

Kongreß für Laboratoriumsmedizin Hamburg, 27. April-2. Mai 1985

Abstracts

Qualitätssicherung in der einfachen Harnanalytik - Ergebnisse der INSTAND-Ringversuche 1980-1985

W. Appel

Zentrallaboratorium der St.-Vincentius-Krankenhäuser Karlsruhe

Seit 1980 sind von INSTAND unter der Leitung des Verfassers regelmäßig 3× jährlich insgesamt 15 Ringversuche mit je einem Probenpaar zur Teststäbchenanalytik im Harn durchgeführt worden. Die Teilnehmerzahl lag konstant um 110-140 pro Jahr, insgesamt 1887 TN. Als Kontrollmaterialien dienten lyophilisierte Humanurine (15×), synthetische Mischungen in Form von Pulver (9×), Tabletten (2×) und Teststreifen (4×) von 7 verschiedenen Herstellern. Untersucht wurden 8 übliche Harnbestandteile, die in den Kontrollmaterialien nicht (Negativkontrollen) oder z. T. nach Aufstocken in höheren Konzentrationen (Positivkontrollen) enthalten waren. Zwei Ringversuche sind unter identischen Versuchsbedingungen als Wiederholungsversuche eingeführt worden, je zwei weitere mit halbierten bzw. verdoppelter Substanzkonzentration. Die Auswertung erfolgte durch INSTAND in Einvernehmen mit dem Ringversuchsleiter.

Die Trefferquoten stiegen stetig an: 1980 = 78,7%; 1981 = 85,7%; 1982 = 93,0%; 1983 = 92,7%; 1984 = 93,7%. Die Spannweite reichte von 71,9% (Februar 1980) bis 96,4% (Februar 1982). Alle Kontrollmaterialien sind gut geeignet. Die höchsten Trefferquoten finden sich bei der synthetischen Mischung „Combur Control“ (Boehringer Mannheim) unter Verwendung der Teststäbchen dieses Herstellers mit 95,8%, die schlechtesten bei einem Humanurin-Lyophilisat mit 83,5%.

80-95% aller TN verwendeten Teststäbchen, die übrigen naßchemische oder Tablettest, darunter stets die Sulfosalicylsäureprobe bei gleichmäßig 3-7% aller TN. Der Hauptteil (mit steigender Tendenz) verwendet Teststäbchen von Boehringer Mannheim mit 61-75%, gefolgt von Ames/Bayer-Diagnostik abnehmend mit 20 bis 15%. Deutlich geringere Anteile halten Behringwerke und Merck, keine Rolle spielen Madaus, Boehringer Ingelheim, Schleicher u. Schüll und ausländische Hersteller. Negative Kontrollen werden mit 86,7-99,7%, positive Kontrollen mit 72,5-99,5% Trefferquoten erkannt.

Der Gramstainer, ein Gerät zur vollautomatischen Gramfärbung

K. R. Appel, M. Buschle

Aus der Mikrobiologie der Abteilung Biologische Forschung
der Dr. Karl Thomae GmbH, Biberach a. d. Riss

Die Gramfärbung ist immer noch die wichtigste und am häufigsten verwendete Färbemethode in der Mikrobiologie. Alternative Methoden (1, 2) haben sich bis heute nicht durchgesetzt.

Wir möchten auf ein Gerät aufmerksam machen, das als Gramstainer von der Firma Tomtec* entwickelt wurde und in der Bundesrepublik weitgehend unbekannt ist. Der Färbevorgang erfolgt vollautomatisch und bedarf daher keiner Aufsicht. Bis zu 25 hitzefixierte Präparate werden in mitgelieferten Einsätzen angebracht und diese in den sogenannten tower eingehängt. Nach Einschalten des Gerätes wird ein mikroprozessorgesteuertes Programm durchlaufen. Der tower transportiert den Einsatz und senkt ihn in das jeweilige Becken, abhängig von der vorgewählten Zeit. Nach Beendigung der Färbung werden die Präparate mit einem Heizgebläse getrocknet und sind damit fertig für die

mikroskopische Auswertung. Ein Umlauf, inklusive Trocknung, dauert etwa 8,5 min.

Die Einwirkungszeiten lassen sich mit Stellschrauben auf die Sekunde genau (1-60 sec) festlegen. Für die besonders kritische Entfärbzeit ist auf der Frontseite des Gramstainers ein Bedienungselement mit einer stufenlosen Regelung von 10-60 sec angebracht.

Zur Inbetriebnahme des Gramstainers (42×46×28 cm ohne tower) werden ein druckkonstanter Kaltwasseranschluß sowie ein Abfluß benötigt. Als Betriebsspannung sind vom Hersteller 115 V AC vorgesehen. Für deutsche Verhältnisse wird das Gerät für 220 V ausgerüstet.

Eigene Erfahrungen: Der Gramstainer ist bei uns seit ca. 2 Jahren in Betrieb und erfüllte völlig die an ihn gestellten Anforderungen, Präparate von gleichbleibender Qualität zu liefern. Etwa 150 Präparate pro Stunde können so ohne Schwierigkeiten hergestellt werden. Vergleichsversuche mit einer Reihe von grampositiven und gramnegativen Bakterien zeigten, daß der Gramstainer insgesamt bessere Färbegergebnisse und bessere Konstanz aufwies als Färbungen von Hand. Darüber hinaus arbeitete er im täglichen Betrieb ohne Probleme und bedurfte außer gelegentlicher Reinigung keiner besonderen Wartung. Bei Defekt einzelner Platinen sind diese von der Herstellerfirma ohne weiteres zu erhalten. Der Preis des Gerätes lag bei DM 8000,-.

Schrifttum:

1. BUCK, J. D.: Nonstaining (KOH) Method for Determination of Gram Reactions of Marine Bacteria. Appl. Envir. Microbiol. 44, 992 (1982).
2. Produktinformation Firma E. Merck, Forum Mikrobiologie 7, 195 (1984).

Vergleich von prostataspezifischer saurer Phosphatase (PAP) und prostataspezifischem Antigen (PSA) zur Diagnostik und Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms

H. W. Bauer

Urologische Klinik und Poliklinik (Leiter: Prof. Dr. D. Jonas)
Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Seitdem die immunchemische Bestimmung der prostataspezifisch sauren Phosphatase (PAP) an die Stelle der tartrathemmbar sauren Phosphatase zur Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms getreten ist, hat die saure Phosphatase eine gewisse Renaissance erlebt. Seit 1979 ist darüber hinaus ein prostataspezifisches Antigen (PSA), was sowohl im normalen Prostatagewebe, als auch im Prostatakarzinomgewebe nachweisbar ist, definiert. Ähnlich wie die prostataspezifische saure Phosphatase findet man das PSA auch im Seminalplasma und in der peripheren Zirkulation bei Alterationen der Prostatastrübenkanälchen. In der hier vorzustellenden Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob eine Kombination der Bestimmung von prostataspezifischer saurer Phosphatase und prostataspezifischen Antigen eine Erhöhung der diagnostischen Sicherheit sowohl für das locoregional begrenzte Prostatakarzinom, als auch das metastasierende Prostatakarzinom zu erzielen ist.

Bislang wurden 50 Patienten mit Prostatakarzinom unterschiedlicher Stadien (M₀ und M₊) der Analytik unterzogen. Dabei zeigte sich keine zusätzliche Information in der Diagnostik und Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms durch die Bestimmung des prostataspezifischen Antigens.

* Tomtec, 607 Harborview Road, Orange, Conn. 06477, USA.

Immunfixation von Harnproteinen zur Differentialdiagnose der Proteinurie

K. Bauer

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Universität Wien (Vorst. Prof. Dr. F. Gabl)

Die Immunfixation von Serumproteinen hat sich zur Diagnose und Differentialdiagnose von Paraproteinämien, aber auch anderer Erkrankungen bereits bewährt (1-4).

Die Differentialdiagnose der Proteinurie wurde bisher hauptsächlich die Molekulargewichtsbestimmung in SDS-Polyacrylamid-Gel eingesetzt.

Durch Einsatz geeigneter Antisera zur Fixation entsprechender Proteine im Urin nach Agarose-Elektrophorese kann auch diese Technik dazu benutzt werden, eine Differentialdiagnose zwischen tubulärer und glomerulärer Proteinurie zu stellen.

Als Marker für eine tubuläre Proteinurie wurden Antisera gegen folgende Proteine benutzt: Retinol Bindendes Protein, α_1 -Microglobulin und β_2 -Microglobulin. Marker für glomeruläre Proteine sind: Albumin, Transferrin und Immunglobulin (IgG + IgA + IgM).

Typische Fälle werden demonstriert, sowie auch einige Verläufe von Patienten nach Nierentransplantation.

Schrifttum:

1. ALPER, C. A., JOHNSON, A. M.: Vox. Sang. 17, 445-452 (1969).
2. RITCHIE, R. F., SMITH, R.: Clin. Chem. 22, 497-499.
3. WHICHER, J. T., HAWKINS, L., HIGGINS, J.: J. Clin. Pathol. 33, 779-780 (1980).
4. BAUER, K.: Berichte der ÖGKC 5, 175-179 (1982).

Mechanisierte Bestimmung von freiem Hämoglobin in Heparin-Plasma und Serum mittels kinetischer kolorimetrischer Messung

K. Bauer¹, Marlene Woyta¹, G. Marischler²

¹ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Universität Wien (Vorst. Prof. Dr. F. Gabl)

² Boehringer Mannheim GmbH Wien

Die Bestimmung von freiem Hämoglobin in Serum oder Plasma ist ein wichtiger Parameter in allen Fällen von akuter Hämolyse. Dazu gehören auch diejenigen Fälle, bei denen es durch künstliche Organe bzw. Organteile (Herzklappen, totaler Herzersatz in der exp. Chirurgie, Oxygenatoren et.) zu mechanischer Schädigung der Erythrozyten kommt. Die ständige Überwachung dieser Patienten (bzw. Versuchstiere) bedarf einer genauen, raschen und verlässlichen Bestimmungsmethode für freies Hämoglobin in Serum und Plasma.

Die gängigen Methoden benutzen entweder karzinogene Substrate (Benzidin), sind nicht mechanisierbar (Differentialspektrum) oder sind zu langsam für moderne Analysatoren. Zudem entspricht bei praktisch keiner dieser Methoden die Kalibrierung und die Kontrolle dem heutigen Standard der Klinischen Chemie. In einer Umkehrung der klassischen Trinder-Reaktion (1): 4-Aminophenazon + Phenol + H₂O₂ Peroxidase gefärbter Komplex, kann unter Zusatz von H₂O₂ als Startreagens und Weglassen der Peroxidase die katalytische Wirkung des Hämoglobins dazu benutzt werden, freies Hämoglobin in Serum und Plasma zu bestimmen (2). Alle Reagentien, Standards und Kontrollen sind kommerziell erhältlich. Die Methode wurde zunächst für einen manuellen Ansatz und für einen Zentrifugalanalysator adaptiert. In beiden Fällen war ausschließlich Serum als Matrix einsetzbar, da in Heparinplasma eine Störreaktion falsch zu niedrige Werte bewirkte. Das Analysensystem Hitachi 705 (Boehringer Mannheim) besitzt ein bichromatisches Meßsystem, mit dessen Hilfe unspezifische Störreaktionen wie in diesem Falle eliminiert werden können.

Die Applikation der Methode an diesem Gerät sowohl für Serum als auch für Heparinplasma werden gezeigt, sowie die Langzeit-Stabilität dieser Bestimmung demonstriert.

Schrifttum:

1. TRINDER, P. A.: Ann. clin. Biochem. 6, 24-27 (1969).
2. BAUER, K.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 971-976 (1981).

Zuverlässigkeit der Blutgruppenbestimmung bei Neugeborenen

Erwin Bähr, Volker Kretschmer

Abteilung für Transfusionsmedizin und Gerinnungsphysiologie, Universität Marburg

1294 Blutgruppenuntersuchungen wurden bei Neugeborenen mit 2 unterschiedlichen Methoden durchgeführt:

a) „Kurze Blutgruppenbestimmung“ als Objektträgertest mit dem Sediment ungewaschener Nabelschnurerthrozyten, einem Testserumansatz Anti-A, -B, -AB, -D, Rh-Kontrollserum und ohne Serumgegenprobe unter Verwendung der Rhesusschaukel für die Rh-Bestimmung.

b) „Lange Blutgruppenbestimmung“ mit einmal gewaschenen, in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Nabelschnurerthrozyten und 2 Testserumansätzen. Die Antigenaustestung erfolgte auf durchsichtigen Vielfachobjektträgern. Die Serumgegenprobe bestand in einem Dreistufentest im Röhrchen (NaCl-Test 22°C, Albumintest 37°C, indirekter Coombstest).

In 11 Fällen (0,85%) ergab die kurze Blutgruppenbestimmung einen falschen Befund. Fehlbestimmungen im Rh-Faktor traten fünfmal (0,39%) auf. Die Ursache der ABO-Fehlbestimmungen bestand v.a. in unspezifischen Agglutinationen (6 Fälle) und schwachen Reaktionen durch mangelhafte Ausprägung des A-Antigens (5 Fälle). Beim Rh-Faktor wurde häufiger fälschlich Rh-negativ statt Rh-positiv bestimmt (4 Fälle), weil das D-Antigen abgeschwächt reagierte. In einem Fall wurde Rh-positiv durch unspezifische Agglutinationen vorgetäuscht.

Für die ABO-Bestimmung erwies sich die Durchführung der Serumgegenprobe als sehr wertvoll. In durchschnittlich 30,7% der Blutgruppen A, B und O waren bereits im Kochsalztest die korrespondierenden Isoagglutinine nachweisbar. Im Albumintest erhöhte sich dieser Anteil auf 34,5% und im anschließenden indirekten Coombstest auf im Mittel 56,2%. Dagegen waren irreguläre AB-Antikörper im Kochsalztest bei den Blutgruppen A und B nur bei 0,85%, im Albumintest bei 1,1% und im indirekten Coombstest immerhin bei 9,8% der Fälle nachweisbar.

Bei Neugeborenen empfiehlt sich daher die Durchführung der langen ABO-Bestimmung mit der Serumgegenprobe im Kochsalztest. Der indirekte Coombstest im Rahmen der Serumgegenprobe bleibt der speziellen immunhämatologischen Fragestellung bei O/A-Unverträglichkeit vorbehalten. Im Hinblick auf die Rhesusprophylaxe ist die lange Rh-Bestimmung bei Neugeborenen zu fordern.

Zytologische Differenzierung von Ergüssen

E. Bayer-Pietsch

Med.-Diagnostische Laboratorien
Gemeinschaftspraxis Dr. D. Stolle, Dr. G. Nemes,
Dr. E. Bayer-Pietsch

Nach den von Koss angegebenen morphologischen Kriterien wurden 1300 Ergüsse (92% Pleura-, 7% Aszites- und 1% Perikardpunkate) auf Tumorzellen untersucht. Routinemäßig wurden die Ergüsse zentrifugiert, auf Objektträger ausgestrichen und nach Papanicolaou und May-Grünwald-Giemsä gefärbt.

Pleuraergüsse enthielten in ca. 25%, Peritonealergüsse in ca. 40% und Perikardergüsse in ca. 60% Tumorzellen oder tumorverdächtige Zellen.

In den meisten Fällen handelte es sich um metastatische Aussaaten von Adenokarzinomen. Andere Karzinomtypen, primäre Tumoren der serösen Höhlen, mesenchymale Tumoren und Ergüsse bei malignen Systemerkrankungen waren hingegen selten.

Anhand von Beispielen werden die zytologischen Kriterien der Malignität und der Tumortypisierung diskutiert.

Auf die Ursachen falsch-positiver und falsch-negativer Ergebnisse wird näher eingegangen. Hingewiesen wird auf Verbesserungen in der zytologischen Diagnostik durch neuere Methoden (z. B.: Zytozentrifugation, modifizierte Färbetechniken).

Schrifttum:

- KOSS, L. G.: Diagnostic cytology and its histopathologic bases. 3. Auflage, Lippincott, Philadelphia 1978 (2. Bd.).

Immunologische Differenzierung der Leukämie

Dr. P. Bettelheim

I. Med. Univ. Klinik, Wien

Seit der Etablierung der Hybridomtechnologie zur Herstellung monoklonaler Antikörper (MoAK) durch Köhler und Mestein im Jahre 1975 spielt die immunologische Zellcharakterisierung in der Diagnostik und Klassifikation leukämischer Erkrankungen eine bedeutende Rolle. Mittels der in vitro etablierten MoAK lassen sich Antigene, zumeist Membrandeterminanten, nachweisen, die für bestimmte Zellsysteme spezifisch sind. Weltweit wurden in den letzten Jahren MoAK produziert, so daß nunmehr für alle Differenzierungsrichtungen der Hämatopoese MoAK zur Verfügung stehen. Dies ermöglicht es, in nahezu allen Fällen eine exakte Zuordnung zu einem bestimmten System der Hämatopoese durchzuführen. Darüber hinaus kann auch eine Aussage über den Grad der erreichten Ausreifung einer leukämischen Zellpopulation getroffen werden, da viele der MoAK gegen differenzierungsabhängige Antigene gerichtet sind.

Im folgenden werden die wichtigsten Anwendungsmöglichkeiten dieser Technik kurz angeführt:

1. Diagnostik und Klassifikation akuter Leukämien – Abgrenzung zu ausschwemmenden Lymphomen oder reaktiven Prozessen, wie bei der infektiösen Mononukleose.

In der Klassifikation akuter Leukämien steht für den Kliniker wegen der therapeutischen Konsequenzen vor allem die Unterscheidung zwischen den myeloischen und lymphatischen Leukämien im Vordergrund. Von besonderer Bedeutung erscheint dabei die Tatsache, daß mittels der immunologischen Zelltypisierung auch morphologisch als undifferenziert eingestufte Leukämien klassifizierbar sind.

