0,05$ ).

### Literatur:

1. DÜSTERDIECK, G., McELWEE, G. M.: Europ. J. clin. Invest. 2, 32–38 (1971).  
2. NUSSBERGER, J., BECKERHOFF, R.: Acta endoc. (Kbh.) Suppl. 173, 157 (1973).  
3. KÜPPERS, H., WIESEN, K.: Clinica Chimica Acta, 71, 469–475 (1976).

## Störung der Lipaseaktivitätsbestimmung durch Plasmozytomserum

H. Temme, U. Rohlf, L. Röka

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Die Bestimmung der Lipaseaktivität im Serum einer Plasmozytompatientin ergab mit der ACA-Methode von DuPont auch nach Dialyse 0 U/l. Mit der Methode von Ziegenhorn (BM) wurden am ACP 5040 70 U/l gemessen. Zur Klärung der Ursache für diesen Aktivitätsunterschied wurde das Serum 1. mit Testpuffer (Tris-HCl 26 mmol/l, pH 9,2), 2. Humanalbuminlösung (80 g/l phys. NaCl-Lösung) und 3. mit Colipase versetzter Lösung 2 (Endkonz. 1 mg/l) auf 75%, 50% und 25% verdünnt. Für die Methode von Ziegenhorn (ACP-Methode BM) betrug die durchschnittliche Wiederfindung 139%, 185% bzw. 280%. Mit der ACA-Methode konnte trotz weiterer Verdünnung mit phys. NaCl-Lösung (1:10 und 1:100), auch nicht nach Zugabe von Colipase (Endkonzentrationen 3 mg/l, 5 mg/l und 6 mg/l), keine Lipaseaktivität gemessen werden. Andere Seren mit Lipaseaktivitäten von 88 U/l bis 1700 U/l zeigten vergleichsweise eine geringere Aktivitätszunahme, s. Tab. 1.

Tab. 1. Durchschnittliche proz. Wiederfindung in verschiedenen Seren.

Serumanteil Methode	75%		50%		25%	
	ACA	ACP	ACA	ACP	ACA	ACP
n	n	%	%	%	%	%
1. Testpuffer	3	6	110	111	118	129
2. Humanalbuminlösung (LSG. 2)	3	3	118	97	114	117
3. phys. NaCl-Lösung	3	6	114	109	115	121
4. Humanserum (Lipase 120 U/l)	3		112		115	115
(Lipase 137 U/l)		6		102		103

Der Einfluß des Plasmozytomserums auf die Aktivität anderer Seren geht aus Tab. 2 hervor.

Tab. 2. Wiederfindung der Lipaseaktivität.

Plasmacytoserum Methode	0%		25%		50%		75%	
	ACA	ACP	ACA	ACP	ACA	ACP	ACA	ACP
	U/l	U/l	%	%	%	%	%	%
Serum 1	180	160	59	90	0	86	0	97
Serum 2	220	142	61	94	0	86	0	86
Serum 3	320	216	75	101	63	90	0	69
Serum 4	820	916	91	92	78	75	68	35
Serum 5	1700	1308	100	95	99	91	0	94

Die unterschiedliche Störung der Methoden ist nicht Colipase-bedingt. Vielmehr dürfte es sich um einen unspezifischen Effekt handeln, da auch die LDH-Bestimmung gestört wurde.

## Serumeiweiß-Elektrophorese. Prinzip, diagnostische Wertigkeit, Fehlermöglichkeiten

L. Thomas

Krankenhaus Nordwest, Zentrallabor, Frankfurt (Main)

Viele Erkrankungen verursachen Veränderungen in der Proteinzusammensetzung der Körperflüssigkeiten. Sie können auf der quantitativen Veränderung einzelner Proteine oder Proteingruppen beruhen oder durch den Mangel oder das Auftreten von Proteinen bedingt sein.

Elektrophoretische Techniken werden eingesetzt:

- Als Screening zur Erkennung einer Dysproteinämie.
- Als weiterführende Untersuchung zur Abklärung der Dysproteinämie, z.B. Klassifizierung und Typisierung monoklonaler Gammopathien durch die Immunelektrophorese.
- Gezielt zum Nachweis spezifischer Proteine, oft kombiniert mit einer immunchemischen Präzipitationstechnik.

Die schon seit über 30 Jahren in der Laboratoriumsmedizin routinemäßig durchgeführte Serumeiweiß-Elektrophorese auf Celluloseacetatfolie gibt unter Einsatz einer minimalen Probenmenge innerhalb 1 Stunde folgende diagnostisch wichtige Hinweise: akute oder chronische Entzündungsreaktion, nephrotisches Syndrom, Antikörper-Mangel, monoklonale Gammopathie. Voraussetzung zur Interpretation ist die Kenntnis der Fehlermöglichkeiten. Im Vergleich zu anderen klinisch-chemischen Untersuchungsmethoden zeigt die Serumeiweiß-Elektrophorese eine schlechtere Präzision und Richtigkeit.

## Erprobung eines Teststreifenverfahrens zur quantitativen Hämoglobinbestimmung im Blut

L. Thomas

Krankenhaus Nordwest, Zentrallabor, Frankfurt (Main)

Ein Teststreifenverfahren zur quantitativen Bestimmung des Hämoglobins im Blut wurde laboridiagnostisch geprüft. Die Bestimmungsmethode beruht auf dem Nachweis von Methämoglobin (1). Nach Auftrag von 30 µl einer zuvor 1:81 mit destilliertem Wasser verdünnten EDTA-Vollblutprobe auf die Testzone des Reagenzträgers wird Hämoglobin durch die Lyse des Erythrozyten freigesetzt. Das zweiwertige Eisen des Hämoglobins wird durch Kaliumferricyanid in den dreiwertigen Zustand überführt. Das entstandene Methämoglobin wird mit dem Seralyzer-Instrument (3) reflektionsphotometrisch innerhalb einer Reaktionszeit von 45–180 sec bei einer Temperatur von 37°C bei 535 nm im Meßgerät erfolgt die Umrechnung des erhaltenen Reflektionswertes in einen Konzentrationswert mittels einer gespeicherten Referenzkurve. Im Rahmen einer Erprobung des Verfahrens wurde die Präzision von Wiederholungsbestimmungen „in Serie“ und „von Tag zu Tag“ bestimmt. Die erhaltenen Variationskoeffizienten sind 3,4% bei Hämoglobinkonzentrationen von

6,22 g/dl bis 19,18 g/dl. Die Seralyzer-Analysenwerte von Kontrollbluten (Merz + Dade, Level I–III) stimmen gut mit den vom Hersteller angegebenen Zielwerten überein. Ein Methodenvergleich zwischen der Seralyzer-Hämoglobinbestimmung und der Coulter-S-Methode (3) an 198 EDTA-Vollblutproben zeigt eine gute Übereinstimmung. Die lineare Regressionsanalyse ergibt bei einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,99$  folgende Regressionsgerade:  $y = 1,06x - 0,96$ . Die Streuung um die Regressionsgerade beträgt  $S(y/x) = 0,45$ .

