

Symposium für Laboratoriumsdiagnostik 10.–12. Mai 1984

Kurzfassungen der Vorträge

Charakterisierung, Nachweis und Bekämpfung des Hepatitis A-Virus

Günter Siegl

Institut für Hygiene und Med. Mikrobiologie der Universität Bern,
Schweiz

Der Erreger der Hepatitis A (HAV) wurde erstmals vor annähernd 10 Jahren durch Feinstone und Mitarbeiter [Science **182**, 1028–1033 (1973)] mit Hilfe der Immunelektronenmikroskopie im Stuhl eines Patienten identifiziert. Diese Entdeckung war der Ausgangspunkt der Entwicklung serologischer Nachweisverfahren (z. B. RIA, ELISA) für das Hepatitis A-Antigen (HAAG) und die entsprechenden Antikörper. Damit konnte gezeigt werden, daß das HAV in erster Linie während der Inkubationszeit und bereits bis zu 10 Tagen vor dem Auftreten des Ikterus im Stuhl eines Infizierten ausgeschieden wird. Mit dem Beginn der klinischen Erkrankung lassen sich stets antiHAV-IgM und meist auch bereits antiHAV-IgG nachweisen. Das HAV ist ein kleines (28 nm), sphärisches und hüllenloses Virus, das viele physikalisch-chemische Eigenschaften mit so bekannten Erregern wie dem Poliovirus und dem Maul- und Klauenseuchenvirus gemeinsam hat. Es besitzt als Genom eine einsträngige, lineare Ribonukleinsäure (RNS) (Molekulargewicht $2,6 \times 10^6$). Die Grundbausteine des diese RNS umgebenden Proteinhüllmantels sind vier Polypeptide mit Molekulargewichten zwischen 7000 und 33000. Gegenüber vergleichbaren RNA-Viren zeichnet sich das HAV vor allem durch seine ausgeprägte Resistenz gegenüber Umweltfaktoren wie Hitze und extreme pH-Werte sowie gegenüber Detergentien und einzelnen Desinfektionsmitteln aus. Seit 1979 ist es möglich, das HAV in Gewebekulturen *in vitro* zu vermehren. Dadurch wurde nicht nur der Nachweis des infektiösen Virus und seine Charakterisierung wesentlich erleichtert, es eröffnete sich auch der Weg zur Herstellung von Impfstoffen. Ein auf der Basis attenuierter Hepatitis A-Viren entwickelter Impfstoff wird z. Z. bereits einer ersten klinischen Erprobung unterzogen. Gleichzeitig wird mit Hilfe der modernen Gentechnologie an der Entwicklung von Polypeptidimpfstoffen gearbeitet.

Serologie der Hepatitis B-Infektion. Bedeutung des IgM anti-HB_e.

Wolfram Gerlich

Abt. Medizinische Mikrobiologie Universität Göttingen

Das Hepatitis B-Virus (HBV) führt zu klinisch apparenten oder inapparenten, zu zeitlich begrenzten oder chronischen Infektionen. Die Virusserologie allein erlaubt also keine unmittelbaren Aussagen über den klinischen Zustand einer Person. – Bekanntestes Merkmal einer aktiven HBV-Infektion ist das überschüssige Hüllprotein des Virus im Blut (abgek. HB_eAg, früher Australia-Antigen). Bei ausgeprägter akuter Hepatitis B nimmt die HB_eAg-Konzentration schon in der akuten Phase deutlich ab (um mehr als 20% pro Woche). Bei chronischen Verläufen fehlt diese stetige Abnahme; im Verlauf von Monaten und Jahren kann die Konzentration stark schwanken. Gesunde HB_eAg-Träger haben dagegen konstante Werte. – Der universellste Marker für akute, chronische oder bereits zurückliegende Infektionen ist der Antikörper gegen das Core-Partikel des HBV (anti-HB_c). Nur bei Personen in der Inkubationszeit oder bei Immunsuffizienz ist anti-HB_c in Gegenwart des HBV negativ. Als Suchtest ist also anti-HB_c unerlässlich. Bei positivem Befund sollte der Nachweis von HB_eAg, anti-HB_e und IgM anti-HB_e folgen. – IgM anti-HB_e hat bei akuter Hepatitis B immer sehr hohe Titer (über 100 E), die während der Rekonvaleszenz im Verlauf von Monaten abfallen. Bei chronischen Verläufen wird IgM anti-HB_e meist nicht negativ, es kann bei Zunahme der Entzündungsaktivität wieder

Werte bis 200 E erreichen. Gesunde HB_eAg-Träger haben immer Werte unter 10 E. Bei etwa 10% der akuten Hepatitis B-Fälle ist kein HB_eAg nachweisbar. Solche Fälle werden nur durch IgM anti-HB_e erkannt. Die prognostisch wichtige Typisierung einer akuten Hepatitis wird also erst durch IgM anti-HB_e zuverlässig. Die Unterscheidung frischer, chronischer und zurückliegender Hepatitis B-Infektionen ist sicher möglich.

Monoclonal antibodies in hepatitis research and diagnostic testing

Richard H. Decker

Abbott Laboratories

Research and diagnostic testing of viral hepatitis have led to the development of highly sensitive and specific immunoassays which have pioneered tests in rapid viral diagnosis. These tests have utilized purified antibodies from hyperimmune sera. Monoclonal antibodies now present alternative reagents for these procedures and offer the promise of highly defined specificity, affinity and purity, theoretically in unlimited and unchanging supply. These antibodies also present the opportunity to differentiate viral strains because they detect detailed differences in antigenic structures.

We and others have developed monoclonal antibodies to the hepatitis B surface antigen (HB_sAg), its core (HB_cAg) and to hepatitis A (HAV). These have been studied with respect to their affinity, sensitivity, specificity and utility. Selected monoclonal antibodies to HB_sAg were used to develop sandwich immunoassays in several configurations and were compared with Ausria II and Auszyme. Data will be presented to demonstrate that a one-step test using monoclonal antibodies possesses equivalence in sensitivity and specificity to the standard procedures, but in addition it is more convenient and equally reliable.

Monoclonal antibodies were raised against HAV and were demonstrated to be specific for a major epitope on this virus. These antibodies were used to configure an immunoassay for IgM-Anti-HAV the test was shown to be not only clinically definitive for acute hepatitis A but also to have several advantages over tests prepared with polyclonal antibodies.

Monoclonal antibodies to HB_sAg have been used as a research tool to examine the antigenic surface of HB_sAg. These studies have revealed much more detail than could be derived with anti-HB_s from polyvalent antiserum. Studies confirm that there is more heterogeneity than previously seen, for instance, there are clearly several regions on HB_sAg that fall within the A domain. Monoclonal Anti-HB_s can now be used for more definitive subtyping and epidemiologic studies.

Schrifttum:

1. PETERSON, D. L., PAUL, D. A., LAN, J. et al.: Antigenic structure of HB_sAg identification of d subtype determinant by chemical modification and use of monoclonal antibodies. J. Immunol. **32**, 920–927 (1984).
2. GOODALL, A. H., MEEK, F. L., WALTER, J. A. et al.: A rapid one-step radiometric assay for hepatitis B surface antigen utilizing monoclonal antibodies. J. Immunol. Methods **52**, 167–174 (1982).
3. DAWSON, G. J., DECKER, R. H., NORTON, D. K. et al.: Monoclonal antibodies to hepatitis A virus. J. Med. Virol. in press (1984).
4. DECKER, R. H., DAWSON, G. J., MUSHAWAR, I. K.: Monoclonal antibodies to HAV: Application to the serologic detection of IgM anti-HAV. Proc. of the 1984 hepatitis symposium, eds. VYAS, G., DIENSTAG, J. and HOFFNAGLE, Grune and Stratton, in press.
5. DIAMOND, B. A., YELTON, D. E., SCHARFF, M. D.: Monoclonal antibodies: A new technology for producing serologic reagents. New Engl. J. Med. **304**, 1344–1349 (1981).

