

# Durchflußzytometrische Charakterisierung leukämischer Blutproben mit einer Acridinorange-Schnellfärbung

G. Zeile

Abteilung für Hämatologie, Universitätsklinikum Mainz

## Einleitung

In den vergangenen Jahren sind in Form der Durchflußzytometrie neue Techniken der automatisierten Zellanalyse entwickelt worden, die unabhängig von teilweise aufwendigen Differenzierungstätigkeiten am Mikroskop äußerst rasche und exakte Messungen vorwiegend physikalischer und biochemischer Parameter an Einzelzellen in Suspension ermöglichen. Der wirklich entscheidende meßtechnische Fortschritt dieser mikroskop-unabhängigen Durchflußsysteme gründet sich auf einen außerordentlich schnellen An- und Abtransport von Zellen in einem hydrodynamisch fokussierten Probenstrom. Je nach Konstruktion des Gerätesystems und Intention des Benutzers können entweder einzeln oder kombiniert unterschiedliche Absorptions-, Streulicht- oder Fluoreszenzlicht-Intensitäten in separaten Photomultipliern erfaßt und z.B. oszillographisch zur Darstellung gebracht werden. Die Grundlagen einer Blutbilddifferenzierung nach Supravitalfärbung von Blutproben mit Acridinorange (AO) sind von Adams und Kamensky (1, 2), später auch von Melamed (3-5) erarbeitet worden.

## Probenmaterial und Gerätesystem

In einer breit angelegten Studie der vergangenen Jahre wurden durchflußzytometrische Befunde von normalen und leukämischen Blut- und Knochenmark-Zellproben nach modifizierten AO-Färbungen beschrieben und mit konventionellen morphologischen, zytochemischen, zyto-genetischen und autoradiographischen Untersuchungsergebnissen des jeweils gleichen Zellmaterials verglichen.

Die durchflußzytometrischen Erfahrungen gründen sich im wesentlichen auf Messungen an einem 4-parametri-

schen Forschungsgerät der Firma Ortho Instruments, das die simultane Registrierung von Extinktionen sowie Grünfluoreszenz-, Rotfluoreszenz- und Streulicht-Intensitäten bei jeweils biparametrischer Darstellung auf einem Speicher-Oszillographen-Bildschirm erlaubt (Abb. 1).

## Funktionsbeschreibung des Durchflußzytometer-Gerätesystems

Monodisperse, fluorochromierte Zellen fließen hydrodynamisch fokussiert in einem fadenförmigen Probenstrom im Zentrum eines laminaren Hüllstroms durch eine 200 µm lichte Meßkammer (flow channel) und werden hier im rechten Winkel von einem Argonionen-Laserstrahl (488 nm; blau) getroffen (Meßkonfiguration nach Crossland-Taylor, 1953). Bestimmte, annähernd rechtwinklig zum Laserstrahl von der illuminierten Zelle ausgehende Emissionslicht-Anteile werden zunächst gebündelt (condenser lens) und nach Durchtritt durch ein dichroitisches Filter (dichroic mirror) mit Kante bei 590 nm entsprechend ihrer Grünlichtmenge (Bandbreite von 510 bis 575 nm) und ihrer Rotlichtintensität (Bandbreite von 600 bis ca. 650 nm) in zwei Photomultipliern (PMT 1 und 2) getrennt gemessen. Zwei weitere PMT-Systeme (scatter sensors) am Ende der optischen Achse des Laserlichtstrahls registrieren einerseits das von der vorbeiströmenden Zelle erzeugte Engwinkel-Vorwärtstreulicht (narrow angle forward light scatter) und andererseits die gleichfalls von ihr im zentralen Strahlengang ausgelöste Abschattung (extinction = Absorption). Anschließend werden die Signale der vier Photomultiplier paarweise in freier Kombination sowohl analog als auch dem Bildschirm eines Speicheroszillographen dargestellt als auch gleichzeitig über vier zugehörige Analog-Digital-Wandler

### DURCHFLUSS-ZYTOPHOTOMETER MIT DATENERFASSUNG 4-PARAMETER-GERÄTEKOMBINATION: "SYSTEM MAINZ"

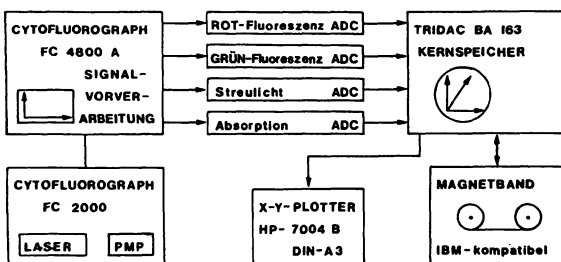


Abb. 1: Durchflußzytometer-Gerätesystem der Abteilung für Hämatologie, Universitätsklinikum Mainz

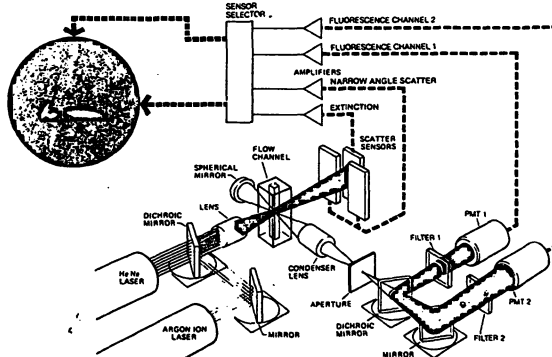


Abb. 2: Blockschaltbild des „Cytofluorograf FC 200“ (nach einem Prospekt der Fa. Ortho Instruments)

(ADC) in den Kernspeicher des Tridac-Vielkanal-Impulshöhen-Analysators eingespeist. Aus dem hartverdrahteten Kernspeicher können die digitalen Daten erneut mono- oder biparametrisch auf einen Oszillographen-Bildschirm zwei- oder dreidimensional übertragen und fotografiert oder über einen X/Y-Schreiber ausgeschrieben oder auf einem 9spurigen Magnetband abgespeichert werden. Die elektronische Auslegung des bestehenden Gerätesystems gestattet darüber hinaus das simultane, blockweise Übertragen aller vier Parameter mit streng zellbezogener Zuordnung auf Magnetband im „listmode-Verfahren“ für eine spätere rechnergestützte Auswertung (Abb. 2).

### Probenvorbereitung (AO-Schnellfärbung)

Unter Außerachtlassung anderweitiger Untersuchungsgänge wurde die AO-Supravitalfärbung von Bluteukozyten wie folgt durchgeführt:

- 1 bis 2 Tropfen EDTA-Blut ohne weitere Präparation mit
- 1 bis 2 ml einer leicht hypotonen AO-Lösung (1 mg AO, 6,50 g NaCl, 250 mg  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$ , 45 mg  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  auf 1 l Aqua dest.) mischen und
- innerhalb der nächsten 5 bis 7 Minuten den dynamischen Färbeprozess durchflußzytometrisch verfolgen und zwischen der 8. und 10. Minute abschließend dokumentieren.

### Durchflußzytometrische Messung und Signalauswertung

Da sämtliche Blutproben dieser Untersuchungsreihe jeweils mit dem gleichen Fluorochrom (AO) markiert wurden, konnten alle Messungen bei grundsätzlich identischer Geräteeinstellung vorgenommen werden. Zeitraubende Spülvorgänge sowie z.T. aufwendige Umstellungen der Lasercharakteristik, der Filterkombination, des Triggers usw. waren daher entbehrlich.

Beim biparametrischen Display der Fluoreszenzintensitäten wurden einheitlich die RNS-bedingte Rotfluoreszenz (510 bis 575 nm) entlang der x-Achse und die DNS-abhängige Grünfluoreszenz (600 bis ca. 650 nm) entlang der y-Achse aufgetragen. In dieser Meßanordnung bedeutet jeder Lichtpunkt auf dem Bildschirm des analog geschalteten Speicheroszillographen eine kombinierte Meßgröße, die dem paarigen Rot- und Grünfluoreszenzsignal einer kernhaltigen Zelle bei kurzfristiger Anregung durch einen Argonionen-Laser-Lichtstrahl entspricht (Abb. 2). Zellen mit gleichartigen Rot- und Grünfluoreszenzsignalen werden daher in Form von Punktwolken („cluster“) dargestellt. Reife Erythrozyten in den Vollblutproben, die im Gegensatz zu den Leukozyten keine nennenswerten RNS- und DNS-Mengen besitzen, fluoreszieren nicht und können unter diesen Meßbedingungen auch nicht registriert werden. Andererseits – und dies ist für die gesamte Versuchsanordnung von großem Vorteil – geht von den Erythrozyten auch keine entscheidende Störung des eigentlich wichtigen Meßvorgangs aus. Zählraten von 200 bis maximal 500 Leukozyten pro Sekunde werden nicht überschritten.

Besonderes Augenmerk wurde der dynamischen Entwicklung sowie der endgültigen Lagebeziehung der einzelnen Cluster zueinander in der ca. 8. bis 10. Minute gewidmet. Zusätzlich wurde nach Abspeicherung der Simultanmessungen von Rotfluoreszenz, Grünfluoreszenz, Streulicht und Extinktion auf 9-Spur-Magnetband im Listmo-

de-Verfahren zur besseren Differenzierung der einzelnen Blutzelltypen eine multivariate Cluster-Analyse mit Gruppenschwerpunktbestimmung erprobt.

### Ergebnisse

Das zweidimensionale, biparametrische Zytofluorogramm (2) des normalen peripheren Blutes nach ca. 10minütiger Supravitalfärbung mit AO zeigt drei bis fünf typische Punktwolken (Abb. 3). Hierbei entspricht die Population L mit den niedrigsten Rotfluoreszenz-Intensitäten den Lymphozyten, Population M den Monozyten und Population G mit den vergleichsweise höchsten Rotfluoreszenz-Intensitäten den Granulozyten der neutrophilen Endreifungsstufen. Hierzu können die Populationen B (Basophile) und E (Eosinophile) kommen. Die Cluster des speicheroszillographischen Bildes überschneiden sich im allgemeinen nicht oder nur unbedeutend, so daß die hiermit repräsentierten drei bis fünf Leukozyten-Subpopulationen auf sehr einfache Art und Weise qualitativ und quantitativ differenziert werden können.

Die Reproduzierbarkeit des Meßergebnisses ist ausgezeichnet: Am Beispiel von 10fach aus einer und derselben Blutprobe wiederholten Messungen à 10000 Zellen ergab sich für die Granulozyten-Population eine Standardabweichung von  $\pm 0,18\%$ . Sie liegt damit erheblich günstiger als für 10 routinemäßig von Hand ausgezählte Blutausstriche à 100 Zellen aus eben der gleichen Blutprobe mit einer Standardabweichung von  $\pm 4,7\%$ . Selbst wenn der Stichprobenumfang in beiden Versuchsreihen konstant gehalten wird, zählt das Durchfluß-Fluoreszenzanalysensystem immer noch ca. dreimal so genau, als es selbst eine geübte MTA bei bedeutend größerem Zeitaufwand zu leisten vermag.

Bei allen Untersuchungen mit der AO-Supravital-Schnellfärbemethode können keine fixen, für den interindividuellen Vergleich ausreichend zuverlässigen Clusterpositionen im Oszillographen-Koordinatensystem festgelegt werden. Auch intraindividuell schwanken die Clu-

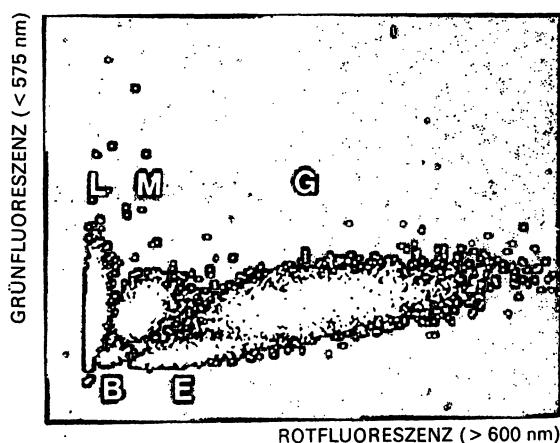


Abb. 3: Normales Zytofluorogramm einer Blutprobe. Cluster-Verteilung in der 10. Minute der AO-Supravitalfärbung. Im Differentialblutbild wurden von Hand 57% Segmentkernige, 25% Lymphozyten, 9% Monozyten, 7% Eosinophile und 2% Basophile gezählt. Durchflußzytometrisch wurden bei insgesamt 10000 registrierten Zellen 54,85% Granulozyten (G), 27,65% Lymphozyten (L), 11,79% Monozyten (M), 4,43% Eosinophile (E) und 1,28% Basophile (B) ermittelt

ster und ihre Gruppenschwerpunkte im gegenseitigen Bezug sowohl in der Tag-zu-Tag-Messung als auch bei Bestimmungen aus der gleichen Blutprobe in Abhängigkeit von der Farbstoffkonzentration, dem Hypotoniegrad der AO-Lösung, der Temperatur während der Färbereaktion und dem Zeitpunkt der Befund-Dokumentation. Dennoch können anhand von mehr als 4000 fluoreszenzanalytisch untersuchten Blutproben, die von Patienten mit überwiegend hämatologischen Erkrankungen stammten, einige wichtige Aussagen über regelmäßig wiederkehrende Befunde gemacht werden.