Literatur:

1. VAN KAMPEN, E. J., ZIJLSTRA, W. G., VAN ASSENDELDT, O. W., REINKINGH, W. A.: Adv. Clin. Chem. 8, 141 (1965).
2. ZIPP, A.: J. Autom. Chem., 3, 71 (1981).

## Quantitative Cholesterinbestimmung im Serum mit einem Teststreifenverfahren

L. Thomas

Krankenhaus Nordwest, Zentrallabor, Frankfurt (Main)

Ein Teststreifenverfahren für die Bestimmung von Cholesterin (1) mit dem Seralyzer-System (2) wurde der klinischen Erprobung unterzogen. In der Testzone des Reagenzträgers erfolgt die Cholesterinbestimmung nach Auftrag von 30 µl einer verdünnten Serumprobe (1 Teil Serum + 9 Teile H<sub>2</sub>O dest.) nach dem Prinzip der Cholesterinesterase-reaktion. Gemessen wird nach einer Reaktionszeit von 135 sec bei 37°C, die Reflektion des entstehenden Farbkomplexes bei 600 nm. Die Farbentwicklung ist proportional der Konzentration des Cholesterins in der untersuchten Serumprobe. Als Bezugskurve für die Reflektionswerte unbekannter Proben wird eine Eichkurve erstellt mit 2 Kalibratorlösungen unterschiedlicher Cholesterinkonzentration. Die Präzision in der Serie wurde anhand der Wiederholungsbestimmungen von gepooltem Serum ermittelt. Die Variationskoeffizienten betragen bei Cholesterinkonzentrationen von 103 mg/dl 4,2%; 247 mg/dl 4,9%; 370 mg/dl 5,6%. Die Ermittlung der Präzision von Tag zu Tag erfolgte anhand der täglichen Dreifachbestimmung von Kontrollseren. Die Variationskoeffizienten sind 5,7% (165,3 mg/dl), 5,5% (367,5 mg/dl), 11,2% (133,9 mg/dl). Die Regressionsanalyse eines Methodenvergleichs zwischen dem Seralyzer-Verfahren und der enzymatischen Cholesterinbestimmung (CHOD-PAP) (3) am Abbott-VP-Analyzer von 62 Serumproben ergibt einen Korrelationskoeffizienten von 0,96 und eine Regressionsgerade  $y = 1,08x + 23,1$ . Die Streuung  $S(y/x)$  um die Regressionsgerade beträgt 22,87 mg/dl.

Literatur:

1. WATSON, G. E., CHAUG, E. S., ZIPP, A.: Clin. Chem. 25, 1091 (1979).
2. ZIPP, A. J.: Autom. Chem. 3, 714 (1981).
3. KLOSE, S., SCHAMBERGER, H., STÄHLER, F., GRUNKE, W., STIERHOFF, R., RÖSCHLAU, P.: Med. Lab. 30, 29 (1977).

## Elektrolyte als Aktivator und Inhibitoren des Plasma-Renin-Aktivität

E. Tögel, E. Rammal, E. Jarosch

Universitätsklinik für Kinderheilkunde, Laboratorien, Innsbruck

Elektrolyte, besonders Natrium, Kalium und in letzter Zeit auch Calcium, werden immer wieder mit dem Krankheitsbild der „Essentiellen Hypertonie“ in Zusammenhang gebracht (1). Da wir schon einen „in-vitro“-Einfluß von Elektrolyten auf die Renin-Substrat-Reaktion aufzeigen konnten (2) und dieser Effekt auch „in vivo“ von Bedeutung sein dürfte, beschreiben wir nun die direkte Wirkung von Natrium, Kalium und speziell Calcium auf die Bildung von Angiotensin I. Dabei wird auch die Natur dieses Effektes untersucht. — Die Inkubation (pH 7,4, 37°C, 2 Std.) zur Bestimmung der Plasma-Renin-Aktivität wurde unter Zusatz bestimmter Mengen der entsprechenden Elektrolyte vorgenommen und das entstandene Angiotensin I dann mittels RIA bestimmt (3). — Es ergab sich eine signifikante Aktivator-Wirkung von Natrium und Calcium und ein Inhibitor-Effekt von Kalium auf die Renin-Substrat-Reaktion. (Versuche mit Calcium und Calmodulin ergaben keine zusätzliche Information.) Maximale Säure- bzw. Kalte-Aktivierung zeigte ebenso wie Aktivierung durch Trypsin

oder Kallikrein keine Änderung dieses Effektes und auch entsprechende Proteinase-Inhibitoren blieben ohne Einfluß. Es scheint sich deshalb um eine direkte Aktivator-Inhibitor-Wirkung der Elektrolyte ohne Beteiligung einer direkten Aktivierung oder Inaktivierung von Renin zu handeln. — Jedenfalls kann dieser Effekt sowohl „in vitro“ für die Bestimmung von Angiotensin I als auch „in vivo“ für die Pathogenese und Behandlung der Hypertonie bedeutsam sein (z. B.: Calcium-Antagonisten, Kochsalz-Einschränkung usw.).

## Literatur:

1. SKRABAL, F., AUSBOCK, J., HORTNAGL, H.: *Lancet*, Okt. 24, 1981.
2. YÖGEL, E., JAROSCH, E.: *Berichte der ÖGKC-Jg. 5, 1982*.
3. CATT, K., TREGGAR, G. W.: *Science*, 158, 1967.

## Eine einfache Differentialfärbung für Leukozyten- und Erythrozytenzyklinder im Urinsediment

W. Unger

Zentrallaboratorium des Wilhelminenspitals, Wien

Der Nachweis von Leukozytenzyklindern im Urinsediment gilt als sicheres Diagnostikum der Pyelonephritis. In der Praxis ist eine Differenzierung der in den Zylindern eingeschlossenen Zellen aber meist schwierig, oft sogar unmöglich.

Erythrozyten- und Hämoglobinzylinder, die über die Herkunft einer Hämaturie Auskunft geben können, werden zumindest vom weniger geübten Untersucher nicht immer erkannt.

Aus diesen Gründen wurden schon früher Differentialfärbungen auf Basis der Peroxyd-Reaktion beschrieben (1, 2). Die dabei verwendeten Chromogene Benzidin-Dihydrochlorid und Diaminofluoren dürfen aber wegen ihrer Karzinogenität im Routinelabor heute nicht mehr verwendet werden.