2. Subtypisierung der Leukämien

Entsprechend dem Markerprofil wird die akute lymphatische Leukämie bereits weltweit in die verschiedenen Subtypen (COMMON-ALL, T-ALL, B-ALL bzw. O-ALL) unterteilt. Aus verschiedenen Studien kann angenommen werden, daß diese Einteilung als prognostischer Parameter auch klinische Bedeutung hat.

3. Die Erkennung von Sekundärleukämien und Blastenkrisen chronisch myeloischer Leukämien durch die Identifikation mehrerer Differenzierungsrichtungen als Merkmal der Involvierung der pluripotenten Stammzelle bei diesen leukämischen Prozessen.

4. Verlaufsuntersuchungen zur Identifikation residueller bzw. neu aufgetretener Blastzellen.

Insgesamt gesehen, hat die immunologische Zellcharakterisierung sicherlich zu einer Verbesserung der Diagnose und Klassifikation leukämischer Erkrankungen beigetragen. Die Zelltypisierung kann aber die klassischen Methoden der morphologischen und zytochemischen Beurteilung nicht ersetzen, sondern sollte in Kombination mit diesen Methoden zur Anwendung gelangen.

Immunologischer Nachweis von Thrombin-Antithrombin-Komplexen mit Hilfe eines Sandwich-Assays

H. Bleyl¹, H. Peltzer², N. Heimbürger²

¹ Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie der J. Liebig-Universität Gießen

² Forschungslaboratorium der Behringwerke, Marburg

Antithrombin ist der physiologisch bedeutendste Inhibitor aktivierter Gerinnungsfaktoren im Blut. Für die Heparinprophylaxe und -therapie ist ebenfalls Antithrombin als Cofaktor des Heparins erforderlich. Die Inhibition der aktivierten Serinproteasen des Gerinnungssystems erfolgt durch Bildung von nicht dissoziablen Komplexen zwischen Enzym und Inhibitor. Bisherige Versuche, den Komplex nachzuweisen, bestanden vorwiegend in der Isolierung hochspezifischer Antikörper, die weder Thrombin noch Antithrombin „erkannten“, sondern spezifisch den Komplex erfaßten.

Mit Hilfe eines Sandwich-Assays kann der Komplex nachgewiesen werden. Antikörper gegen Alphanthrombin wurden immunadsorptiv gereinigt und kovalent an Polystyrolkugeln gebunden.

Antikörper gegen Antithrombin wurden ebenfalls über Protein A-Sepharose® und Festphasen-Antithrombin aus kommerziell erhältlichem Antiserum vom Kaninchen gereinigt und entweder mit Na¹²⁵I (1 mCi/29 µg Protein) enzymatisch (GOD/POD) jodiert, bzw. mit Peroxydase gekoppelt.

Die Kalibrierung des Assays erfolgte mit humanem Thrombin (3 NIH/µg) mit einer Eichkurve von 500 mNIH bis 4 mNIH/ml. Patienten unter Marcumartherapie zeigen überwiegend höhere Werte für den Komplex auf als Normalprobanden. Eine Korrelation zur TPZ (Quick-Wert) wurde nicht gefunden. Bei Patienten während und nach Operationen am offenen Herzen unter Einsatz extrakorporaler Zirkulation wurden durchweg 10- bis 100fach höhere Werte für den Thrombin-Antithrombin-Komplex gefunden als bei normalen Probanden.

Bestimmung von Ciprofloxacin in Körperflüssigkeiten

K. Borner¹, H. Hartwig¹, H. Lode¹, Wolfgang Gau²

¹ Klinikum Steglitz, Freie Universität Berlin

² Bayer Pharma-Forschungszentrum, Elberfeld

Ciprofloxacin ist ein neues synthetisches Chinolin-Derivat mit hoher antimikrobieller Aktivität gegen ein breites Spektrum pathogener Mikroorganismen. Zur Untersuchung der Pharmakokinetik im Menschen wurde eine flüssigkeits-chromatographische Methode (HPLC) entwickelt. Die Trennung erfolgt an Nucleosil C18 (Macherey-Nagel/Düren). Serum-Proteine werden durch Fällung mit Acetonitril entfernt. Urin-Proben werden mit Puffer vorverdünnt. Die Nachweisgrenzen betragen 10 µg/l Serum und 200 µg/l Urin bei Verwendung des Spektralfluorimeters Schoeffel SF 970 als Detektor. Kalibrationskurven sind über mehr als 2 Dekaden der Konzentration linear proportional. Die mittlere Wiederfindung aus 24 Leerseren beträgt 94,9 ± 3,9% und aus Urin 99,6%. Die Präzision von Tag zu Tag (VK) beläuft sich auf 2,4 bis 7,2% bei Konzentrationen zwischen 118,8 und 2,3 mg/l Urin. Für Serum liegt die Präzision von Tag zu Tag zwischen 4,1 und 9,3% für Konzentrationen zwischen 2,2 und 0,35 mg/l. Nach Verabreichung von Ciprofloxacin an gesunde Freiwillige finden sich mehrere peaks in Serum und Urin, von denen einige noch mikrobiologisch aktiv sind. Die Strukturaufklärung und Quantifizierung der Metabolite wird z. Zt. bearbeitet. Ein zusätzlich durchgeführter mikrobiologischer Assay ergibt bis zu 30% höhere Ergebnisse als die HPLC. Die Methode ist inzwischen für über 2000 Proben eingesetzt worden. Auch bei klinischem Material wurden bisher keine Interferenzen beobachtet. Lediglich die gleichzeitige Einnahme von Salicylaten führt zu mehreren zusätzlichen peaks.

Immunologische Bestimmung der Proteinaseinhibitoren alpha-1 Antitrypsin und alpha-2 Makroglobulin im Speichel und Serum

J. Braun, W. G. Wood

Klinik für Innere Medizin, Medizinische Hochschule Lübeck, Lübeck

Das Glykoprotein alpha-1 Antitrypsin (AT) (Mr 54 kD) findet sich aufgrund seines niedrigen Molekulargewichtes nicht nur im Serum und Urin, sondern auch im Speichel, Sputum und – bei enteralem Proteinverlust – im Stuhl. Alpha-2 Makroglobulin (MG) (Mr 725 kD) verbleibt dagegen zu 80–90% intravasal und ist im Speichel nur in geringer Konzentration vorhanden.

Beide Proteine werden in gleicher Weise mittels ILMA (1) bestimmt. Das Probenvolumen beträgt 10 µl für AT und 20 µl für MG eines 1:1000 verdünnten Serums und die Inkubationsdauer in beiden Fällen 3 Std.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

a) AT – Referenzbereich aus 100 gesunden Blutspendern 1,25–3,77 g/l (95% Vertrauensbereich) – Mittelwert 2,51 g/l. Dies gilt für Männer und Frauen. Der Interessassay VK (errechnet von 20 Assays) betrug 9,4% bei einer mittleren Konzentration von 1,69 g/l (Sollwert 1,70 g/l) und 15,6% bei 0,81 g/l (Sollwert 0,71 g/l). In einem kumulierten Präzisionsprofil (compound pre-

cision profile) von 152 Datenpaaren lag der VK unter 6% im Bereich 1,0–4,5 g/l. Die Empfindlichkeit (0-Standard + 3 s) betrug 2,2 pg/Röhrchen, (von 16 Ansätzen berechnet).

b) MG – Ein Referenzbereich von 140 Blutspendern errechnet entsprach den von Putman (2) – Männer 1,5–3,5 g/l, Frauen 1,75–4,5 g/l.

c) Dialysepatienten (n = 50) wiesen einen signifikant niedrigeren AT-Serumspiegel (Mittelwert 1,99 g/l, z = 4,92 – Mann-Whitney U-Test).

d) Speichel – Zur Bestimmung war eine Vorverdünnung (1:5 AT, 1:2 MG) mit 0,1 mol/l Tris-HCl, pH 8 nötig, da die zur Speichergewinnung verwendeten Zitronensäurekristalle zu einem pH-Wert unter 4 führten. AT-Konzentrationen von 2,5–25 mg/l und MG-Konzentrationen von 0,5–5 mg/l wurden gefunden. Serum- und Speichelwerte korrelierten nicht.

Schrifttum:

1. WOOD, W. G. et al.: *Arzt. Lab.* 30, 336–342 (1984).
2. PUTMAN, F. W.: *The plasma proteins*, Academic Press, N.Y. (1975).

Pathogenetische Mechanismen der Onchozerkose

D. W. Büttner

Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg

Nach der Infektion mit den durch Kriebelmücken übertragenen dritten Larven der Filarie *Onchocerca volvulus* kommt es zu einer 12–30 Monate und länger dauernden Prälatenzzeit, während der die Würmer heranwachsen, ohne daß Beschwerden auftreten. Die Infektion ist während dieser Zeit nur immundiagnostisch nachzuweisen. Die reifen Weibchen führen dann in der Subkutis zur Bildung von Fremdkörpergranulomen, den Onchozerkomen, die nur gelegentlich mechanisch oder kosmetisch Beschwerden verursachen. Ihre Exstirpation ermöglicht die Diagnose. Die befruchteten Weibchen produzieren während ihres 5–15jährigen Lebens Millionen von Mikrofilarien, die in die Haut wandern, wo sie 6–30 Monate leben. Das Ausmaß und die Schwere der Hauterscheinungen hängt vom Immunstatus der Patienten, der Anzahl der Mikrofilarien, ihrer Verteilung und der Dauer der Infektion ab. Bei der generalisierten Form am einen Ende des zu beobachtenden klinisch-immunologischen Spektrums können Mikrofilariendichten von mehr als 1000 Mf/mg Haut auftreten, weil der Mensch die Mikrofilarien nicht zu töten vermag. Durch die beim natürlichen oder chemotherapeutisch bedingten Tod der Mikrofilarien frei gesetzten Substanzen und möglicherweise auch durch Stoffwechselprodukte kommt es zu Veränderungen der Hautgefäße, vor allem der Basallamina, zu degenerativer Umwandlung der Bindegewebsfasern, zu Veränderungen der Pigmentierung und zur Atrophie der Epidermis. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei den schweren Hautveränderungen bei Sowda um eine hyperreaktive Dermatitis mit sehr niedriger Mikrofilariendichte, weil die Patienten in der Lage sind, die Mikrofilarien zu töten. Der Nachweis der Adulten oder der Mikrofilarien, der Mazzotti-Test mit Diäthylcarbamazine und die Serologie ermöglichen die Diagnose. Bei einem Teil der Patienten wandern Mikrofilarien in die Augen und verursachen Konjunktivitis, Korneatrübung, Iridozyklitis mit Sekundärglaukom und Synechien, Chorioretinitis und postneuritische Opticusatrophie.

Ein neuer Enzymimmunoassay zum Nachweis von Antikörpern gegen Hepatitis B (core)-Antigen mit gentechnologisch hergestelltem HBcAg

Th. Buck, P. Krauledat

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, Marburg

Antikörper gegen das Hepatitis B (core)-Antigen (Anti-HBc) erscheinen im Serum bereits zwei bis vier Wochen nach dem Auftreten des surface-Antigens (HBsAg), im Einzelfall sogar fast zeitgleich damit und noch vor dem HBeAg. Die Anti-HBc-Bestimmung eignet sich daher gut zur Frühdiagnose – auch der HBsAg-negativen akuten – Hepatitis B. Darüber hinaus schließt

dieser Nachweis eine mögliche diagnostische Lücke zwischen dem Verschwinden des HBsAg und dem Auftreten von Anti-HBs. Da Anti-HBc im Verlauf praktisch jeder Hepatitis B-Virusinfektion gebildet wird und in der Regel zeitlebens persistiert, eignet sich dieser Parameter auch gut für epidemiologische Untersuchungen und für das Screening vor einer Hepatitis B-Schutzimpfung.

Bei dem vorliegenden nach dem Sandwich-Prinzip aufgebauten Enzymimmunoassay (ELISA) (Enzygnost® Anti-HBc, Behringwerke AG) bindet sich das in der Probe vorhandene Anti-HBc an gentechnologisch hergestelltes HBc-Antigen, das an die Oberfläche einer Mikrotiterplatte fixiert ist. Nach dem Auswaschen wird in einer zweiten Reaktion Peroxidase-konjugiertes Human-Anti-HBc an die noch nicht von den im Patientenserum vorhandenen Anti-HBc-blockierten Festphasen-Antigenen gebunden und nach einem weiteren Waschschriff durch Umsetzen eines Chromogens nachgewiesen. Die Auswertung kann visuell oder photometrisch erfolgen. Die Testdurchführung einschließlich photometrischer Auswertung ist automatisierbar (Behring ELISA-Processor). Als Referenzmethoden für die vorliegenden Untersuchungen kamen zwei kommerziell erhältliche, nach dem Sandwich-Prinzip aufgebaute Testsysteme, ein Radioimmunoassay (RIA) und ein ELISA, zum Einsatz.

Die folgenden Ergebnisse wurden erhalten: Die Grenzpmpfindlichkeit unseres ELISA wurde auf der Basis eines vom Paul-Ehrlich-Institut abgegebenen Standards mit 0,1–0,2 E/ml ermittelt. Anhand vergleichender Titrationen von Patientenserum wurden außerdem die relativen Empfindlichkeiten der Testsysteme bestimmt. Dabei war die Sensitivität unseres ELISA und diejenige des RIA fast identisch. Gegenüber dem zu Vergleichszwecken mitgeprüften ELISA war unser ELISA jedoch um den Faktor 2–5 empfindlicher. Die Variationskoeffizienten, gemessen in unterschiedlichen Extinktionsbereichen, betragen durchschnittlich in der Serie 6,9% und von Tag zu Tag 8,0%. Seren mit einem Gehalt an potentiellen Störfaktoren, wie Rheumafaktoren, antinukleären Antikörpern, Lipiden in hoher Konzentration, sowie hämolytische Seren und Plasmen (Heparin, EDTA, Citrat) zeigten keine unerwünschte Interferenz mit unserem ELISA.

Klinische Studien über einen Enzymimmunoassay zum Nachweis von Antikörpern gegen Hepatitis B (surface)-Antigen

Th. Buck, F. Dati, G. Grenner

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, Marburg

Der Nachweis von gegen das Hepatitis B-Virus-Oberflächen-Antigen gerichteten Antikörpern (Anti-HBs) ist, ebenso wie der Nachweis von HBsAg, ein wichtiges diagnostisches Merkmal der Hepatitis B-Virusinfektion. Das Vorhandensein dieses Parameters in ausreichender Konzentration spricht für schützende Immunität. Somit kommt der Anti-HBs-Bestimmung eine große Bedeutung für die Indikation zu einer Schutzimpfung und für die Kontrolle des Impferfolges zu. In diesem Zusammenhang wird auch der quantitative Anti-HBs-Nachweis zunehmend wichtiger.

Bei dem vorliegenden nach dem Sandwich-Prinzip aufgebauten Enzymimmunoassays (ELISA) (Enzygnost®-Anti-HBs, Behringwerke AG) bindet sich das in der Probe vorhandene Anti-HBs an HBsAg, welches an der Oberfläche einer Mikrotiterplatte fixiert ist. Nach dem Auswaschen wird in einer zweiten Reaktion Peroxidase-konjugiertes HBsAg an die noch freien Antigenbindungsstellen des Antikörpers gebunden und nach einem weiteren Waschschriff durch Umsetzen eines Chromogens nachgewiesen. Die Auswertung kann sowohl visuell als auch photometrisch erfolgen. Die gesamte Testdurchführung, einschließlich photometrischer Auswertung, ist automatisierbar (Behring ELISA-Processor). Als Referenzmethode für die vorliegenden Untersuchungen kam ein kommerziell erhältlicher, ebenso nach dem Sandwich-Prinzip aufgebauter, Radioimmunoassay (RIA) zum Einsatz.

Die folgenden Ergebnisse wurden erhalten: Die Grenzpmpfindlichkeit des ELISA wurde auf der Basis des internationalen WHO-Standards und weiterer nationaler Standardpräparationen mit durchschnittlich 1,3 IU/l (Bereich 0,6–1,9 IU/l) ermittelt. Sie war damit gut vergleichbar mit derjenigen des RIA, die im Bereich zwischen 1,0 bis 2,6 IU/l lag. Die Variationskoeffizienten des

ELISA, gemessen mit der positiven Kontrolle, betragen durchschnittlich in der Serie 4,7%, von Testplatte zu Testplatte 9,1% und von Tag zu Tag 13,5%. Auf der Basis von 1501 vergleichend geprüften Seren konnte beiden Testen eine nahezu identische Sensitivität und Spezifität zugesprochen werden. Proben, die potentielle Störfaktoren enthielten, wie hämolytische, lipämische, Paraprotein- oder Rheumafaktor-haltige Seren, sowie Seren aus der akuten Phase anderer Viruserkrankungen, wie Hepatitis A und infektiöse Mononukleose, führten zu keiner Interferenz mit dem ELISA. Im Rahmen von Verlaufsuntersuchungen konnte bei 4 von 15 Patienten mit akuter Hepatitis B Anti-HBs mit dem ELISA früher als mit dem RIA nachgewiesen werden. Bei den übrigen 11 Patienten war Anti-HBs mit beiden Testen gleichzeitig nachweisbar.

Ein immunchemischer Latex-Lipase-Schnelltest als Screening für akute Pankreatitis bei Patienten mit Abdominalschmerzen

F. Dati, T. Toth

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, Marburg

Durch die Isolierung der Human-Pankreaslipase und die Gewinnung von spezifischen Antikörpern gegen dieses Enzym konnte ein immunchemischer Schnelltest zum Nachweis erhöhter Lipasekonzentrationen im Serum bzw. Plasma, basierend auf Latex-Agglutination (RapiTex®-Lipase, Behringwerke AG, Marburg), entwickelt werden.