Pathogenese und Epidemiologie der Infektion mit dem Delta-Antigen

M. Roggendorf

Institute for Cancer Research, Philadelphia

Das Delta-Antigen wurde 1977 von Rizzetto bei chronischen Trägern des Hepatitis B-Virus-Oberflächen-Antigens (HB_sAg) beschrieben. Mit Hilfe der Immunfluoreszenz konnte das Delta-Antigen in den Nuclei von Hepatozyten nachgewiesen werden. Elektronenoptische Untersuchungen zeigten, daß diese Nuclei Aggregate von 25–30 nm großen Partikeln enthielten.

Das Delta-Antigen ist ein inkomplettes Virus, das zur Bildung von vermehrungsfähigen Viruspartikeln des HB_sAg das Hepatitis B-Virus (HBV) benötigt. Das Genom des Delta-Antigens besteht aus einer einzelsträngigen RNA von ca. 1700 Nucleotiden Länge.

Experimentelle Infektionen von Schimpansen zeigten, daß Delta-Infektionen gleichzeitig mit einer HBV-Infektion oder als Infektion von chronischen Trägern des HB_sAg vorkommen.

Epidemiologische Studien zeigten, daß Infektionen mit dem Delta-Antigen weltweit vorkommen. In einigen HBV-Epidemien mit schweren Verlaufsförmungen und hohen Letalitätsraten konnte nachgewiesen werden, daß eine Superinfektion mit dem Delta-Antigen vorlag.

Risikogruppen für Delta-Infektionen sind vor allem Drogenabhängige und Hämophilie-Patienten, die Träger des HB_sAg sind.

In der Bundesrepublik sind Infektionen mit Delta-Antigen mit Ausnahme der Drogenabhängigen bisher relativ selten (vgl. Tabelle).

Tab. 1: Bestimmung von Anti-Delta in verschiedenen Gruppen von HB_sAg-Trägern

	Zahl der pos. Seren/ Gesamtzahl	% pos.
Blutspender	1/211	0,5
Dialyse-Patienten	1/278	0,4
Patienten mit akuter Hepatitis B	0/203	0
Patienten mit chronischer Hepatitis B	6/362	1,7
Drogenabhängige	4/10	40

Die Hepatitis non-A, non-B aus klinischer Sicht

V. Reinicke

Dpt. of Medicine, Country Hospital St. Elisabeth,
DK-2300 Copenhagen

Die Diagnose der Hepatitis non-A, non-B basiert ausschließlich auf Ausschlusskriterien. Für die Hepatitis non-A, non-B gibt es keinen spezifischen diagnostischen Marker, somit müssen in die Differentialdiagnose prinzipiell alle Arten der Leberparenchymschädigung, einschließlich der akuten Exacerbation chronischer Leberleiden einbezogen werden.

Medikamentös – toxisch induzierte Leberschäden, die klinisch, biochemisch und serologisch der Hepatitis non-A, non-B ähneln, sind in dieser Hinsicht von besonderer differentialdiagnostischer Bedeutung.

Die Leberbiopsie stellt dabei, obwohl oft vernachlässigt, ein wichtiges diagnostisches Instrumentarium dar.

Die Berichte über die Inzidenz der Hepatitis non-A, non-B variieren sehr stark. 13–42% aller vorkommenden Hepatitiden werden dem Typ non-A, non-B zugeordnet, während 25–90% aller Hepatitiden, die nach Transfusionen auftreten, dem non-A, non-B Typ zugeordnet werden.

Betrachtet man die oben erwähnten differentialdiagnostischen Schwierigkeiten, so können die Differenzen teils durch tatsächli-

che Schwankungen in der Häufigkeit der non-A, non-B Hepatitiden, andererseits durch die sehr unterschiedlichen diagnostischen Kriterien für die Hepatitis non-A, non-B erklärt werden. Die Häufigkeit der Posttransfusionshepatitis wird mit 18 Fällen pro 100 Transfusionen angegeben, wobei über eine hohe Rate chronischer Verläufe mit Übergang in eine Zirrhose berichtet wird.

Diese Berichte widersprechen jedoch völlig den Erfahrungen, die die europäische Arbeitsgruppe in mehr als einem Jahrzehnt gewonnen hat.

Unsere Erfahrungen sprechen dafür, daß die Hepatitis non-A, non-B, sofern sie auf verlässlichen diagnostischen Kriterien basiert und bei Patienten nach Transfusionen auftritt, ein nur kleines und epidemiologisches Problem darstellt. In den vergangenen Jahren wurde von verschiedenen amerikanischen Untersuchern ein Transaminasenscreening zur Prävention der Hepatitis non-A, non-B beim Empfänger empfohlen. Ein solches Transaminasenscreening wird in Mitteleuropa seit 25 Jahren durchgeführt, ein Effekt auf die Inzidenz der Posttransfusionshepatitiden ließ sich dabei nie nachweisen.

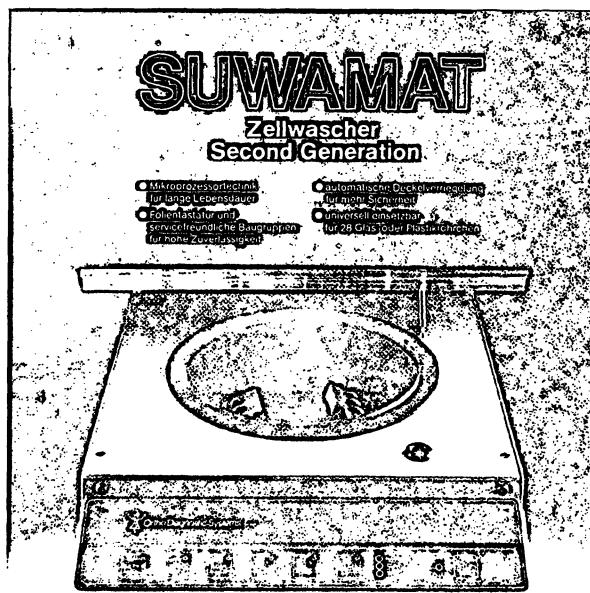
Infektionsprophylaxe und Mutterschafts-Richtlinien

O. Goetz

Dr. von Haunersches Kinderspital der Universität München

Infektionen während der Schwangerschaft können ein Risiko für das Kind darstellen. Dabei spielt die Art des Erregers eine wesentliche Rolle.

Bei jeder Infektion besteht die Möglichkeit, daß der Erreger auf das Kind übergeht, aber wir wissen heute, daß einige Erreger besonders gefährlich sind. Auch der Zeitpunkt der Infektion ist von Bedeutung. Bei Infektionen in der Frühschwangerschaft ist mit einem Abort oder mit Mißbildungen zu rechnen; bei späteren



Infektionen sind Schädigungen an verschiedenen Organen möglich. Bei Infektionen unmittelbar vor der Geburt können schwerste Infektionen des Neugeborenen eintreten. Um Schäden des Kindes zu verhüten, sind verschiedene prophylaktische Maßnahmen möglich, die aber z. T. mit erheblichen Kosten verbunden sind. Dennoch sollten sie, wenn sie in der Lage sind, Schäden am Kind zu verhüten, auf jeden Fall durchgeführt werden. Nicht jeder praktisch tätige Arzt ist aber in der Lage zu beurteilen, ob eine Prophylaxe in dem einen oder anderen Fall indiziert ist.

Die Mutterschaftsrichtlinien geben für zwei Infektionen, von denen bekannt ist, daß sie einen hohen Prozentsatz von Schädigungen am Kind herbeiführen, nämlich bei der Lues und bei den Röteln, dem Arzt Hinweise wie er sich verhalten soll. Daß diese Richtlinien auch Mängel aufweisen, läßt sich nicht vermeiden. Bei der Ausarbeitung der Richtlinien mußte davon ausgegangen werden, daß die Kosten der Maßnahmen, die empfohlen werden, die Krankenkassen übernehmen müssen. Gerade bei der Verhütung der Röteln mußte daher abgewogen werden, wie weit der Nutzen die Kosten rechtfertigt. Daß schließlich sogar die Bestimmung der Rötelnantikörper vor einer Schwangerschaft in die Richtlinien aufgenommen wurde, war eine sinnvolle und letzten Endes doch kostensparende Maßnahme.