Hier wird eine Methode beschrieben, bei der Tetramethyl-Benzidin als Wasserstoffdonator dient.

Je nach Konzentration des verwendeten Wasserstoff-Peroxyds werden die Leukozyten oder Erythrozyten im Urinsediment grün gefärbt.

Die Methode ist schnell, einfach durchzuführen und weitgehend spezifisch.

## Literatur:

1. KAYE, M.: A peroxidase-staining procedure for the identification of polymorphonuclear leukocytes and leukocyte casts in the urinary sediment. *N. Engl. J. Med.* 288, 1301–1302 (1978).
2. PRESCOTT, L. F., BRODIE, D. E.: A simple differential stain for urinary sediment. *Lancet*, 2, 940 (1964).

## Auswirkung der i.v. Applikation von 5000 IE HCG auf den Serumtestosteronspiegel bei fertilen Männern und Männern mit Kinderwunsch

W. Ullner<sup>1</sup>, A. Schorn<sup>1</sup>, H. Feichtinger<sup>2</sup><sup>1</sup> Urologische Abteilung und<sup>2</sup> Abteilung für Diagnostik und Therapie mit radioaktiven Isotopen des Krankenhauses der Barmherzigen-Schwester, Linz

Aus der Kenntnis, daß Testosteron pulsativ freigesetzt wird, ergibt sich, daß eine einzelne Bestimmung von Testosteron nur von begrenzter Aussagekraft sein kann (1). Eine bessere Erfassung der inkretorischen Hodenfunktion ist durch die Stimulierung der Leydigischen Zwischenzellen mittels HCG (Human chorion gonadotropin) möglich, wobei HCG in unterschiedlicher Dosierung je nach Testansatz über 2, 3, 4 oder 5 Tage bis Wochen i.m. gegeben wird, und Testosteron-mittelwerte vor und nach HCG-Applikation gegenübergestellt werden (2).

Das Ziel dieser Studie war es, den Effekt von i.v. gegebenem HCG auf den Bluttestosteronspiegel innerhalb 4 Stunden festzustellen, um so die Möglichkeiten eines HCG-Kurztestes für die praktische Andrologie zu prüfen.

## Patienten und Methode:

- A: Es wurden 3 Gruppen gebildet, Alter zwischen 20 und 40 Jahren,
1. 25 sicher fertile Männer (Kinder vorhanden),
  2. 30 Männer mit Kinderwunsch — path. Spermogramm, unauffälliger gynäkologischer Befund der Gattin,
  3. 10 sicher fertile Männer (Kinder vorhanden).
- B: 5000 IE HCG der Gruppen 1 und 2 erhielten 5000 IE HCG (Pregnyl 5000) i.v.
- C: Serumtestosteron wurde jeweils zu gleicher Tageszeit vor, 2 Stunden und 4 Stunden nach Applikation gemessen.
- D: Testosteron wurde mittels RIA der Fa. Sero-ni gemessen, der Variationskoeffizient betrug intrassay 5,55%, interassay 8,8%.
- E: Die Auswertung erfolgte mittels Student-t-Test für gepaarte und nichtgepaarte Daten.

## Ergebnis:

1. Der Testosteronbasalwert war in allen 3 Gruppen gleich (6,05 ng/ml  $\pm 0,22$ ).
2. Die Steigerung des Testosteronwertes nach HCG-Applikation war für die Gruppen 1 und 2 nach 2 und 4 Stunden statistisch nicht signifikant (fertile Gruppe: 1,34fach; infertile Gruppe: 1,25fach).
3. Bei den Patienten ohne HCG-Applikation ergab sich zu den verschiedenen Zeitpunkten kein unterschiedlicher Mittelwert.
4. Sowohl in der Gruppe der fertilen als auch in der Gruppe der infertilen Männer zeigte sich ein sehr unterschiedliches Ansprechen auf HCG i.v. (0- bis 3fache Steigerung).

## Zusammenfassung:

Die statistische Auswertung der Testosteronstimulierung nach 2 und 4 Stunden durch i.v. verabreichtes HCG bei Männern mit und ohne Kinder ließ keine fertilitätsrelevanten Beziehungen erkennen, aufgrund derer diagnostische oder therapeutische Überlegungen ange-stellt werden können.

## Literatur:

1. NAFTOLIN, F., JUDD, H. L., YEN, S. C.: Pulsatile patterns of gonadotrophins and testosterone in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 36, 285–288 (1973).
2. DE KRETZER, D. M., BURGER, H. G., HUDSON, B., KEOGH, E. J.: The HCG stimulation test in man with testicular disorders. *Clin. Endocrinol.*, 4, 591 (1975).

## Amidolytische Methoden in der gerinnungsphysiologischen Diagnostik

H. Vinazzer

Laboratorium für Blutgerinnung (Prof. Dr. H. Vinazzer), Linz

Es werden die Unterschiede zwischen der amidolytischen und der klassischen Gerinnungsdiagnostik beschrieben und das Prinzip der amidolytischen Diagnostik besprochen. Die Eigenschaften der wichtigsten chromogenen Substrate werden erklärt.

Anschließend wird eine Reihe von wesentlichen Gerinnungsreaktionen mit chromogenen Substraten im Detail geschildert. Besprochen werden Methoden zur Bestimmung von aktiven Serinproteasen wie Faktor X als Xa, Prothrombin als IIa und Plasminogen als SK-Plasminogenkomplex, weiter Methoden zur Bestimmung eines Aktivators wie Faktor VIII als Xa-Aktivator und Faktor XII als Kallikreinkomplex sowie Methoden zur Bestimmung eines Inhibitors. Dabei werden besonders Antithrombin III und Alpha-2-Antiplasmin berücksichtigt.

Es werden Vergleiche zwischen den mit chromogenen Substraten und den im klassischen Gerinnungssystem erhaltenen Ergebnissen gezeigt. Auf die Möglichkeiten zur Verbesserung der Spezifität der Tests, die praktische Durchführbarkeit gewisser Gerinnungstests mit chromogenen Substraten im Routinelaboratorium und die Möglichkeiten der Automatisierung wird hingewiesen.