Dieser Latex-Test erfordert wenig Arbeits- und Zeitaufwand (10 min) und ist sowohl in Serum- als auch in Kapillarplasma-proben (50 µl) durchführbar. Durch Verdünnungsreihen der Probe sind auch semiquantitative Lipasebestimmungen möglich. Der Latex-Lipase-Test ist so eingestellt, daß Serum- bzw. Plasmaproben mit einer Lipasekonzentration oberhalb des Entscheidungsbereiches von 250–300 µg/l zu einer deutlichen Agglutination führen. Dieser Grenzbereich wurde aufgrund der Ergebnisse der quantitativen Lipasebestimmung mit dem Enzymimmunoassay Enzygnost®-Lipase festgelegt. Danach zeigen 97,5% aller Patienten mit starken Oberbauchschmerzen, bei denen eine akute Pankreatitis festgestellt wurde, Lipasekonzentrationen über 330 µg/l. Im Rahmen der klinischen Erprobung des neuen Latex-Lipase-Tests wurden in 3 Studien in der Bundesrepublik, in Dänemark und in England 612 Patienten untersucht, die mit akuten Abdominalschmerzen ins Krankenhaus aufgenommen worden waren.

Alle 59 Fälle mit klinisch gesicherter akuter Pankreatitis wurden durch eine positive Reaktion des Latex-Tests erkannt, die Sensitivität betrug damit 100%. Die übrigen 553 Patienten mit anderen Erkrankungen zeigten in 12 Fällen ein positives Testergebnis, was einer Spezifität von 98,5% entspricht. Hierbei lagen bei einigen Patienten Krankheitsbilder zugrunde, z. B. gastroduodenales Ulcus, Pankreaskarzinom, Pankreas-Pseudozysten und Gallenwegserkrankungen, die eine Pankreasbeteiligung vermuten ließen. In der Tat zeigten 8 dieser Fälle Lipasekonzentrationen über 300 µg/l.

Der prädiktive Wert eines positiven Latex-Tests lag bei diesem Kollektiv von Patienten mit Abdominalschmerzen bei Krankenhausaufnahme bei 83,1%, derjenige eines negativen Testergebnisses bei 100%. Die ermittelte Testeffizienz, d. h. die gesamte Übereinstimmung von negativen und positiven Ergebnissen, betrug 98%.

Sowohl Rheumafaktoren in Konzentrationen bis 400 IU/ml (Waaler-Rose-Test), als auch weitere mögliche Störfaktoren wie Hämoglobin, Bilirubin, Triglyceride und Paraproteine führten zu keinen falsch positiven Reaktionen im Test. Ergebnisse der klinischen Studien haben ergeben, daß der Latex-Lipase-Schnelltest im Rahmen von Notfalluntersuchungen bei akuten Oberbauchschmerzen in kürzester Zeit einen wertvollen Beitrag zur Bestätigung oder zum Ausschluß einer akuten Pankreatitis leisten kann. Nach dieser ersten orientierenden Bestimmung für die erforderlichen Sofortmaßnahmen im akuten Fall können quantitative Verlaufsbestimmungen der Lipasekonzentration mit dem Enzymimmunoassay angeschlossen werden.

Ein neues standardisiertes Thromboplastin aus Human-Plazenta zur Bestimmung der Prothrombinzeit

F. Dati, P. Fuhge, U. Becker, N. Heimbürger

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, Marburg

Um eine Standardisierung der Bestimmung der Prothrombinzeit (PT, Thromboplastinzeit – TPZ – oder Quickzeit) zu erzielen, sind in den letzten Jahren internationale Referenzthromboplastine (z. B. British Comparative Thromboplastin, BCT, aus Menschenhirn) entwickelt worden. Diese Thromboplastine sind bezüglich Empfindlichkeit und Spezifität als optimal anzusehen, stehen aber für die Routine nicht zur Verfügung. Daher wurde ein entsprechendes Thromboplastin humanen Ursprungs (Thromborel® S, Behringwerke AG, Marburg) mit einem neuen Herstellungsverfahren aus menschlicher Plazenta produziert und gegenüber dem Referenzthromboplastin BCT standardisiert. Das neue Thromboplastin besitzt eine hohe Empfindlichkeit für alle Faktoren des exogenen Gerinnungssystems, insbesondere für Faktor VII. Weiterhin weist es einen guten Neutralisationseffekt für Heparin von mindestens 0,6 E/ml auf. Beide Eigenschaften erlauben eine effektive Kontrolle der Einstellungsphase der oralen Antikoagulantien-Therapie. Für die stabile Phase wurde in einer kooperativen Studie aus der Korrelation mit BCT ein therapeutischer Bereich von 15–27% der Norm bzw. von 2,4–4,0 Prothrombin-Ratio ermittelt.

Die gute Spreizung der Bezugskurve für die PT-Bestimmung mit dem neuen Thromboplastin zwischen 100 und 50% (≥ 6 sec) ermöglicht ein zuverlässiges präoperatives Screening und eine genaue Überprüfung der Lebersyntheseleistung. Das neuentwickelte Herstellungsverfahren erlaubt eine gute Chargenkonstanz, wodurch die Verwendung von chargen- und gerätespezifischen Bezugskurven möglich ist.

Entsprechend einer Empfehlung der WHO wurden alle bisherigen Chargen anhand eines Normal- bzw. Marcumarplasmas vorlängs an einem internen Standard geeicht, der gegen das BCT 235 vorkalibriert wurde.

Für jede Charge wird ein internationaler Empfindlichkeitsfaktor (ISI) angegeben, der für Patienten unter oraler Antikoagulation die Angabe von vergleichbaren Werten in „International Normalized Ratio“ (INR) für die Intensität der Therapie zuläßt, unabhängig von den verwendeten Reagenzien. Die Berechnung der INR erfolgt über die Prothrombin-Ratio (PR) des Patienten, die mit dem ISI potenziert wird. Der von verschiedenen Gruppen empfohlene therapeutische Bereich in INR für die orale Antikoagulationstherapie ist 1,5–5,0. Die Berechnung der ISI-Werte für 14 Chargen des neuen Thromboplastins ergab einen Mittelwert von 1,16 (Bereich: 1,04 bis 1,29).

Die Überprüfung der Standardisierung erfolgte in verschiedenen Zentren unter Verwendung von Plasmen von Gesunden bzw. Patienten mit verschiedenen Erkrankungen und unter oraler Antikoagulation ($n = 330$).

Es ergab sich eine sehr gute Korrelation zwischen dem neuen Thromboplastin und dem BCT sowohl in Prozent der Norm ($r = 0,979$; $y = 0,97x - 1,6$) als auch in Prothrombin-Ratio ($r = 0,964$; $y = 1,03x + 0,1$).

Einfacher und schneller Microtiterplatten-Enzymimmunoassay für die Bestimmung von Dehydroepiandrosteron-Sulfat im menschlichen Serum

T. K. Dhar, Ch. Müller, M. Schöneshöfer

Institut für Klin. Chemie u. Biochemie, Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin

Im Rahmen der biochemischen Differentialdiagnose eines Hyperandrogenismus stellt Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEA-S) einen Parameter für die adrenale Genese dar. Enzymimmunologische Verfahren sind bislang noch nicht beschrieben. Wir stellen hier einen kompetitiven Enzymimmunoassay auf Microtiterplatten (MTB)-Basis vor. U-förmige MTP (NUNC, Wiesbaden) werden primär mit Anti-Rabbit-IgG (Dakopatts, Hamburg) beschichtet (bei Vakuumkonservierung für mehrere Wochen bei 4°C stabil). Antiserum gegen DHEA-S wurde durch Immunisierung von Kaninchen mit DHEA-3-O-Hemisucci-

nat(HS)-BSA gewonnen und gereinigt. Enzymmarkiertes DHEA wurde durch Kopplung von Peroxidase (Sigma, München) mit DHEA-HS hergestellt. Als Enzymsubstrat wurde Tetramethylbenzidin, als Standard reines DHEA-S benutzt. Enzymmessungen wurden mit einem Multi-Scan-Photometer durchgeführt. Für den Methodenvergleich wurde ein ¹²⁵J-RIA-Kit verwendet. 50 µl einer Serum-Verdünnung (1:50) sowie 100 µl eines Gemischs aus Anti-DHEA (1:40000) und Peroxidase-DHEA (1:160000) werden 1 Std. bei 37°C inkubiert. Nach einmaligem Waschen und nach Zugabe von Substrat wird die Enzymaktivität nach einer 1 Std.-Inkubation bestimmt, und die Ergebnisse werden automatisch ausgewertet.

Die Präzision über alle 96 MTP-Positionen beträgt 3,76%. Die Empfindlichkeit des Assay beträgt 12,5 pg/MTP-Position. Die Standardkurve reicht von 25–8000 µg/l. Die Intra- und Interassay-Präzision von niedrigen, mittleren und hohen Plasmakonzentrationen liegt zwischen 4,3 und 2,3%. Die Gesamtdauer beträgt 2,5 Std. (davon 2 Std. Inkubation). Der ermittelte Referenzbereich stimmt mit den Literaturwerten überein. Die Korrelation mit der RIA-Methode war gut. Die Methode ist bei geringen Material- und Reagenzienkosten ökonomisch. Große Probenserien können bei guter Präzision und Richtigkeit schnell und einfach bestimmt werden.

Eine Bestimmung der α-Amylase in Serum und Urin mit deutlich verbesserter Testempfindlichkeit

B. Dolabdjian, W. Hehlein
E. Merck, Darmstadt

Mit den enzymatischen Farbttests und dem Gebrauch definierter Substrate stehen seit einiger Zeit anerkannte Verfahren zur Verfügung, welche eine den heutigen Erfordernissen entsprechende Bestimmung der α-Amylase erlauben.

Die Verwendung des Substrats 2-Chlor-4-nitrophenyl-β-maltoheptaosid (Cl-PNP-G₇) stellt eine Weiterentwicklung der bisherigen Methoden dar. Das neue Testverfahren zeichnet sich besonders durch eine nahezu vollständige Dissoziation des Farbreagenzes bei physiologischen Bedingungen aus, verbunden mit pH- und Temperaturkonstanz des Meßsignals (1, 2). Zusammen mit dem günstigen Spaltmuster ergibt sich im Vergleich zu bisherigen Techniken zudem ein wesentlich erhöhtes Meßsignal. Vorteilhaft ist weiterhin die nahezu gleiche Spaltungsgeschwindigkeit des Substrats für die P- bzw. S-Isoenzyme der α-Amylase.

Die einfache Vorbereitung und Durchführung sowie Automatisierbarkeit prädestinieren den Test in besonderem Maße für die Verwendung im modernen Routinelabor.

Schrifttum:

1. HENKEL, E., MORICH, S., HENKEL, R.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 489–495 (1984).
2. HENKEL, E.: GIT-Supplement 4 (3) 24–27 (1984).

Hämoglobin-Elektrophoresen mit dem Olympus Hite-System 200

H.-J. Drygas

Allgemeines Krankenhaus Harburg – Zentrallabor, Harburg

Das Olympus Hite-System 200 hat sich für die Serum-Elektrophorese im Routinebetrieb als vollmechanisiertes und zuverlässiges Gerät mit sehr gut reproduzierbaren Ergebnissen bewährt.

Auch Hämoglobin-Elektrophoresen auf Cellulose-Acetat-Folien lassen sich auf dem Olympus Hite System 200 mit geringem Zeitaufwand und bedingt durch den hohen Mechanisierungsgrad des Gerätes sehr gut reproduzierbar durchführen. Dafür wird lediglich ein anderer Puffer benötigt.

Für einen schnellen Methodenwechsel von Serum- auf Hämoglobin-Elektrophoresen hat sich die Verwendung einer zusätzlichen Kammer mit Puffer sowie eines Schwammrollensystems zum Anfeuchten der Folien als einfach und sicher erwiesen.

Alle anderen Elektrophoreseschritte sind identisch zu denen der Serum-Elektrophorese (Auftragung, elektrophoretische Trennung, Färbung, Entfärbung, Trocknung und Densitometrie).

Mit dem Tris-EDTA-Glycin Puffersystem (pH 9,2) für Hämoglobin-Elektrophoresen lassen sich HbA, HbS, HbC und HbA₂ darstellen. Dies ist im Routinebetrieb für den größten Teil der angeforderten Hämoglobin-Elektrophoresen ausreichend, bis auf die Einschränkung, daß HbA₂ wegen der geringen densitometrischen Nachweisbarkeit quantitativ über eine Säulenchromatographie nachbestimmt werden sollte.

Zum Ausschluß einer Hämoglobinopathie ist das vorgestellte Elektrophorese-System somit bestens geeignet.

Nur bei Verdacht auf weitere nicht zuzuordnende pathologische Hämoglobine müssen evtl. mit anderen Puffersystemen und anderen Trägermaterialien Folgeuntersuchungen angeschlossen werden.

Zinkbestimmung im Blutserum und in Erythrocyten/parenteral ernährten Patienten Estimation of zinc in blood serum and in erythrocytes of patients on parenteral nutrition

Danuta Drygieniec, M. Jerzy Krawczyński

Lehrstuhl für Labordiagnostik,

Zentrum für medizinische Fortbildung Warszawa – Polen

The symptoms of acute zinc deficiency in patients being on total parenteral nutrition (TPN) were described by many authors (1) and it is generally known that there is strong correlation between zinc level in blood serum and the amount of this element supplied parenterally (2). The concentration of zinc in erythrocytes is considered especially in acute zinc deficiency syndrom as useful criterion in evaluation of zinc substitution therapy (3).

The aim of present investigation was to elaborate for routine laboratories the procedure of zinc estimation in blood serum and in erythrocytes using atomic absorption spectrophotometry.

For zinc estimation 0,25 ml of heparinized plasma or hemolysate were added to the tubes containing 2 ml of deionized water and 0,25 ml of 0,5 mol/l HCl (spectral purity) and burnt on Autolam Burner II in oxidizing (acetylen) air flame. The absorbance values of samples were read by 0,54 nm width of spectral aperture using Zn-cathodic lamp.

The range of normal zinc concentration in the serum was: for women 57–100 µg/dl (mean 80 µg/dl), for men 64–110 µg/dl (mean 85 µg/dl) and the differences were statistically significant.

The ranges of normals in erythrocytes were 900–1400 µg/dl (mean 1150 µg/dl) for both sexes.

Accuracy was 92% for plasma and 90% for erythrocytes. Precision as coefficient of variation was: VC = 4,5%.

This procedure is simple and economical and can be used routinely as a method monitoring the biochemical status of patients being on TPN.

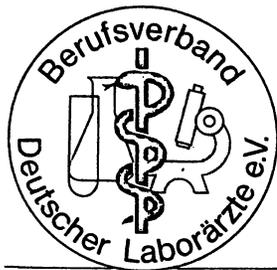
Schrifttum:

1. ARAWAKA, T. et al.: Am. J. Clin. Nutr. 29, 197 (1976).
2. WOLMAN, S. L. et al.: Gastroenterology 76, 458 (1979).
3. REINHOLD, J. G.: Clin. Chem. 21, 476 (1975).

CEA und PMN-Elastase als diagnostische Marker im Pleuraerguß

W. Ebert, K. Rogner, H. Schwöbel, Ö. L. Schönberger
Krankenhaus Rohrbach, Klinik für Thoraxerkrankungen der LVA Baden

Der Pleuraerguß stellt den Kliniker nicht selten vor diagnostische Probleme. Insbesondere die sichere Beweisführung einer malignen Ätiologie (ca. 40% der Pleuraergüsse) bereitet Schwierigkeiten, zumal die hochspezifische Zytologie nur in ca. 50–60% der malignen Ergüsse erfolgreich ist. Zur Verbesserung der diagnostischen Effizienz bestimmten wir mit enzymimmunologischen Verfahren den Tumormarker CEA und zur Abgrenzung Em-



Bericht über die Sitzung der Union Européenne des Médecins Spécialistes (UEMS) vom 5. und 6. Oktober 1984 in Dublin

Die UEMS ist ein freier Facharztzusammenschluß auf EG-Ebene, der vor 26 Jahren gegründet wurde und von der Brüsseler Behörde als beratendes Gremium anerkannt ist. Die Verwaltung befindet sich in Brüssel. Seit Bestehen haben sich die belgischen Fachärzte hohe Verdienste um die Harmonisierung des Facharztwesens und auch um die Freiheit fachärztlicher Tätigkeit in der Berufsausübung erworben. Finanziert wird die Vereinigung durch freiwillige Beiträge der einzelnen fachärztlichen Zusammenschlüsse der EG-Länder.

Neben der UEMS gibt es im EG-Bereich das sogenannte Comité permanent (C.P.), das sich aus Vertretern der Ärztekammern bzw. der entsprechenden Gesundheitsorganisationen der Länder zusammensetzt und sowohl Allgemeinärzte als auch Fachärzte vertritt. Die Freiheit des Arztes ist in den Gesundheitsorganisationen der einzelnen Länder unterschiedlich. In keinem Land gibt es eine strenge Trennung zwischen Aus- und Weiterbildung wie in der Bundesrepublik, wo für die Ausbildung der jungen Ärzte der Staat zuständig ist, für die Weiterbildung und Fortbildung aber die Ärztekammer verhältnismäßig freie Kompetenz hat. In den meisten anderen Ländern ist für die Weiterbildung und damit auch für das Facharztwesen der Staat zuständig. Ärzteverbände werden zwar zu Sachfragen gehört, entschieden wird schließlich aber von den Beamten des Staates.