Warum für andere Infektionen wie z. B. Zytomegalie, Herpes simplex, Varicella-Zoster usw. in den Richtlinien keine Empfehlungen stehen, ist damit begründet, daß z. T. noch keine sicheren prophylaktischen Maßnahmen möglich sind. Es zeichnen sich aber doch Wege ab, um auch hier das Risiko für das Kind zu vermindern. Ob es sinnvoll ist, die Mutterschafts-Richtlinien in diesem Sinne zu ergänzen, darauf wird in dem Referat ebenfalls eingegangen.

Immunologische Diagnostik der Zytomegalievirus (CMV)-Infektion

H. W. Doerr, R. Braun, H. Kirchner und K. Munk

Universitätsklinikum, Institut f. Med. Virologie, und Deutsches Krebsforschungszentrum, Institut f. Virusforschung, Heidelberg

Die Zytomegalie ist eine meist lebenslanglich latent bleibende vertikale und horizontale Herpesvirusinfektion mit gelegentlich schweren Krankheitsbildern, auch als Ursache oder Folge von Immunstörungen. Dem Virus wird ein onkogenes Potential zugeschrieben, zuletzt diskutiert bei AIDS und M. Kaposi. Für die Labordiagnose verfügen wir über die Mikroskopie (Zellkerneinschlüsse) und Elektronenmikroskopie, Nachweis der Virusinfektiosität auf Zellkulturen, DNA- und Polypeptidanalyse zur Virusstamidentifikation, direkte DNA- und Antigennachweise

aus Patientenmaterial, immunhistologische Methoden (z. B. Immunperoxidase-Technik). Die Untersuchung der Immunzellen erfolgt bei der Zytomegalie quantitativ (T-Zell-Quotient) und qualitativ (Lymphozytenstimulierung, neuerdings auch mit Vollblut). Am leichtesten gelingt die Labordiagnose serologisch, d. h. über den Antikörperrachweis. Dafür sind eine Vielzahl „liquid“ und „solid phase“-Assays entwickelt worden. Am meisten haben sich heute neben der KBR und (PHA), Immunfluoreszenz und ELISA durchgesetzt, wobei einerseits unterschiedliche Antigene („early“, „late antigens“) und Antigenpräparationen (z. B. Viruskapsid, -envelope) zum Einsatz kommen, andererseits verschiedene Ig-Klassen und -Subklassen getestet werden, um die primäre und sekundäre Zytomegalie zu diagnostizieren und zu differenzieren. Speziell für den IgM-Nachweis wurden viele Testmodifikationen etabliert; Rheumafaktorinterferenz und IgM-Kompetition lassen sich am besten durch IgG-Präzipitation ausschalten. Die neuen Methoden haben nicht nur die Aufklärung vieler interessanter Krankheitsfälle, sondern auch exakte epidemiologische Studien bei Risikogruppen ermöglicht [Blutspender: 47 (0), schwangere Frauen: 56 (13), Patienten mit Hämophilie: 69 (0), nach NTPL: 90 (16), nach Herz-OP: 83 (4), Prostituierte: 90 (1,7) % CMV-IgG (IgM)-Antikörperträger].

Literatur bei den Autoren.

Rotavirusdiagnostik

G. Maass

Hyg.-bakt. Landesuntersuchungsamt „Westfalen“, Münster

Die Bedeutung der Rotaviren (Übersicht: Flewett et al., Arch. Virol. 57, 1, 1978), der Adenoviren vom Typ 40/41 (Wigand et al., J. med. Virol. 11, 233, 1983) und einiger der als „small round viruses“ (Caul et al., J. med. Virol. 9, 257, 1982) zusammengefaßten Erreger als Ursache der akuten Enteritis des Menschen ist unbestritten, während die Bedeutung der Coronarvirus-ähnlichen Partikel (Maass et al., Develop. biol. Stand. 53, 319, 1983) nicht eindeutig geklärt werden konnte. Infektionen des Menschen mit Rotaviren, der häufigsten Ursache der akuten Enteritis im Säuglings- und Kleinkindesalter, werden entweder durch den Nachweis von Viruspartikeln bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung der Faeces Erkrankter, durch den Nachweis virus-spezifischer Antigene mit immunologischen Methoden (u. a. durch einen ELISA) oder durch die Extraktion der doppelsträngigen Virus-RNS und ihre elektrophoretische Auftrennung in charakteristische Banden-Muster bewiesen. Die Empfindlichkeit und Spezifität dieser unterschiedlichen Verfahren werden diskutiert. Anschließend wird die klinische Bedeutung der Rotaviren als Ursache der Enteritis in verschiedenen Lebensaltern und die Epidemiologie dieser Infektionen dargestellt.

Die Biomed-Philosophie:

- Qualität steht vor Marktbeherrschung
- Entwicklungskosten vor Werbungskosten
- Flexibilität vor Größe



**BIOMED: Ihr Partner
für Zusammenarbeit.**

BIOMED Labordiagnostik GmbH
Bruckmannring 28 · 8042 Oberschleißheim
Telefon (089) 3151618 · Telex 5216278

Neu: Konsequente Weiterentwicklung der Harnstoff- Bestimmung:



Harnstoff-Duo

- schnellstes Ergebnis nach 3 Minuten
- nur drei Pipettierungen
- kein Verdünnen von Serum/Plasma
- genauer und einfacher als Streifenmethoden

Infektionen in der Schwangerschaft und Folgen für das Kind

U. Krech

Institut für Hygiene und medizinische Mikrobiologie,
CH-3000 Bern

Der normale Schwangerschaftsverlauf und die normale kindliche Entwicklung kann durch bakterielle, virale und parasitäre Infektionen der Mütter während der Schwangerschaft gestört werden. Die mütterlichen Infektionen können die Entwicklung der Frucht direkt durch Übergreifen der Infektion auf die Frucht, oder indirekt, z. B. durch die während der Infektion entstehende Hypoxämie der Mutter schädigen. Die mütterliche Infektion in der Schwangerschaft kann zu Abort, Frühgeburt, oder Termingeburt mit reduziertem Geburtsgewicht (sogenannt „small for date baby“), zu Entwicklungsanomalien (Defekte), z. B. am kardio-vasculären System, ZNS, am Knochen usw. sowie durch floride-, peri- und post-natale-Infektion mit Entzündung, z. B. Adenitis, Encephalitis, Hepatitis, Pneumonie usw. oder zum Spätsyndrom, z. B. juveniler Diabetes, Schilddrüsenfunktionsstörung (Hashimoto), Wachstumsstörungen oder bösartige Tumoren (?) führen.

Über die Häufigkeit der infektionsbedingten Entwicklungsstörungen des Kindes bestehen nur sehr vage Vorstellungen. Durch entsprechende Untersuchungen kann man relativ einfach die bei der Geburt sich manifestierenden Geburtsschäden erfassen. Hin-gegen können die Spätfolgen nach einer Infektion in der Schwangerschaft bei Neugeborenen nur durch prospektive Studien erfaßt werden. Ganz grob rechnet man damit, daß Studien an 10–20% der Geburtsschäden beteiligt sind. An diesen Schäden sind die einzelnen Erreger je nach epidemiologischer Situation, je nach Immunitätslage der Bevölkerung und je nach Einsatz preventiver Maßnahmen unterschiedlich beteiligt.

In den letzten Jahren ist es gelungen, die mikrobiologischen Untersuchungsmethoden wesentlich zu verbessern. Von der Anwendung dieser verbesserten Untersuchungsmethoden darf man sich in Zukunft eine bessere Abschätzung des Risikos im Einzelfalle, eine bessere Erfassung der infektionsbedingten Entwicklungsstörungen, sowie einen gezielten Einsatz aller prophylaktischen und therapeutischen Maßnahmen zur Verhütung von infektionsbedingten Entwicklungsstörungen erhoffen.