## Enzymimmunoassay zur Bestimmung von hTSH in Serum unter Verwendung monoklonaler Antikörper

R. Wehner, M. Baier, D. Klenner, H. Lenz, H. Jungfer, G. Kleinhammer, R. Linke

Boehringer Mannheim GmbH, Forschungszentrum, D-8132 Tutzing

Ein nach dem Sandwich-Prinzip aufgebauter enzymimmunoanalytischer Test zur Bestimmung von TSH in Serum/Plasma wird beschrieben. Die Gesamtkubationsdauer beträgt 3 h. In einem ersten Inkubationsschritt (1 h/RT) wird TSH aus der Probe (200 µl) an die mit monoklonalen anti- $\beta$ -TSH-Antikörpern beladene Tubewand gebunden. Nicht vom Antikörper gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Während der zweiten Inkubation (1 h/RT) reagiert POD-markiertes Schaf-anti-TSH mit dem wandgebundenen TSH. Nach Auswaschen des überschüssigen Konjugats wird die an der Röhrenwand befindliche Peroxidase-Aktivität mit  $H_2O_2$ /ABTS\* bestimmt. Die Messung der Absorption (405 nm) erfolgt nach 1 h Inkubation bei Raumtemperatur.

Die untere Nachweisgrenze des Tests liegt bei  $0,6 \mu U/ml$ . Die Intra- und Interassay-Präzision über den gesamten Konzentrationsbereich variiert zwischen 2 und 9%. Es wird keine Kreuzreaktion gegen LH/FSH (200 µl/ml) und hCG (200 µl/ml) beobachtet. Der Test korreliert gut mit anerkannten radioimmunologischen Verfahren.

Der vorgestellte TSH-Enzymimmunoassay erlaubt die schnelle und einfache Bestimmung von TSH in menschlichem Serum ohne die Notwendigkeit des Einsatzes radioaktiven Materials.

## Laborkriterien zur Diagnostik und Beurteilung der Therapie bei homozygoter Hypercholesterinämie

K. Widhalm, W. Strobl, F. Krempfer

Universitätskinderklinik, Wien  
I. Medizinische Abteilung, Landeskrankenhaus Salzburg

Die homozygote Hypercholesterinämie ist eine außerordentlich seltene (1:1 Mill.) Störung im Lipoproteinstoffwechsel, die durch extrem hohe Serum-Cholesterinkonzentrationen und bereits im frühen Kindesalter auftretende charakteristische, tubulöse und tendinöse Xanthome gekennzeichnet ist. Die frühzeitig auftretende schwere Atherosklerose führt bei Trägern dieser Erkrankung meist vor dem 30. Lebensjahr zum Tode durch Myocardinfarkt (1).

Wir berichten über einen 16jährigen Patienten, der mit dem Vollbild dieser Erkrankung an unsere Klinik zur Behandlung kam: In der Coronarangiographie konnte ein kompletter Verschluss des R. descendens ant. mit reichlichem Kollateralsystem und eine hochgradige Abgangsstenose eines größeren diagonalen Astes zur Darstellung gebracht werden.

Die Laborbefunde: Gesamtcholesterin 650 mg/dl, Triglyceride 80 mg/dl, LDL-Cholesterin 570 mg/dl, HDL-Cholesterin 30 mg/dl, LDL-Apo-B 253 mg/dl.

Die Halbwertszeit für LDL-Apo B betrug 5,17 Tage, die fraktionelle Abbaurate 0,205, die Syntheserate  $23,44 \text{ mg/kg/Tag}$ , die entsprechenden Referenzwerte von 12 gesunden Kontrollpersonen betrugen  $3,84 \pm 0,62$ ,  $0,377 \pm 0,07$  und  $12,44 \pm 2,09 \text{ mg/kg/Tag}$ .

In einer Fibroblastenkultur wurde eine fehlende Aufnahme für LDL (Rezeptordefekt), bei beiden Eltern des Patienten, eine auf 50% reduzierte Rezeptoraktivität nachgewiesen. Nachdem sowohl mit strengster Diät und unter Cholestyraminmedikation ( $12 \text{ g/die}$ ) eine nur unbefriedigende Senkung der Gesamtcholesterinkonzentration erreicht werden konnte, entschlossen wir uns zum Beginn einer Plasma-Austauschtherapie, bei der jeweils 3 l Plasma gegen eine NaCl-haltige 5%ige Humanalbuminlösung ersetzt wurden. Dieses Verfahren wurde bisher 8mal im Abstand von je 4 Wochen ohne größere Probleme durchgeführt; die Xanthome nahmen deutlich an Größe und Volumen ab, der Patient fühlt sich außerordentlich wohl und betreibt wieder Sport.

Anhand der vorliegenden Laboruntersuchungen vor und während der Therapie wird die schwierige Frage nach dem optimalen Abstand zwischen zwei Plasmapheresen diskutiert: Diese Frage kann offensichtlich nicht allein nach theoretischen Überlegungen beantwortet werden. So wäre nach Umsatzstudien von Thompson et al. der Plasmapheresen bei Patienten mit homozygoter Hypercholesterinämie durch erhöhte Syntheserate und durch verminderte Abbauraten bereits wieder aufgefüllt (2). Wir meinen, daß die Tatsache der Regression der Xanthome, die im günstigsten Fall durch eine Regression der atherosklerotischen Gefäßveränderungen belegt werden könnte, neben den genannten laborchemischen Kriterien einen wesentlichen Parameter für einen Erfolg der Therapie (Efflux von LDL-Partikeln aus dem Gewebe) darstellt.

### Literatur:

1. KHACHADURIAN, A. K., UTHMAN, S. M.: Experience with the homozygous cases of familial hypercholesterolemia. A report of 52 patients. *Nutr. Metab.* 16, 132 (1973).
2. SOUTAR, A. K., MYANT, N. B., THOMPSON, G. R.: Metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins in familial hypercholesterolemia. Effects of plasma exchange. *Atherosclerosis* 32, 315 (1979).

## Laboratoriumsdiagnostik immunhämolytischer Reaktionen

G. Wilder

Zentrallaboratorium und Blutbank des Wilhelminenspitals, Wien

Neben der immunhämatischen Abklärung des Morbus hämolyticus neonatorum (MHN), der autoimmune hämolytischen Anämie (AIHA) und der hämolytischen Transfusionsreaktion (HTR) ist die Laboratoriumsdiagnose der Hämolyse von Bedeutung.

Die immunhämatischen Untersuchungen haben insofern eine wesentliche Verbesserung erfahren als jetzt zahlreiche monospezifische Antisera zur Verfügung stehen, die eine Eingrenzung der Genese oben genannter Reaktionen ermöglichen.

Die chemischen Laboratoriumsuntersuchungen sollen die veränderten Konzentrationen der Werte im Plasma, wie z.B. freies Hämoglobin, Bilirubin (direkt, indirekt), LDH, Kalium, Haptoglobin und Methämalbumin sowie die nach Überschreitung der Nierenschwelle im Harn auftretenden Substanzen (z.B. Hämoglobin) erfassen.