Die UEMS unterhält über einen „Verbindungsoffizier“ ständigen Kontakt mit dem Comité permanent und erkennt dieses damit als übergeordnetes allgemeines ärztliches Sprachrohr auf EG-Ebene an. Die Gemeinschaft fachärztlicher Berufsverbände (GFB) hat über die Bundesärztekammer einen Delegationssitz im C.P.

Weiter existiert im EG-Raum ein Zusammenschluß der Allgemeinärzte (UEMO), mit dem die UEMS ebenfalls durch einen Kontaktmann verbunden ist. Ziel sämtlicher drei Organisationen ist es, Einfluß auf die Brüsseler Behörde zu nehmen, die wie bekannt, Richtlinien herausgibt, an die sich die nationalen Regierungen halten müssen. Die letzte Richtlinie, die vor zwei Jahren herauskam, betraf eine zweijährige Weiterbildung der Allgemeinärzte vor Kassenzulassung. Dagegen steht der deutsche Gesetzesentwurf zur Änderung der Approbationsordnung mit einem zweijährigen Pflichtpraktikum vor der endgültigen Approbation. Der Staat hat in unserem Lande die Verpflichtung nach der Approbationsordnung, den jungen Arzt soweit auszubilden, daß er sich frei niederlassen kann. Da dieses Ziel infolge des Massenstudiums zur Zeit nicht erreicht wird, soll der werdende Arzt nach staatlicher

Prüfung ein zweijähriges Berufspraktikum ableisten, bevor er die Erlaubnis erhält, in eigener Verantwortung frei ärztlich tätig zu werden. Da diese Konzeption dem EG-Recht und der letzten Richtlinie für die Allgemeinärzte widerspricht, hat die Bundesregierung zusammen mit der Bundesärztekammer Antrag auf Ausnahmegewilligung gestellt.

Die Berichte der einzelnen Delegationen in Dublin am 5./6. 10. 1984 über behördliche Eingriffe in die Freiheit der Berufsausübung der Fachärzte und honorarmindernde Maßnahmen waren besorgniserregend. Angesichts der einschneidenden Maßnahmen der Behörden in unseren Nachbarländern fragte man sich, wie lange die Verhältnisse bei uns noch einigermaßen geordnet bleiben.

Aus Dänemark wurde berichtet, daß die Einkünfte der leitenden Krankenhausärzte in den letzten zehn Jahren um 40% gesunken sind. In der sozialen Krankenversicherung bestehe örtlich ein vertragsloser Zustand. Die ärztliche Tätigkeit sei zeitlich begrenzt. Eine kräftige Selbstbeteiligung der Patienten würde diskutiert. Die dänische Delegation stellte die Frage, ob das ärztliche Honorar überhaupt von der wirtschaftlichen Leistungsfähigkeit eines Staates abhängig gemacht werden könne. Der Preis einer handwerklichen Leistung sei schließlich auch nicht abhängig davon, ob die Staatsfinanzen in Ordnung wären oder nicht.

Irland berichtete, daß die Ärzte dort die Vertragsverhandlungen mit den Krankenkassen abgebrochen haben. Es besteht ein vertragsloser Zustand. Die Ärzte liquidieren frei. Eine Sonderabschöpfung für die Privatpraxis von 30% wurde durch den Staat festgelegt.

Aus Frankreich war zu erfahren, daß die Ärzte dort Gewerbesteuer bezahlen müssen.

Holland berichtete, daß eine Meldepflicht für jede Praxiseröffnung beim Ministerium angeordnet worden sei. Die Einnahmen der einzelnen Ärzte würden von seiten der Regierung durch Computer erfaßt. Wenn sich am Schluß eines Rechnungsjahres ergeben würde, daß der einzelne Arzt das Durchschnittseinkommen aller Ärzte überschritten hätte, würden Kürzungen in ähnlicher Weise erfolgen, wie dies bei unseren kassenärztlichen Vereinigungen durch Beschluß der Vertreterversammlung bei übermäßiger Ausweitung der Kassenpraxis praktiziert wird. Also absolute Nivellierung mit dem Ziel der Regierung, die Einkommen aller Ärzte um ein Drittel zu senken. Zusätzlich haben die Ärzte in der Regel bis 70% Einkommensteuer zu zahlen.

Aus Italien wurde berichtet, daß alle Honorarverhandlungen mit den Kostenträgern bzw. mit der Regierung sich in Nebel aufgelöst hätten. Das elementare Recht des Arztes auf eine ausreichende Honorierung bestehe praktisch nicht mehr.

Die durch die einzelnen Regierungen veranlaßte Ärzteschwemme hat in mehreren Ländern jetzt schon katastrophale Folgen, wovon besonders die jungen Ärzte betroffen sind. Es gibt bereits Chirurgen, die nur noch einmal in der Woche operieren können. Die einzelnen Arztpraxen sind nicht mehr über die ganze Woche besetzt, sondern nur stundenweise an einigen Tagen. Trotzdem weigern sich die Regierungen in Italien und Belgien, eine Begrenzung der Zahl der Studienanfänger durch einen numerus clausus vorzunehmen. Die Italiener rechnen mit einer Arztdichte von 1:124, wenn die jetzige Zahl der Studenten ihr Studium abgeschlossen hat. Aus anderen Staaten, die einen numerus clausus haben, wurde berichtet, daß die Handhabung sich teilweise als unzureichend erwiesen hat. Frankreich habe daher radikale Maßnahmen zur Verringerung der Arztdichte eingeführt. Im zweiten Ausbildungsjahr würden nur noch 4750 Studenten gegenüber 5900 vor drei Jahren zugelassen. Die fachärztlichen Weiterbildungsstellen wurden ab 1984 auf 1450 zuzüglich 600 für Psychiatrie beschränkt. Diese Maßnahmen bedeuten eine Reduzierung der Jungärzte pro Jahr auf die Hälfte. Im Jahre 1984 kamen bzw. kommen insgesamt noch 9300 Jungärzte hinzu.

Gleichzeitig wurde berichtet, daß restriktive Maßnahmen eines Landes durch unterschiedliche Handhabung in anderen EG-Ländern unterlaufen werden. In Belgien und Italien kann jeder Angehörige eines EG-Staates Medizin studieren. Das abgelegte Staatsexamen wird im Herkunftsland anerkannt. Beschränkungen für die fachärztliche Weiterbildung gibt es bisher nur in Frankreich. Junge Franzosen sind in der Lage, die restriktiven Maßnahmen ihres Landes dadurch zu unterlaufen, daß sie zur Weiterbildung nach Deutschland kommen. Auch die Maßnahmen in Holland greifen nicht, da es keine Vorschriften gibt, die eine Weiterbildung in Deutschland verbieten. Es gibt jetzt bereits im EG-Bereich 600000 Ärzte, wovon 350000 Fachärzte sind.

Einstimmig war der Verwaltungsrat der UEMS der Meinung, daß die Schuld an der Ärzteschwemme ausschließlich bei den Regierungen liegt, weil diese für die Ausbildung zum Arzt allein zuständig sind. Gründe dafür seien eine falsche Bildungspolitik, wonach Bildung jedweder Art dem Staatsbürger ohne Kosten offen stehen müsse. Es sei aber auch unverkennbar, daß ein politischer Wille vorhanden wäre, durch überproportionale Ausweitung und zahlenmäßige Vermehrung die Ärzteschaft leichter in den Griff zu bekommen. Offenbar bestehe die Absicht, die Spitzenstellung des Arztes im Ansehen der Bevölkerung durch die Zahl zu beseitigen.

Besorgniserregend waren auch die Berichte über ungünstige Entwicklungen am Krankenhaus. Zunehmend würde das Krankenhaus als politisches Geschenk an die Wähler betrachtet. Gegenüber der Verwaltung spiele der Arzt immer mehr eine untergeordnete Rolle. Krankenhäuser würden als Institute der Politiker zur Gesundheitsversorgung angesehen. Es gebe zwar bis jetzt noch kein Krankenhaus ohne Arzt, obwohl sich manche Politiker dieses wünschten. Zunehmend mache sich die Meinung breit, daß das Krankenhaus den Patienten behandle und nicht mehr der Arzt. Der Arzt würde zum Angestellten des Krankenhauses, verlöre damit seine Selbständigkeit und würde weisungsgebunden.

Man wurde bei diesen Darstellungen an eine frühere Resolution der UEMS erinnert, die Italien betraf. Dort richteten medizinische Laien Zahnarztpraxen ein. Der Zahnarzt selbst durfte nur als Angestellter tätig werden. Der Besitzer der Praxis schrieb die Rechnungen und kassierte. Der Zahnarzt selbst wurde zum Gehaltsempfänger und war ebenfalls weisungsgebunden.

Die englische Delegation gab zu, daß in ihrem Land praktisch alle Ärzte, auch die leitenden Krankenhausärzte, Angestellte des nationalen Gesundheitswesens seien.

Die holländische Vertretung wies betont scharf darauf hin, daß am Krankenhaus ein Einvernehmen zwischen Verwaltung und dem Arzt bestehen müsse, das sich auch auf die Einrichtung und das Personal beziehe. Nur zu häufig würde der Arzt gezwungen, aus Kostengründen mit unqualifiziertem Personal zu arbeiten. Es müsse eine scharfe Trennung zwischen Verwaltung und ärztlicher Behandlung bestehen. Die Tätigkeit des leitenden Krankenhausarztes aufgrund seines Behandlungsvertrages mit den Patienten dürfe nicht behindert, nicht eingeschränkt und auch nicht aufgehoben werden.

Zusammenfassend wurde festgestellt, daß in allen Staaten der EG eine politische Aggressivität gegen den Arzt und besonders gegen die Fachärzte bestehe, deren Ziel es sei, den Arzt für die steigenden Kosten im Gesundheitswesen verantwortlich zu machen, um sein Honorar abschöpfen zu können. Dabei gehe indirekt das Recht des Patienten auf freie Arztwahl und gute Behandlung verloren. Die allgemeine Kostensteigerung im Gesundheitswesen sei auf Faktoren zurückzuführen, auf die die Ärzte keinen Einfluß hätten:

1. Überalterung der Bevölkerung

Die höchste Arztdichte in den USA hat Florida, wo das Durchschnittsalter der Bevölkerung 66 Jahre beträgt. Je mehr alte Leute in einem Staat vorhanden sind, desto mehr Ärzte sind notwendig, sowohl zur konservativen als auch operativen Behandlung.

2. Erhöhte Erwartungshaltung der Bevölkerung

Diese wurden durch Politiker erzeugt, wonach der Arzt die Möglichkeit und auch die Verpflichtung hatte, die Gesundheit des Einzelnen voll zu garantieren.

3. Wissenschaftlicher Fortschritt

Jeder wissenschaftliche Fortschritt mache das Gesundheitswesen teurer. Daran seien aber nicht die Ärzte schuld. Man könne wissenschaftlichen Fortschritt nicht aufhalten. Die Behandlung würde aber dadurch teurer.

4. Keine oder unzureichende und nicht dem Bedarf entsprechende Beschränkung des Zugangs zum Arztberuf

Jeder Arzt, der ohne Bedarf tätig wird, verteuert das Gesundheitswesen: Ihm bleibt nichts anderes übrig, als aus Gesunden Kranke zu machen, um sie behandeln zu können. Er schafft sich selbst seinen Bedarf.

Zur sogenannten Ärzteschwemme wurde in Dublin eine Resolution verabschiedet. Sie lautet in der deutschen Fassung dem Sprachgebrauch angepaßt:

Der Verwaltungsrat der UEMS

– erinnert an seine früheren Stellungnahmen, wonach alle Länder der EG umgehend koordiniert Maßnahmen treffen sollen, um sowohl den Zugang zum Studium der Medizin sowie zur fachärztlichen Weiterbildung einzuschränken, wobei gleichermaßen die Bedürfnisse der Bevölkerung und die tatsächlichen Möglichkeiten für die Aus- und Weiterbildung zu berücksichtigen sind,

– betont, daß von jedem EG-Land erhebliche Mittel aufgewandt werden, Ärzte auszubilden, für die keine Möglichkeit bestehen wird, ihren Beruf auszuüben, so daß sich die Zahl der arbeitslosen Akademiker weiter erhöht,

– verurteilt das unverantwortliche Verhalten jener Regierungen, die sich unter verschiedenen Vorwänden weigern, wirksam die Zahl der jungen Ärzte zu limitieren und auf diese Weise Bedingungen schaffen, die es Angehörigen anderer Länder der EG ermöglichen, die in ihrem Land getroffenen restriktiven Maßnahmen zu unterlaufen.

Dr. med. Ernst Rausch, Köln

Aus den Landesgruppen

Tagung der Landesgruppe Bayern des Berufsverbandes für Laborärzte am 1. 2. 1985 in München

Unter Leitung von Frau Dr. Koser und in Anwesenheit von Dr. Hauck fand eine Sitzung der Landesgruppe Bayern in München statt.

Die Tagesordnung sah neben einem Bericht von Dr. jur. Eichenhofer (Max-Planck-Institut für Sozialrecht) über die bisherigen juristischen Maßnahmen gegen die Anlage IV des HVM der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns auch die Neuwahl des 1. Vorsitzenden der Landesgruppe vor.

Dr. Eichenhofer hatte in einem Gutachten für den Berufsverband festgestellt, daß die Rechtmäßigkeit des HVM IV wegen der Unverhältnismäßigkeit der angewandten Mittel zur Honorarverteilung anzufechten sei. Die beim Bayerischen Sozial- und Arbeitsministerium eingereichte Rechtsaufsichtsbeschwerde war jedoch ohne Erfolg gewesen, da das Ministerium keinen Verstoß gegen die Rechtmäßigkeit ihres HVM gesehen hat. Ähnliche abschlägige Bescheide mit gleichen Begründungen erhielten auch andere Rechtsaufsichtsbeschwerden bei dem Ministerium. Als weiteres juristisches Vorgehen gegen den HVM IV von seiten der Laborärzte schlug Dr. Eichenhofer vor, nach Erhalt der Kassenabrechnung des IV. Quartals 1984 möglichst viele Widersprüche einzulegen und in Einzelprozessen gegen den HVM IV vorzugehen. Bei der Diskussion über diese Fragen wurde von allen Anwesenden besonders gravierend die Tatsache empfunden, daß in einem Dienstschreiben der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns vom 10. Oktober 1984 alle Kassenärzte Bayerns darauf hingewiesen wurden, daß Laborärzte keine Überweisungen für Konsiliaruntersuchungen entgegennehmen oder sogar ausführen dürfen. Zur Begründung wurde von seiten der KVB angegeben, daß es berufsrechtlich Laborärzten nur gestattet sei,

ausschließlich gezielte und genau umrissene Untersuchungsaufträge auszuführen, dafür würde diese Gruppe der Ärzte im Gegensatz zu den anderen nicht einer Grenzpunktezahl in ihrer Abrechnung unterliegen. Eine Rückfrage bei der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns hierzu wurde mit dem Hinweis auf das Kammergesetz und die Weiterbildungsordnung für die Ärzte Bayerns beantwortet, wonach ein Arzt, der zur Führung einer Gebietsbezeichnung berechtigt ist, nur in seinem Gebiet tätig werden kann. Aus diesen Gründen könne der Laborarzt lediglich gezielte Auftragsleistungen erbringen. Diese Rechtsauffassung der KV Bayerns und die Rechtmäßigkeit des neuen Honorarverteilungsmaßstabes in Bayern wurde in einem ausführlichen Rechtsgutachten einer bekannten Stuttgarter Anwaltskanzlei, das von einigen Laborärzten Bayerns in Auftrag gegeben worden war, untersucht. Die Gutachter kommen hierin zu dem Schluß, daß das generelle Verbot einer Konsiliartätigkeit für Laborärzte eine statusbildende Regelung enthält, die gegen verfassungsrechtliche Grundsätze verstößt. Gemäß der bekannten Rechtsprechung des Bundesverfassungsgerichtes unterliegt jede Einschränkung der freien Betätigung im Beruf dem Gebot der Verhältnismäßigkeit: Je stärker die Berufstätigkeit eingeengt werden soll, um so gewichtiger müssen die sie rechtfertigenden Gründe sein. Deshalb wird in einem Facharzturteil des Bundesverfassungsgerichtes ein generelles Verbot fachfremder Tätigkeiten als unzulässig angesehen. Der sich hieraus ergebende Erst-Recht-Schluß läßt folgern, daß auch der Laborarzt, dessen Ausübung ärztliche Tätigkeit ist (siehe Weiterbildungsordnungen), konsiliarisch fachgebietsübergreifend tätig werden darf. Für diese Tätigkeit qualifiziert sich nämlich der Laborarzt durch eine fünfjährige Weiterbildung, die es ihm ermöglicht, eine solche fachübergreifende Tätigkeit auszuüben. Der Laborarzt ist damit in der Lage, anhand von mitgeteilten Verdachtsdiagnosen, die erforderlichen Untersuchungen auszuwählen. Aus diesen Gründen kann es allenfalls als eine Richtlinie angesehen werden, wenn gezielte Aufträge auf den Überweisungsscheinen an die Laborärzte anzugeben sind, nicht jedoch als Regel ohne Ausnahme. Die generelle Streichung von Konsiliaraufträgen für Laborärzte läuft faktisch daher auf eine Untersagung der laborärztlichen Tätigkeit hinaus. Welche rechtlichen Konsequenzen sich aus den Ergebnissen der geschilderten Gutachten zum HVM Bayerns ergeben würden, wurde im Einzelnen diskutiert.