In Blutproben gesunder Probanden emittieren nach Supravitalfärbung regelmäßig die Monozyten die stärksten Grünfluoreszenzsignale. Gelegentlich beobachtet man aber im Zytofluorogramm von gleichfalls klinisch und zytomorphologisch unauffälligen Probanden über dem Lymphozyten-Cluster einzelne (0,5%) Signale höherer Grünfluoreszenz-Intensität, die wegen der offensichtlich gesteigerten zellulären DNS-Menge mit großer Wahrscheinlichkeit für Lymphozyten in S- und  $G_2$ +M-Phase und damit für eine proliferative Aktivität lymphozytärer Zellen in der peripheren Blutbahn sprechen (Abb. 4B). Auch in Fällen eines floriden Morbus Pfeiffer (Abb. 4C) oder aber einer unbehandelten ALL (Abb. 4D), läßt sich durchflußzytometrisch stets ein vergleichsweise geringer Prozentsatz (näherungsweise 0,5 bis 2,0%) augenscheinlich proliferierender lymphatischer Zellelemente nachweisen. Besonders bei klinisch gesicherten lymphotropen Virusinfekten können diese Signale bis zu 10 Wochen nach dem Höhepunkt der Erkrankung noch im Blut des Patienten nachweisbar sein. Unter wirksamer zytostatischer Therapie bei ALL dagegen, gehen die gleichen Signale innerhalb von 1 bis 2 Tagen bis auf verschwindend geringe Reste zurück. Hinweise für ein zytomorphologisches Äquivalent in zugehörigen panoptisch gefärbten Blutaussstrichen finden sich nur insofern, als einzelne – meist größere – lymphatische Zellelemente andeutungsweise kräftiger gefärbtes Kernchromatin als normal besitzen.

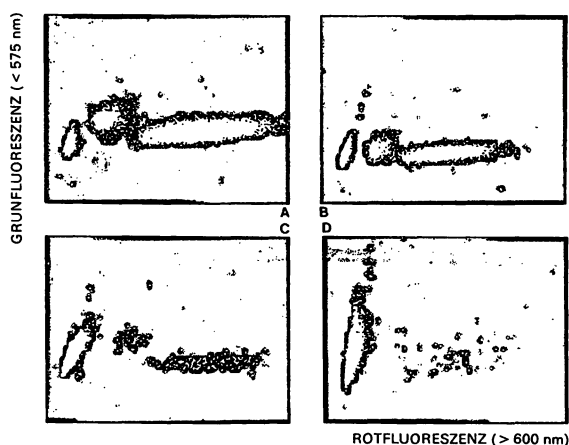


Abb. 4: Zytofluorometrischer Nachweis offensichtlich proliferierender lymphatischer Zellelemente im Blut: A. Gesunde Kontrollperson; unauffälliges Zytofluorogramm. B. Gesunde Kontrollperson; Zytofluorogramm mit 0,42% vermutlich proliferierender lymphatischer Zellelemente mit ungewöhnlich erhöhten DNS-Werten oberhalb des normalen Lymphozyten-Clusters. C. Morbus Pfeiffer; Zytofluorogramm mit 87% Lymphozyten und Lymphoidzellen, davon ca. 0,5% mit erhöhten DNS-Werten und somit sehr wahrscheinlich in S- und  $G_2$ +M-Phase befindlich. D. ALL; Zytofluorogramm mit 97% Blasten, davon augenscheinlich ca. 1,2% proliferierend

Supravital gefärbte Blutproben von Patienten mit akuten Leukämien zeigen entsprechend ihrem Anteil an mikroskopisch erkennbaren Blasten auffällige Cluster, die sich im Bereich der normalen Lymphozyten-, Monozyten- und Granulozyten-Cluster abbilden. Zusätzlich gelangen rechts oberhalb der gelegentlich breitgestreuten Blasten-Lichtpunktwolken immer einzelne Leukämiezellen zur Darstellung, die ausweislich ihrer gesteigerten Grünfluoreszenz-Intensitäten einen vermehrten DNS-Gehalt besitzen und mit großer Wahrscheinlichkeit proliferierende Zellen in S- und  $G_2$ +M-Phase sind. Die Gruppenschwerpunkte aller Leukämiezellen-Cluster konzentrieren sich jedoch regelmäßig auf ein Areal, das links vom Lymphozyten-Cluster, oben vom Monozyten-Cluster und rechts vom Granulozyten-Cluster begrenzt ist.

Die genaue Position der Blasten-Cluster läßt enge Zusammenhänge mit dem zytochemisch bestimmten Leukämietyp erkennen. PAS-positive Leukämiezellen projizieren sich auf den Bereich des normalen Lymphozyten-Clusters, Esterase-positive Leukämiezellen bilden sich innerhalb des typischen Monozyten-Clusters ab und Peroxidase-positive Leukämiezellen stellen sich individuell unterschiedlich in einem relativ weitläufigen Bezirk links unterhalb oder im linken Anteil des ausgedehnten Granulozyten-Clusters dar.

Die in den Abb. 4 bis 8 angewendeten Kurzbezeichnungen für Untergruppen der akuten Leukämien entsprechen den zytochemischen Klassifikationsmerkmalen von Löffler (6) und der international gebräuchlichen FAB-Klassifikation nach Bennett et al. (7).

Lymphoblasten des PAS/L1-Typs mit schmalem Zytoplasmasaum und geringer Rotfluoreszenz-Emission bilden vergleichsweise schlanke Punktvolken, welche den linken Anteil des normalen Lymphozyten-Clusters überlagern (Abb. 5A). Dagegen gelangen Lymphoblasten des PAS/L2-Typs mit stärkeren Rotfluoreszenz-Signalen mehr nach rechts ausladend zur Darstellung (Abb. 5B). Darüber hinaus kann auch innerhalb der

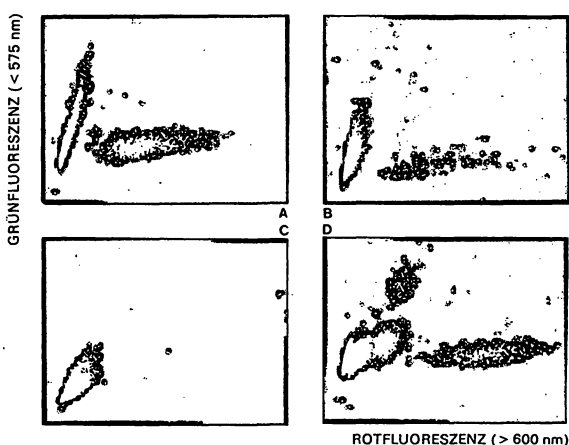


Abb. 5: Zytofluorogramme bei akuten Leukämien: A. Schmale, nicht rechtsausladende Punktvolke bei ALL, PAS/L1-Typ. B. Schmale, rechts ausladende Punktvolke bei ALL, PAS/L2-Typ. C. Nur gering vom Lymphozyten-Cluster abgesetzte Blasten-Punktvolke bei AML, POX-1-Typ (M1). D. Zwischen Lymphozyten- und Monozyten-Cluster gelegene Blastenpunktvolke bei AML, POX-2-Typ (M2). Rechts oberhalb davon einzelne Zellen in S-Phase und mehrere Zellen in  $G_2$ +M-Phase

(Fortsetzung auf Seite 427)

## Robert-Koch-Preis 1984

*Der Robert-Koch-Preis und die Robert-Koch-Medaille 1984, die die Robert-Koch-Stiftung e. V. jährlich für hervorragende Arbeiten auf dem Gebiet der Grundlagenforschung der Infektionskrankheiten und anderer Volkskrankheiten verleiht, wurde in diesem Jahr Prof. Dr. med. Walter Doerfler, Köln, und Prof. Stuart F. Schlossman, M.D., Boston/USA, zu gleichen Teilen zuerkannt. Die Auszeichnungen, mit denen Forschungen zu einem der fundamentalen biologischen Phänomene, der Steuerung von Lebensprozessen, gewürdigt werden, überreichte der Vorsitzende des wissenschaftlichen Beirates der Robert-Koch-Stiftung, Prof. Dr. Dr. h. c. Otto Westphal im Rahmen eines Festaktes am Montag, 5. November 1984, in der Universität Bonn. Mit insgesamt 80 000 DM dotiert ist der Robert-Koch-Preis eine der höchsten wissenschaftlichen Anerkennungen in der Bundesrepublik.*

**Walter Doerfler** (51) gilt als einer der Pioniere der Virusforschung. Der Preis wurde ihm für die Entdeckung der Integration viralen DNA in das Genom von Säugetierzellen verliehen. In zahlreichen anschließenden Untersuchungen hat Doerfler dieses Phänomen in großer Breite höchst erfolgreich untersucht und abgeklärt. Es erwies sich auch als grundlegend für das Verständnis der Beteiligung von Viren bei der Krebsentstehung. Doerfler begann sein Medizinstudium an der Universität Erlangen und promovierte 1959 an der Universität München. Er vervollständigte seine Ausbildung als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Biochemie in München und als Postdoctoral Fellow am Department of Biochemistry der Stanford University, Kalifornien. Von 1966-1971 war Doerfler zunächst als Assistant, dann als Associate Professor an der Rockefeller University in New York tätig. Nach einer Gastprofessur in Uppsala wurde er 1972 auf den Lehrstuhl für Genetik an der Universität Köln berufen.

Walter Doerfler,  
Köln



In seinem Vortrag im Anschluß an die Preisverleihung stellte Doerfler die Integration fremder DNA in Säugerzellen am Beispiel der menschlichen Adenovirus-DNA, die er bei seinen Untersuchungen als Modellgenom verwendete, dar. Die Zellen eines Organismus enthalten im allgemeinen die gleiche genetische Information, d. h. die gleiche Art und Menge DNA, die bei der Zellteilung repliziert und zu gleichen Teilen auf die beiden Tochterzellen verteilt wird. Nun kann man in die DNA einer Wirtszelle fremde DNA (Gene) einbauen, die über Phosphodiesterbindungen Bestandteil des Genoms der Wirtszelle wird, ein Vorgang, den man als Integration fremder DNA bezeichnet. Auf diese Weise können neue genetische Informationen eingebaut werden. Die in der fremden DNA

lokalisierten genetischen Kontrollelemente können unter Umständen entscheidende Kontrollfunktionen über die ursprünglich zelleigenen Gene übernehmen.

Doerfler führte aus, daß es in den Zellen höherer Organismen grundsätzlich mindestens zwei Klassen von DNA-Sequenzen gibt, solche, die in einer Zelle häufig vorkommen (repetitive DNA-Sequenzen) und solche, die nur ein- bis zweimal vorkommen (unique DNA). Die Insertion fremder DNA in unique-zelluläre DNA-Sequenzen kann zur Inaktivierung oder Mutation der zellulären Gene oder zu einer Kodierung neuer Genprodukte führen.

Bei seinen seit 1966 laufenden Untersuchungen verwendete Doerfler die DNA der molekularbiologisch sehr gut charakterisierten menschlichen Adenoviren. Während seiner Tätigkeit an der Rockefeller University in New York 1967–1969 konnte er nachweisen, daß Adenovirus Typ 12 DNA schon relativ früh nach der abortiven Infektion in das Genom von Hamsterzellen integriert wird. Bei Zellkulturpassagen geht ein Teil der integrierten viralen Genome wieder verloren, ein Phänomen, dessen Klärung den Autor heute noch beschäftigt. Bei Adenovirus-induzierten Tumorzellen konnte gezeigt werden, daß die onkogene Kapazität der Zellen nach Verlust aller viralen Genome nicht abgenommen hatte.

Seit seiner Übersiedlung an das Institut für Genetik in

Köln im Jahre 1972 beschäftigt sich Doerfler weiterhin mit der Aufklärung von Einzelheiten des Mechanismus der Adenovirus-DNA-Integration. Sein besonderes Interesse gilt dabei der Untersuchung der Lokalisation des integrierten viralen Genoms im Zellgenom kurz nach der Integration.

Von Interesse dürften die Fragen sein, welche Rolle die Integration fremder DNA in das Wirtsgenom bei der Evolution gespielt haben könnte und welche Bedeutung der Integration viraler DNA bei der viralen Onkogenese zukommt. Für die noch in der Zukunft liegende Gentherapie dürften die Kenntnisse über die Integration fremder DNA eine wichtige Voraussetzung zur Anwendung gentechnologischer Methoden sein.