Gerinnungsphysiologische Untersuchungen sollen bei schweren hämolytischen Reaktionen rechtzeitig die Entstehung einer Verbrauchskoagulopathie erkennen helfen.

### Literatur:

- BAYER, P. M., WIDER, G.: Diagnose des Transfusionszwischenfalles. *Infusionstherapie* 7, 209–210 (1980).

## Quantifizierung konjugierter Gallensäuren mittels Ionenpaar-Chromatographie

H. J. Wildgrube, U. Füssel, H. Stockhausen

Zentrum der Inneren Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt (Main)

Seit 1976 sind mehrfach Hochdrucksäulenchromatographische Methoden zur Bestimmung von Gallensäuren in biologischen Flüssigkeiten beschrieben worden und durch Verwendung von UV-Detektoren ist inzwischen auch die zusätzliche Derivatisierung hinlänglich geworden. Dennoch scheitert die klinische Anwendung an methodischen Schwierigkeiten bei der routinemäßigen Anwendung. Da für Gallensäuren üblicherweise stark angesäuerte mobile Phasen empfohlen werden, ist die Lebensdauer der stationären Phase erheblich verkürzt. Wir stellen eine neue Methode vor, die es ermöglicht, die bei Menschen quantitativ wichtigsten Gallensäuren in Galle und Serum ohne Derivatisierung der Cholsäuren als Glycin- und Taurinkonjugate mittels Ionenpaar-Chromatographie aufzutrennen und zu quantifizieren.

Trennbedingungen: Stationäre Phase: Ultrasphäre I.P. (250  $\times$  4,6 mm, Beckmann). Mobile Phase: Azetonitril 45%, Wasser 55%, Tetraäthylammoniumphosphat 5 mmol/l. Isokratische Bedingungen, Flußrate 1,2 ml/min. Säulentemperatur 40°C. UV-Monitor (Modell 165, Beckmann) bei 214 nm (0,1 AUFS). Probenschleife 20 µl.



Unter diesen Bedingungen können die Taurin- und Glycinkonjugate von Cholsäure, Chenodesoxycholsäure, Desoxycholsäure und Lithocholsäure exakt voneinander getrennt werden. Die Analysenzeit beträgt weniger als 15 Minuten. Die minimal messbare Konzentration ist 20 nmol/l. Die Wiederfindungsrate liegt bei 94%. Im Intraassay ergibt sich ein Variationskoeffizient von 6,9%. Mit einer Säule sind mehr als 500 Applikationen möglich.

Vergleichende Untersuchungen zur Retention der Gallensäuren in Abhängigkeit zu ihren funktionellen Gruppen machen wahrscheinlich, daß durch Zugabe eines Ionenpaar-Bildners die Verteilung zwischen stationärer und mobiler Phase primär durch ein dynamisches Gleichgewicht bestimmt ist.

## Grundlagen und Anwendung der Fibrinklebung

C. Wilting

Ludwig-Boltzmann-Institut für experimentelle Traumatologie, Wien

Der Fibrinkleber Human Immuno® wird aus Humanplasma hergestellt und in steigendem Maße sowohl in der klinischen als auch in der experimentellen Chirurgie zur Gewebeklebung, Wundversiegelung, Stillung von Blutungen und somit zur Förderung der Wundheilung eingesetzt.

Beispiele: Milz- und Leberupturen, periphere Nervenklebung.

Der Fibrinkleber besteht aus zwei Komponenten:

- Hochkonzentriertes Human-Fibrinogen, Faktor XIII, und andere Plasmaproteine.
- Thrombin und Calciumchlorid

Bei Bedarf wird einer der beiden Komponenten noch der Fibrinolysehemmer Aprotinin zugesetzt.

Um eine optimale Anwendung zu gewährleisten, wurde eine Doppelspritzenhalterung (Duploject®) entwickelt, die wahlweise mit Sammelkopf und aufgesetzter Mischkanüle oder mit Sprühkopf verwendet werden kann.

Um die drei wichtigsten Reaktionen des Fibrinklebesystems:

1. Gerinnung, 2. Vernetzung, 3. Fibrinolyse, zu testen wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. a) Die Abhängigkeit der Gerinnungszeit von der Thrombinkonzentration und der Temperatur,  
b) der Einfluß von Antibiotika auf die Gerinnungszeit.
2. a) Bestimmung der Fibrin- $\alpha$ -Ketten-Vernetzung,  
b) der Einfluß von  $\text{CaCl}_2$ ,  
c) der Zusammenhang zwischen Vernetzung und Reißfestigkeit,  
d) der Einfluß von Antibiotika.
3. Um die Geschwindigkeit des Fibrinkleberabbaus zu kontrollieren, wurden *in vitro* und *in vivo* Versuche mit natürlichen und synthetischen Fibrinolysehemmern durchgeführt.

## Zur klinischen Bedeutung von Makroenzymen und ihrer labormedizinischen Identifizierung

A. Wilhelm, H. W. Intorp, N. van Hussen, U. Gerlach

Universität Münster

Makroenzyme sind makromolekulare Komplexe von Enzymen mit Serumbestandteilen, vorwiegend Immunglobulinen. Von den diagnostisch häufig eingesetzten Enzymen sind bisher Makroenzyme der  $\alpha$ -Amylase, der alkalischen Phosphatase, der Lactatdehydrogenase und der Creatinkinase beobachtet worden. Das Auftreten solcher Makroenzyme geht in der Regel mit 2 auffälligen Veränderungen der jeweiligen Enzymaktivität im Serum einher:

1. Wegen der verlangsamten Abbau- und Eliminationsgeschwindigkeit der Makroenzyme kommt es zur Anreicherung und damit zur Vermehrung der betreffenden Enzymaktivität im Serum.

2. Bei elektrophoretischer oder chromatographischer Analyse der vermehrten Enzymaktivität werden atypische Banden oder Fraktionen nachweisbar.

Die Häufigkeit von Makroenzymen liegt in der Größenordnung von 1%, so daß auch in kleineren Routinelaboratorien gelegentlich mit ihrem Auftreten gerechnet werden muß. Daß sie in der gesunden Bevölkerung in ähnlicher Häufigkeit beobachtet werden wie bei verschiedenen Krankheitszuständen, weist darauf hin, daß ihnen keine spezifische pathophysiologische Bedeutung zukommt. Sie treten oft als Zufallsbefund in Erscheinung, bei dem eine beobachtete Enzymaktivitätsvermehrung im Serum nicht mit dem klinischen Befund und nicht mit anderen Laboratoriumsbefunden korreliert.