Chlamydiennachweis, Bedeutung und Ausblick

V. Möisinger-Lundgren

Universitäts-Hautklinik Heidelberg

Chlamydien sind sexuell übertragbare Erreger, die beim Mann in der Urethra, bei der Frau sowohl in der Urethra als auch in der Cervix nachgewiesen werden und von hier ausgehend komplika-tionsreiche Adnexitiden verursachen können. Sie sind die Erreger des Lymphogranuloma inguinale. Im Auge verursachen sie eine Konjunktivitis. Bei Neugeborenen kann es durch diese Bakterien zu einer Pneumonie kommen.

Eine Chlamydieninfektion wird heutzutage nachgewiesen:

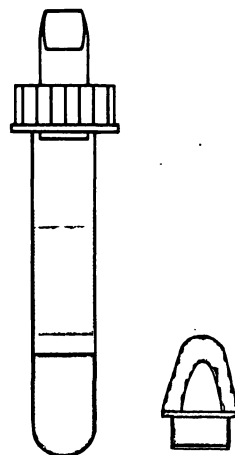
1. In der Gewebekultur. Hierbei wird das Patientenmaterial in ein Transportmedium gebracht, auf McCoy Zellen inokuliert und mit Giemsa, Lugolscher Lösung, IF-Methoden oder monoklonalen Antikörpern gefärbt. Dieser Nachweis ist langwierig, kostspielig und zeitaufwendig; der Befund liegt erst nach 1 Woche vor.

2. Serologisch. Die KBR sollte eine veraltete Methode sein, da nur gruppenspezifische Antigene angeboten werden. Beim Immunfluoreszenztest wird als Antigen L2-infizierte Zellen verwendet; beim Mikroimmunfluoreszenztest werden alle 15 Serotypen als Antigen verwendet. Nur hohe Titerwerte oder eine 4fache Titersteigerung haben diagnostischen Wert.

3. Im Direktnachweis, wobei das Patientenmaterial mit monoklonalen Antikörpern beschichtet wird und nach 1/2 Std. mit dem Fluoreszenzmikroskop mikroskopiert werden kann.

ELISA-Techniken mit polyklonalen Antikörpern sind im Stadium der klinischen Erprobung.

MICROTAINER®-Röhrchen für die Kapillarblutentnahme



MICROTAINER® ist ein eingetragenes Warenzeichen von Becton Dickinson and Company

MICROTAINER®-Röhrchen sind präparierte Gefäße für die einfache und schnelle Kapillarblutentnahme und Probenaufbereitung. MICROTAINER®-Serumröhrchen enthalten ein Gel, das während der Zentrifugation eine stabile Barriere zwischen Serum und Zellen bildet.

MICROTAINER®-Trenngel

- Genügend Serum auch bei kleinen Blutmengen
- Serum frei von Zellrückständen
- Einfaches Abgießen des Serums

MICROTAINER®-Entnahmekappe

- Saubere und hygienische Blutentnahme
- Kein Pipettieren mit dem Mundschlauch
- Kein Umfüllen aus Kapillarpipetten
- Ausgezeichnete Probenqualität

MICROTAINER®-Röhrchen

- Einfache Handhabung bei der Entnahme
- Sicherer Transport, problemloses Etikettieren
- Erhältlich für: Serum-, Plasma-, Vollblut- und Blutzucker-Analysen

Becton Dickinson VACUTAINER® Systems

**BECTON
DICKINSON**

Coupon an: BECTON DICKINSON GmbH
Postfach 10 16 29, 6900 Heidelberg
Ich bitte um weitere Informationen über MICROTAINER®
☐ ausführliche Unterlagen
☐ persönliche Beratung

Gonorrhoeenachweis mit Enzymimmunoassay

Dr. Heidlore Hofmann

Univ.-Hautklinik Heidelberg (Dir. Prof. Dr. D. Petzold)

Die bisherige Diagnostik der Gonorrhoe mit dem mikroskopischen Direktpräparat und der bakteriologischen Kultur hat Nachteile, da das Gram- und Methylenblaupräparat unzuverlässig, der Transport des Abstrichmaterials problematisch und die bakteriologische Kultur und Differenzierung von *N. gonorrhoeae* zeitaufwendig ist. Zum Nachweis von Gonokokken-Antigen in Urogenitalsekreten wurde eine Festphasenenzymimmunoassay (EIA) (Gonozyne™, Abbott Lab.) entwickelt, dessen Zuverlässigkeit im Vergleich zur bakteriolog. Kultur untersucht wurde. Die ersten Untersuchungen zeigten eine herabgesetzte Sensitivität und Spezifität des EIA bei Frauen, insbesondere Prostituierten mit starker genitaler Begleitflora.

Inzwischen konnte der Assay durch eine Modifikation des Antigonokokken-Antikörpers und verlängerte Inkubationszeiten verbessert werden. Die Ergebnisse des EIA im Vergleich zur bakt. Kultur von Uro-genitalabstrichen bei Männern und Frauen einer Sprechstunde für sexuell übertragbare Krankheiten (STD) und bei registrierten Prostituierten werden dargestellt.

	Männer (STD) N = 243 (%)	Frauen (STD) N = 218 (%)	Prosti- tuierte N = 798 (%)
Sensitivität	100	92	72
Spezifität	100	99,3	97,5
Voraussagewert (pred. value)			
pos. Test	100	92	62
neg. Test	100	98,7	96,7

Beurteilung: Der EIA ist schnell und einfach durchzuführen. Das Ergebnis liegt innerhalb von 5 Stunden vor. Er ist besonders geeignet für Labors mit hohem Probenaufkommen. Der Transport des Abstrichmaterials ist unproblematisch. Der EIA ist dem mikroskopischen Direktnachweis überlegen. Im Vergleich zur bakteriologischen Kultur fanden wir eine sehr gute Übereinstimmung bei Urethralabstrichen von Männern. Bei Frauen ist die Sensitivität des EIA gegenüber der Kultur herabgesetzt, besonders bei Infektionen mit geringen Gonokokkenkonzentrationen. Keimzahlen unter 10^4 /ml werden im EIA nicht regelmäßig erfaßt. Die Spezifität des modifizierten Gonozyne-Testes ist deutlich verbessert. Bei Frauen sollte jedoch nach Möglichkeit ein positiver Gonozyne-Test durch die bakt. Kultur gesichert werden.

Zur Identifizierung von Enterobakterien und Non-Fermentern mit dem Quantum-BID-System

V. Schäfer, H. Knothe

Zentrum der Hygiene, Paul Ehrlich-Str. 40,
6000 Frankfurt/Main 70

Zur Überprüfung des Quantum-BID-Systems (Abbott Lab. Diag. Div., Irving, Texas, USA) wurden 189 Teststämme mit bekannter Identität (CDC, Atlanta) und 200 frische klinische Isolate aus dem Hyg. Inst. Frankfurt/M. untersucht. Es handelt sich um ein System, bei dem die biochemische Aktivität von Bakterien nach 4–5 Stunden Bebrütung in einem Mehrkammerverfahren mittels Photometer bestimmt wird. Die Beimpfung entspricht den bekannten hochwertigen Systemen, wobei allerdings die Ablesung der Farbreaktion und des Trübungsgrades in kurzer Zeit von dem Gerät durchgeführt, das Ergebnis ermittelt und ausgedruckt wird.

Die 189 Teststämme setzten sich aus 30 Enterobacteriaceae- und 9 Non-Fermenterspezies zusammen. Die Identifikation mit dem Quantum-BID-System konnte in 93–95% der Fälle nach 4–5 Stunden mit dem richtigen Ergebnis abgeschlossen werden. Die Patientienstämme setzten sich aus 156 Enterobacteriaceae und

44 Non-Fermentern zusammen. Die Enterobact. wurden parallel mit dem API 20 E-System (BIO-Merieux, Nürtingen) differenziert; Übereinstimmung 94%. Die Non-Fermenter-Identifikation wurde mit dem N/F-System (Flow, Meckenheim) verglichen. In ca. 6% der Fälle wurde vom Quantum-BID eine falsche Spezies ermittelt; bei einigen Isolaten bezeichnete das Gerät Pseudomonaspezies nur als „Non Enteric“.