Die Auszeichnung für **Stuart F. Schlossman (49)** bedeutet die Anerkennung seiner hervorragenden Beiträge zum Verständnis der Wirkungsweise des Immunsystems beim Menschen, von denen die Grundlagenforschung ebenso profitiert wie die praktische Medizin. Seine Studien zur Charakterisierung menschlicher Lymphozyten, insbesondere der sogenannten T-Lymphozyten als Zellen des Immunsystems, haben das Verständnis der Pathophysiologie von Infektionskrankheiten, Autoimmunität und des malignen Wachstums insbesondere von Leukämien wesentlich bereichert. Schlossman absolvierte das Medizinstudium am Washington Square College der New York University und promovierte 1958. Es folgten Forschungsarbeiten am National Cancer Institute an der George Washington University und am Beth Israel Hospital in Boston. Seit 1977 ist Schlossman Professor der Medizin an der Harvard Medical School in Boston, Massachusetts.

Schlossman befaßte sich in seinem Vortrag zunächst mit den in den letzten Jahren erarbeiteten Erkenntnissen über die Spezifität, das funktionale Programm, die Heterogenität und den Differenzierungsverlauf der menschlichen T-Lymphozyten. Er erwähnte dabei besonders Methoden zur präzisen Charakterisierung menschlicher T-Zell-Oberflächenantigene mit Hilfe monoklonaler, Hetero- und Autoantikörper. Des weiteren berichtete er über Studien, die sich überwiegend mit dem Differenzierungs- und funktionalen Programm der menschlichen T-Lymphozyten befaßten. Es ist jetzt möglich, die Stufen der menschlichen T-Zellreifung im Thymus und das Stadium zu definieren, in dem immunologische Kompetenz eintritt und sich der T-Zellrezeptor für Antigen entwickelt. Die reifen Zellen lassen sich in zwei Hauptklassen unterteilen. Das Hauptunterscheidungsmerkmal besteht im Vorhandensein von T4 oder T8, wobei die T4-Zellen die Induktor- oder Helferaktivität liefern, während die T8-Zellen die Immunantwort supprimieren oder eine Abnahme bewirken. Die Aktivierung der T-Zellen geschieht durch den Antigen-spezifischen T-Zellrezeptor, der mit außerordentlicher Spezifität Antigen und MHC (Haupt-histokompatibilitätskomplex) erkennt.

Schlossman meint, daß, obwohl bei einer großen Zahl von Autoimmunkrankheiten, wie juveniler rheumatoider Arthritis, systemischem Lupus erythematoses, Multipler Sklerose, Sjögrenscher Krankheit usw., die Hauptdefekte

Stuart F. Schlossman,  
Boston/USA



in den Suppressorzellen definiert sind, wir noch in den Kinderschuhen beim Verständnis des Ausmaßes an T-Zellheterogenität oder des Mechanismus, durch den diese Zellsubpopulationen verändert werden, stecken. Man hat zunehmende Erkenntnisse für die Assoziation von Krankheiten mit dem Helferzellkompartiment, einschließlich des erworbenen Immundefizienz-Syndroms (AIDS), für das gezeigt wurde, daß der HTLV-III-Virus die T4-Zellen eliminiert. Andererseits kann Immundefizienz aber auch von aktivierten T8-Suppressorzellen nach einer Infektion mit EBV oder CMV resultieren.

Weitere Arbeiten sollen zu einer klaren Zerlegung der Helfer- und Suppressorsubpopulationen und zu einer präzisen phänotypischen Unterscheidung zwischen den funktionalen Populationen führen. Die Zellen des lymphoiden Systems spielen bei vielen Krankheiten eine zentrale Rolle und Schlossman sagte, das es begründet sei, daran zu glauben, daß in der nächsten Zeit präzisere Methoden zur Erkennung und Beeinflussung dieser Krankheiten zum Nutzen des erkrankten Menschen verfügbar seien. Als bereits vorhandene Möglichkeit führte er u.a. die Überwindung der MHC-Barriere bei Transplantationen durch Elimination von T-Zellen aus Knochenmark von Spendern mittels monoklonaler Antikörper an.

# Neuer Vorstand beim Berufsverband Deutscher Laborärzte – neues Präsidium bei der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin

Während der Herbsttagung in Bad Nauheim, die der Berufsverband gemeinsam mit der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und der Akademie für ärztliche Fort- und Weiterbildung der Landesärztekammer Hessen durchführte, fand am 2. November 1984 die Jahreshauptversammlung des Berufsverbandes der Laborärzte statt. Auf der gut besuchten Veranstaltung gab der 1. Vorsitzende Dr. M. Eckart einen Bericht über die Entwicklung und die bisher entfaltenen Aktivitäten des erst knapp ein Jahr selbständigen Berufsverbandes.

Für die nächsten zwei Jahre wurde folgender geschäftsführender Vorstand gewählt:

Dr. med. Wolfgang Hauck, Karlsruhe, 1. Vorsitzender  
Dr. med. Wolfgang Weimershaus, Bad Orb, 2. Vorsitzender

Prof. Dr. med. Bruno Deus, Bad Homburg, Schriftführer  
Dr. med. Jürgen Krone, Herford, Kassenwart  
Prof. Dr. med. Hans-Joachim Dulce, Beisitzer  
Dr. med. Otto Fenner, Beisitzer.

Bei der Jahreshauptversammlung der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, die am 3. November 1984 stattfand, wurde für ebenfalls zwei Jahre das Präsidium in folgender Zusammensetzung gewählt:

Prof. Dr. med. Hans Reinauer, Düsseldorf, Präsident  
Prof. Dr. med. Lothar Thomas, Frankfurt, Vizepräsident  
Prof. Dr. med. Bruno Deus, Bad Homburg, Schriftführer  
Dr. med. Jürgen Krone, Herford, Kassenwart  
Prof. Dr. med. Dietrich Paar, Essen, Beisitzer  
Dr. med. Rudolf Seuffer, Reutlingen, Beisitzer.

## Mitteilungen

### Berufsverband Deutscher Medizinischer Mikrobiologen

Seine 3. Hauptversammlung hielt der Berufsverband am 29. Oktober 1984 in München ab und gab dabei die Zusammensetzung des durch eine vorausgegangene Briefwahl neugewählten Vorstandes wie folgt bekannt:

Vorsitzender:

Prof. Dr. med. Wolfgang Opferkuch, Bochum

Stellvertretender Vorsitzender:

Prof. Dr. med. Ronald Ringelmann, Karlsruhe

Schriftführer: PD Dr. med. Walter Sietzen, Ludwigsburg

Schatzmeister: Prof. Dr. med. Sven Carlson, Nürnberg

Beisitzer: Prof. Dr. med. Wolfgang Bredt, Freiburg

Dr. med. Wolfgang Hauck, Karlsruhe

Prof. Dr. med. Johannes Sander, Osnabrück

Prof. Dr. med. Walter Steuer, Stuttgart.

### Deutsche Gesellschaft für Bluttransfusion und Immunhämatologie e.V.

Bei der Mitgliederversammlung, die während des 18. Kongresses der Internationalen Gesellschaft für Bluttransfusion in München stattfand, wurde für den Zeitraum vom 1. 1. 1985 bis 31. 12. 1986 ein neuer Vorstand gewählt, der sich wie folgt zusammensetzt:

1. Vorsitzender: PD Dr. med. Walter Stangel, Hannover.

2. Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. med. Hans Reissigl, Innsbruck/Österreich.

Schriftführer: Dr. med. Heinz Schmitt, Springe.

Schatzmeister:

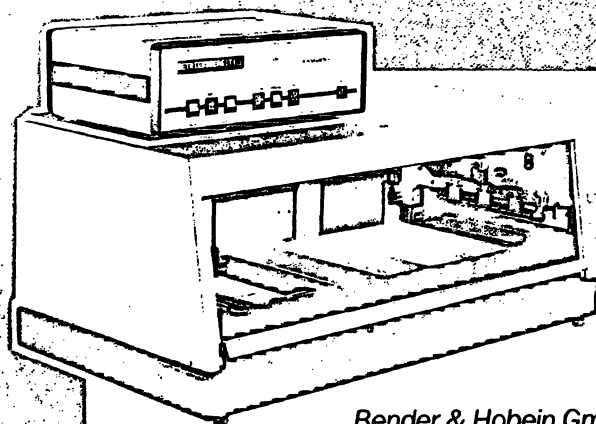
Prof. Dr. med. Werther Schneider, Tübingen.

Beisitzer: Dr. med. Manuel Frey-Wettstein, Schlieren/  
Schweiz;

Prof. Dr. med. Volker Kretschmer, Marburg;

Prof. Dr. med. Jürgen Krüger, Köln;

PD Dr. med. Hans-Peter Geisen, Schwäb. Hall.



**Bender & Hobein GmbH**

8000 München 2, Telefon (089) 514940 · 7500 Karlsruhe 1, Telefon (0721) 616081  
4130 Moers 1, Telefon (02841) 29187

### Das automatische Elektrophorese- Trenngerät

## Elyphor-Fraktomat

Vollautomatische Proteinelektrophorese für große und mittlere Labors.

- Hoher Durchsatz an Elektrophoresen, (in ca. 3 Stunden sind 210 Trennungen durchführbar).
- Rationeller Laborbetrieb (Arbeitszeit am Gerät ca. 8 Minuten, dann automatisch ablaufende Arbeitszeit).
- Stets gleichbleibende hohe Qualität der Ergebnisse, beste Reproduzierbarkeit durch computergesteuerte Präzisionsmechanik.
- Kontrolle aller Arbeitsabläufe sowie Bedienungsführung über Display.
- Wenige, einfache Vorbereitungsarbeiten.

## International Society of Blood Transfusion (ISBT)

Die 1937 gegründete Internationale Gesellschaft für Bluttransfusion hielt vom 22. bis 27. Juli 1984 zum ersten Mal ihren Kongreß in Deutschland ab. Im Rahmen der Eröffnungsfeier wurde die Oehlecker-Medaille, die höchste Auszeichnung, die die Deutsche Gesellschaft für Bluttransfusion und Immunhämatologie zu vergeben hat, Herrn Prof. J. J. van Rood; Leiden, Niederlande, für seine Verdienste um die Erforschung der Histokompatibilitäts-Merkmale verliehen. Prof. van Rood hat darüber hinaus die EUROTRANSPLANT-Organisation gegründet, mit der die meisten der in Deutschland tätigen Transplantationszentralen zusammenarbeiten.

Den Jean Julliard-Preis der Internationalen Gesellschaft für Bluttransfusion für Nachwuchs-Wissenschaftler erhielt Priv.-Doz. Dr. W. Dahr, Köln, für seine Arbeiten auf dem Gebiet der Molekular-Biologie der Zellmembranen.

## Ernst-Fromm-Medaille an Dr. Günter Klein

Auf der Jahreshauptversammlung des Berufsverbandes Deutscher Laborärzte am 2. November 1984 in Bad Nauheim erhielt Dr. Günter Klein (60) aus Hamburg die Ernst-Fromm-Medaille verliehen. Die Verleihungsurkunde hat folgenden Wortlaut:

Herr Dr. Günter Klein hat sich durch eine jahrzehntelange aktive Mitarbeit in dem Vorstand und in den Gremien der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, zugleich Arbeitsgemeinschaft der Fachärzte für Laboratoriumsmedizin e.V., hohe Verdienste um den Ausbau der Laboratoriumsdiagnostik in Deutschland erworben.

Nach Abschluß seines durch den Kriegsdienst unterbrochenen Medizinstudiums erhielt Herr Dr. Klein seine Weiterbildung zum Facharzt für Pathologie und Facharzt für Laboratoriumsmedizin in den Hamburger Krankenhäusern AK St. Georg, AK Eilbek, AK Rissen und AK Barmbek. Hier kam er in enge Berührung mit den beruflichen Problemen beider Fachgebiete. Nach seiner Berufung als Chefarzt des Laboratoriums im Kinderkrankenhaus Rothenburgsort in Hamburg wurde Herr Dr. Klein eines der aktivsten Mitglieder der Hamburger Gruppe und stellte sich sofort für die berufspolitische Arbeit zur Verfügung. Dabei galt sein ganz besonderes Interesse der Qualitätssicherung labormedizinischer Arbeiten.

Begabt mit einem kritischen Blick für das Notwendige und das Machbare ist er zu einem hervorragenden Berater seiner Fachkollegen in diesen Fragen geworden. Aus dieser Tätigkeit heraus entwickelte er in jüngster Zeit für die Kassenärztlichen Vereinigungen Hamburg und Schleswig-Holstein ein Qualitätskontrollsystem, welches ganz besonders an den Bedürfnissen der praktizierenden Ärzteschaft ausgerichtet ist. Er verstand es, eine harmonische Verbindung zu den Eichbehörden herzustellen und den Gedanken der ärztlichen Qualitätssicherung auch dort zur Kenntnis zu bringen.

Das erfolgreiche Wirken von Herrn Dr. Klein hat sich in vielen Richtlinien und Empfehlungen, im Normenausschuß Medizin, im Transfusionswesen, in der Blutgruppenserologie und der Mutterschaftsvorsorge niederschlagen, die den Ärzten als Leitlinie ihre Arbeit erleichtern helfen. Herr Dr. Klein hat als Dozent an der Fachhochschule für Bioingenieure gelehrt und unser Fach vertreten und viele junge Menschen dafür interessiert.