Als weiterer Punkt stand die Neuwahl des 1. Vorsitzenden auf der Tagesordnung. Hierzu wurden von Dr. Bergner und Dr. Hauck Vorschläge zu der Bildung eines erweiterten Vorstandes der Landesgruppe Bayern, wegen seiner besonderen Situation als großer Flächenstaat (Größe wie Österreich) gemacht. Ein erweiterter Vorstand ist von der Satzung des Berufsverbandes durchaus möglich. Hierdurch wird dem 1. Vorsitzenden die Möglichkeit zur Aufgabenverteilung und Arbeitsentlastung gegeben. Die anwesenden Mitglieder stimmten darin überein, daß eine solche Konstellation eine effektivere Tätigkeit des Landesverbandes bringen wird. Als 1. Vorsitzender wurde Dr. Kley (Nürnberg) gewählt. Der stellvertretende Vorsitzende Dr. Bergner (Erlangen) bleibt im Amt. In den erweiterten Vorstand der Landesgruppe wurden Dr. Becker, Prof. Dr. Gries, Dr. Wilk und Dr. Zeitlmann gewählt.

In seinem Schlußwort erklärte Dr. Kley, daß der Berufsverband in Bayern sich vorrangig mit dem Problem des HVM IV und weiterhin dem des unlauteren Wettbewerbes von Laborgemeinschaften und Kollegen beschäftigen werde.

R. Kley

Ein Beitrag zur Kostendämpfung

ARTZLICHE PRAXISGEMEINSCHAFT ZENTRALLABOR **REUTLINGEN**

- 2 -

S M A C 1

Das Gerät arbeitet wie der Hemalog unabhängig von Ihren Detail-Wünschen wird aus der Probe (Serum) ein immer gleichbleibendes Profil mit folgenden Parametern bestimmt:

Natrium	Cholesterin	LDH
Kalium	Triglyceride	Casmas-GT
Calcium	Kreatinin	GOT
Magnesium	Hämato-off	GPT
Eisen	Harnsäure	Alk. Phosphatase
Bili gesamt	Glucose	Gesamt-Eiweiß

Das Profil wird DM 11,00 kosten. Abgerechnet wird mit C, D, E... E... E.
Im Gegensatz zur Abrechnung beim Hemalog-Profil gibt es keine Sammlisiffer. Sie dürfen selbstverständlich nicht alle Parameter abrechnen, sondern nur diejenigen, die Sie wirklich benötigen. Das sind in der Regel 3 bis 5, in seltenen Fällen auch 6 bis 8.

Sie können jeden Parameter auch weiterhin als Einzelleistung anfordern: es soll vorläufig eines der beiden Greiner-Geräte in Betrieb bleiben. Ebenso der "Hand-Platz".

Bestimmung der Schilddrüsenhormone
(Enzym - Immun - Assay)

Die Kassenerkrankliche Bundesvereinigung und die KV Südwürttemberg haben die rechtlichen Grundlagen dafür geschaffen, daß Schilddrüsenhormon-Bestimmungen mit der EIA-Methodik in Laborgemeinschaften durchgeführt werden können. Das zum mittlerweile auch alle Laborgemeinschaften unserer Umgebung, nur wir noch nicht.

Vorgesehen ist die Einführung des kompletten Programms mit folgenden Tests:

- T 4
- TBR bzw. T - uptake
- T 3
- TSH

In Frage kommen weitgehend automatisierte Bestimmungsverfahren mit der Elisa - bzw. Fluoreszenz-Polarisations-Technik. Die notwendigen Geräte sollen uns unter bestimmten Bedingungen kostenlos zur Verfügung gestellt werden. Über Einzelheiten der Verträge und über den Preis, den das ZL für diese Tests verlangen wird, reden wir auf der Vollversammlung. Abgerechnet werden diese Untersuchungen monatlich mit der Ziffer 3798 GOÄ/EGG/BNÖ.

Kommentar überflüssig

Mitteilungen

Verfassungsbeschwerde gegen GOÄ

Nach Erlass der Gebührenordnung für Ärzte vom 12. November 1982 - GOÄ - hatte eine Reihe von Ärzten gegen diese Verordnung unmittelbar Verfassungsbeschwerde erhoben und zur Begründung hauptsächlich vorgetragen, ihre Grundrechte aus Art. 12 Abs. 1 GG auf Freiheit der Berufsausübung würden verletzt.

Das Bundesverfassungsgericht - Erster Senat - hat die Verfassungsbeschwerden zurückgewiesen und feststellt, daß der Bundesgesetzgeber nach Art. 74 Nr. 11 GG (Recht der Wirtschaft) zum Erlass ärztlicher Gebührenvorschriften im konkreten Fall zur Ermächtigung zum Erlass von Gebührenordnungen in § 11 Bundesärzteordnung - BÄO - befugt war.

Des weiteren hat das Bundesverfassungsgericht in diesem Beschuß entschieden, daß die Ermächtigung der Bundesregierung in § 11 BÄO zum Erlass einer Gebührenordnung nach Inhalt, Zweck und Ausmaß genügend bestimmt ist und damit Art. 80 Abs. 1 Satz 2 GG entspricht.

Soweit die Beschwerdeführer einzelne Bestimmungen der Verordnung angegriffen haben, hat sie das Bundesverfassungsgericht darauf verwiesen, gegebenenfalls um Rechtsschutz vor den Fachgerichten nachzusuchen, weil diese die Verordnung auch für nichtig erklären können, wenn sie nicht von der Ermächtigung gedeckt sei oder einzelne ihrer Regelungen Grundrechte der Beschwerdeführer verletzen sollten.

(Beschuß vom 12. Dezember 1984 - 1 BvR 1249/83 u.a. -).

36 BDL Lab.med. 9: BDL 36 (1985)

Röteln-Impfung in der Schwangerschaft

Stellungnahme des wissenschaftlichen Beirates der Bundesärztekammer

Die Schutzimpfung gegen Röteln wird mit einem Impfstoff aus vermehrungsfähigen, abgeschwächten Viren vorgenommen; in der Bundesrepublik Deutschland sind Impfstoffe zugelassen, die entweder die Rötelnvirusstämme Cendehill, HPV-77 oder RA 27/3 enthalten. Da die Rötelnimpfung eine Lebendimpfung ist, wurde seit ihrer Einführung ein - allerdings nur theoretisches - Risiko der Fruchtschädigung unterstellt, wenn Schwangere versehentlich gegen Röteln geimpft werden. Seit vielen Jahren gilt daher das Vorliegen einer Gravidität als Kontraindikation für diese Impfung. Diese Regel darf jedoch nicht dahingehend interpretiert werden, daß eine versehentliche Rötelnimpfung in der Schwangerschaft eine automatische Indikation zu deren Abbruch darstellt.

Anlaß für eine Stellungnahme des Wissenschaftlichen Beirates zu dieser Frage ist ein Urteil des Oberlandesgerichtes in Oldenburg vom 16. September 1983, in dem ein Arzt, der eine Schwangere gegen Röteln geimpft hatte, zur Zahlung eines Schmerzensgeldes verurteilt wurde. Die Schwangerschaft der Geimpften war abgebrochen worden, nachdem ein anderer Arzt bescheinigt hatte, daß wegen der Gefahr einer Schädigung des ungeborenen Kindes durch die Rötelnimpfung die Voraussetzung für einen Schwangerschaftsabbruch vorläge.

Diese Auffassung - und damit die Urteilsbegründung - entspricht nicht dem heutigen Wissensstand.

Die Centers for Disease Control der USA haben kürzlich die nachfolgenden Ergebnisse 12jähriger Untersuchungen (1971 bis 1983) an Neugeborenen von Müttern veröffentlicht (1, 2), die zwischen drei Monaten vor und drei Monaten nach dem mutmaßlichen Termin der Empfängnis mit Rötelnimpfstoffen (Virusstämme Cendehill, HPV-77 oder RA 27/3) geimpft wurden:

- Von 956 in der Studie erfaßten Frauen trugen 749 ihre Schwangerschaft aus. Bei keinem ihrer Kinder ließen sich bei der Geburt und späteren Nachuntersuchungen das verimpfte Rötelnvirus bedingte Schäden nachweisen.

- Der Immunstatus der Frauen zum Zeitpunkt der Impfung war ohne Einfluß auf den Gesundheitszustand der von ihnen geborenen Kinder. Alle Frauen, die prävakzinal keine Antikörper aufwiesen und daher für eine Rötelninfektion empfänglich waren, brachten Kinder ohne röteln-spezifische Schäden zur Welt.

Dies galt auch für diejenigen Mütter, die eine Woche vor bis vier Wochen nach der Empfängnis geimpft worden waren, in dem Zeitraum mit dem höchsten Risiko einer Virämie und fötaler Defekte (3, 4).

- Auch Kinder, die die serologischen Zeichen einer pränatalen Rötelninfektion durch das die Placentarschranke passierende Impfvirus aufwiesen (1 bis 2 Prozent), waren bei mehrjährigen postnatalen Kontrolluntersuchungen frei von röteln-spezifischen Schäden (1, 5).

- Nur wenige (ca. 2 Prozent) der nicht ausgetragenen Schwangerschaften endeten durch Totgeburt oder Spon-tanabort, ohne daß ein ursächlicher Zusammenhang mit der Rötelnimpfung nachgewiesen werden konnte.

- Nach diesen Untersuchungsergebnissen ist das praktische (beobachtete) Risiko einer röteln-spezifischen

Sie lesen weiter auf Seite BDL 37

Kongress für Laboratoriumsmedizin

Hamburg, 27. April — 2. Mai 1985
CONGRESS CENTRUM HAMBURG

Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin e.V.
Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin e.V.
Österreichische Gesellschaft für Klinische Chemie e.V.
Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V.
Institut für Standardisierung und Dokumentation im Medizinischen Laboratorium e.V. (INSTAND e.V.)

Wissenschaftliches Programm

Samstag, 27. April 1985

8.30 - 9.00 **Kurs I: Hätomorphologie — Hämatologisches Praktikum für MTLA und Ärzte**
Vorsitz: R. NETH, Hamburg
H. GUNDLACH, Oberkochem
Diagnostische Wertigkeit morphologischer Charakteristika von Blutzellfunktionen
Das Lichtmikroskop in der ärztlichen Praxis

10.00 - 11.30 **Praktikum**

Saal 6
Hämatologischer Mikroskopierkurs:
1. Schnelldiff und Automatenanalyse
2. Beurteilung pathologischer Differentialblutbilder unter Mitwirkung der MTA Frau AUST, MTA Frau BIALOJAN, MTA Frau HARMS, MTA Frau MECKLENBURG
Maximale Teilnehmerzahl: 50

SYMPOSIUM über Qualitätssicherung im medizinischen Laboratorium

Veranstalter: Institut für Standardisierung und Dokumentation im Medizinischen Laboratorium e.V. (INSTAND) und Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung e.V. (ÖQUASTA)

Saal 6
Vorsitz:
Prof. Dr. med. E. KAISER, Wien
Prof. Dr. med. H. REINAUER, Düsseldorf

13.00 Uhr **Einleitung**
Prof. Dr. med. E. KAISER, Wien

13.15 - 14.00 **Die neue Eichordnung**
Prof. Dr. rer. nat. R. NINK, Berlin
Reg.-Dir. Dr. J. ROESNER, BMWI, Bonn

14.00 - 14.30 **Qualitätssicherung klinisch-chemischer Befunde aufgrund der ärztlichen Erfordernisse**
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. D. STAMM, München

14.30 - 14.45 **Qualitätssicherung klinisch-chemischer Analysen: Probenbeschaffenheit für die interne und externe Qualitätskontrolle**
Prof. Dr. med. M. M. MÜLLER, Wien

14.45 - 15.30 **Diskussion**

15.30 - 16.00 **Pause**

16.00 - 16.15 **Standardisierung der Romanowsky-Giemsafärbung**
Prof. Dr. med. D. WITTEKIND, Freiburg

16.15 - 16.30 **Qualitätssicherung der Hätomorphologie**
Dr. med. K.-G. von BOROVCZENY, Berlin

16.30 - 16.45 **Qualitätssicherung in der Hämostaseologie**
Prof. Dr. med. H. BEESER, Freiburg

16.45 - 17.00 **Qualitätssicherung in der Bakteriologie**
Prof. Dr. med. F. BURKHARDT, Erlangen

17.00 - 17.15 **Qualitätssicherung in der Virologie**
Dr. med. U. P. MERTEN, Köln

17.15 - 17.30 **Qualitätssicherung in der Harnanalytik**
Prof. Dr. W. APPEL, Karlsruhe

17.30 - 18.00 **Diskussion**

18.00 **Schlußbemerkung**
Prof. Dr. med. H. REINAUER, Düsseldorf

20.00 **Buffet**

Sonntag, 28. April 1985

15.00 - 16.00 **Begrüßung der Ehrengäste und der Kongreßteilnehmer**
Saal 4
Prof. Dr. med. H. REINAUER, Kongreßpräsident
Begrüßungsworte des Präses des Senats der Freien und Hansestadt Hamburg
Erster Bürgermeister
Dr. Klaus VON DOHNÁNYI
Begrüßungsworte des Sprechers des Fachbereichs Medizin der Universität Hamburg
Prof. Dr. med. K. H. HÖLZER
Begrüßungsworte des Präsidenten der Landesärztekammer Hamburg
Dr. med. G. KRAUEL
Begrüßungsworte des Vizepräsidenten und Vorsitzenden des Organisationskomitees
Dr. med. O. FENNER
Pause

16.00 **Festvortrag**
Saal 4
Prof. Dr. med. H. SCHADEWALDT
Direktor des Instituts für Geschichte der Medizin der Universität Düsseldorf
„Felix-Hoppe-Seyler“

16.45 1. Verleihung des Hoppe-Seyler-Preises
der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriums-
medizin
Laudatio des Preisträgers
Vortrag des Preisträgers

17.15 **Festvortrag**
Prof. Dr. med. R. LAUFS
Direktor des Instituts für med. Mikrobiologie und
Immunologie der Universität Hamburg:
„Zur Bedeutung der Gentechnologie
in der Medizin“

18.00 Eröffnung der Industrieausstellung
Saal 3 Get-Together-Party

Montag, 29. April 1985

9.00 - 10.00 **Plenarsitzung**
Saal 4 **Vorsitz:** R. LAUFS, Hamburg
L. THOMAS, Frankfurt

G. RIETHMÜLLER, München: Zelluläre Immunität
Pause

10.30 - 12.30 **Symposium 1**
Immunpathologie - Autoimmunerkrankungen
Vorsitz: H. LOMMEL, Leverkusen
H. P. SEELIG, Karlsruhe

U. FEDERLIN, U. HELMKE, Gießen:
Autoantikörperphänomene bei Endokrino-
pathien
W. STÖCKER, M. OTTE, P.C. SCRIBA:
Autoantikörperprofile bei Morbus Crohn und
Colitis ulcerosa

H. P. GEISEN, Schwäbisch Hall:
Autoimmunphänomene bei hämatologischen
Erkrankungen

H. P. SEELIG:
Zellkernantikörper: Antikörperspezifitäten und
deren klinische Relevanz

H. G. THIELE, Hamburg:
Lymphozyten-Subpopulationen bei Autoimmun-
erkrankungen

9.00 - 16.00 **Kurs II:**
Saal 12 HLA-ABC mit praktischen Übungen
Vorsitz: H. H. Hoppe, Hamburg
V. Müller, Hamburg

10.30 - 12.30 **Symposium 2**
Neue Kenntnisse zur Methodik und klinischen
Wertigkeit der sauren Prostataphosphatase
(PAP)

Vorsitz: H. W. BAUER, Berlin
D. PAAR, Essen

H. SCHMIDT-GAYK, Heidelberg:
Welche Vorteile bietet die immunchemische
Bestimmungsmethode gegenüber enzymati-
schen Bestimmungsmethoden?

W. RAUTENBERG, Darmstadt:
Methodische Vorteile des immunologischen Ver-
fahrens der PAP-Analyse

H. W. BAUER, Berlin:
Was leistet die immunchemische Bestimmung
beim Prostatakarzinom?

A. von DALEN, Gouda:
Welche klinische Wertigkeit besitzt die immun-
chemische Bestimmung der sauren Prostata-
phosphatase in der Verlaufskontrolle?