Der hohe Grad der richtigen Identifizierung von Enterobacteriaceae, die Kürze der benötigten Zeit und die leichte Handhabung lassen das Gerät als besonders leistungsfähig erscheinen.

Fehler durch Eingabe von Mischkulturen und nicht-gramnegativen Stäbchen werden von dem Gerät natürlich nicht erkannt und führen zu falschen Ergebnissen.

Probleme des Drug Monitoring

M. Oellerich¹, Ch. Steenken², H. Müller-Vahl³

¹ Institut für Klinische Chemie

² Zentrum Innere Medizin

³ Institut für Klinische Neurophysiologie und experimentelle Neurologie,
Medizinische Hochschule Hannover

Es wird über die Bestimmung der Proteinbindung von Pharmaka und die Benutzung von Pharmakakonzentrationen zur Dosisvorhersage berichtet. Neu entwickelte Ultrafiltrationsverfahren erscheinen für die routinemäßige Bestimmung der Proteinbindung von Pharmaka geeignet (1). In vergleichenden Untersuchungen wurde bei Proben von Patienten für verschiedene Pharmaka eine gute Übereinstimmung der mittels Ultrafiltration (UF) und Ultra-zentrifugation (UZ) ermittelten Ergebnisse beobachtet: Freies Phenytoin: (UF) vs (UZ): $y = 1,03x - 0,01$ (mg/l); $\bar{x}(s): 1,00$ (0,80) mg/l; $\bar{y}(s): 1,03$ (0,83) mg/l; $r = 0,99$; $n = 41$. Freies Carbamazepin: (UF) vs (UZ): $y = 0,80x + 0,31$ (mg/l); $\bar{x}(s): 1,72$ (0,72) mg/l; $\bar{y}(s): 1,69$ (0,58) mg/l; $r = 0,99$; $n = 19$. Freies Disopyramid: (UF) vs (UZ): $y = 1,08x - 0,06$ (mg/l); $\bar{x}(s): 0,47$ (0,17) mg/l; $\bar{y}(s): 0,46$ (0,18) mg/l; $r = 0,93$; $n = 28$. Im Unterschied zu anderen Immunotests gestattet der Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay auch bei Proben von urämischen Patienten die zuverlässige Bestimmung des freien Phenytoins. Die klinische Bedeutung der Bestimmung der Serum-Protein-Bindung der aufgeführten Pharmaka wird diskutiert. Nach den bisherigen Erfahrungen ist anhand der Konzentration von freiem Phenytoin oft eine bessere Abschätzung der Toxizität und Wirkung möglich als mit Hilfe der Gesamt-Phenytoinkonzentration. Weiterhin werden Erfahrungen mit einfachen pharmakokinetischen Methoden zur Dosisvorhersage bei der Therapie mit Theophyllin und Aminoglykosiden mitgeteilt.

Schrifttum:

1. OELLERICH, M., MÜLLER-VAHL, H.: Clin. Pharmacokinetics 9 (Suppl. 1) 61–70 (1984).

Klinische Bedeutung des Drug-Monitoring (DM) – insbesondere des Theophyllins

R. Wettengel

Karl-Hansen-Klinik für Atemwegserkrankungen und Allergie

Für verschiedene Wirkungen des Theophyllins ist eine gute Korrelation zur Serum-Konzentration nachgewiesen: Bronchodilatation; Protektion gegen inhalede Allergene, Histamin und Belastungsasthma; protektive Beeinflussung des Nacht-Asthma und spontaner Atemnotepisoden; Förderung der mukoziliären Clearance und Senkung des pulmonal-arteriellen Mitteldrucks.

Bei der Behandlung des labilen Asthma und des akuten Asthma-Anfalls kommt es darauf an, die Theophyllinwirkung optimal auszunutzen. Die Dosisfindung ist jedoch aus verschiedenen Gründen schwierig: Enger therapeutischer Bereich; erhebliche interindividuelle Unterschiede der Clearance und Einfluß zahlreicher Clearance-modifizierender Faktoren. Besonders in folgenden klinischen Situationen ist die Wirkstoffspiegel-Messung eine wertvolle Hilfe:

Bei ungenügendem Therapieeffekt (ausreichende Dosierung?); bei unerwarteter Zunahme der Atemnot (Non-Compliance?);

bei der Interpretation vieldeutiger Symptome wie Tachycardie, Herzrhythmusstörungen und gastrointestinaler Beschwerden; im Status asthmaticus und bei der Langzeitbehandlung des schweren Asthma. Die Behandlung des Asthma mit Theophyllin kann durch DM effektiver und sicherer gemacht werden.

Schrifttum:

OELLERICH, M., SYBRECHT, G. W., WETTENGEL, R.: Theophyllin - Optimierung der Therapie in Klinik und Praxis. I. M. P. Kommunikationsgesellschaft mbH, Neulsenburg 1983.

Drogenscreening - Möglichkeiten und Grenzen immunologischer Verfahren

L. v. Meyer

Institut für Rechtsmedizin der Universität München

Zur Abklärung unklarer Bewußtseinszustände und bei Verdacht auf Arznei- und Suchtmittelaufnahme sind Verfahren erforderlich, die eine ja/nein-Entscheidung innerhalb kurzer Zeit ermöglichen. Herkömmliche Verfahren wie Ultraviolett-Spektrophotometrie, Dünnschicht- und Gaschromatographie sind zeit- und arbeitsaufwendig und erfordern zur Beurteilung eine große Erfahrung. Seit Beginn der 70er Jahre haben sich auch für den Drogennachweis immunochemische Verfahren eingebürgert, die den Vorteil der hohen Empfindlichkeit mit dem einer einfachen Arbeitsmethode verbinden. Tests sind u. a. für Amphetamine, Barbiturate, Benzodiazepine, Cannabinoide, Cocain-Metaboliten, Methadon, Opiate und Phencyclidin erhältlich. Nachteilig ist jedoch für das Drogenscreening, daß meist keine genaue Kenntnisse über die in Frage kommenden Substanzen vorliegen. Daher muß für jede Substanzgruppe ein eigener Test benutzt werden. Zudem ist nicht für alle toxikologisch interessanten Substanzen

ein Immunoassay erhältlich. Darüber hinaus ist die unterschiedliche Spezifität, auch innerhalb einer Arzneistoffgruppe, zu beachten. Mit einem immunochemischen Verfahren erhaltene Ergebnisse sind lediglich ein Hinweis auf eine Arzneistoffgruppe. Positive Befunde müssen daher abgesichert werden.

Externe Qualitätskontrolle von Pharmaka

K. Borner, H. Reinauer

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

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 wenigen Jahren ein ausreichendes Angebot an kommerziellem Kontrollmaterial besteht, ist das gegenwärtige Angebot von Ringversuchen im deutschsprachigen Raum gering. Aus diesem Grund führt das Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (IN-STAND), Düsseldorf, seit 1981 Ringversuche für Pharmaka auf freiwilliger Basis durch. Zum Zeitpunkt der Niederschrift sind 6 Ringversuche abgeschlossen und ausgewertet. Die Zahl der Teilnehmer variiert zwischen 93 und 160. Es konnten 12 Bestandteile in je 2 Proben bestimmt werden: Digoxin, Digitoxin, Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin, Ethosuximid, Valproinsäure, Theophyllin, Gentamicin, Tobramycin oder Amikacin, Lithium. Als methodenunabhängiger Zielwert wird die Einwaage der Reinsubstanzen der Auswertung zugrunde gelegt. Die Zielwerte werden vor der Durchführung des Ringversuches durch Referenz-Analysen überprüft. Als ausreichend werden Teilnehmer-Ergebnisse bezeichnet, die nicht mehr als 20% vom Zielwert abweichen. Dieses einfache und preiswerte Modell eines Ringversuches hat sich bisher gut bewährt. Detaillierte statistische Auswertungen werden im Poster berichtet. Zusammenfassend

HERMLE Zentrifugen - die Zuverlässigen

Von der Tischzentrifuge bis zum elektronisch gesteuerten Hochleistungsgerät mit Kühlung bietet HERMLE die für Ihre speziellen Anwendungszwecke passende Zentrifuge. Zuverlässig in der Technik. In der Wirtschaftlichkeit ganz vorn.