Herr Dr. Klein ist ein fachlich hochqualifizierter und mutiger Kollege mit einer klaren und realistischen Analyse. Ihm war seine Tätigkeit niemals Selbstdarstellung, sondern Verpflichtung und Freude, Hingabe an eine aufgelegte Arbeit, die er mit ganzer Kraft gestaltet und ausgefüllt hat.

Der Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V. spricht Herrn Dr. Klein daher durch die Verleihung der Ernst-Fromm-Medaille den gebührenden Dank und Anerkennung aus.

## Nobelpreis 1984 für Medizin

Das Karolinska-Institut in Stockholm hat den diesjährigen Nobelpreis für Medizin Nils K. Jerne „für Theorien über den spezifischen Aufbau und Steuerung des Immunsystems“, und Georges J. S. Köhler und Cesar Milstein „für die Entdeckung des Prinzips der Produktion von monoklonalen Antikörpern“ zuerkannt.

Nils K. Jerne gilt als der große Theoretiker der Immunologie, der intuitiv ein Gebäude des Immunsystems entworfen hat, das bislang allen experimentellen Fortschritten standhielt.

Die Fähigkeit des Immunsystems, viele Millionen verschiedener Antikörper zu bilden, basiert, wie Jerne postuliert, auf natürlicher Selektion. Danach verfügt der Organismus über ein so großes Repertoire an Zellen, daß dieser auf jedes Antigen sofort mit der Produktion von spezifischen Antikörpern antwortet.

Der Vorteil solcher monoklonaler Antikörper liegt darin, daß sie nur ein Antigen oder Teile davon erkennen. Es ist immer wieder versucht worden, einzelne monoklonale Antikörper-produzierende Lymphozyten *in vitro* zu züchten. Diese Versuche sind jedoch fehlgeschlagen, bis es Cesar Milstein und Georges Köhler 1975 am MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, U.K., erstmals gelang, monoklonale Antikörper in größeren Mengen herzustellen.

Milstein und Köhler bedienten sich dabei der sogenannten Hybridom-Technik, die darauf beruht, daß antigenstimulierte antikörperbildende Milzzellen sich mit Maus-Myelomzellen in der Zellkultur fusionieren lassen, so daß Hybridzellen isoliert werden können, die die Fähigkeit behalten, große Mengen spezifischer Antikörper zu erzeugen und abzuscheiden und auch die Fähigkeit behalten, in Zellkultur permanent zu wachsen.

Auf dieser Grundlage sind monoklonale Antikörper als verlässliche Standardreagentien für Radio- und Enzym-Immunassays für eine Reihe von spezifischen Proteinen, Enzymen und Hormonen entwickelt worden, und die Methode erlaubt es prinzipiell, beliebige spezifische Antikörper in beliebiger Menge herzustellen.

## Änderung der Eich- und Beglaubigungskostenordnung

Der Bundesärztekammer ist der Entwurf für eine Änderung der Eich- und Beglaubigungskostenordnung zugeleitet worden. Es handelt sich um die vom Bundeswirtschaftsministerium geplante Novellierung der entsprechenden Kostenordnung vom 30. April 1982 mit dem Ziel, Eichgebühren und sonstige Kosten an kostendeckende Zeitwerte anzupassen.

In einer Stellungnahme hat die Bundesärztekammer jetzt dieses Vorhaben kritisch kommentiert und insbesondere

auf die für die Ärzteschaft wachsende Kostenlast in diesem Bereich hingewiesen. Wörtlich heißt es in der Stellungnahme: „Wie läßt sich die von Ihnen ins Auge gefaßte Gebührenerhöhung von etwa 15 Prozent gegenüber einer Berufsgruppe vertreten, die einem freiwilligen Honorarverzicht aus sozialpolitischer Verantwortung zugestimmt hat und die darüber hinaus weiteren Honorarbeschnitten ausgesetzt ist?“

Der nach der Gebührenordnung für Ärzte liquidierende Arzt habe ferner keine Möglichkeiten, diese zu erwarten, den zusätzlichen Kosten irgendwie in die „Preisgestaltung“ aufzunehmen, heißt es in der Stellungnahme weiter. Im Gegensatz zur gewerblichen Wirtschaft habe der Arzt prinzipiell keine Möglichkeit, einzelne Kostenfaktoren und so auch die Veränderung bestehender Kostenätze in die Preisgestaltung einfließen zu lassen bzw. direkt über den Preis an den Verbraucher „abzuwälzen“.

## Mutterschaftsvorsorge gegen Hepatitis-B-Virus

Alljährlich werden in der Bundesrepublik etwa 3000 bis 6000 Neugeborene durch das Hepatitis-B-Virus gefährdet, wenn die Mutter zum Zeitpunkt der Geburt HBsAg-Trägerin ist. Um die Gefahren für das Neugeborene wie z. B. frühkindliche Zirrrose abzuwenden, empfiehlt der Wissenschaftliche Beirat der Bundesärztekammer unter anderem die Untersuchung aller Schwangeren auf HBsAg in der 32. bis 36. Schwangerschaftswoche im Rahmen der Mutterschaftsvorsorgeuntersuchung – möglichst nahe dem Geburtstermin – und bei Müttern mit positivem HBsAg-Nachweis die passiv-aktive Immunisierung der Neugeborenen.

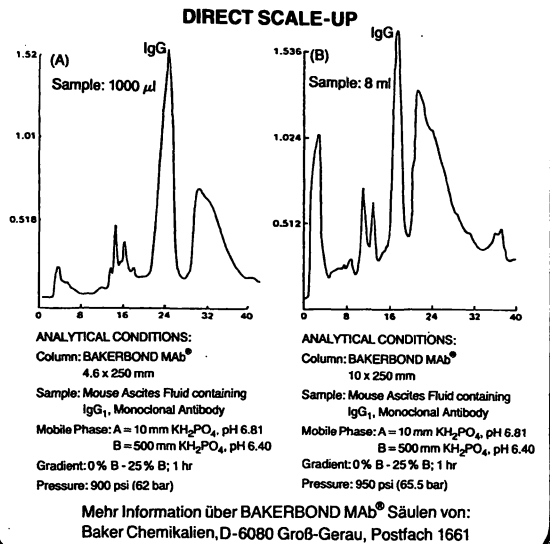
## Ärzteschwemme

In Ergänzung ihres gemeinsamen Antrages auf Umorientierung der kassenärztlichen Bedarfsplanung haben die Kassenärztliche Bundesvereinigung und die Spitzenverbände der gesetzlichen Krankenversicherung am 9. Oktober dem Bundesarbeitsministerium eine weitergehende Stellungnahme zugeleitet. Darin legen sie differenziert die Daten, Annahmen und Prognosen dar, auf die sich ihr Antrag stützt. Danach ist bis 1990 mit rund 95000 neu approbierten Ärzten zu rechnen. Davon werden etwa 85000 ihren Beruf unmittelbar nach der Approbation aufnehmen wollen. Dies wird sich vorwiegend in der freien Praxis auswirken. Etwa 4000 werden in der Industrie oder im Öffentlichen Dienst eine Stellung finden. Für 42000 Ärzte stehen „Durchlaufstellen“ im Krankenhaus zur Verfügung (Assistenzärzte in der Weiterbildung). Davon können 10000 als Ersatz für aus Altersgründen ausscheidende Ärzte eine Lebensstellung im Krankenhaus einnehmen. Die übrigen 32000 werden sich anschließend in freier Praxis niederlassen wollen. Bis 1990 werden aber voraussichtlich nur etwa 17000 Kassenärzte aus der kassenärztlichen Versorgung ausscheiden. Von daher wird die Zahl der Kassenärzte um 15000 Ärzte aus dem Krankenhaus zunehmen, so daß noch im Jahre 1990 mit mindestens 72000 bis 75000 Kassenärzten zu rechnen ist. Für 1991 sind bereits 77000 prognostiziert. Zusätzlich steht zu befürchten, daß auch die 39000 neu approbierten Ärzte, die keine Weiterbildung am Krankenhaus finden, in die Kassenpraxis drängen werden.

Im Falle einer Beibehaltung des geltenden Zulassungsrechts befürchten die Partner gravierende negative Folgen

## Monoklonale Antikörper J.T.Baker einstufig, chromatographisch reinigen auf BAKERBOND MAB® HPLC-Säulen

Abtrennung des IgG<sub>1</sub> aus Ascites-Flüssigkeit der Maus auf der analytischen (A) und der präparativen (B) BAKERBOND MAB® HPLC-Säule



sowohl für die Berufsausübung der Kassenärzte als auch für die Versorgung der Versicherten sowie nicht zuletzt für das System der kassenärztlichen Versorgung insgesamt. Dabei sehen sie vor allem das Problem der Qualitätsgefährdung. Dementsprechend messen sie weiteren Möglichkeiten wie Regelungen zum Zugang zum Medizinstudium, Struktur und Organisation des Medizinstudiums, Praxisbezug in Aus- und Weiterbildung entscheidende Bedeutung bei.

## Boehringer Mannheim Jahrbuch 1984

### Preise, Wettbewerbe, Stipendien in der Medizin

Die 2. Ausgabe des Jahrbuches enthält 405 Preise und 287 Stipendien sowie Forschungs- und Förderungsmöglichkeiten aus der Medizin, Pharmazie, Biologie, Biochemie und aus dem Gesundheitswesen. Insgesamt sind es 692 wissenschaftliche Auszeichnungen aus der Bundesrepublik Deutschland, aus Österreich und aus der Schweiz, die national für den deutschsprachigen Raum oder international ausgeschrieben werden sowie ausländische und internationale Preise und Stipendien, die deutschsprachigen Teilnehmern zugänglich sind.

Sinn und Zweck des Jahrbuches ist es, junge Mediziner und Naturwissenschaftler auf Preise und Förderungsmöglichkeiten aufmerksam zu machen. Interessenten sollten sich wegen ausführlicher Teilnahmebedingungen an die ausschreibenden und stipendienvergebenden Institutionen wenden.

Herausgegeben wird dieses Jahrbuch von Boehringer Mannheim GmbH, Abt. M-IW, Postfach 310120, D-6800 Mannheim 31.



## Preis Biochemische Analytik 1986

Die Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie verleiht anlässlich der Tagung „Biochemische Analytik“ in München alle zwei Jahre den Preis Biochemische Analytik.

Dieser Preis ist mit DM 10000,- dotiert und wurde von der Firma Boehringer Mannheim GmbH für neue methodische und instrumentelle Entwicklungen auf dem Gebiet der biochemischen Analytik sowie hervorragende experimentelle Fortschritte auf dem Gebiet biologischer Wissenschaften, insbesondere der klinischen Biochemie, gestiftet.

Für die Bewerbung um den Preis für 1986 (Tagung 3.-6. Juni 1986) können Arbeiten über eine Thematik, die in der Zeit vom 1. 10. 1983 bis 30. 9. 1985 publiziert oder zur Publikation angenommen sein müssen (bei mehreren Autoren bitte Bewerber angeben), bis spätestens 15. 11. 1985 eingereicht werden an:

Prof. Dr. H. Feldmann, Sekretär für den Preis Biochemi-

sche Analytik, Institut für Physiologische Chemie der Universität, Goethestraße 33, D-8000 München 2.

## Förderung der Rheumaforschung

### Ursachen, Prävention, Therapie rheumatischer Erkrankungen

Die Bundesregierung hat die Rheumaforschung in ihrem Gesundheitsforschungsprogramm zu einem Schwerpunkt erklärt. Von 1980 bis 1983 wurden Maßnahmen zur Früherkennung, Therapie, Versorgung und Rehabilitation mit rd. 14,6 Mio DM gefördert. Bis 1987 sind in den für das BMFT geltenden Planungen Fördermittel von rd. 15,5 Mio DM vorgesehen – auch für Grundlagenforschung.

Die Broschüre „Rheumaforschung“ Stand und Perspektiven kann schriftlich beim Referat Öffentlichkeitsarbeit des Bundesministeriums für Forschung und Technologie, Heinemannstraße 2, D-5300 Bonn 2, angefordert werden.

## Aus den Landesgruppen

### Mitgliederversammlung der Landesgruppe Rheinland-Pfalz

Am 13. 10. 1984 fand in Bad Kreuznach die Mitgliederversammlung der Landesgruppe Rheinland-Pfalz des Berufsverbandes Deutscher Laborärzte e.V. statt. Der Landesobmann Dr. Näher begrüßte die erschienenen Mitglieder. Er wies darauf hin, daß durch die Neugründung wahrscheinlich noch nicht alle eintrittswilligen Kollegen dem Berufsverband beigetreten sind. Deshalb habe er auch diejenigen Kollegen eingeladen, die bisher nur Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin sind.