M. HÖRDER, Odense:
Dänisches Szenario: Erfahrungen mit der PAP in
Dänemark

Pause

14.00 - 15.00 **Plenarsitzung**
Saal 4 **Vorsitz:** H. GRETEN, Hamburg
H. KELLER, St. Gallen

G. ASSMANN, Münster: Hyperlipoproteinämien
Pause

15.30 - 17.30 **Symposium 3**
Saal 4 **Genetische Krankheitsdispositionen**
Vorsitz: W. MAYR, Wien
E. PASSARGE, Essen

E. PASSARGE, Essen:
Einführung
H. W. RÜDIGER, Hamburg:
Untersuchungen in-vitro zur genetischen Dis-
position von Tumoren

W. MAYR, Wien:
HLA-System und Krankheit
K. SPERLING, Berlin:
Molekulare Genomanalyse und genetische
Diagnostik

15.30 - 17.30 **Symposium 4a**
Saal 6 **AIDS-Diagnostik**
Vorsitz: K. O. HABERMEHL, Berlin
E. KUWERT, Essen

K. O. HABERMEHL, Berlin:
Serodiagnostik der HTLV 3-Infektion und Durch-
führung von Bestätigungstests

R. KURTH, Frankfurt/M.:
Prüfung und Zulassung von Tests auf
HTLV 3-Antikörper

L. GÜRTLER, München:
HTLV 3-Antikörper bei Spendern von Blut oder
Blutprodukten

17.30 - 18.30 **Symposium 4b**
Saal 6 **Hepatitis-Diagnostik und Transaminasen**
Vorsitz: M. ECKART, Offenbach
L. THOMAS, Frankfurt

Pause

17.45 - 18.30 **Postersitzung**
Saal 7 und 8 **Vorsitz:**
P. NAUMANN, Düsseldorf:
Mikrobiologie (P1-P7)
D. PAAR, Essen:
Hämostaseologie/Immunhämatologie (P8-P13)
J.-G. RAUSCH-STROOMANN, Lemgo:
Hormone, Tumormarker (P15-P20)
H. WISSER, Stuttgart:
Enzymanalytik/Proteine (P21-P28)

Dienstag, 30. April 1985

9.00 - 10.00 **Plenarsitzung**
Saal 4 **Vorsitz:** F. GABL, Wien
K. HAUSMANN, Hamburg

R. KUSE, Hamburg:
Morphologische und zytotechnische Differen-
zierung der Leukämie

P. BETTELHEIM, Wien:
Immunologische Differenzierung der Leukämie

Pause

10.30 - 12.30 **Symposium 5**
Saal 4 **Laboratoriumsdiagnostik in Exsudaten, Trans-
sudaten und Synovia**
Vorsitz: O. FENNER, Hamburg
F. SCHILLING, Mainz

F. SCHILLING, Mainz:
Einführung
P. M. BAYER, Wien:
Biochemische Differentialdiagnose von Pleu-
raergüssen

- H. KELCH, Wien:
Analyse von Pleura- und Perikardergüssen
- K. SINTERHAUF, Gießen:
Analyse von Peritonealergüssen
- H. ZEIDLER, Düsseldorf:
Pathophysiologie der Synovia
- F. SCHILLING, Mainz:
Synovia-Analyse in der Laborpraxis
- 9.00 - 16.00
Saal 12 **Kurs III:**
HLA-DR mit praktischen Übungen
Vorsitz: H. H. HOPPE, Hamburg
V. MÜLLER, Hamburg
- 10.30 - 12.30
Saal 6 **Symposium 6**
Eisenstoffwechsel
Vorsitz: B. DEUS, Bad Homburg
P. M. BAYER, Wien
- R. NETH, Hamburg:
Diagnose Eisenmangel: Möglichkeiten und Grenzen in der Praxis
- A. FATEH-MOGHADAM, M. WICK, M. HUBER:
Ferritin im Serum - Erfahrungen mit einer enzymimmunologischen Methode
- A. FATEH-MOGHADAM, M. WICK, M. HUBER, K. EINHÄUPTL:
Bedeutung der Ferritin-Bestimmung in Liquor cerebrospinalis
- Pause
- 14.00 - 15.00
Saal 4 **Plenarsitzung**
Vorsitz: J. BOCKEMÜHL, Hamburg
H. LACKNER, Wien
- F. MÜLLER, Hamburg:
Neue Aspekte der Laboratoriumsdiagnose genitaler Kontaktinfektionen
- 15.30 - 17.30
Saal 4 **Symposium 7**
Neue Aspekte der Laboratoriumsdiagnose der Schwangerschaftsvorsorge und Perinatalperiode
Vorsitz: K. FISCHER, Hamburg
K. KAISER, Wien
- O. THALHAMMER, A. POLLAK, Wien:
Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselferomalien
- P. KRIEGLSTEINER, A. LOHNINGER, H. SALZER, E. KAISER, Wien/München:
Klin.-chem. Methoden zur Bestimmung der Lungenreife im Fruchtwasser als Basis einer RDS-Prophylaxe
- A. POSCHMANN, K. FISCHER, Hamburg:
Labordiagnostik bei hämolytischen Neugeborenenkrankungen
- 15.30 - 17.30
Saal 6 **Symposium 8**
Glykosylierte Hämoglobine
Vorsitz: W. APPEL, Karlsruhe
M. M. MÜLLER, Wien
- H. SAUER, Bad Oeynhausen:
HbA_{1c} als Therapiekontrolle bei Diabetes mellitus
- T. KAIN, Berlin
Eliminierung der labilen Aldiminform in der Mikrosäulenanalytik
- A. Krishna MALLIA, Rockford, USA:
Quantitative determination of glycosylated hemoglobin by affinity chromatography
- G. SCHMID, R. VORMBROCH, Darmstadt:
Glykosylierte Hämoglobine: Ionenaustausch und Affinitätschromatographie im Vergleich
- H. HAMPEL, H. REINAUER, Düsseldorf:
Methodenvergleiche der Mikrosäulenverfahren zur Analyse der glykosylierten Hämoglobine
- S. HUMFELD, F. SUSANTO, H. REINAUER, Düsseldorf:
HPLC, isoelektrische Focussierung und Mikrosäulenteknik zur Analyse der glykosylierten Hämoglobine
- H. REINAUER, Düsseldorf:
Externe Qualitätskontrolle der Analysen von glykosylierten Hämoglobinen
- Pause
- 17.45 - 19.00
Saal 6 **Symposium 9**
Chlamydia-Erkrankungen - Klinik/Diagnose/Therapie
Vorsitz: H. BLENK, Koblenz
G. KLEIN, Hamburg
- H. HOFMANN, Heidelberg:
Dermatologie und Chlamydienerkrankungen
- U. BHOYME, Tübingen:
Gynäkologie und Chlamydienerkrankungen
- A. BAUMÜLLER, Lübeck:
Urologie und Chlamydienerkrankungen
- 17.45 - 18.30
Saal 7 und 8 **Postersitzung**
Vorsitz: K. BAUER, Wien:
Hämatologie (P29-P35)
H. J. GIBITZ, Innsbruck:
TDM I (P36-P42)
A. GRESSNER, Marburg:
Perinatalperiode (P50-P56)
J. D. KRUSE-JARRES, Stuttgart:
Pankreas/Spurenelemente (P57-P61)
- Mittwoch, 1. Mai 1985**
- 9.00 - 10.00
Saal 4 **Plenarsitzung**
Vorsitz: W. JANSSEN, Hamburg
W. MÜLLER-BEIBENHIRTZ, Stuttgart
- K. PFLEGER, Homburg/Saar:
Probleme und analytische Möglichkeiten der klinischen Toxikologie
- Pause
- 10.30 - 12.50
Saal 4 **Symposium 10**
Drug-Monitoring und klinische Toxikologie
Vorsitz: K. BORNER, Berlin
R. SOMMER, Linz
- H. RAMEIS, Wien:
Zur Pharmakokinetik von Antiepileptika - Grundlagen für das Drug-Monitoring
- S. VOZEH, Basel:
Individualisierte Therapie mit Phenytoin
- M. OELLERICH, Hannover:
Bestimmung von Pharmaka im Speichel und Serumwasser
- H. J. GIBITZ, I. SCHMIDT, Salzburg:
Toxicological Drug-Monitoring
- H. LODE, Berlin:
Therapeutic Drug-Monitoring (TDM) von Antibiotika
- H. ROSIN, Düsseldorf:
TDM von Antibiotika bei Infektionen des Zentralnervensystems
- F. KELLER, Berlin:
TDM von Antibiotika bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz
- R. ROOS, München:
TDM von Antibiotika in der Kinderheilkunde
- 10.30 - 12.30
Saal 6 **Symposium 11**
AIDS-Diagnostik
- 12.45 - 13.30
Saal 7 und 8 **Postersitzung**
Vorsitz: T. O. KLEINE, Marburg:
TDM II (P43-P49)

O. MÜLLER-PLATHE, Hamburg:
Rezeptoren/Zytologie (P62-P68)
W. HAUCK, Karlsruhe:
Immunglobuline (P69-P77)
Chr. TRENDELENBURG, Stuttgart:
Methoden/Varia (P78-P88)

Donnerstag, 2. Mai 1985

9.00 - 13.00 **Symposium 12**
Ort: Tropenmedizin mit Besichtigung des
Tropeninstituts
Tropeninstituts
Vorsitz: E. MANNWEILER, Hamburg
H. H. SCHUMACHER, Hamburg
M. DIETRICH, Hamburg:
Pathogenetische Mechanismen der Malaria
J. KNOBLOCH, Hamburg:
Immundiagnostik von Protozoen-Infektionen unter besonderer Berücksichtigung der Malaria
D. W. BÜTTNER, Hamburg:
Pathogenetische Mechanismen der Onchozerkose
H. FELDMEIER, Hamburg:
Immundiagnostik von Helminthen-Infektionen
H. SCHMITZ, Hamburg:
Schneldiagnostik tropischer Viruskrankheiten
F. W. TISCHENDORF, Hamburg:
Tropenmedizinisch wichtige Hämoglobino-
pathien und Enzymdefekte
Rundtischgespräch:
1. Durchfälle bei Tropenrückkehrern
2. Eosinophile und Eosinophilie
Anschließend Besichtigung des Tropeninstituts

9.00 - 11.00 **Symposium 13**
Saal 4 Teil- und vollmechanisierte enzymimmunologi-
sche Analytik
Vorsitz: R. HAECKEL, Bremen
W. VOGT, München
H. KESSLER, Mannheim:
Ergebnisse der externen Erprobung von
Enzym-Test CEA
R. SCHMIDT, Mannheim:
Mehrmonatige Erfahrungen mit einem teil-
mechanisierten Gerät zur Durchführung von En-
zymimmunoassays
R. SCHMIDT, Mannheim:
Eigenschaften eines vollmechanisierten Gerä-
tes zur Durchführung von Enzymimmunoassays

11.00 - 13.00 **Symposium 14**
Saal 4 Agar-Dilutionstest
Vorsitz: R. RINGELMANN, Karlsruhe
A. LAPIN, Wien
R. RINGELMANN, Karlsruhe:
Antibiogramm: Chemotypisierung oder
Therapiesteuerung
A. SOHNS, B. STEGMÜLLER-HEYM:
Erfahrungen bei der Resistenzbestimmung
mittels Agar-Dilutionsprinzip und
Multipoint-Inokulator
R. RINGELMANN, B. STEGMÜLLER-HEYM:
Vergleiche der Resistenztestung mittels Röhr-
chenverdünnungsmethode und Agardilution:
Festlegung von Breakpoints
A. KIROV, H. J. JUNG:
Plättchendiffusionstest, Röhrchenverdünnung
und Agardilution: Zeitbedarf und Kostenschät-
zung für Reagenzien und Arbeitszeit
A. SOHNS, U. BATSCHAUER:
Keimdifferenzierung mit Multipointinokulator
und EDV-gestützter Interpretation

11.00 - 13.00 **Symposium 15**
Saal 8 Pankreasdiagnostik/Normalwerte
Vorsitz: H. J. DULCE, Berlin
G. H.-K. DÜRR, Stuttgart
G. H.-K. DÜRR, Stuttgart:
Diagnose der exokrinen Pankreasfunktion
D. MARKOWETZ, Mannheim:
Wie werden Normalwerte bestimmt?

8.30 - 13.00 **Kurs IV**
Saal 6 Hämatomorphologie
Vorsitz: R. NETH, Hamburg
P. BETTELHEIM, Wien
R. NETH, Hamburg:
Differentialdiagnose der Anämien, Automaten-
analyse und Differentialblutbild

9.00 P. BETTELHEIM, Wien:
Lymphozytentypisierung, panoptische Färbung,
Immunsignale

9.30 J. SCHUBERT, Bremerhaven:
Reaktive und proliferative Veränderungen der
Granulopoese

10.30 - 12.30 Hämatologischer Mikroskopierkurs mit
praktischen Übungen für MTLA und inter-
essierte Ärzte:
Reaktive und proliferative Veränderungen der
Hämopoese im Differentialblutbild
a) Erythropoese
b) Lymphopoese
c) Granulopoese
unter Anleitung der MTA Frau AUST, MTA Frau
BEHREND, MTA Frau KRAUSE,
MTA Frau SOLTAU

14.00 - 15.00 **Plenarsitzung**
Saal 4 **Vorsitz:** K. D. VOIGT, Hamburg
H. REINAUER, Düsseldorf
H. BOJAR, Düsseldorf:
Rezeptorenanalytik in der Onkologie
Pause

15.30 - 17.30 **Symposium 16**
Saal 4 Rezeptorenanalytik in der Endokrinologie
Vorsitz: K. D. VOIGT, Hamburg
W. STAIB, Düsseldorf
R. GHRAF, Essen:
Funktionelle Aspekte der Biochemie von
Steroidhormonrezeptoren
W. JONAT, Bremen:
Die klinische Bedeutung der Hormonrezeptor-
bestimmung für das Mammakarzinom
W. BARTSCH, A. LÄMMEL, Hamburg:
Bestimmung von Steroidrezeptoren in Prostata-
karzinomen, Möglichkeiten und Grenzen

15.00 - 17.00 **Symposium 17**
Saal 8 H. LENNARTZ, Hamburg:
Moderner Stand serologischer Virusdiagnostik

14.00 - 17.00 **Kurs V**
Saal 6 Differentialzytologie in der Praxis
— Klinische Wertigkeit, Leistungsgrenzen,
zukünftige Entwicklung, Demonstration von
Präparaten
Vorsitz: C. PAPE, Hamburg

Pause

18.00 - 18.30 **Abschlussitzung**
Saal 4 **Vorsitz:** O. FENNER, Hamburg
H. REINAUER, Düsseldorf

Fruchtschädigung durch das Impfvirus gleich Null. Dem steht das hohe Mißbildungsrisiko (ca. 20 Prozent) bei spontaner Rötelninfektion während des ersten Trimesters der Schwangerschaft gegenüber (5).

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit deutschen Erfahrungen (6). Sie geben Anlaß für die folgende, mit internationalen Empfehlungen (7) übereinstimmende Stellungnahme:

1. Das Vorliegen einer Schwangerschaft bleibt wegen des minimalen, lediglich theoretischen Risikos eine Kontraindikation für die Rötelnimpfung.
2. Das Rötelnimpfvirus kann zwar in seltenen Fällen die Frucht infizieren, eine Fruchtschädigung wurde jedoch bisher nicht beobachtet.
3. Zu den Aufgaben des Arztes gehört nicht nur der Ausschluß einer bestehenden Schwangerschaft durch ihm angemessen erscheinende Maßnahmen, sondern auch der Hinweis auf die im Anschluß an die Impfung über mindestens drei Monate erforderliche Kontrazeption.
4. Wird eine Frau versehentlich in einem Zeitraum von drei Monaten vor bis drei Monaten nach der Empfängnis gegen Röteln geimpft, so muß die Schwangerschaft nicht automatisch beendet werden, vielmehr sollte der Arzt die Schwangere unter Hinweis auf die vorliegenden Erfahrungen über das praktisch zu vernachlässigende Risiko einer Fruchtschädigung aufklären.

Schrifttum:

1. Centers for Disease Control: Rubella Vaccination during Pregnancy - United States 1971-1981. *Morb. a. Mort., Weekly Rep.* 31, 477-481 (1982).
2. Centers for Disease Control: Rubella Vaccination during Pregnancy 1971-1983. *Morb. a. Mort., Weekly Rep.* 33, 365-373 (1984).
3. O'SHEA, S., PARSONS, G., BEST, J. M., BANATVALA, J. E., BALFOUR, H. H. jr.: How well do low levels of rubella antibodies protect? *Lancet* II, 1284 (1981).
4. BALFOUR, H. H. jr., GROTH, K. E., EDELMAN, C. K., AMREN, D. P., BEST, J. M., BANATVALA, J. E.: Rubella viraemia and antibody responses after rubella vaccination and reimmunization. *Lancet* I, 1078-1080 (1981).
5. PREBLUD, S. R., STETLER, H. C., FRANK, J. A., GREAVES, W. L., HINMAN, A. R., HERMANN, K. L.: Fetal risk associated with rubella vaccine. *J. A. M. A.* 246, 1413-1417 (1981).
6. ENDERS, G.: Akzidentelle Rötelnimpfung in der Schwangerschaft. *Dtsch. med. Wschr.* 109, 1806-1809 (1984).
7. Immunization Advisory Committee (ACIP): Rubella prevention. *Morb. a. Mort., Weekly Rep.* 33, 301-310, 315-318 (1984).

Mitglieder der Kommission:

Prof. Dr. K.-D. Bachmann, Direktor der Universitäts-Kinderklinik Münster

Prof. Dr. F. Deinhardt, Direktor des Max-von-Pettenkofer-Instituts München, Präsident der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten

Prof. Dr. G. Döring, Chefarzt der Gynäkologisch-Geburtshilflichen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Harlaching

Prof. Dr. H.-J. Eggers, Direktor des Instituts für Virologie der Universität zu Köln

Prof. Dr. Dr. h. c. Dipl.-Chem. R. Haas, Kempten, ehem. Direktor des Hygiene-Instituts der Universität Freiburg

Prof. Dr. Dr. E. Kuwert, Direktor des Instituts für Medizinische Virologie und Immunologie der Universität Essen

Prof. Dr. G. Maass, Direktor des Hygienisch-Bakteriologischen Landesuntersuchungsamtes „Westfalen“, Münster

Prof. Dr. H. A. Stickl, Leiter der Abteilung für Umwelthygiene und Impfwesen der Technischen Universität München

Prof. Dr. P. Stoll, ehem. Direktor der Frauenklinik, Klinikum der Stadt Mannheim

Prof. Dr. H. P. Wolff, ehem. Direktor der I. Medizinischen Universitätsklinik Mainz, Vorsitzender des Wissenschaftlichen Beirates der Bundesärztekammer

Prof. Dr. K. H. Wulf, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Würzburg

Neuer Vorstand der Kassenärztlichen Bundesvereinigung

Die Vertreterversammlung der Kassenärztlichen Bundesvereinigung hat in ihrer konstituierenden Sitzung am 2. März 1985 den Vorsitzenden der Kassenärztlichen Vereinigung Nord-Württemberg, Professor Dr. Siegfried Häußler (68) für 4 Jahre zum Ersten Vorsitzenden der KBV gewählt. Er löst damit Dr. Hans Wolf Muschallik ab, der 16 Jahre dieses Amt inne hatte und sich nicht mehr zur Wahl stellte.