Wenn Sie bereits mit HERMLE oder BHG Zentrifugen arbeiten, so brauchen Sie die Rotoren nicht nochmals zu kaufen, da sie auch in die neuen Geräte passen.

Gelangen Sie kostensparend zu Geräten modernster Technologie. Bitte Coupon ausfüllen oder anrufen.

HERMLE Zentrifugen sind über den Labor-Fachhandel zu beziehen.



HERMLE

Coupon

Wir arbeiten mit folgenden Zentrifugen:

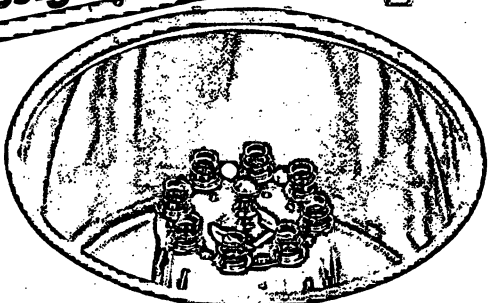
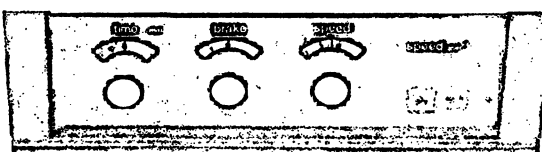
☐ Wir möchten die Vorteile der neuen Geräte nutzen, unsere Rotoren mit Zubehör aber weiter verwenden. Machen Sie uns einen kostensparenden Vorschlag.

☐ Senden Sie uns ganz allgemein Prospekte und Preislisten.

☐ Wir bitten um Fachberatung.

Lab 5/84

Berthold Hermle KG
Postf. 1240, D-7209 Gosheim
☎ (07426) 1061, Telex 760613

läßt sich feststellen, daß auch die Analytik von Pharmaka durch externe Qualitätssicherung erfolgreich unterstützt werden kann und sollte.

Möglichkeiten und Grenzen des Gebrauchs von Tumormarkern

S. von Kleist

Institut für Immunbiologie der Universität Freiburg

Ebensowenig, wie es den Krebs gibt, gibt es den Tumormarker. Vielmehr sehen wir uns einer wachsenden Fülle von Tests gegenüber, die aber nicht alle gleich gut geeignet sind, das Auftreten von Rezidiven von Neoplasien bei Patienten zuverlässig und frühzeitig anzuzeigen. Da es bislang weder absolut krebspezifische, noch absolut organspezifische Tumormarkertests gibt, ist es wichtig, je nach vorliegendem Karzinom, den geeigneten Test anzuwenden, dessen Grenzen man möglichst kennen sollte. So ist es z. B. völlig sinnlos, bei Mammakarzinomen den AFP-Nachweis führen zu wollen, der sich hingegen bei Testistumoren hervorragend bewährt. Das CEA hat sich als überlegener Marker besonders für Intestinaltumoren hervorgetan. Bei diesen und anderen soliden Malignomen (Lunge, Brust, Ovar), bei denen es mit Sicherheit den ausgebreiteten Tumor signalisiert, liegt sein Hauptanwendungsgebiet – und dies gilt für die Mehrheit der bekannten Markersubstanzen – in der postoperativen Überwachung des diagnostizierten Krebspatienten zur frühstmöglichen Entdeckung von Rezidiven und zur Erfolgsbeurteilung der eingeschlagenen Therapie.

Schrifttum:

VON KLEIST, S.: Das karzinoembryonale Antigen (CEA). Biologische Grundlagen und klinische Anwendung. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1983.

Neue Tumormarker mit monoklonalen Antikörpern (CA 19-9/CA 125)

R. Lamerz

Medizinische Klinik II, Klinikum Großhadern, Universität München, FRG

In einem Übersichtsreferat werden die relevanten Befunde verschiedener Untersuchungsgruppen über zwei neue Tumormarker vorgestellt.

Ein gastrointestinales Cancer Antigen (GICA) wurde mittels eines monoklonalen Mäuse-Antikörper (1116NS-19-9; IgG₁) gegen eine humane Colonkarzinom-Zelllinie (SW 1116) gefunden und in gastrointestinalen Zellkulturen, durch Immunperoxidase-technik in colorectalen, Magen- und Pankreas-Adenkarzinomen sowie immunfluoreszenzoptisch im Gastrointestinaltrakt von Feten und Neugeborenen nachgewiesen. Bei dem Antigen im Tumor handelt es sich um ein Monosialogangliosid, das sialysierte Lacto-N-fucopentaose II (Hapten der Le^a-Blutgruppenderminte) enthält, bei dem im Serum zirkulierenden Antigen im ein Mucin. Mit einem kommerziellen immunoradiometrischen Assay liegen 99% der Normalserumspiegel unter 37 U/ml. Höchste Konzentrationen und Inzidenzraten zeigen sich bei rund 80% von Patienten mit Pankreaskarzinom, in 50% bei Patienten mit Magen- und Colonkarzinom, dagegen nur in 5–10% der Fälle mit benignen gastrointestinalen Erkrankungen.

Der monoklonale Mäuse-Antikörper OC 125 (IgG₁) – hergestellt gegen eine epitheliale Ovarialkarzinom-Zelllinie (OVCA 433, papilläres seröses Zystadenokarzinom) reagiert immunhistologisch mit einem Oberflächen-Antigen auf Ovarialtumorzellen des serösen, clear cell, endometrioiden und indifferenzierten Typs und auf fetale Epithelzellen (Müllersche Gänge, Endometrium, Endozervix, obere Vagina). Mit einem kommerziellen immunoradiometrischen Assay liegen 99% der Serumspiegel von Normalpersonen unter 35 U/ml; darüber finden sich die Serumspiegel von Patientinnen mit Ovarialkarzinom (80%), von Patienten mit nicht-gynäkologischen malignen Erkrankungen (Pankreas-Ca 50–60%, Bronchial-Ca 30%, Mamma-Ca/colorectales Ca 10–20%) und nur von 6–10% der Fälle mit benignen Erkrankungen.

Poly- und monoklonale Antikörper: Bedeutung für die Diagnostik

L. Thomas

Krankenhaus Nordwest, Zentrallabor, Frankfurt

Der Basismechanismus immunchemischer Untersuchungen ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die aus Körperflüssigkeiten zu bestimmenden Substanzen oder an Zellen zu identifizierenden Strukturen haben in der Nachweisreaktion Antigenfunktion. Voraussetzung zur Identifizierung und Konzentrationsbestimmung des Antigens ist, daß der verwendete Antikörper mit hoher Spezifität und Affinität mit einem Epitop reagiert. Epitope sind kleine Bereiche der zu bestimmenden Substanz, die typischerweise aus 4–8 Aminosäuren- oder Zuckerresten bestehen. Großmolekulare Substanzen wirken immunogen und haben normalerweise viele Epitope, niedermolekulare Substanzen wirken erst nach Kopplung an ein Protein immunogen (Hapten), sie haben nur ein oder wenige Epitope.

Antikörper werden von B-Zellen, bzw. ihren Nachfolgern, den Plasmazellen, gebildet. Nach der Theorie von Burnet produziert die B-Zelle nur einen Antikörper definierter Spezifität nach Antigenkontakt. Da die zu bestimmenden Substanzen, mit denen Tiere zur Bildung korrespondierender Antikörper immunisiert werden, gewöhnlich viele unterschiedliche Epitope haben, werden viele B-Zellen stimuliert und es resultiert eine polyklonale Immunantwort. Gewonnen wird ein polyklonales Antiserum, bestehend aus einer heterogenen Antikörperpopulation, die in unterschiedlicher Affinität und Spezifität mit der zu bestimmenden Substanz reagieren. Zur Reduzierung von Kreuzreaktivitäten werden nach der Gewinnung des Antiserums hochspezifische Antikörper durch aufwendige Trennverfahren gewonnen.