Er gab ein Resümee über seine berufspolitischen Aktivitäten, in dem er auf die Schwierigkeit hinwies, sich bei den Vorständen der einzelnen KV-Bereiche von Rheinland-Pfalz als Minderheit Gehör zu verschaffen. Er empfiehlt deshalb einen besseren Informationsfluß zwischen den Mitgliedern und dem Obmann sowie zusätzlich nach Möglichkeiten zu suchen, den Kontakt zu den KV-Vorständen zu intensivieren. Dies wäre seines Erachtens ein wichtiger Beitrag, die auf uns zukommenden Probleme vor Ort lösen oder zumindest mildern zu können.

Die Thematik der Mitgliederversammlung konzentrierte sich insbesondere auf die Beantwortung der Frage, welche Konsequenzen und Maßnahmen von Seiten des Berufsverbandes erfolgen sollen, falls die Bundes-KV beschließen sollte, die in Münster beschlossenen Labor-Richtlinien in der Weise zu verändern, daß Parameter der Gruppe IV in die Gruppe V aufgenommen und damit den Laborgemeinschaften zugänglich gemacht werden. Es handelt sich hierbei um einen Teil der EIA. Die anwesenden Mitglieder haben nach eingehender Beratung einem diesbezüglichen Antrag von Dr. Näher nachträglich mehrheitlich zugestimmt, der bereits vor einigen Monaten dem geschäftsführenden Vorstand übermittelt wurde.

Auch das Bayern-Modell wurde in diesem Zusammenhang diskutiert und für den niedergelassenen Laborarzt als unannehmbar erachtet. Hierbei erklärten sich die anwesenden Mitglieder solidarisch mit den Kollegen in Bayern und haben das in einer Entschließung bekräftigt. An

dieser Stelle soll eine kritische Bemerkung eines Kollegen aus dem Krankenhaus nicht unerwähnt bleiben. Sinngemäß sagte er: Schuld an der ständig zunehmenden Zahl an Laborleistungen ist das Prinzip der Selbstzuweisung, das man in anderen europäischen Ländern nicht kennt. Dem kann man nur beipflichten.

Ein weiteres Diskussionsthema beschäftigte sich mit der überfälligen Laborgebührenordnung. Hier wurde in Form eines Antrages der Vorstand des Berufsverbandes aufgefordert, möglichst noch im Laufe dieses Jahres einen eigenen Entwurf fertigzustellen, der u. a. Mindestgebühren für einzelne Positionen festlegen soll. Hier ergäbe sich die Möglichkeit, die Gebührenordnung von Grund auf neu zu konzipieren.

Auf Wunsch von Dr. Näher wurde die Wahl des neuen Obmannes bis nach der Wahl des geschäftsführenden Vorstandes verschoben und soll durch Briefwahl erfolgen.

### Gründung der Landesgruppe Baden-Württemberg

Am 20. 10. 1984 wurde in Pforzheim die Baden-Württembergische Landesgruppe unseres Berufsverbandes gegründet. Zum Landesobmann wurde Dr. R. Seuffer, Reutlingen, zu seinem Stellvertreter Dr. F. Kaltwasser, Stuttgart, gewählt.

Dr. W. Hauck, Karlsruhe, berichtete über ein Gespräch zwischen Dr. P. Schulz, Ludwigsburg, Dr. R. Seuffer, Reutlingen, und ihm mit dem 1. Vorsitzenden der KV Nordwürttemberg, Prof. Dr. med. Häußler, in dem die drei Laborärzte mit Prof. Häußler Einvernehmen über folgende 5 Punkte erzielen konnten.

1. Von jedem Arzt, der Laboratoriumsuntersuchungen durchführt, ist eine persönliche Qualifikation zu verlangen. Diese persönliche Qualifikation muß nach objektiven Kriterien nachprüfbar sein.

2. Das Ringversuchsprogramm der KV'en muß erweitert werden. Die Erweiterung sollte schrittweise erfolgen und dabei die häufigsten Parameter zuerst erfassen. Gedacht

ist dabei an T4, T3, TSH, TBG, Bakterienidentifizierung und Sensibilitätsprüfung, sowie die Untersuchungen aus dem Bereich „Trockenchemie“.

3. Die Indikationsstellung für Laboratoriumsuntersuchungen muß verbessert werden.

4. Der Nachwuchsmangel in der Laboratoriumsmedizin muß behoben werden. Wir haben mit Prof. Häußler über die Ursachen diskutiert und sind ihm besonders dankbar, daß er sich bereit erklärt hat, sich dafür einzusetzen, diese Nachwuchsprobleme zu mildern.

5. Die Vorschriften des Bundesseuchengesetzes bei der Durchführung mikrobiologischer Leistungen müssen eingehalten werden. Insbesondere auf § 20 BSG, der die Anzeigepflicht mikrobiologischer Arbeiten regelt, muß geachtet werden. Ein diesbezüglicher Aufruf soll im KV-Rundschreiben erscheinen.

Die drei teilnehmenden Laborärzte haben einen Fachausschuß für das Gebiet der Laboratoriumsmedizin gefordert, dessen Aufgabe die Mitwirkung bei der Überprüfung von Qualifikationsanforderungen und der Überwachung der Einhaltung der Übergangsbestimmungen der Laborrichtlinien sein solle. Insbesondere müsse dieser Ausschuß vor geplanten Änderungen der Laborrichtlinien und darüber hinaus in allen Fragen, die die Laboratoriumsmedizin betreffen und die in Vertreterversammlungen zur Beratung und zum Beschluß vorgelegt werden sollen, gehört werden. Er sollte bei der Ausarbeitung einer Indikationsliste für Laboratoriumsuntersuchungen mitwirken und Hilfeleistung auf dem Gebiet der Pharmakotherapie geben.

Danach berichtete Dr. Seuffer über ein Gespräch zwischen Prof. Narr, dem Geschäftsführer der Kassenärztlichen Vereinigung Südwürttemberg, Dr. Hauck und ihm mit dem Parlamentarischen Staatssekretär beim Bundesminister für Bildung und Wissenschaft, Anton Pfeifer. Dabei ging es um Probleme der Ärzteschwemme und der Ärzteausbildung. Der Staatssekretär wurde von uns darauf hingewiesen, daß die Ausbildung im Medizinstudium den Anforderungen nicht mehr gerecht wird, und daß der Ausbildungsstand Deutscher Ärzte unmittelbar nach dem zweiten Staatsexamen im internationalen Vergleich eine schlechte Stellung einnimmt. Insbesondere wurde der Staatssekretär gebeten, darauf hinzuwirken, daß die Examina im Medizinstudium verschärft werden. Der Staatssekretär hat dabei geltend gemacht, daß Professoren bei mündlichen Prüfungen zunehmend die Meinung vertreten, sie könnten die Verantwortung für die Zukunft ihrer Prüflinge bei Erteilung schlechter Noten nicht übernehmen! Im übrigen hat er mit Schreiben vom 10. 10. 1984 versichert, die Bundesregierung werde mit Nachdruck darauf hinwirken, daß die beginnenden Beratungen in den Ausschüssen des Parlaments über den von der Bundesregierung vorgelegten Gesetzentwurf zur Änderung der Approbationsordnung zügig durchgeführt werden, damit das Gesetz im kommenden Jahr in Kraft treten kann.

Im weiteren Verlauf der Aussprache betonte Dr. Seuffer die wachsende Bedeutung von Umweltanalytik und umwelthygienischem Sachverstand. Dieses Feld darf keinesfalls den Interessenvertretern allein überlassen werden.

Zunehmende Durchführung von Werbung für ärztliche Leistungen durch nichtärztliche Institutionen, wie TÜV, Rotes Kreuz und ADAC müßten im Interesse des freien Berufs des Arztes gestoppt werden. Erste Erfolge dabei haben die Bezirksärztekammer Südwürttemberg und der NAV erzielt.

R. S.

## Aus Österreich

### Verleihung des Anton-von-Eiselsberg-Preises

Den diesjährigen Anton-von-Eiselsberg-Preis erhielten Frau a.o. Univ.-Prof. Dr. Heide Hörtnagel, sowie die Herren Univ.-Doz. Dr. Gunter Kleinberger, Dr. Kurt Lenz, Dr. Herbert Lochs und Dr. Ernst A. Singer für die Arbeit: „Massive Erhöhung des Plasmaspiegels von Substanz P bei Patienten mit Coma Hepaticum“.

Bei schweren Lebererkrankungen, insbesondere im Lebercoma, treten im Herz-Kreislaufsystem Störungen auf, die zum Schock, Nierenversagen und schließlich zum Tode führen können. Trotz jahrzehntelanger, intensiver medizinischer Forschung ist es bis heute nicht gelungen, die Ursachen für diese Störungen aufzuklären.

Heute diskutiert man als auslösenden Mechanismus die gefäßerweiternde Wirkung von Stoffen, die entweder in der geschädigten Leber gebildet oder von dieser nicht abgebaut werden. Im Rahmen einer Gemeinschaftsstudie des Institutes für Biochemische Pharmakologie, des Pharmakologischen Institutes, der I. Medizinischen Klinik und der I. Klinik für Gastroenterologie der Universität Wien, ist es erstmals gelungen, den Anstieg in der Konzentration einer besonders ausgeprägt gefäßerweiternd wirkenden Substanz im Blut von Patienten mit Lebercoma nachzuweisen. Es handelt sich dabei um das „Undekapeptid Substanz P“, das in verschiedenen Nervenzellen gebildet und von dort freigesetzt wird und neben dem Zentralnervensystem auch im Darm vorkommt. Der Plasmaspiegel dieses „Peptids“ war bei den leberinsuffizienten Patienten 10fach höher als bei Normalpersonen. In dieser Konzentration besitzt Substanz P eine deutliche gefäßerweiternde Wirkung, die bei den Patienten trotz einer massiven Aktivierung des sympathischen Nervensystems und Steigerung des Herzminutenvolumens nicht kompensiert werden konnte. Es stellte sich weiter heraus, daß Patienten, die im Coma verstarben, signifikant höhere Substanz P-Spiegel aufwiesen als überlebende Patienten. Zudem wurde im Verlauf der Erkrankung bei fortschreitender Verschlechterung der Leberfunktion eine weitere Zunahme der Substanz P beobachtet. Aus diesen Befunden, die wesentlich zur Aufklärung der Pathogenese der Herz-Kreislaufveränderungen im Rahmen von Lebererkrankungen beitragen, können neue therapeutische Möglichkeiten abgeleitet werden. Es ist derzeit experimentell bereits möglich, die Wirkung von Substanz P zu hemmen (Substanz P-Antagonisten). Mit Hilfe derartiger Substanzen, an deren Entwicklung an mehreren Forschungszentren gearbeitet wird, könnte die überaus schwierige und komplexe Therapie des Leberversagens verbessert werden.

### Eingegangene Bücher

**Lexikon des Arztrechts** von H.-J. Rieger, XLVI/1025 Seiten, gebunden, Verlag Walter de Gruyter & Co. Berlin, New York 1984. DM 178,-. ISBN 3-11-006844-4.

**Atomspetrometrische Spurenanalytik**, hrsg. von B. Welz, XVI, 564 Seiten, 295 Abb., 137 Tab., Broschur, Verlag Chemie, Weinheim 1982, DM 148,-. ISBN 3-527-26027-7.

**Fortschritte in der atomspetrometrischen Spurenanalytik**, Band 1, hrsg. von B. Welz, XI, 673 Seiten mit 307 Abb., 136 Tab., Broschur, Verlag Chemie, Weinheim 1984. DM 168,-. ISBN 3-527-25413-7.

**Endokrinologie in der Schwangerschaft**. Mit einem Beitrag zur Ultraschongraphie in der Frühschwangerschaft. Hrsg. von M. Breckwoldt. 202 Seiten, 66 Abb., 13 Tab. Taschenbuch. Deutscher Ärzteverlag Köln, 1984. DM 38,-. ISBN 3-7691-1067-6.

# Aus dem DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

## Medizinische Mikrobiologie

Entwurf Oktober 1984:

Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserreger gegen Chemotherapeutika.

### Mikrobouillondilutionstest

DIN 58944 Teil 2.

#### 1 Anwendungsbereich

Diese Norm gilt für die Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserreger der Familien Bacteroidaceae und Peptococcaceae sowie der Gattung Clostridium mit dem Mikrobouillondilutionstest, dessen Durchführung in einem medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium mindestens Typ 2 nach DIN 58956 Teil 1 vorzunehmen ist.

#### 2 Zweck

Zweck dieser Festlegungen ist es, in den medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien vergleichbare (d. h. wiederholbare und reproduzierbare) Ergebnisse der Chemotherapeutika-Empfindlichkeitsprüfung von Anaerobiern zu ermöglichen.

#### 3 Begriffe

Grundbegriffe nach DIN 58940 Teil 1 und DIN 58956 Teil 1.  
Weitere Begriffe nach DIN 58940 Teil 5.

##### 3.1 Anaerobe Bakterien (Anaerobier)

Anaerobier im Sinne dieser Norm sind Bakterien, die sich in Oberflächenkultur ausschließlich unter anaerober Atmosphäre, nicht jedoch bei Luftzutritt sowie nicht in einem Gemisch von Luft und bis zu 10% CO<sub>2</sub> (z. B. Kerzentopf) vermehren.