Professor Dr. S. Häußler ist Vorsitzender der Vereinigung der Hochschullehrer und Lehrbeauftragter für Allgemeinmedizin und seit 1957 Vorsitzender der KV Nord-Württemberg.

Zum Zweiten Vorsitzenden wurde Dr. Rolf Thier, Hals-Nasen-Ohrenarzt aus Düsseldorf und seit 1985 Erster Vorsitzender der KV Nordrhein, gewählt.

Zu Beisitzern wurden gewählt: Dr. Ernst-Eberhard Weinholt, Allgemeinarzt, Nordholz; Dr. Klaus Dehler, Internist, Nürnberg; Dr. Ulrich Oesingmann, Allgemeinarzt, Dortmund; San.-Rat Dr. Karl-Hans Metzner, Internist, Mainz; Dr. Klaus Voelker, Internist, Hamburg; Prof. Dr. Siegfried Borelli, Hautarzt, München.

Tollwut hat zugenommen

Fast 7000 Tiere wurden im Jahr 1984 als tollwütig diagnostiziert, das sind 5% mehr als im Vorjahr, nach dem Spitzenjahr 1976 der zweithöchste Stand. Der Anteil der Hunde, der häufigsten Infektionsquelle für den Menschen, beträgt nur 1%. Bei den Katzen, dem zweithäufigsten Ansteckungsrisiko für den Menschen, hat die Erkrankungszahl leicht zugenommen, während die Zunahme beim Rind 21% im Vergleich zum Vorjahr betrug. Eine Entwicklung, die sich durch vorbeugende Schutzimpfungen vermeiden ließe. Neben den in der Statistik auftauchenden rund 5200 an Tollwut verstorbenen Füchsen ist nach dem derzeitigen Stand des Wissens mit einer 10mal höheren tatsächlichen Erkrankungsziffer zu rechnen.

Albert-Knoll-Preis an Prof. Bühler

Der mit 10000 Mark dotierte „Albert-Knoll-Preis“ wurde am 2. März 1985 beim 29. Jahreskongreß der Saarländisch-Pfälzischen Internistengesellschaft in Saarbrücken dem Schweizer Internisten Professor Dr. Fritz R. Bühler verliehen. Schon früher hat die Arbeitsgruppe von Bühler am Kantonsspital in Basel einen engen Zusammenhang zwischen Höhe des Blutdrucks und der Höhe der intrazellulären Kalzium-Konzentration aufgezeigt. Mit der jetzt prämierten Arbeit wurde ein weiterer wesentlicher Beitrag zum Verständnis der Ursachen der erhöhten intrazellulären Kalzium-Konzentration und damit des Bluthochdrucks geleistet. An der Arbeit mit dem Titel „Colmodulin stimulation of platelet membrane calcium ATPase: blunted response in patients with established essential hypertension“ waren neben Prof. Bühler die Mitarbeiter Dr. Therese I. Resink, Basel, Dr. V. A. Tkachuk, Basel, Dr. P. Erne, Basel, beteiligt. Die Untersuchungen zeigen, daß bei Patienten mit Hochdruck im Vergleich zu Normalpersonen die Fähigkeit zur Kalziumelimination aus der Zelle eingeschränkt ist. Beim Hypertoniker besteht also eine verminderte Ansprechbarkeit der Membran-Kalzium-ATPase auf Calmodulin und damit ein verringerter Ausstrom von Kalzium aus der Zelle. Diese verminderte Kalzium-Eliminierung trägt neben einem gesteigerten Kalzium-Einstrom zu den erhöhten intrazellulären Kalzium-

Spiegeln des Hypertonikers bei. Somit findet die Wirksamkeit von Kalzium-Antagonisten bei der Hochdruckbehandlung eine Erklärung: Die Hemmung des Kalziumeinstroms in die Zelle und die Normalisierung des intrazellulären Kalziumspiegels führen zur Verringerung des Gefäßwiderstandes und davon abhängig zur Senkung des erhöhten Blutdruckes.

Zunahme der arbeitslosen Ärzte

Nach Mitteilung der Bundesanstalt für Arbeit in Nürnberg betrug die Zahl der arbeitslosen Ärzte im Bundesgebiet:

	Arbeitslose insgesamt	davon		Veränderung gegenüber dem Vorjahr in %
		Männer	Frauen	
Ende Sept. 1982	2552	1392	1160	40,5
Ende Sept. 1983	3080	1616	1464	20,7
Ende Sept. 1984	3728	1920	1808	21,0

Personalien

Prof. Dr. Herbert Werner (Bonn) hat den Ruf auf den Lehrstuhl Medizinische Mikrobiologie an der Universität Tübingen angenommen.

Dr. Jürgen Heesemann (Hamburg) hat die Lehrbefugnis für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene erhalten.

Aus der Schweiz

Die

Neue Zürcher Zeitung

brachte in ihrer Ausgabe vom 31. Januar 1985 folgende Meldung:

Tiefere Tarife für Laboranalysen

Streit um Rabatte und Rückerstattungen

Freiburg, 29. Jan. (sda) Der Schweizerische Verband der Leiter Medizinisch-Analytischer Laboratorien (FAMH) hat sich von den umstrittenen Praktiken gewisser Laboratorien distanziert, die Ärzten auf Analysepreisen Rabatte und Rückerstattungen anbieten. Für gewissenhaft arbeitende Laboratorien sei es gar nicht möglich, Rabatte anzubieten, teilte der FAMH mit. Das Bundesamt für Sozialversicherungen (BSV) verbietet denn auch jegliche Rabattgewährung. Der FAMH erklärte sich ferner bereit, im Bereich der klinischen Chemie versuchsweise tiefere Tarife zu akzeptieren.

Ende Dezember hatte das Konkordat der Schweizerischen Krankenkassen (KSK) die medizinisch-analytischen Laboratorien in einem in der „Schweizerischen Krankenkassenzeitung“ (SKZ) veröffentlichten Artikel beschuldigt, Ärzten Rabatte und Rückerstattungen anzubieten. Patienten beziehungsweise ihren Krankenkassen würden für Leistungen, die von verschiedenen medizinischen Laboratorien erbracht werden, bis zu 50 Prozent zuviel berechnet.

Laut FAMH sind es indessen immer Laborleiter von „freien“ Laboratorien, die sich solch zweifelhafter Praktiken bedienen. Einige seien sogar aus dem Berufsverband

ausgetreten, weil sie seine restriktiven Anforderungen nicht mehr erfüllen wollten. Nach Ansicht des FAMH können gewissenhaft arbeitende Laboratorien keine Rabatte anbieten. Nur einige „zentralisierte oder in den Besitz ausländischer Großkonzerne übergegangene Großlaboratorien“ seien dazu in der Lage. Für diese Laboratorien sei der Dienst am Kranken jedoch eine rein kommerzielle Angelegenheit. Der FAMH weist denn auf die Gefahr von *Zentrallaboratorien* hin. Die medizinische Versorgung der Bevölkerung benötige ein dezentralisiertes System von Regionallaboratorien.

Der FAMH erklärte sich bereit, einen Beitrag an die Eindämmung der Kostenexplosion im Gesundheitswesen zu leisten. So hat er in der *klinischen Chemie*, „dem einzigen automatisierbaren Bereich“, in den letzten zehn Jahren eine reale Herabsetzung der Analysepreise um 30 Prozent akzeptiert. Um weitere Tarifenkungen zu erreichen, sind zur Zeit Verhandlungen mit dem BSV im Gang. „Kurzfristige Sparmaßnahmen auf Kosten der Qualität“ werden vom FAMH aber abgelehnt.

Aus dem DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

Behältnisse und Zubehör für Arzneimittel

Pipettenmonturen

DIN 58378, Teil 5
Entwurf März 1985

In diesem Entwurf werden Normen für Pipetten mit Sauger und Schraubkappen (Pipettenmonturen) für Gewindeflaschen angegeben. Sie dienen dazu, schnell und einfach eine Tropfendosierung zu ermöglichen.

Stellungnahmen zum Entwurf werden erbeten an den Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Postfach 1107, 1000 Berlin 30. Einsprüche sind möglich bis 30. Juni 1985.

Buchbesprechungen

Pocket Guide to Antimicrobial Agents

Von P. E. Hermans, J. P. Anhalt und J. A. Washington II. 50 Seiten brosch. Mayo Clinic and Mayo Medical School, Rochester, Minnesota 1984. ISBN 0-910813-01-9. Korrespondenzadresse: Centrum Philadelphia, 3508 Market Street, Suite 230, Philadelphia, Pennsylvania 19104.

Das kleine Taschenbuch enthält in klarer und konziser Darstellung Angaben zu Indikation, Dosierung, Pharmakokinetik (through level, peak level, break points) und Nebenwirkungen.

Allerdings sind neuere Entwicklungen auf dem Gebiet der antimikrobiellen Therapie nicht berücksichtigt, wie beispielsweise

- die zunehmend in den Blickpunkt rückende Bedeutung spontaner und dereprimierter Beta-Laktamasenbildung, insbesondere bei Serratia, Enterobacter und Pseudomonas,
- die Methicillinresistenz bei Staphylokokken,
- die neuen Gyrasehemmer,
- Clavulansäure und
- die wachsende Bedeutung des Makroreihenverdünnungstests, der den Einsatz ausreichend großer Inokula (10^6 bis 10^8 koloniebildende Einheiten KBE) ermöglicht, um resistente Keime nicht – wie beim Mikrodilutionstest – zu übersehen.

Dessen ungeachtet ist das Büchlein ein brauchbarer Helfer am Krankenbett.
R. Seuffer

Leserzuschriften

Quo vadis Labormedizin

Zu diesem Artikel in Heft 1/1985 erreichten uns viele zustimmende, aber auch kritische Zuschriften. Eine dieser Zuschriften geben wir nachstehend wieder:

... Seit 1950 bin ich niedergelassener Arzt für Allgemeinmedizin und habe meine Praxis bis Ende 1983 betrieben. Im Zuge meiner Weiterbildung und durch ständige Fortbildung habe ich mir Kenntnisse in der Labormedizin erworben und in meiner eigenen Praxis seit 1955 ein großes Labor bis zur Gründung des hiesigen Gemeinschaftslabors geführt. Seit 1973, also jetzt 12 Jahre, bin ich ärztlicher Geschäftsführer des Medizinischen Gemeinschaftslabors Limburg-Westerwald und kann auch von dieser Seite her ein kritisches Wort anmerken.

Fast 20 Jahre war ich Vorsitzender des Vereins Nassauischer Ärzte EV, gegründet 1851, und habe hier schon seit 1960 wissenschaftliche Fortbildung auch auf dem Laborsektor für unsere Mitglieder durchgeführt, also zu einer Zeit, wo weder die Industrie noch sonst jemand sich dieser Aufgabe angenommen hat. Als Anerkennung dafür ist mir im Jahre 1976 die Ernst von Bergmann-Plakette durch die Bundesärztekammer verliehen worden.

Wir Ärzte sollten doch endlich einmal aufhören, uns gegenseitig mit Vorwürfen zu überhäufen, der eine nehme dem anderen die Existenzgrundlage weg. So lange es noch Laborärzte gibt, deren Honorar nach den Bestimmungen der Ziffer 503 des Honorarverteilungsmaßstabs in erheblichem Maße gekürzt wird, ist ein solches Wehklagen über den Verlust von zwei oder drei Parametern doch übertrieben.

Gegen die globale Verteufelung der Laborgemeinschaften muß ich mich aber energischst verwahren. Sie schreiben selbst, daß es auch unter den Laborärzten schwarze Schafe gibt, dies gilt auch im gleichen Maße für manche Gemeinschaftslabors. Dies gibt Ihnen aber nicht das Recht, alle in einen Topf zu werfen.

Unsere Laborgemeinschaft hat sich von Anfang an auf ein bestimmtes Programm beschränkt und wird dies auch in Zukunft so halten. Wir können deshalb davon ausgehen, daß uns mit den Laborärzten unseres Einzugsgebietes eine gute kollegiale Zusammenarbeit verbindet.

Ihre Behauptung, daß der Laborarzt gleichschnell ein Analysenergebnis erstellen und übermitteln kann, ist einfach falsch. Die nächsten Laborärzte unseres Einzugsgebietes sitzen in Wiesbaden, Frankfurt, Koblenz oder Gießen (durchschnittliche Entfernung 70 km). Der Probenversand als auch die Ergebnisübermittlung gehen nur auf dem Postwege, dies bedeutet im Schnitt 7 Tage, bis das Ergebnis vorliegt.

Ihre Behauptung, die in den Laborgemeinschaften erbrachten Leistungen zeigten eine deutlich ansteigende Tendenz, ist unsererseits jederzeit widerlegbar. Aufgrund unserer seit Beginn unserer Arbeit geführten Laborstatistik kann ich Ihnen beweisen, daß der Durchschnitt der Parameter pro Auftrag bei 3,4 bis 3,5 – also weit unter den von der KVB ermittelten Durchschnittswerten – liegt.

Ihre Behauptung, daß durch Selbstüberweisung an die Laborgemeinschaft die Kollegen sich ohne eigenes Zutun ein erhebliches Honorar zuweisen ließen, ist geradezu absurd. Es dürfte ja auch Ihnen bekannt sein, daß das Gemeinschaftslabor letztlich nur eine Verlagerung eines

Teiles der Diagnostik ist, den der Kollege früher in der eigenen Praxis gemacht hat und daß er für diese Verlagerung seiner Tätigkeit genauso bezahlen muß, wie er das Personal in seiner eigenen Praxis honorieren muß. Die Untersuchung selbst hat er weder in der eigenen Praxis noch im Gemeinschaftslabor selbst erbracht, sondern sie durch das qualifizierte Hilfspersonal erstellen lassen. Anders ist es wohl auch bei den Laborärzten nicht üblich.

Unter diesem Gesichtspunkt würden auch die Laborärzte ihr Honorar ohne eigenes Zutun erhalten.

Im übrigen darf ich Ihnen versichern, daß alle unsere Mitglieder sich einer laufenden Fort- und Weiterbildung unterziehen und daß wir neue Methoden, wie beispielsweise die von Ihnen angeführten T3, T4 und TBK-Untersuchungen erst dann in unser Programm aufgenommen haben, wenn durch praktische Übungen und Kurse jeder Kollege sich die entsprechenden Kenntnisse erworben hat, die er im übrigen der KV durch ein Zertifikat nachweisen muß.

Durch meine persönliche Anwesenheit über den ganzen Tag wird mit Hilfe eines hochqualifizierten Hilfspersonals die Gewähr für die Präzision und Richtigkeit der Analytik gewährleistet, genau wie in jeder laborärztlichen Praxis auch.

Abschließend darf ich daher noch einmal feststellen: Die in Ihrem Referat aufgestellten Behauptungen und Diffamierungen der Gemeinschaftslaboratorien und der ihnen angeschlossenen Gesellschafter geht in Ihrer Verallgemeinerung weit über das zulässige Maß hinaus und bedeutet eine Herabsetzung der in diesen Institutionen geleisteten qualifizierten Arbeit. Eine solche Unterstellung können wir nicht unbesehen hinnehmen. Es sollte vielmehr unser aller Betreiben sein, hier einen gemeinsamen Weg der kollegialen Zusammenarbeit zu finden. Wir haben und werden uns nie als Konkurrenten der Laborärzte betrachten.

Dr. med. Böhler
Geschäftsführer Medizinisches Gemeinschaftslabor der Niedergelassenen Ärzte Limburg-Westerwald

Erwiderung zu vorstehendem Leserbrief:

...Ihre von Ihnen geschilderte Fort- und Weiterbildung und langjährige Tätigkeit als ärztlicher Geschäftsführer eines Medizinischen Gemeinschaftslabors zeigt, daß Sie sich auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin Kenntnisse erworben haben, die weit über denen des Durchschnitts der Allgemeinärzte liegen dürften. Sie schreiben, daß durch Ihre „persönliche Anwesenheit über den ganzen Tag mit Hilfe eines hochqualifizierten Hilfspersonals die Gewähr für die Präzision und Richtigkeit der Analytik gewährleistet“ wird, „genau wie in jeder laborärztlichen Praxis auch“.

Der Unterschied zur Laborarztpraxis bestünde demnach nur darin, daß sich – wie Sie schreiben – Ihre Laborgemeinschaft „von Anfang an auf ein bestimmtes Programm beschränkt“ hat und „dies auch in Zukunft so halten“ wird.

Die Durchführung einer Untersuchung beim Laborarzt unterscheidet sich von der Durchführung der gleichen Untersuchung im Gemeinschaftslabor jedoch dadurch, daß der Veranlasser der Untersuchung im Gemeinschafts-

labor diese Leistung selbst (d.h. als eigen erbracht) abrechnen kann und sich damit ein Honorar zukommen läßt (natürlich abzüglich der Unkosten).

Daß der Anreiz zur „Selbstüberweisung“ durch eine falsch gestaltete Gebührenordnung gegeben wird, ist bedauerlich. Da aber die Vergütung für eine eingehende Erstuntersuchung einschließlich der Anamneseerhebung bei weitem nicht die Entlohnung eines Handwerkers erreicht, ist das Erschließen von Einnahmequellen, die keinen zeitlichen Aufwand erfordern, verständlich. Verständlich ist auch, daß versucht wird, diese Einnahmequelle durch die Aufnahme neuer Parameter in die Laborgemeinschaften zu erweitern.