Trotzdem besteht die zur Diagnostik eingesetzte Antikörperfraktion noch aus Subpopulationen, die mit den unterschiedlichen Epitopen der zu bestimmenden Substanz reagieren. Je nach angewendeter immunchemischer Technik ist dies vorteilhaft oder von Nachteil. Polyklonal gewonnene Antikörper erlauben nicht die Standardisierung von Testmethoden und haben nur eine mäßige Reproduzierbarkeit, da die gewonnene Antikörperfraktion von Tier zu Tier und sogar in verschiedenen Blutentnahmen beim gleichen Tier variiert.

Monoklonale Antikörper haben eine hohe Spezifität ohne Kreuzreaktionen. Es handelt sich um Antikörper einer Klasse und eines Typs, die von B-Zell-Hybridomen gebildet werden. Sie entstammen einer Antigen-sensibilisierten B-Zelle, die in vitro mit einer Myelomzelle fusionierte. Die Hybridome können in vitro kultiviert werden und enthalten die genetische Information und die Vorteile der Elternzellen; unbegrenzte Vermehrung der Myelomzelle und damit Unsterblichkeit sowie Antikörperbildung vorherbestimmbarer hoher Spezifität. Bei der Hybridomtechnik zur Gewinnung von Antikörpern werden Tiere immunisiert, sensibilisierte B-Zellen der Milz entnommen und in vitro mit Myelomzellen inkubiert. Es entstehen mehrere Hybridome, die in Abhängigkeit von den Epitopen des Immunogens verschiedene Antikörperspezifitäten bilden. Aus der Zellkultur wird dasjenige Hybridom selektioniert, das den für die immunchemische Untersuchung optimalen Antikörper sezerniert.

Diagnostisch bietet sich die Anwendung monoklonaler Antikörper zur Erkennung von Zelloberflächenmarkern, für den Radio- und Enzymimmunoassay an. Für gewisse immunchemische Tests, wie die Immunelektrophorese die radiale Immundiffusion oder die Komplementbindungsreaktion sind homogene Fraktionen monoklonaler Antikörper nicht anwendbar.

Recent development of new tumor marker assays

Joseph T. Tomita

Abbott Laboratories

Several new tumor marker assays have recently been developed. These include a double-monoclonal antibody assay for CEA and two novel immunoassays for estrogen receptor and terminal deoxynucleotidyl transferase, a marker for leukemia.

The new double-monoclonal assay for CEA, based on the use of monoclonal antibodies specific for two different antigenic

determinants on CEA, offers significant advantages over the current polyclonal antibody-based Abbott CEA assay. Chief among these advantages is the elimination of the serum extraction step required in the polyclonal antibody-based assay.

The immunoassay for estrogen receptor has two versions = one is a solid-phase enzyme immunoassay for measuring estrogen receptor in breast cancer tissue cytosols and the other is an immunocytochemical method for localizing estrogen receptor in frozen tissue sections. The latter assay offers a means to study the breast tumor cell heterogeneity with respect to estrogen receptor positivity or negativity. In measuring clinical specimens both assays were found to be highly correlated with conventional steroid binding assays for estrogen receptor.

The immunoassay for terminal deoxynucleotidyl transferase is a solid-phase enzyme immunoassay that measures terminal deoxynucleotidyl transferase in cell extracts from blood and bone marrow. The solid phase immunoassay was found to be highly correlated with conventional assays for terminal deoxynucleotidyl transferase enzyme activity and immunofluorescence. The increased sensitivity of the solid phase immunoassay (10× better than conventional enzyme assay) indicates that it will be highly useful in monitoring terminal deoxynucleotidyl transferase in leukemia patients.

Immunhistologische Untersuchungen an Hodentumoren

Ch. Wittekind

Pathologisches Institut der Universität,
Albertstraße 19, 7800 Freiburg i. Br.

Alpha-Fetoprotein (AFP) und die beta-Kette des humanen chorialen Gonadotropin (HCG) spielen in der Laboratoriumsdiagnostik eine wichtige Rolle für die exakte Stadieneinteilung, die Therapieüberwachung und für das Follow-up der Patienten mit Keimzelltumoren, besonders des Hodens. Weniger bekannt sind

die histologischen Strukturen, welche in diesen Tumoren für die Produktion von AFP und HCG verantwortlich sind. Mit der indirekten Immunperoxidasetechnik wurden im Gewebe von 116 Hodentumoren neben AFP und HCG auch das carcinoembryonale Antigen (CEA) und das schwangerschaftsspezifische beta-1-Glykoprotein (SP-1) nachgewiesen. Von 42 Seminomen waren nur 2 HCG positiv, aber negativ für alle anderen Markersubstanzen. Von 74 untersuchten nichtseminomatösen Hodentumoren waren 46 AFP positiv (62%), 30 CEA positiv (41%), 38 HCG positiv (51%) und 22 SP-1 positiv (30%). In 51 der Tumoren (69%) waren AFP und/oder HCG nachweisbar. Bei 31% der Nichtseminome ist also eine weitergehende Charakterisierung durch diese Tumormarker nicht möglich. Auch der zusätzliche Nachweis von CEA und SP-1 erbringt keine weiteren Informationen, sind diese 2 Substanzen doch nur in Tumoren demonstrierbar, die schon AFP positiv oder HCG positiv waren.

Keimzelltumoren haben die Eigenschaft, fast alle Abschnitte der Embryonalentwicklung nachahmen zu können. Dementsprechend finden sich Substanzen, die in der Embryonalzeit in bestimmten Strukturen nachweisbar sind (z. B. AFP in Dottersackanteilen und HCG in syncytiotrophoblastären Zellen) in einem beträchtlichen Prozentsatz in den entsprechenden Gewebebestandteilen nichtseminomatöser Keimzelltumoren wieder. Der immunhistochemische Nachweis dieser Substanzen ist wichtig zur präziseren Charakterisierung und Klassifizierung dieser Tumoren als Basis für eine histologiegerechte Therapie der Patienten.

Serologische Untersuchungen von hCG und AFP bei Hodentumoren

K. Mann

Medizinische Klinik II, Klinikum Großhadern,
Universität München

Bestimmungsmethoden der Wahl für hCG und AFP als Tumormarker bei malignen Hodentumoren sind sensitive RIA's, EIA's

Mit Proma- Immunfluoreszenz-Produkten behalten Sie den Durchblick

Mit unserem
Komplett-Programm
können Sie eine sichere Diagnose stellen
und Ihre Therapie überwachen.

Komplette Testkits

ANA - nukleäre Antikörper
AMA - mitochondriale Antikörper
ASMA - glatte Muskulatur Antikörper
PCA - Parietalzellen Antikörper

ATA - Schilddrüsen Antikörper
AHA - Hautantikörper
DNS - Antikörper gegen DNS
HMA - Herzmuskel Antikörper

Einzelobjektträger

zu allen Tests. Objektträger
mit 2, 3 oder 4 verschiedenen
Antigenen pro Auftragsstelle,
z. B. Rattenleber - Ratten-
niere - Rattenmagen.

Objektträger mit speziellen
Gewebeschnitten z. B.
Affenparotischnitt
Affenpankreaschnitt
Rattenischiasnervschnitt

Bitte informieren Sie sich
über unser Komplettprogramm.

PROMA

Zwerggasse 17 · 8900 Augsburg
Telefon 08 21/31 30 62

oder IRMA's unter Verwendung poly- oder monoklonaler Antisera. Verfügbare Antisera gegen die β -Untereinheit von hCG erfassen fast immer das dimere Hormon und die freie β -Kette und weisen meist eine Kreuzreaktion unter 1% mit LH auf. Wenige Anti-hCG Antisera erkennen nur hCG ohne β -Kette oder LH. Bei der Bestimmung von AFP gibt es keine Spezifitätsprobleme.