Anmerkung: Für Flüssigkulturen gelten besondere Bedingungen.

##### 3.2 Anaerobe bakterielle Krankheitserreger

Anaerobe bakterielle Krankheitserreger sind Ursachen von Toxinfektionen oder unspezifischen eitrigen und/oder septischen Infektionen.

##### 3.3 Anaerobe Atmosphäre

Eine anaerobe Atmosphäre wird dadurch erreicht, daß in hermetisch verschließbaren Kulturgefäßen oder Brutschränken durch chemische oder physikalische Verfahren der Sauerstoffgehalt auf  $\leq 2\%$  gesenkt wird.

#### 4 Bezeichnung

Bezeichnung der Empfindlichkeitsprüfung von Anaerobiern gegen Chemotherapeutika mit dem Mikrobouillondilutionstest (Mbl):

Test DIN 58944 – Mbl.

#### 5 Geräte

##### 5.1 Mikrotiterplatten

Rechteckige Kunststoffplatten mit einer geeigneten Anzahl von Vertiefungen mit jeweils mindestens 100 µl Fassungsvermögen, einschließlich der dazugehörigen Deckel mit Nocken.

##### 5.2 Geräte zum Beimpfen

Mikroliterpipetten: Pipetten, die geeignete Volumina (25 oder 50 µl) abgeben.

#### 5.3 Anaerostaten

Als Anaerostaten sind Spezialgefäße<sup>1</sup> mit H<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Entwicklern sowie Palladium-Katalysatoren zu verwenden, die eine anaerobe Atmosphäre nach Abschnitt 7 sicherstellen.

Die Handhabung der einzelnen Produkte erfolgt nach den Anweisungen der Hersteller.

Als Alternative kommen Anaerobier-Brutschränke<sup>1</sup>, mit denen eine anaerobe Atmosphäre (Gaszusammensetzung: inertes Gas, z. B. N<sub>2</sub>, 80 bis 90%, Wasserstoff 5 bis 10% und Kohlenstoffdioxid 5 bis 10% in Gegenwart eines Katalysators) erreicht werden kann, in Betracht.

#### 6 Kulturmedien

##### 6.1 Medien für die Vorkultur bzw. zur Herstellung des Inokulums

Für die Vorkultur der zu prüfenden anaeroben Stämme ist Rose-now-Bouillon<sup>1</sup> zu verwenden, und zwar sollten Clostridien 24 h, Bacteroides-Stämme 48 h, Peptococcaceae 72 h bei 37°C vor-gezüchtet werden.

Als Alternative kommt die Anzüchtung der Stämme in Thioglykolatmedium ohne Indikator, welches vor dem Sterilisieren mit Häm-in (5 µg/ml) und unmittelbar vor Gebrauch mit Vitamin K<sub>1</sub> (0,1 µg/ml) und Natriumbicarbonat (1 mg/ml) supplementiert wird, in Betracht. Die Verwendung eines anderen, jedoch mindestens gleichwertigen Mediums ist möglich.

Stämme, die zuvor tiefgefroren oder lyophilisiert aufbewahrt wurden, müssen vor der Empfindlichkeitsbestimmung über drei anaerobe Subkulturen geführt werden.

##### 6.2 Medien für die Testung

###### 6.2.1 Zusammensetzung

###### 6.2.1.1 Wilkins-Chalgren-Bouillon<sup>1</sup>

###### 6.2.1.2 Hirn-Herz-Dextrose-Bouillon (modifiziert)

Brain Heart Infusion <sup>1</sup>	37 g
Cystein-Hydrochlorid	0,3 g
Indikator nach Andrade	10 ml
Aqua dest.	ad 1000 ml

###### 6.2.2 Herstellung

Die Herstellung der Medien erfolgt nach den Anweisungen der Hersteller. Bei der modifizierten Hirn-Herz-Dextrose-Bouillon sind Redox-Substanzen und Indikatoren mit zu sterilisieren.

Für die Herrichtung des Inokulums sollten die Medien frisch hergestellt oder durch 20minütiges Auskochen im Wasserbad regeneriert verwendet werden.

#### 7 Anaerobe Atmosphäre

Mit den nach Abschnitt 5.3 dargestellten Anaerostaten ist nach entsprechender Funktionszeit eine anaerobe Atmosphäre aus Stickstoff, Wasserstoff, Kohlenstoffdioxid sowie einem Sauerstoffgehalt von  $\leq 2\%$  zu erreichen.

#### 8 Chemotherapeutika

Die zu untersuchenden Chemotherapeutika mit den zur Untersuchung vorgeschlagenen Konzentrationsbereichen für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) sind im Beiblatt 1 zu DIN 58944 Teil 2\* aufgeführt.

#### 9 Durchführung des Verfahrens

##### 9.1 Chemotherapeutika-Verdünnungen

In dem gewählten Testmedium nach Abschnitt 6.2 werden, beginnend mit der Ausgangskonzentration 512 µg/ml, geometrische Verdünnungsreihen mit dem Faktor 0,5 hergestellt. In Mi-

<sup>1</sup> Über die Bezugsquellen gibt Auskunft: Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Burggrafenstraße 4–10, 1000 Berlin 30.  
\* Z. Z. Entwurf

krotiterplatten werden pro Vertiefung und Chemotherapeutikum-Konzentration 50 µl einpipettiert.

Die Platten sind sofort am Herstellungstag zu verwenden. Werden die Platten nicht sofort verwendet, ist eine Aufbewahrung bei -20°C höchstens 3 Wochen möglich.

Als Alternative kommen Systeme mit Chemotherapeutika in dehydratisierter Form in Betracht.

## 9.2 Chemotherapeutika-Testung

Bei Vorzüchtung der Teststämmen mit der nach Abschnitt 6.1 festgelegten Bebrütungszeit in Rosenow-Bouillon<sup>1</sup> ist mit einer Zellzahl von 10<sup>9</sup>/ml zu rechnen. Anschließend werden Teststämmen der *Bacteroides-fragilis*-Gruppe, *Peptococcaceae* und *Clostridium-perfringens* 1:200 in Wilkins-Chalgren-Bouillon<sup>1</sup> oder in modifizierter Hirn-Herz-Dextrose-Bouillon verdünnt als Inokulum verwendet. Bei Keimen der *Bacteroides-oralis*- und *Bacteroides-melaninogenicus*-Gruppe, *Fusobacterium-Sphaerophorus*-Arten und den übrigen *Clostridium*-Arten wird eine Verdünnung von 1:80 in Testmedium verwendet.

Nach Vorzüchtung der Teststämmen in supplementiertem Thioglykolatmedium 18 bis 24 h bei (36 ± 1) °C wird durch Verdünnung in Wilkins-Chalgren-Medium<sup>1</sup> die Testkeimkonzentration von etwa 10<sup>9</sup>/ml hergestellt.

Das Inokulum wird in Mengen von jeweils 50 µl in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten geimpft. Die Mikrotiterplatten sind mit passenden Deckeln, die Nocken enthalten, abzudecken und in anaerober Atmosphäre 40 bis 48 h bei (36 ± 1) °C zu bebrüten.

Bei Verwendung von nicht selbst hergestellten Systemen sind die Anweisungen der Hersteller zu beachten.

Von dem Inokulum, mit dem die Mikrotiterplatten beschickt werden, sind parallel anaerobe und aerobe Reinheitskontrollen auf geeigneten Agarmedien anzulegen.

## 9.3 Laborinterne Kontrollstämmen

Bei jedem Versuchsansatz ist mindestens ein laborinterner anaerober Kontrollstamm, dessen Empfindlichkeit aus früheren Untersuchungen bekannt ist, mitzuführen.

## 10 Auswertung

Die MHK ist die niedrigste Chemotherapeutika-Konzentration, die in dem Kulturmedium ein makroskopisch sichtbares Wachstum des Inokulums verhindert.

Dabei ist zu berücksichtigen, daß durch die Zugabe des Inokulums die ursprünglich eingegebene Chemotherapeutika-Konzentration um den Faktor 0,5 erniedrigt wird.

## Zitierte Normen und andere Unterlagen

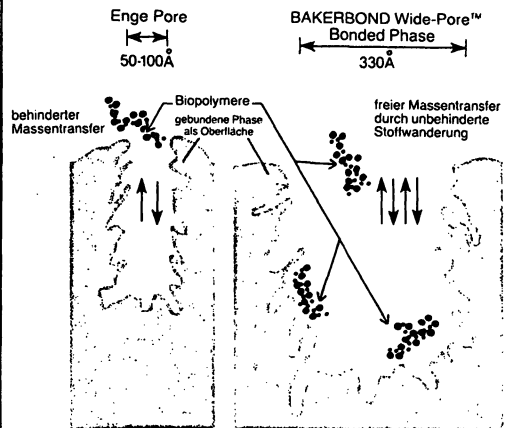
DIN 58940 Teil 1  
Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika; Begriffe.

DIN 58940 Teil 5  
Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika; Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration nach der Bouillon-Verdünnungsmethode.

Beiblatt 1 zu DIN 58944 Teil 2  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika; Mikrobouillondilutionstest; Konzentrationsbereiche der Testsubstanzen.

DIN 58956 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Medizinisch-mikrobiologische Laboratorien; Begriffe, Risikobereiche, Räumlichkeiten; Sicherheitstechnische Anforderungen und Prüfung.

## Biopolymere trennen J.T.Baker ist keine Kunst mehr mit BAKERBOND Wide-Pore™ HPLC-Säulen



BAKERBOND Wide-Pore HPLC-Säulen gibt es für Ionenaustausch- und RP-HPLC. Die großporigen Packungen von 330 Å trennen schnell und scharf komplexe Gemische aus Peptiden, Proteinen und Oligonucleotiden. Bei Molekulargewichten bis 150.000 Dalton bei kugelförmigen und 300.000 bei faserigen Molekülen werden > 95 % der Probe reproduzierbar wiedergefunden. Die biologische Aktivität bleibt erhalten. Die Ionenaustausch-Säulen trennen einwandfrei über 1000 Stunden.

Ausführliche Unterlagen von Baker Chemikalien, Postfach 1661, 6080 Groß-Gerau

## Weitere Normen und andere Unterlagen

DIN 58944 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika; Agardilutionstest.

Beiblatt 1 zu DIN 58944 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika; Agardilutionstest, MHK-Bereiche für Testsubstanzen.

Beiblatt 2 zu DIN 58944 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika; Agardilutionstest, Modalwerte und MHK-Bereiche für Referenzstämmen.

DIN 58945 Teil 1  
Brutschränken für mikrobiologische Zwecke; Begriffe, Anforderungen, Anwendung.

DIN 58945 Teil 2  
Brutschränken für mikrobiologische Zwecke; Prüfung.

DIN 58956 Teil 2  
(z. Z. Entwurf) Medizinische Mikrobiologie; Medizinisch-mikrobiologische Laboratorien; Anforderungen an die Ausstattung.

## Schrifttum:

- JENKINS, S. G., BIRK, R. J., ZABRANSKY, R. J.: Differences in susceptibilities of species of the *Bacteroides fragilis* group to several β-lactam antibiotics: indole production as an indicator of resistance. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 22, 628-634 (1982).
- JONES, R. N., BARRY, A. L., COTTON, J. L., SUTTER, V. L., SWENSON, J. M.: Collaborative evaluation of the Micro-Media Systems anaerobe susceptibility panel: comparison with reference methods and test reproducibility. *J. Clin. Microbiol.* 16, 245-249 (1982).

3. MURRAY, P. R., NILES, A. C.: Effect of incubation conditions on anaerobic susceptibility testing results. J. Clin. Microbiol. 16, 1162-1164 (1982).
4. POLOMSKI, J. C., BAUER, S. H., McCLATCHEY, K. D.: Micro-Media Systems anaerobe panel versus broth disk method in anaerobe antimicrobial testing. J. Clin. Microbiol. 17, 949-952 (1983).
5. WERNER, H., KRAEMANN, C., UNGERECHTS, J.: Cefotaxim-Empfindlichkeit von Bacteroidaceae. Infection 8, Suppl. 4, 425-429 (1980).

## Erläuterungen

Dieser Norm-Entwurf wurde vom Arbeitsausschuß E 14 „Testung von Anaerobiern gegen Chemotherapeutika“ (Obmann: Prof. Dr. H. Werner, Bonn) des Normenausschusses Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. erarbeitet.

## Konzentrationsbereiche der Testsubstanzen

### Beiblatt 1 zu DIN 58944 Teil 2

Dieses Beiblatt enthält Informationen zu DIN 58944 Teil 2 (z.Z. Entwurf), jedoch keine zusätzlich genormten Festlegungen.