Die Kenntnis derartiger Zusammenhänge und eine frühzeitige Identifikation der beteiligten Makroenzyme sind anzustreben, um diagnostische Fehlinterpretationen und nachfolgende eingreifendere diagnostische Verfahren am Patienten zu vermeiden.

Die Differentialdiagnose „Makroenzym“ ist zu erwägen bei unklaren, klinisch nicht plausiblen Enzymaktivitätssteigerungen im Bereich des Doppeltes bis Vierfachen des oberen Normwertes. Makro-Amylase, die wegen ihres erhöhten Molekulargewichtes nicht durch die Niere ausgeschieden wird, präsentiert sich oft mit der typischen Befundkonstellation einer mäßig vermehrten Serumamylase bei regelrechter Urinamylase und unauffälliger Serumlipase. Makro-Creatinkinase stellt einen Komplex aus CK-BB und Immunglobulin dar. CK-MB-Bestimmungen mit der Immunnephelometrie, die auf der Basis einer CK-M-Hemmung arbeitet, ergeben bei Anwesenheit von Makro-CK falsch hohe CK-MB-Befunde bis hin zu paradoxen Ergebnissen, bei denen der CK-MB-Anteil scheinbar mehr als 100% der CK-Gesamtaktivität beträgt. Bei mäßig starken CK-Erhöhungen mit CK-MB-Anteilen von mehr als 20–30% sollte daher an Makro-CK gedacht werden.

Der labordiagnostische Nachweis von Makroenzymen und die Identifizierung ihrer Komponenten kann erreicht werden durch eine Kombination elektrophoretischer und immunologischer Methoden (Immunsäufung, Immunnephelometrie, Immunnephelometrie) mit enzymhistochemischen Nachweisverfahren.

Eine frühzeitige Identifizierung von Makroenzymen im diagnostischen Vorgehen ist anzustreben zur Vermeidung von irrtümlichen Verdachtsdiagnosen, die eingreifendere diagnostische Verfahren für den Patienten zur Folge haben könnten.

## LDL-Cholesterin – vergleichende Untersuchung der direkten LDL-Cholesterin-Bestimmung (LDL-Chol. direkt) und der quantitativen Lipoproteinelektrophorese (LEP)

K. Wilhelm, A. Weisswange, P. Betz

Benedikt-Kreutz-Rehabilitationszentrum

für Herz- und Kreislaufrkrankungen

D-7812 Bad Krozingen

Die Fällung der LDL am isoelektrischen Punkt ermöglicht jetzt die direkte Bestimmung des LDL-Cholesterins in der Routine. Zur Zeit vergleichen wir die direkte LDL-Cholesterin-Bestimmung mit der LDL-Chol.-Bestimmung anhand der quantitativen LEP im Routineablauf. In unserem Zentrallabor werden jetzt bei den stationären Patienten zusätzlich zur routinemäßigen LEP mit LDL-Chol.-Berechnung (Lipidophor, Immuno) die direkte LDL-Cholesterin-Methode nach Wieland u. Seidel durchgeführt; die Untersuchung zeigte bisher folgende Ergebnisse:

A. Präzision in der Serie (n = 30):

Variationskoeffizient (VK %)	LDL-Chol. direkt	LDL-Chol.-LEP
2 Kontrollseren (Lipidophor P + R)	2,44 und 2,96	2,01 und 2,11
2 Humansenen	1,71 und 0,76	1,63 und 0,80

## B. Präzision von Tag zu Tag (n = 30):

Variationskoeffizient

2 Kontrollseren (Lipidophor P + R) 2,18 u. 2,08 2,14 u. 2,10

## C. Korrelation des LDL-Chol. dir. zu dem LDL-Chol. LEP bei normaler Leber- und Nierenfunktion:

	Mittelwert	SD
N = 255	LDL-Chol. dir.: 148,3 mg/dl	37,1
r = 0,986	LDL-Chol. LEP: 142,1 mg/dl	35,6

Regressionsgrade

 $x = 1,029 \cdot y + 2,061$  $y = 0,946 \cdot x + 1,889$ 

## D. Korrelation des LDL-Chol. dir. zu der LDL-Chol.-LEP bei pathologischen Leber- und Nierenwerten:

	Mittelwert	SD
N = 99	LDL-Chol. dir.: 154,3 mg/dl	32,8
r = 0,977	LDL-Chol. LEP: 140,2 mg/dl	31,7

Regressionsgrade

 $x = 1,01 \cdot y + 12,71$  $y = 0,946 \cdot x - 5,72$ 

Schlußfolgerung: Unter exakter Einhaltung der Arbeitsvorschrift (besonders konstante Temperatur und pH der Fällungslösung) lassen sich mit guter Genauigkeit und Konstanz LDL-Chol.-Werte direkt bestimmen bei insgesamt geringerem Arbeitsaufwand. Die bei der HDL-Bestimmung und anschließenden LDL-Berechnung nach Friedewald auftretenden Unzulänglichkeiten fallen weg. Bei den bisher durchgeführten Parallelbestimmungen konnten wir eine gute Übereinstimmung bei Serum-TG bis 700 mg/dl feststellen. Im allgemeinen liegen die mit der direkten Methode bestimmten Werte um 2–4% höher. Für eine differenziertere Fettstoffwechseldiagnostik (z.B. bei LDL-Chol. über 150 mg/dl) sollte allerdings zusätzlich die quantitative Lipoproteinelektrophorese durchgeführt werden.

## Hämostaseologische In-vitro-Untersuchungen von Fresh Frozen Plasma (FFP) mit Hilfe der Laser-Nephelometrie

G. U. Wollmann, W. Heller, R. Schorer

Zentralinstitut für Anaesthesiologie der Universität Tübingen

Fresh Frozen Plasma (FFP) erlangt für die operative Medizin eine immer größere Bedeutung im Hinblick auf den Volumenersatz. Erwähnt seien das geringere Hepatitisrisiko, längere Haltbarkeit der Konserve und andere klinisch relevante Parameter.

Die bereits bei Antigenantikörperreaktionen (Präzipitabildung) angewandte Streulicht-Intensitätsmessung mit Hilfe des Laser-Nephelometers wurde auf die Bestimmung der Entstehung von Fibrinpolymeren in der Gerinnungsanalytik übertragen. Die Aktivitätsmessungen beinhalten sowohl die einzelnen Gerinnungsfaktoren als auch die Globalteste. Den gerinnungsphysiologischen Untersuchungen am FFP ging der Vergleich zwischen der Koagulometermethode nach Sarstedt und der Laser-Nephelometrie-Methode voraus. Die Untersuchungen am gefrorenen Frischplasma haben folgendes gezeigt:

Im Vergleich der beiden Untersuchungsmethoden konnten wir u.a. signifikante Korrelationen bei den einzelnen Gerinnungsfaktoren und der Globalteste feststellen. Die Lasernephelometrie bietet darüber hinaus die Möglichkeit einer Aussage über den Ablauf der Gerinnung (Geschwindigkeit).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß bei der Koagulometermethode das Gerinnungssystem auf mechanische Weise vorzeitig aktiviert wird. Ferner ist das Gerinnungssystem im gefrorenen Frischplasma aktiviert.