Eigene Erfahrungen an inzwischen 858 Patienten und die anderer Arbeitsgruppen haben gezeigt, daß hCG und AFP für die Primärdiagnose, die Stadieneinteilung, die Differentialdiagnose zwischen Seminom und nicht-seminomatösen Keimzelltumoren des Hodens (NSGCT), vor allem aber für die Verlaufkontrolle und Therapieüberwachung eine wertvolle Hilfe darstellen. Beide Marker sind heute unabdingbare Bestandteile der Diagnostik. Die Inzidenz der Marker ist stadienabhängig und liegt für hCG und AFP zusammen zwischen 45% und 85%. Chorionkarzinome sind immer hCG-positiv, Dottersacktumoren immer AFP-positiv. Erhöhte AFP-Spiegel schließen dagegen ein reines Seminom aus. Hingegen finden sich bei ca. 15% der Patienten mit Seminomen erhöhte, wenn auch niedrige hCG-Spiegel, die auf das Vorkommen einzelner synzytialer Riesenzellen zurückzuführen sind. Die Unabhängigkeit beider Parameter beweist der nicht selten diskordante Verlauf der Marker unter Therapie. Ihre Normalisierung unter Chemotherapie darf keinesfalls als verlässliches Kriterium einer Vollremission gewertet werden, da dies durch eine selektive Zerstörung markerbildender Tumoranteile bedingt sein kann. Kurzfristige Anstiege der Marker sind andererseits kein Zeichen einer Tumorprogression, sondern als Ausschüttungseffekt nekrotisierender Tumorzellen zu werten.

Zur begrenzten Aussagefähigkeit von Steroidrezeptoranalysen

Peter W. Jungblut

Max-Planck-Institut für experimentelle Endokrinologie

Der (Steroid-)„Rezeptorstatus“ von Karzinombiopsien gilt als Indiz für fortbestehende Hormonempfindlichkeit. Entsprechende Analysen werden z. Z. vor allem an Mammakarzinomen durchgeführt. Es liegt bereits eine umfangreiche Literatur über methodische Aspekte einschließlich Qualitätskontrollen und klinische Bezüge vor, eine weitere Zunahme ist zu erwarten. Kritik muß dabei geübt werden an 1. der Mißdeutung einer dynamischen als eine statische Situation und 2. den scheinbar quantitativen Analysendaten. Der Ablauf des dynamischen Geschehens (1) kann in einer Biopsie nur durch das Abgreifen der Reaktionskette erfaßt werden, z. B. Östradiolrezeptor im Zytoplasma als Ausgangsprodukt, Östradiolanreicherung im Kernsediment, Progesteronrezeptor im Zytoplasma als Folgeprodukt. Die pseudoquantitativen Angaben (2): „Femtomol Rezeptor/mg Zytosolprotein“ gehen von der falschen Annahme aus, daß das strukturgebundene Protein quantitativ extrahiert wird, der Tumor kein

„Fremdgewebe“ enthält und der Hochgeschwindigkeitsüberstand von Homogenaten der löslichen Phase des Zytoplasmas entspricht. Durch geeignete Verfahren wird bis zu 10mal mehr Östradiolrezeptor in Lösung gebracht als in Standardzytosolen vorliegt; die Spanne des Gehaltes an Karzinomzellen in Biopsien reicht von wenigen bis zu 100%; zwischen 30 und 80% des Proteingehaltes von Zytosolen ist extrazellulären Ursprungs. Gemessen an dieser Problematik ist die Titration von gelösten Rezeptoren vergleichsweise einfach, gleich, ob sie mit radioaktiven Liganden erfolgt oder als ELISA.

PAP-Bestimmung mit monoklonalen Antikörpern

H. W. Bauer

Urologische Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München,
Klinikum Großhadern, 8000 München 70

Nach den überhöhten Erwartungen, die an die Anfänge der immunchemischen Bestimmung der PAP geknüpft waren und der nur kurze Zeit später herrschenden tiefen Enttäuschung macht sich heute zunehmend eine realistische Betrachtung der klinischen Wertigkeit der immunchemischen Bestimmung der PAP breit. Dazu haben neben methodischen Neuerungen in Form leichter zu handhabender Immunoassays auch fundiertere klinische Untersuchungen beigetragen. Dennoch gilt nach wie vor, daß die analytischen Qualitätskriterien eines immunchemischen Verfahrens, und damit auch die erzielbaren klinischen Ergebnisse gleich welche, methodische Variante Anwendung findet, von der Antigenpräparation und der Antikörperspezifität sowie der Avidität der Antikörper abhängt. Im Hinblick auf die Spezifität der Antikörper hat es in den vergangenen Jahren durch die Einführung monoklonaler Antikörper wieder hohe Erwartungen gegeben.

Monoklonale Antikörper gegen PAP gibt es seit ca. 3 Jahren. Die Untersuchungen, die bislang damit angestellt wurden, sind sehr rudimentär. Eigene Erfahrungen beruhen auf Bestimmungen von PAP bei 92 Männern ohne Prostataerkrankung, 28 Frauen und 140 Patienten mit Prostataadenom sowie 97 Männern mit Prostatitis, 20 Patienten mit neu entdeckten Prostatakarzinomen T₁₋₃, N_{0-x}, M₀ sowie 78 Patienten mit stationärem Prostatakarzinom und 96 Patienten mit progredientem Prostatakarzinom. Es zeigte sich dabei, daß die Obergrenze der 90% Perzentile von Patienten mit Prostataadenom und Prostatiden bei 4,0 µg/l lag. Demgegenüber waren alle Prostatakarzinome mit einem gesicherten Therapieansprechen unter 2,0 µg/l. Gegenüber den Patienten mit einer fortschreitenden Prostatakarzinom-Erkrankung ergab sich auf dieser Basis von 2,0 µg/l eine 96%ige Sensitivität hinsichtlich des Erkennens einer progredienten Prostatakarzinom-Erkrankung.

Verlag: Kirchheim + Co. GmbH, Kaiserstraße 41, Postf. 2524, 6500 Mainz, Tel. 06131/671081. Geschäftsführender Verleger: Karlheinz Ickrath. Herstellungsleitung: Hans-Joachim Klein. Anzeigenleitung: Wolfgang Suttor (Tarif Nr. 7 vom 1. Jan. 1984). Vertriebsleitung: Manuel Ickrath. Druck: Joh. Falk III. Söhne GmbH, Rheinhessenstraße 1, 6500 Mainz.

Erscheinungsweise zum 15. eines Monats. Bezugspreis 8,30 DM incl. MwSt. und Versandkosten, jährlich 99,60 DM. Einzelpreis 9,30 DM incl. MwSt. und Versandkosten. Bestellungen über den Verlag bzw. jede Buchhandlung. Kündigungen sechs Wochen vor Quartalsende. Vertrieb Ausland: Buchversandhaus A. Hartleben, Inh. Dr. Walter Rob, Schwarzenbergstraße 6, A-1015 Wien 1.

Alle Rechte bleiben dem Verlag nach Maßgabe der gesetzlichen Bestimmungen vorbehalten. Für unverlangt eingesandte Manuskripte übernehmen Verlag und Redaktion keine Haftung. Gezeichnete Beiträge geben nicht unbedingt die Meinung der herausgebenden Gesellschaft wieder. Kein Teil dieser Zeitschrift darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form — durch Fotokopie, Mikrofilm oder andere Verfahren — reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsanlagen, verwendbare Sprache übertragen werden. Auch die Rechte der Wiedergabe durch Vortrag, Funk- und Fernsehendung, im Magnettonverfahren oder auf ähnlichem Wege bleiben vorbehalten. Jede im Bereich eines gewerblichen Unternehmens hergestellte oder benutzte Kopie dient gewerblichen Zwecken und verpflichtet gemäß § 54 (2) UrhG zur Zahlung einer Vergütung.