Zur Untersuchung vorgeschlagene Konzentrationsbereiche der Testsubstanzen für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK)

Chemotherapeutikum	Konzentrationsbereiche für die MHK-Bestimmung µg/ml <sup>1</sup>
Penicillin G	0,03 bis 256
Acylureidopenicilline (Mezlocillin, Azlocillin, Piperacillin)	0,125 bis 256
Cefoxitin	0,125 bis 256
Latamoxef	0,125 bis 256
Clindamycin	0,03 bis 32
Tetracyclin	0,03 bis 32
Nitroimidazole (Metronidazol, Ornidazol, Tinidazol)	0,03 bis 64

<sup>1</sup> Penicillin G wird in IE/ml angegeben

## Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten an den Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Postfach 11 07, 1000 Berlin 30.

Einsprüche bis 30. Nov. 1984

Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

## Zitierte Normen

DIN 58944 Teil 2  
(z.Z. Entwurf) Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserreger gegen Chemotherapeutika; Mikrobouillondilutionstest.

## Weitere Normen und andere Unterlagen

DIN 58944 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserreger gegen Chemotherapeutika; Agardilutionstest.

Beiblatt 1 zu DIN 58944 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserreger gegen Chemotherapeutika; Agardilutionstest, MHK-Bereiche für Testsubstanzen.

Beiblatt 2 zu DIN 58944 Teil 1  
Medizinische Mikrobiologie; Methode zur Empfindlichkeitsprüfung anaerober bakterieller Krankheitserreger gegen Chemotherapeutika; Agardilutionstest, Modalwerte und MHK-Bereiche für Referenzstämme.

## Erläuterungen

Dieses Beiblatt wurde vom Arbeitsausschuß E 14 „Testung von Anaerobiern gegen Chemotherapeutika“ des Normenausschusses Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. erarbeitet.

Stellungnahmen werden in zweifacher Ausfertigung bis zum 30. Nov. 1984 an den Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Postfach 11 07, 1000 Berlin 30, erbeten.



# Farbstoffe für Mikroskopie

## Farblösungen und Reagentien

### Bakteriologie und Haematologie

Preisliste auf Anforderung

**CHROMA-GESELLSCHAFT**  
**SCHMID & CO.**  
**71 STUTTGART-UNTERTÜRKHEIM**



## Tagungen

**Birmingham (Großbritannien):** 8. bis 10. Januar 1985 – Microbial Pathogenicity, 102nd Ordinary Meeting of the Society for General Microbiology, Group meetings on Virus Infections of the Central Nervous System and other topics.

**Auskunft:** R. W. C. Berkeley, University of Bristol, Department of Microbiology, The Medical School, University Walk, Bistol BS8 1TD, UK.

**Bad Nauheim:** 2. Februar 1985 – Sektion „Laboratoriumsmedizin“ der Akademie für ärztliche Fortbildung und Weiterbildung der Landesärztekammer Hessen.

**Themen:** Gerinnungsanalytik / Virologische Serologie

**Auskunft:** Akademie für ärztl. Fortbildung und Weiterbildung der Landesärztekammer Hessen, Carl-Oelemann-Weg 5/7, 6350 Bad Nauheim, Tel. 06032) 6095 oder 6096.

**Tübingen:** 11. bis 15. Februar 1985 – Fortbildungsveranstaltung: „Einführung in den Radioimmunoassay“.

**Auskunft:** Arbeitsstelle Wiss. Fort- und Weiterbildung, Wilhelmstraße 5, 7400 Tübingen, Tel. 07071/29-6439.

**Tübingen:** 18.-20. Februar 1985 – Gaschromatographisch-massenspektrometrische Methoden in der biochemischen, klinisch-chemischen und toxikologischen Analytik (Kurs).

**Auskunft:** Arbeitsstelle Wiss. Fort- und Weiterbildung, Wilhelmstr. 5, 7400 Tübingen, Tel. (07071) 29-6439.

**Frankfurt:** 21. bis 22. Februar 1985 – Airport-Symposium der GDCh-Fachgruppe Medizinische Chemie „Computerunterstützte Strukturplanung in der medizinischen Chemie“.

**Auskunft:** Gesellschaft Deutscher Chemiker, Abteilung Tagungen, Postfach 900440, 6000 Frankfurt 90.

**Kitzbühel/Tirol (Österreich):** 28. Februar bis 1. März 1985 – Trends in der Hämatologie (Tagung der Linzer Laborrunde).

**Themen:** Blutbilddifferenzierung mittels „Partikel-Volumen-Analyse“ / „Pattern-Recognition-Analyse“ / „Zytochemische Analyse“, Erfahrungsberichte über die Verwendung und Einsatz automatischer Hämatologie-Systeme in Krankenhauslaboratorien, Qualitätskontrolle im hämatologischen Labor, EDV-Unterstützung im hämatologischen Labor, neue hämatologische Methoden.

**Auskunft:** Prim. Dr. W. Hohenwallner, Krankenhaus der Barmherzigen Schwestern, Langgasse 16, A-4020 Linz/Österreich.

**St. Christoph (Arlberg-Hospiz) (Österreich):** 23. Februar bis 2. März 1985 – Fourth Winter Workshop on Pteridines.

**Themen:** Biochemical and Clinical Aspects.

**Auskunft:** Univ.-Prof. Dr. H. Wachter, Institut für Medizinische Chemie und Biochemie der Universität Innsbruck, Fritz-Pregl-Straße 3, A-6010 Innsbruck, Tel. 05222/724-2290.

**Tübingen:** 6. bis 8. März 1985 – Frühjahrstagung der Gesellschaft für Immunologie: 15. Leukozytenkulturenkonferenz.

**Auskunft:** Frau Gabi Eberspächer, Arbeitsbereich Mikrobiologie und Immunologie, Auf der Morgenstelle 28, 7400 Tübingen 1, Tel. 07071/294642.

**Zürich (Schweiz):** 14. bis 16. März 1985 – 29. Jahrestagung der Schweizerischen Gesellschaft für Klinische Chemie.

**Auskunft:** Frau S. Violet, Med.-Chem. Zentrallaboratorium, Universitäts-spital, CH-8091 Zürich, Tel. 01/2552260.

**Bad Nauheim:** 21. und 22. März 1985 – 4. Vortragstagung der Fachgruppe „Biochemie“ der Gesellschaft Deutscher Chemiker.

**Themen:** Chemie biologisch aktiver Oligo- und Polypeptide – Isolierung, Sequenzierung und Synthese.

**Auskunft:** Gesellschaft Deutscher Chemiker, Abteilung Tagungen, Postfach 900440, 6000 Frankfurt am Main 90, Tel. 069/7917-366.

**Tübingen:** 25. bis 29. März 1985 – Grundkurs im Strahlenschutz (gemäß der neuen Richtlinie über die Fachkunde im Strahlenschutz GMBI 1982, Nr. 29, S. 592) Fachkundegruppen: 2.2.; 4.1.; 4.2.

**Auskunft:** Arbeitsstelle Wiss. Fort- und Weiterbildung, Wilhelmstraße 5, 7400 Tübingen, Tel. 07071/29-6439.

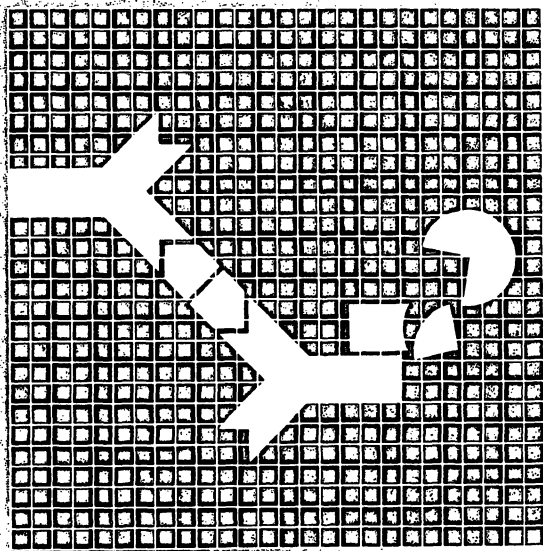
**Mannheim:** 13. April 1985 – Lesser-Loewe-Kolloquium über Ursachen und Auswirkung der Insulin-Resistenz bei Diabetes mellitus.

## So können Sie die PMN Elastase bestimmen.

Bei entzündlichen Prozessen ist Elastase aus polymorphnucleären Leukozyten (PMN Elastase) eine krankheitsverstärkende Noxe.

Ihre Bestimmung erlaubt eine frühzeitige Erkennung und eine direkte Verlaufskontrolle einer Entzündung.

Sie wird bestimmt mit dem Merck Immunoassay PMN Elastase, der den Komplex aus PMN Elastase und  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor erfasst.



Es handelt sich um einen Festphasen-Immunoassay nach dem Sandwich-Prinzip, der in jedem Labor durchgeführt werden kann.

**PMN Elastase – die neue Dimension in der Entzündungsdiagnostik.**

Weitere Informationen senden wir Ihnen auf Wunsch gerne zu.

**E. Merck**  
Frankfurter Straße 250  
D-6100 Darmstadt 1

**Auskunft:** Klinisch-Chemisches Institut, Klinikum Mannheim der Universität Heidelberg, Theodor-Kutzer-Ufer, 6800 Mannheim, Tel. 0621/3832222 u. 3832223.

**Wiesbaden:** 14. bis 18. April 1985 – 91. Tagung der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin.

**Themen:** Pharmakotherapeutische Probleme beim betagten Patienten / Neuere diagnostische Verfahren / Herzinsuffizienz / Intensivmedizinische Behandlung des akuten Herzinfarktes in den ersten Tagen.

**Auskunft:** Büro der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin, Humboldtstr. 14, 6200 Wiesbaden

**Freudenstadt/Schwarzwald:** 17. bis 20. April 1985 – 13. Tagung der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft e.V.

**Themen:** Epidemiologie und Ätiologie bei tropischen Durchfallerkrankungen / Malaria / Labordiagnostik tropischer Infektionen / Aspekte technischer Zusammenarbeit mit Entwicklungsländern auf medizinischem und veterinärmedizinischem Gebiet / Freie Themen.

**Auskunft:** Prof. Dr. W. Höfler, Tropeninstitut der Universität Tübingen, Wilhelmstr. 31, 7400 Tübingen und Dr. A. Haberkorn, Deutsche Tropenmedizinische Gesellschaft o.V., Postfach 101709, 5600 Wuppertal 1, Tel. 0202/368205.

**Mosbach:** 18. bis 20. April 1985 – 36th Mosbach Colloquium: Selected Topics of Neurobiochemistry.

**Auskunft:** Prof. Dr. H. Gibian, Gesellschaft für biologische Chemie, Müllerstraße 170–178, 1000 Berlin 65.

**Algarve (Portugal):** 21. bis 26. April 1985 – Special FEBS Meeting – Metal Ions, Proteins and Membranes.

**Auskunft:** Prof. F. Carvalho Guerra, Special FEBS Meeting, Centro de Citologia Experimental, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 1021, P-4100 Porto.

**Budapest (Ungarn):** 21. bis 27. April 1985 – International Congress "Immunobiology and their Application".

**Auskunft:** J. Gergely, President of the Hungarian Society for Immunology, Congress Bureau MOTESZ, Budapest, P.O.B. 32, H-1361 Budapest.

**Frankfurt am Main:** 26. bis 28. April 1985 – 14. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Zytologie.

**Themen:** Neue Methoden der Tumorzellidentifizierung / Möglichkeiten und Grenzen der Zytodiagnostik auf dem Gebiet der gynäkol. Krebsfrüherkennung / Kernbildanalyse und morphologische Marker / Standort: Aktueller Stand der apparativen Zelldiagnostik / Standort: Zellulärer Virusnachweis bei HPV (human papilloma virus)-Infektion.

**Auskunft:** Prof. Dr. H. Naujoks, Universitäts-Frauenklinik, Theodor-Stern-Kai 7, 6000 Frankfurt/Main 70.

**Hamburg:** 27. April bis 2. Mai 1985 – Kongreß für Laboratoriumsmedizin.

**Themen:** INSTAND-Symposium / Zelluläre Immunität / Immunpathologie – Autoimmunerkrankungen / Hyperlipoproteinämie / Genetische Krankheitsdispositionen / Immunologische Differenzierung der Leukämie / Laboratoriumsdiagnostik in Exsudaten / Neue Aspekte der Laboratoriumsdiagnostik genitaler Kontaktinfektionen / Laboratoriumsdiagnostik der Schwangerschaftsvorsorge / Drogenanalytik / Drug-monitoring und klinische Toxikologie / Tropenmedizin mit Berücksichtigung des Tropeninstituts Hamburg / Rezeptorenanalytik in der Onkologie / Rezeptorenanalytik in der Endokrinologie.

**Auskunft:** Kongreß für Laboratoriumsmedizin, Hamburg Messe und Congress GmbH, Congress Organisation, Postfach 302480, 2000 Hamburg 36, Tel. 040/3592-382.