## Das Verhalten von Präkallikrein, Antiplasmin, Plasminogen und Fibrinogen im gefrorenen Frischplasma

G. U. Wollmann, W. Heller, R. Schorer

Zentralinstitut für Anaesthesiologie der Universität Tübingen

Die hier genannten Parameter wurden in gefrorenem Frischplasma untersucht. Dabei stand im Vordergrund der Untersuchungen ein Vergleich der immunologischen Methoden mit solchen, die mit Hilfe chromogener Substrate bestimmt wurden, unter besonderer Berücksichtigung des Auftauprozesses.

1. Präkallikrein wurde einerseits lasernephelometrisch mit Fletcher-Faktor-Mangelplasma, andererseits mit chromogenem Substrat gemessen und beide Methoden verglichen.
2. Immunologische lasernephelometrische Bestimmung sowie Nachweis des Plasminogens mit einem chromogenem Substrat bei Gegenüberstellung beider Methoden.
3. Turbidimetrische und lasernephelometrische Bestimmung von Fibrinogen mit Hilfe eines Antiserums.
4. Bestimmung des Antiplasmins mit einem chromogenem Substrat.

Wir konnten feststellen, daß der Gehalt an Fibrinogen und Antiplasmin den Normalwerten entspricht.

In einem Teil der Konserven waren die Plasminogen- und Präkallikreinaktivitäten erniedrigt, zum anderen lagen sie an der oberen Normgrenze.

## Quantitativer und spezifischer IgM- und IgA-Antikörpernachweis mit dem ELISA

H. Wolf, U. Huschka, H. W. Doerr

Institut für Immunologie und Serologie und  
Institut für Medizinische Virologie der Universität Heidelberg

In Mikrotitergüßplättchen, deren Boden kovalent mit schwerketten-spezifischem anti-IgM bzw. anti-IgA beladen ist, können mit einem Enzymimmunoassay Serum-IgM- und -IgA schnell und sehr empfindlich nachgewiesen werden. Die Gläser sind mit 1 M Propionsäure und 3 M NaSCN regenerierbar und bereits für über 100 Adsorption/Eltutionszyklen eingesetzt worden.

Für den qualitativen Antikörpernachweis erweist sich die affinitätschromatographische IgM/IgA-Isolierung über Mikrosäulen (1 x 1 cm) aus ebenfalls regenerierbaren, entsprechend beladenen „controlled-pore glass“-Beads als empfindlicher. Dies haben vergleichende Untersuchungen in der Luesserologie (TPHA) ergeben. Daneben ist das System auch erfolgreich im anti-HBc-blocking-ELISA und Röteln-HHT erprobt worden.

## Wertigkeit der Bestimmung von PTH bei der Differentialdiagnose der Hyperkalzämie

W. Woloszczuk, J. Kovarik, H. Puxkandl

Ludwig-Boltzmann-Institut für Klinische Endokrinologie und  
II. Medizinische Universitätsklinik Wien

Zwischen November 1981 und März 1982 wurden an 109 konsekutiven Tagen mit Laborbetrieb 26700 Patientenproben von ca. 15000 unselektierten ambulanten und stationären Patienten der II. Medizinischen Universitätsklinik mit einem Vielkanalautomaten untersucht. 303 Proben von 164 Patienten entsprachen den Kriterien Hyperkalzämie, Normoproteinämie und normaler Nierenfunktion, das entspricht 1,1% des untersuchten Kollektivs. Diese Patienten wurden retrospektiv in drei Gruppen eingeteilt: 13 Patienten (8%) mit chirurgisch verifiziertem primärem Hyperparathyreoidismus (pHPT) (Gruppe 1);

20 Patienten (12%) mit klinischem Verdacht auf pHPT, definiert durch Hypophosphatämie, erhöhten Chlorid/Phosphatquotienten sowie Fehlen von Hinweisen auf eine Hyperkalzämie anderer Genese, davon 4 Patienten mit persistierendem HPT nach Nierentransplantation (Gruppe 2): 131 Patienten (80%) ohne deutlichen Hinweis auf pHPT (Gruppe 3). Dies entspricht einer international vergleichbaren Inzidenz von pHPT (Gruppen 1 + 2) von 0,2%. Die Bestimmung von Parathormon erfolgte radioimmunologisch mit 4 Testbesteckten: A-heterologes bovines System (IRE); B-homologes System hPTH 44-68 (Henning); C-homologes System hPTH 68-84 (INC); D-heterologes bovines System (CNR).

Um die klinische Wertigkeit der verschiedenen Methoden beurteilen zu können erfolgte die Zuordnung der gemessenen PTH-Werte retrospektiv und wurde nicht zur Gruppeneinteilung herangezogen.

Test D ergab keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen und ist daher unbrauchbar. Wir fanden signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 ( $p < 0,001$  für A, B und C) und zwischen den Gruppen 1 und 2 ( $p < 0,001$  für A und B,  $p < 0,002$  für C). Zum quantitativen Vergleich der Aussagekraft wurden der Anteil richtiger Ergebnisse (Effizienz) und die Wertigkeit positiver Befunde unter zwei verschiedenen Voraussetzungen, nämlich 10% falsch positiver Ergebnisse für Gruppe 3 (d.h. 90% Spezifität), bzw. 10% falsch negativer Ergebnisse für Gruppe 2 (d.h. 90% Sensitivität), berechnet.

	Effizienz (%)	Wertigkeit pos. Befunde (%)
Test A	91/92	70/74
Test B	85/68	61/37
Test C	79/64	48/35

Die auffälligen Unterschiede illustrieren die Notwendigkeit, die Wertigkeit jeder PTH-Bestimmungsmethode im eigenen Labor zu verifizieren, bevor diagnostisch relevante Befunde erstellt werden können. Ist diese Voraussetzung erfüllt, liefert die Bestimmung von PTH eine verlässliche Information zur Diagnose des pHPT und damit zur Differentialdiagnose der Hyperkalzämie.