**Boston (USA):** 28. April bis 2. Mai 1985 – III. International Congress of Andrology.

**Themen:** Biology of the Testis (Extracellular Matrix, Genetics, Spermatogenesis) / Male Fertility Control / Immunology of Reproductive Tracts / Endocrinology of Testis / Andrological Problems, Diagnoses & Therapy / Environmental Hazards / Fertilization / Objektive Semenanalysis / Infertility / Psychological Problems / Neuroendocrine Correlates / Comparative Aspects in Animal Models / Biology of Prostate & Seminal Vesicles / Mechanism of Action of Androgens and Antiandrogens / New Modes of Drug Administration / Aging / Sexually Transmitted Diseases.

**Auskunft:** Robert A. Newton, Program Chairman, 2000 Washington Street, Newton, MA 02162, USA.

**Miami (Florida/USA):** 29. April bis 2. Mai 1985 – Symposium on Analytical Methods in Forensic Chemistry and Toxicology.

**Auskunft:** Dr. M. H. Ho, Department of Chemistry, University of Alabama in Birmingham, Alabama 35294, USA.

**Brüssel (Belgien):** 29. April bis 1. Mai 1985 – XXXIII Annual Colloquium: Protides of the Biological Fluids.

**Themen:** Plasma Protein Genes (Key facts, Key mechanisms, Technical aspects, Nucleotide sequence of plasma proteins-cloning) / The Protein Antigens of the Nucleus (Protein classes, Immunology of nuclear antigens [ANA] / Methodologies (Electrophoresis, H. P. L. C. of proteins, New Methods).

**Auskunft:** Colloquium "Protides of the Biological Fluids", Secretariate, Institute for Medical Biology, Alsebergsesteenweg 196 Chaussée d'Alseberg, B-1180 Brussels, Tel. (02) 3480511, Tel. (Int.) 32-3480511.

## Terminkalender

### Dezember 1984

19.–21. 12. London: Biochemical Society Meeting No. 612 (BDL 1984, 91)

### Januar 1985

8.–10. 1. Birmingham: Microbial Pathogenicity (BDL 1984, 123)  
9.–12. 1. Köln: Fortschritt und Fortbildung in der Medizin (BDL 1984, 111)

### Februar 1985

2. 2. Bad Nauheim: Gerinnungsanalytik/Virologische Serologie (BDL 1984, 123)  
4. 2.–1. 3. Berlin: Strahlenschutzkurs für Ärzte (BDL 1984, 111)  
11.–15. 2. Tübingen: Einführung in Radioimmunoassay (BDL 1984, 123)  
14.–15. 2. Berlin: X. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung und 18. Jahrestagung über Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung (BDL 1984, 104)  
18.–20. 2. Tübingen: Gaschromatographisch-massenspektrometrische Methoden i. d. biochem., klin.-chem. und toxikologischen Analytik (BDL 1984, 123)  
21.–22. 2. Frankfurt: Computerunterstützte Strukturplanung in der medizinischen Chemie (BDL 1984, 123)  
23. 2.–2. 3. St. Christoph (Arlberg-Hospiz): Fourth Winter Workshop on Pteridines (BDL 1984, 123)  
27. 2.–1. 3. Mannheim: 3. Deutscher MTA-Kongreß (BDL 1984, 111)  
28. 2.–1. 3. Kitzbühel/Tirol: Trends in der Hämatologie (BDL 1984, 123)

### März 1985

6.– 8. 3. Tübingen: 15. Leukozytenkulturenkongferenz (BDL 1984, 123)  
14.–16. 3. Zürich: Schweizerische Gesellschaft f. Klin. Chemie (BDL 1984, 123)  
18.–21. 3. Konstanz: Atom-spektrometrische Spurenanalytik (BDL 1984, 111)  
20.–24. 3. Zürich: Tagung d. Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (BDL 1984, 111)  
21.–22. 3. Bad Nauheim: Chemie biologisch aktiver Oligo- und Polypeptide (BDL 1984, 123)  
25.–29. 3. Tübingen: Grundkurs im Strahlenschutz (BDL 1984, 123)

### April 1985

13. 4. Mannheim: Ursachen und Auswirkungen der Insulin-Resistenz bei Diabetes mellitus (BDL 1984, 123)  
14.–18. 4. Wiesbaden: 91. Tagung der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin (BDL 1984, 124)  
17.–20. 4. Freudenstadt/Schwarzwald: 13. Tagung der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft (BDL 1984, 124)  
18.–20. 4. Mosbach: Selected Topics of Neurobiochemistry (BDL 1984, 124)  
21.–26. 4. Algarve: Special FEBS Meeting – Metal Ions, Proteins and Membranes (BDL 1984, 124)  
21.–27. 4. Budapest: Immunobiology and their Application (BDL 1984, 124)  
26.–28. 4. Frankfurt/Main: 14. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Zytologie (BDL 1984, 124)  
27. 4.–2. 5. Hamburg: Kongreß für Laboratoriumsmedizin (BDL 1984, 124)  
28. 4.–2. 5. Boston: III. International Congress of Andrology (BDL 1984, 124)  
29. 4.–1. 5. Brüssel: Protides of the Biological Fluids (BDL 1984, 124)  
29. 4.–2. 5. Miami/Florida: Symposium on Analytical Methods in Forensic Chemistry and Toxicology (BDL 1984, 124)

Gruppe der ANLL und hier insbesondere bei der AML in Abhängigkeit von den zytochemisch unterscheidbaren Peroxidasen-Typen 1 bis 3 eine weitere Unterteilung vorgenommen werden. Blasten akuter myeloischer Leukämien vom POX-1-Typ (M1 der FAB-Klassifikation) lassen eine geringere Rotfluoreszenz erkennen (Abb. 5C) als solche vom POX-2-Typ (M2) (Abb. 5D) und POX-3-Typ (ebenfalls M2) (Abb. 6A). Die kräftigsten Rotfluoreszenz-Signale leukämischer Blasten sind bei Patienten mit akuter promyelozytärer Leukämie (APrL = M3) beobachtet worden, deren Promyelozyten-Cluster bis weit in die Region der normalen Granulozyten hineinreichen (Abb. 6B). Leukämische Blasten mit zusätzlich stärkergradiger Esterasenreaktion wie bei der akuten myelomonozytären Leukämie (AMMoL = POX-EST-Mischtyp = M4) (Abb. 6C) oder der akuten monozytären Leukämie (AMoL = EST-Typ = M5) (Abb. 6D) besitzen fluoreszenzanalytisch durchschnittlich höhere Grünfluoreszenz-Intensitäten als vergleichbare myeloblastäre Leukämiezellen der Typen M1 und M2.

Unter erfolgreicher zytostatischer Therapie gehen alle Blasten-Cluster entsprechend den Zählergebnissen im Differentialblutbild bis unter die Nachweisbarkeitsgrenze zurück oder treten im Falle eines Rezidivs an gleicher Stelle wieder in Erscheinung. Diese Tatsache darf auch ohne explizite Überprüfung durch fluoreszenzaktivierte Zellseparation als Beweis für die Identität der abgebildeten Punktwolken mit den verschiedenen Leukämiezell-Populationen gewertet werden.

Zur Absicherung der bei akuten Leukämien beobachteten zytofluorographischen Befunde wurden auch Blutproben während verschiedener anderer hämatologischer Erkrankungen fluoreszenzanalytisch untersucht. Hierbei zeigten vor allem chronische Leukämieformen bemerkenswerte Veränderungen der Zytofluorogramme.

In der Gruppe der chronischen Leukämien, die von maligne transformierten lymphatischen Zellelementen ihren Ausgang nehmen, bietet die klassische (B-Zellen-) CLL

ein dem L1-Typ der ALL vergleichbares zytofluorographisches Bild (Abb. 7A+B). Aufgrund der geringen Rotfluoreszenz-Emission belegt ihre weitgehend homogene B-Zellen-Population regelmäßig ein sehr schmales Areal im linken Anteil des normalen Lymphozyten-Clusterfeldes. Während jedoch nur einzelne, klinisch subakut verlaufende Fälle ( $n = 3$ ) von B-Zellen-CLL 0,5 bis 1,0% Blasten in mutmaßlicher S- und G<sub>2</sub>-M-Phase wie bei der ALL zu erkennen geben (Abb. 7A), zeigt die Mehrzahl ( $n = 24$ ) der protrahiert verlaufenden Fälle von B-Zellen-CLL mit ca. 0,2% etwa 2- bis 3fach niedrigere Prozentsätze dieser Kategorie von proliferierenden Zellen in der Blutbahn. Besonders markant ist das Erscheinungsbild einer typischen, fortgeschrittenen B-Zellen-CLL, bei der infolge einer massiven Knochenmark-Infiltration sämtliche Granulozyten und Monozyten in der Differentialverteilung der Leukozyten fehlen (Abb. 7B).

Abb. 7C zeigt am Beispiel eines gering ausschwemmenden Plasmazytoms, daß auch Plasmazellen vorwiegend auf der Basis hoher, RNS-anhängiger Rotfluoreszenzsignale erfaßt werden können. Im vorliegenden Fall wurden im Differentialblutbild 2% Plasmazellen gezählt, die zytomorphologisch uniform aussahen und allseitig nur einen schmalen Zytoplasmasaum aufwiesen. Dieser Befund entspricht der anderweitig getroffenen Feststellung eines durchschnittlich 11mal höheren RNS-Gehaltes von Myelomzellen im Vergleich zu normalen unstimulierten Lymphozyten.

Ein weiteres charakteristisches und in seiner Art unverwechselbares Zytofluorogramm findet sich beim Sézary-Syndrom, einem malignen T-Zellen-Lymphom mit klinisch vorherrschend pruriginös exfoliativer Erythrodermie (Abb. 7D). Zum einen macht das rechtsseitig gerundete Lymphozyten-Cluster im Gegensatz zum schlanken B-Zellen-Cluster bei CLL oder zum schmalen Cluster bei L1-Typ-ALL einen höheren RNS-Anteil der T-Zellen-Population deutlich. Zum anderen ist über dem Cluster mit diploiden Lymphozyten eine zweite, hiervon deutlich abgesetzte, gleichfalls gerundete Punktwolke zu beobachten, die aller Wahrscheinlichkeit nach ausschließlich

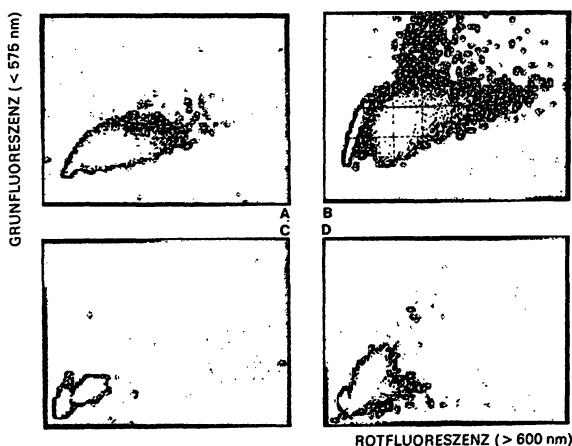


Abb. 6: Zytofluorogramme bei akuten Leukämien: A. Weitläufige Blasten-Punktwolke, die überwiegend mit linken, unteren Anteilen des Monozyten- und Granulozyten-Clusters verschmilzt. Befund bei AML, POX-2-Typ (M2). B. Ausgedehntes Promyelozyten-Cluster bei APrL, POX-3-Typ (M3). C. Höher stehende Blasten-Punktwolke bei AMMoL, POX-EST-Typ (M4). D. Kräftige Punktwolke im Monozyten-Bereich bei AMoL, EST-Typ (M5).

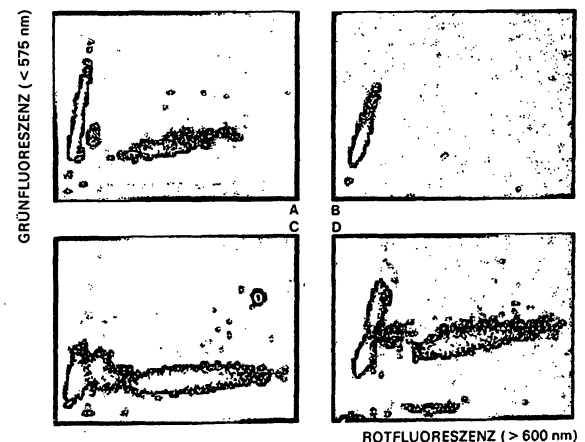


Abb. 7: Zytofluorogramme chronischer Leukämien des lymphatischen Blutzellen-Systems: A. B-Zellen-CLL mit 0,8% proliferierenden Zellen in S- und G<sub>2</sub>-M-Phase bei klinisch subakuter Verlaufsform. B. B-Zellen-CLL mit 0,17% proliferierender Zellen in S- und G<sub>2</sub>-M-Phase bei klinisch protrahierter Verlaufsform. C. Blutbefund bei Plasmazytom, das 2% Plasmazellen mit schmalen Zytoplasmasaum ausschwemmt. D. Typischer Blutbefund bei Sézary-Syndrom mit auffälligem Cluster tetraploider Lutzner-Zellen.