## Vorläufige Ergebnisse zum Schwermetallgehalt in Haaren und Serum in Hinblick auf nicht hormonell bedingten Haarausfall bei Frauen

E. Ziegler, B. Ziegler

c/o Dr. W. Hauck und Dr. B. Ziegler, Laborärzte, Karlsruhe

Die Schwermetalle Cr, Cd, Mn, Ni, Pb, Ti und Zn wurden bestimmt in Serum und Haaren von Kindern, Männern und Frauen (gefärbte, mit und ohne Dauerwelle behandeltes sowie naturbelassenes Haar).

An Kinderhaar wird für alle untersuchten Metalle die Reproduzierbarkeit aufgezeigt ( $VK < 8\%$ ). Es wird versucht, ein Normbereich aufzustellen. Für einige der o.g. Schwermetalle konnten zusätzlich Ergebnisse aus Reihenuntersuchungen herangezogen werden (1, 2).

Eine extreme Veränderung des Gehaltes an Schwermetallen fällt auf bei Frauenhaar, das gefärbt ist, insbesondere bei zusätzlicher Behandlung mit Dauerwelle. Diese Frauen klagen über Haarausfall. Hormonell bedingter Haarausfall konnte ausgeschlossen werden. War ein Vergleich mit naturbelassenem Haar derselben Frau möglich, so ist der Gehalt an Cr, Cd und Ni, häufig auch an Mn, signifikant verändert. Der Gehalt dieser Metalle im Serum liegt teilweise auch außerhalb der Norm.

Signifikante Abhängigkeit zwischen nicht hormonell bedingtem Haarausfall und Schwermetallgehalt im Serum und Haar kann vorläufig noch nicht aufgestellt werden, einerseits wegen der geringen Anzahl der untersuchten Frauen ( $n = 43$ ), der häufig nicht erfassbaren Mittel zum Färben und Dauerwellen, andererseits wegen der nicht bekannten allgemeinen Schwermetallbelastung dieser Frauen.

Literatur beim Verfasser.

Herrn Dr. K. Krumm, Facharzt für Hautkrankheiten, möchten wir für die außerordentlich gute Zusammenarbeit danken.

## Apparativ einfache Hg-Bestimmung im Urin mit flammenloser AAS

E. Ziegler, B. Ziegler

c/o Dr. W. Hauck und Dr. B. Ziegler, Laborärzte, Karlsruhe

Es wird eine Hg-Bestimmung vorgestellt, geeignet bei 1 bis 10 Proben pro Serie und zwar für Hg im Urin ( $\geq 20 \text{ ng/ml}$ ); die Toleranzgrenze für Hg im Urin beträgt  $200 \text{ ng/ml}$  sowie für Hg im Serum oberhalb der kritischen Grenze ( $\geq 20 \text{ ng/ml}$ ). Die Bestimmung erfolgt mit flammenloser AAS über Gold-Amalgam-Bildung in aufgearauten, Au-Salz-haltigen Graphitrohrkivetten mittels Standard-Additionsverfahren. AAS-Geräte für flammenlose AAS können ohne Zusatzteile verwendet werden. Der Zeitaufwand pro Messung beträgt 1,5 Minuten. Vergleichende Hg-Bestimmungen in wässriger bzw. salzhaltiger Lösung, in Urin und Serum zeigen, daß der Einfluß der Matrix auf das Hg-Signal gering ist. Für die Reproduzierbarkeit wird  $VK < 8\%$  ermittelt. Beim Standard-Additionsverfahren beträgt der Korrelationskoeffizient für 4 Meßpunkte 1,0 bis 0,98 (Konfidenz  $> 95\%$ ).

## Nachträge

### Therapeutic Drug Monitoring – Analytik und Qualitätskontrolle

K. Borne

Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Das klinisch-chemische Laboratorium wird heute mit vielfältigen Anforderungen zur Bestimmung von Pharmaka in Körperflüssigkeiten zum Zwecke der Therapieunterstützung konfrontiert. Dabei treten etwas andere Probleme auf als bei der Analytik körpereigener Stoffe: 1. Es gibt eine große Anzahl von Pharmaka, die sich z.T. nur gering in Struktur und Wirkung unterscheiden und deren Anwendung kurzfristig wechselt. 2. Eine Vielzahl von analytischen Methoden erschwert die Auswahl. Für das Therapeutic Drug Monitoring muß eine strenge Auswahl des vom Labor anzubietenden Programms getroffen werden. Weiterhin empfiehlt sich eine Teilung des Analysenprogramms in 2 Kategorien: 1. Ein feststehendes Routineprogramm und 2. ein Spezialprogramm, dessen Art und Umfang den örtlichen Bedürfnissen flexibel angepaßt werden können. In beiden Fällen wird man versuchen, mit möglichst wenigen Methoden auszukommen, nicht zuletzt aus Kostengründen. Von den klassischen photometrischen und fluorimetrischen Methoden sind viele infolge geringer Spezifität nicht mehr zu empfehlen. Die geringe Sensitivität photometrischer Methoden überfordert auch häufig den klinisch vertretbaren Probenbedarf, z.B. bei Wiederholungsanalysen oder bei Säuglingen. Wie auch Ringversuche zeigen, dominieren in der Routineanalytik z.Zt. die kompetitiven immunochemischen Methoden (EIA, ELISA, FIA, RIA), sieht man von speziellen Fällen einmal ab. Das allen Immunoassays gemeinsame Problem der Spezifität wird im Referat an typischen Beispielen diskutiert. Die Sensitivität von Immunoassays variiert merklich mit der verwendeten Detektionsmethode (Radioaktivität, Enzymaktivität, Fluoreszenz) und unterscheidet sich zusätzlich bei homogenen und heterogenen Verfahren. Für ein Routinelabor ist es m.E. wichtig, zusätzlich zu den genannten immunochemischen Methoden eine alternative chromatographische Methode zur Verfügung zu haben, um einerseits unplausible Routineergebnisse mit einer unabhängigen Methode überprüfen zu können und weiterhin ein geeignetes flexibles Instrument für neue und unerwartet auftretende Fragestellungen zu haben. Dafür bietet sich am ehesten die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) an, deren Flexibilität und analytische Zuverlässigkeit im Referat durch Beispiele (Antibiotika, Purine) ausführlich belegt werden.

Eine leistungsfähige Analytik bedarf selbstverständlich einer adäquaten Qualitätssicherung. Dafür liefert die klinisch-chemische Praxis geeignete Vorbilder. Die Möglichkeiten der internen Kontrollen sind durch ein zunehmendes kommerzielles Angebot von Kontrollmaterial in letzter Zeit verbessert worden. Ergänzende externe Sicherungsmaßnahmen werden durch den Aufbau von Ringversuchen ermöglicht (vgl. das Referat von Reinauer und Borne).