Sie selbst haben, im Gegensatz zu Ihrer im vorstehenden Brief gemachten Angabe, daß Sie sich „auch in Zukunft ... auf ein bestimmtes Programm“ beschränken werden, angesichts des möglichen Rückgangs von Untersuchungen in Laborgemeinschaften durch Einführung der sog. „Trockenchemie“, eine Verlagerung des Programms auf andere Parameter für notwendig gehalten. Sie dachten dabei „an die Ausweitung der Serumkonzentrationsbestimmungen, Bestimmung der Medikamente und vieles andere“. Sie sagten, daß dem Laborarzt „noch ein weites Spektrum vorbehalten“ bleibt und daß nach Ihrer „Auffassung Bakteriologie und Serologie nicht in das Programm eines Gemeinschaftslabors gehören sollten“ (Arzt und Wirtschaft 24/84, S. 23-27). Darf ich fragen, zu welchem Gebiet Sie dann z. B. die auf der Anforderungskarte des Medizinischen Gemeinschaftslabors Limburg-Westerwald aufgeführte „GO-Kultur“ rechnen?

Es geht den Laborärzten nicht um „den Verlust von zwei oder drei Parametern“, sondern um die Tendenz der Ausweitung des Programms der Laborgemeinschaften, die sich in Ihren oben angeführten Äußerungen zeigt und die deutlich wird in dem von dem Geschäftsführer einer Laborgemeinschaft gestellten Antrag auf der Vertreterversammlung seiner KV, sämtliche Leistungen nach der Nr. 3798 in Abschnitt II der Laborrichtlinien zu übernehmen. Nur aus geschäftsordnungsmäßigen Gründen konnte der Antrag nicht zur Diskussion gestellt werden. In die Tat umgesetzt und in der Zeitschrift „Die Gruppenpraxis“ (1/85) als liberalste Handhabung der Laborrichtlinien bezeichnet, wurde die Ausweitung (auf TSH, CEA, HPL, Östriol u.a.) in Südbaden.

Daß die in den Laborgemeinschaften erbrachten Leistungen eine deutlich ansteigende Tendenz zeigen, mag für die von Ihnen geführte Laborgemeinschaft nicht zutreffen. Sie liegen ja auch, wie Sie selbst sagen, weit unter dem Bundesdurchschnitt. R. Teuber konnte in seiner Dissertation (Entwicklung des Spektrums der Laborleistungen im Labor sowie in Laborgemeinschaften, 1982) bereits für die Jahre 1976 bis 1980 einen kontinuierlichen Anstieg nachweisen. Daß die Laborgemeinschaften selbst zur Mengenausweitung anregen, können Sie deren Rundschreiben entnehmen. Beispielhaft ein Zitat aus einem Rundschreiben: „Es können also wieder Schilddrüsenhormonuntersuchungen ohne Beschränkung geschickt werden. Sollte die Anzahl der Untersuchungen wieder ansteigen, werden wir den Preis noch leicht senken können.“ In diesem Fall hat die zuständige KV als Aufsichtsorgan beachtenswerterweise sofort eingegriffen.

Ihr Einwand, daß beim Laborarzt vom Tag der Einsendung bis zum Vorliegen des Ergebnisses im Schnitt 7 Tage vergehen, dürfte im allgemeinen nicht zutreffen. Auch die Teilnehmer Ihrer Laborgemeinschaft werden nicht alle in

Limburg ansässig sein (Westerwald!). So wie Sie wahrscheinlich einen Abholdienst organisiert haben, gibt es diesen heute auch bei den meisten Laborärzten. Auch auf dem Postweg dürfte das Material am folgenden Tag im Labor sein. Mit Ausnahme von seltenen, nicht eiligen Untersuchungen oder solchen, deren Bearbeitung sich über einen längeren Zeitraum erstreckt (z. B. in der Bakteriologie) dürfte das Ergebnis am gleichen Tag vorliegen und bei einem pathologischen Ergebnis oder als eilig bezeichneten Auftrag telefonisch übermittelt werden. Ich glaube nicht, daß sich hier, von Ausnahmen abgesehen, erhebliche Differenzen zu den Laborgemeinschaften ergeben.

Es sollte in meinem Artikel keine globale Verteufelung der Laborgemeinschaften betrieben werden, es sollten aber die Auswüchse, an denen zum Teil Laborärzte nicht unbeteteiligt sind, aufgezeigt werden. Es sollte auch keine Konfrontation zu anderen Ärzten betrieben werden, denn gerade auf Zusammenarbeit mit diesen sind ja die Laborärzte angewiesen. Es sollte aber die Tendenz einer großen Zahl von Laborgemeinschaften aufgezeigt werden, ihr Untersuchungsspektrum auszuweiten, was immer auf Kosten der Laborärzte geht, die keine Möglichkeit haben, auf andere Gebiete auszuweichen.

Es sollte mich freuen, wenn Ihr Gemeinschaftslabor Limburg-Westerwald zu den rühmlichen Ausnahmen gehören würde.

Dr. W. Hauck, Herrenstr. 23
7500 Karlsruhe

Verteilungs-Willkür

Erstaunen und Mißfallen erregt die Politik einer Diagnostica-Firma bei der Verteilung eines Testsystems zum Nachweis von Antikörpern gegen HTLV III (AIDS-Virus): Aufwendiger Werbe-Informationen zum Trotz werden Bestellungen aus den Reihen der niedergelassenen Laborärzte (sprich „Kleinkunden“) nicht ausgeführt oder auch nur verpröcht beantwortet. Dies erfolgt aus Rückfrage aus Gründen anfangs begrenzter Lieferfähigkeit, die dazu zwingt, Blutbanken (sprich „Großkunden“) vorrangig und exklusiv zu bedienen, da hier bereits gesetzliche Bestimmungen den Routine-Nachweis von HTLV-III-AK vorschreiben.

Übersehen wurde hier, daß

- 1) die angeführten Bestimmungen erst ab 1. 7. 85 Gültigkeit haben;
- 2) die Masse der AIDS-gefährdeten Gruppen primär beim niedergelassenen Arzt Rat und Hilfe sucht;
- 3) infolge der bevorzugten Belieferung der Blutspendendienste sich die AIDS-Gefährdeten nun mangels anderer Möglichkeiten zwecks AIDS-Screening zu Blutspenden zur Verfügung stellen werden. Anstatt somit das Risiko eines Posttransfusions-AIDS zu mindern, wird es erhöht! Ohne unterstellen zu wollen, daß der hier geübten Verteilungspraxis vorwiegend wirtschaftliche Gründe Pate gestanden haben („Wer zuerst kommt, mahlt zuerst“), sei doch der Firma anempfohlen, ihre Politik zu überdenken und ihre Produkte dort zum Einsatz kommen zu lassen, wo ihre Zielgruppe (und das sind in der Tat die durch die öffentliche Diskussion verunsicherten und geängstigten Risikogruppen) sich vorrangig einfinden soll und einfinden wird: In den Praxen der niedergelassenen Ärzteschaft.

Dr. B. Ziegler
Herrenstr. 23
7500 Karlsruhe 6

pym-bedingter Ergüsse die PMN-Elastase als Elastase-Alpha-1-Proteinaseinhibitor-Komplex. Gleichzeitig wurde die Plasma-Elastase mit erfaßt. Die Erguß-CEA-Spiegel lagen bei 86 von 114 Patienten mit Lungenkarzinomen bzw. in die Lunge metastasierenden Tumoren, bei keinem von 30 mit tuberkulöser Pleuritis und bei 2 von 58 Patienten mit Pleuritiden anderer Genese über dem Schwellenwert von 5 ng/ml. Hieraus resultieren folgende Güteindizes der diagnostischen Relevanz: Sensitivität 75,4%, Spezifität 97,7%, positiver Vorhersagewert (Prävalenz 52%) 97,3%. Diese Werte kontrastieren deutlich die CEA-Serumspiegel. Bei 2560 Patienten mit Bronchialkarzinomen fanden wir eine Sensitivität von 32% und eine Spezifität von 89%. Die CEA-Erhöhung im malignen Erguß fand sich bei den histologisch spezifizierten Typen in unterschiedlicher Ausprägung. 40 von 42 Erguß-CEA-Spiegel (= 95%) beim Adenokarzinom waren erhöht. Die Plasma-PMN-Elastase-Spiegel von 26 Patienten mit Pleuraempyem, 82 mit malignem und 19 mit tuberkulösem Erguß variierten von 33,2 bis 1325 ng/ml (Normalbereich 86,5 ± 28,5 ng/ml). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen diesen Gruppen war nicht festzustellen. Dagegen unterschieden sich die Empyem-bedingten Erguß-Elastase-Werte hochsignifikant ($P < 0,001$, Wilcoxon-Test) von den Werten der malignen und spezifischen Patientengruppe. Die Elastase differenziert demnach verlässlich zwischen Empyem-bedingten Ergüssen und solchen anderer Genese. Eine zweifelsfreie Zuordnung maligner Ergüsse ist jedoch nicht möglich.

Hochdruckflüssigkeitschromatographischer Drogen- und Medikamentennachweis in der klinischen Toxikologie

M. Erdweg, H. A. Weinand, M. Hoffmann

Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin der Städtischen Krankenanstalten Krefeld (Dir. Prof. Dr. med. H. Finger)

Drogen- und Medikamentenmißbrauch erfordern in aller Regel praktische klinische Sofortmaßnahmen. Dabei ist die exakte und schnelle Erstellung des toxikologischen Befundes die entscheidende Voraussetzung für die Einleitung der optimalen Therapie. Diese Anforderung erfüllen die Screeningteste auf Enzymimmunoassaybasis für einen großen Teil der gebräuchlichen Drogen und Medikamente. Die schnellen qualitativen Gruppenteste für Plasma und Urin erfassen neben einem breiten Spektrum an Substanzen auch deren Metabolite. Die zeitaufwendigeren quantitativen Bestimmungen, wie die HPLC-Analyse, können zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt werden. Substanzen unterschiedlicher chemischer Struktur und pharmakol. Wirkung sind zu Gruppen, die sich in einem einzigen Analysenlauf bestimmen lassen, zusammengefaßt.

Methode: Analysiert wird 1 ml Plasma. Die Extraktion erfolgt mit einem organischen Lösungsmittel, z. B. Dichlormethan. Die organ. Phase wird aufgearbeitet und in einem isokratischen Analysenlauf untersucht.

Geräte: Mikroprozessorgesteuerte Pumpe, variabler Wellenlängendetektor, Rechner mit Schreiber (Fa. Spectra Physics); Emission-Photometer (Fa. Syva-Merck).

Kasuistik: Zur Aufnahme in die Intensivpflege kommt eine Patientin mit unbekannter Tablettenintoxikation. Die sofort durchgeführte Untersuchung auf Benzodiazepine, Barbiturate und tricyclische Antidepressiva ergeben im Serum einen positiven Benzodiazepinnachweis, der durch die anschließende HPLC-Analyse mit 5,2 µg/ml Gesamtbenzodiazepine bestätigt wird.

Die von uns praktizierte Verfahrensweise hat sich bei der Aufklärung von Benzodiazepinintoxikationen bewährt.

Immundiagnostik von Helmintheninfektionen unter besonderer Berücksichtigung der Bilharziose

H. Feldmeier

Landesinstitut für Tropenmedizin, Königin-Elizabeth-Str. 32, 1000 Berlin 19

In der Bundesrepublik ist die Immundiagnostik tropischer Helmintheninfektionen von Bedeutung, wenn bei kurzer Exposition

und/oder geringgradiger Infektion die Chancen eines direkten parasitologischen Nachweises der Erreger gering sind. Der Wert der zahlreichen zur Zeit eingesetzten Verfahren wird im wesentlichen dadurch limitiert, daß menschenpathogene Nematoden, Trematoden und Cestoden zahlreiche identische Antigenstrukturen besitzen, die zu Kreuzreaktionen Anlaß geben. Die Verwendung löslicher somatischer Antigene der verschiedenen Helminthenspezies im Enzymimmuntest (ELISA) und anderen indirekten Verfahren führt jedoch häufig zu einem deutlichen Unterschied zwischen homologen und heterologen Reaktionen. Bei der Bilharziose läßt sich durch die gleichzeitige Bestimmung von Antikörpern gegen Antigen aus Zerkarien und Adulten eine Aussage über die Chronizität der Erkrankung machen. Bei dieser Erkrankung kann, wenn noch kein fibrotischer Umbau des Gewebes stattgefunden hat, durch die Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper ein Anhalt über die Intensität der Infektion gewonnen werden. Zur Evaluierung eines Therapieerfolges ist die Bestimmung zirkulierender Schistosomenantigene geeigneter als die Bestimmung von Antikörpern verschiedener Isotypen.

Wertigkeit der LAL-Reaktivitäts- und Leukozyten-Elastase-Bestimmung bei Patienten mit Morbus Crohn: Eine Longitudinalstudie

P. C. Fink¹, C. Suin de Boutemard¹, W. Wellmann², R. Haeckel¹

¹ Institut für Laboratoriumsmedizin – Zentrallabor, Zentralkrankenhaus St.-Jürgen-Straße, D-2800 Bremen 1

² Abteilung für Gastroenterologie, Medizinische Hochschule Hannover, Konstanty-Gutschow-Straße, D-3000 Hannover 61

Bei 16 Patienten mit im Dünndarm und Colon röntgenologisch, im Colon zusätzlich endoskopisch und histologisch gesichertem aktivem Morbus Crohn wurden der Schweregrad der Endotoxinämie durch die Limulus-Amöbozyten-Lysat-(LAL)-Reaktivität (1) und durch die Konzentration von Leukozyten-Elastase- α_1 -Proteinase-Inhibitor (Elastase/ α_1 -PI) (2) (100 Plasmaproben) charakterisiert. Acht Patienten (Gruppe A), die ausschließlich parenteral ernährt und mit Steroiden therapiert wurden, zeigten eine signifikant ($p < 0,01$) höhere LAL-Reaktivität und Elastase/ α_1 -PI-Konzentration in ihren Plasmaproben als 8 Patienten der Gruppe B, welche zusätzlich einer Darmspülung (18 l NaCl, 0,15 mol/l) (3) unterzogen wurden. Eine schnellere Verminderung der LAL-Reaktivität und Elastase/ α_1 -PI-Konzentration zeigte sich bei den Lavage-Patienten im Vergleich zur Gruppe A. Die durchschnittliche Liegezeit war bei Lavage-Patienten signifikant ($p < 0,02$) kürzer ($23,7 \pm 3,0$ Tage) als bei der Patientengruppe A ($38,1 \pm 3,05$ Tage). Die Ergebnisse lassen vermuten, daß die LAL-Reaktivität und Leukozyten-Elastase/ α_1 -PI-Konzentration bei longitudinaler Betrachtungsweise parallel verlaufen und die Entwicklung eines septischen Krankheitsbildes charakterisieren.

Schrifttum:

1. FINK, P. C., GRUNERT, J. H.: *Klin. Wochenschr.* 62, 986–991 (1984).
2. NEUMANN, S., JOCHUM, M.: In: *Methods of Enzymatic Analysis* (BERGMAYER, H. U., BERGMAYER, J., GRASSL, M., eds). Verlag Chemie, Weinheim 5, 184–195 (1984).
3. WELLMANN, W., FINK, P. C., SCHMIDT, F. W.: *Hepato-Gastroenterol* 31, 91–93 (1984).

Monoklonale Antikörper bei der Diagnostik von Leukämien und Immundefizienz-Erkrankungen

P. C. Fink*, U. Freitag, R. Haeckel

Institut für Laboratoriumsmedizin-Zentrallabor, Zentralkrankenhaus St.-Jürgen-Straße, Bremen

Die Zuordnung von Blasten zur lymphatischen oder myelomonozytären Zellreihe sowie die Bestimmung von Lymphozyten-Subsets bei Leukämien und Immundefizienz-Erkrankungen (ID) sind mit morphologischen und zytochemischen Methoden nicht oder nur schwer mit Sicherheit möglich (1). Bei 54 gesunden

* Unterstützt durch die Sachbeihilfe Fi 281/2-3 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Probanden, bei 19 Patienten mit klinischer Verdachtsdiagnose Leukämie sowie bei 11 Patienten mit rezidivierenden Infekten wurden periphere Blutproben einer durchflußzytochemometrischen Analyse (Technicon, Bad Vilbel) unterzogen. Darüber hinaus wurden die aus den Blutproben durch Ficollgradientenzentrifugation gewonnenen Leukozyten (2) unter Verwendung von Maus-monoklonalen Antikörpern (anti-Leu-1, -Leu-4, -Leu-9, -Leu-2a, -Leu-3a, -Leu-12, -B4; -CALLA; -Leu-M1, -My-7) fluoreszenzmikroskopisch untersucht.

Bei den gesunden Probanden mit unauffälligen H-6000 Häogrammen wurden für die Lymphozyten-Subsets folgende Referenzbereiche gefunden: T-Zellen $71 \pm 10\%$, $747 \pm 256/\mu\text{l}$; T-Suppressor-/zytotoxische Zellen $19 \pm 7\%$, $223 \pm 93/\mu\text{l}$; T-Helfer-/Induktorzellen $37 \pm 11\%$, $401 \pm 159/\mu\text{l}$, B-Zellen $13 \pm 6\%$, $173 \pm 62/\mu\text{l}$. Aufgrund der H-6000 Häogramme und der auf konventionellen Färbetechniken beruhenden morphologischen und zytochemischen Ergebnisse sowie der fluoreszenzmikroskopischen Auswertungen wurden eine B-CLL bei 13, eine Haarzellen-Leukämie mit hohem B-Zellanteil bei 1 und eine T-ALL bei 2 von 19 Patienten gefunden. Bei 3 von 19 Patienten mit einem hohen Blastenanteil ($> 54\%$) fand sich 1 Patient mit CML-BC-, „M“, bei 2 Patienten waren weder lymphatische noch myelo-monozytäre Oberflächenmarker nachweisbar. Bei 6 von 11 Patienten mit klinischer Verdachtsdiagnose ID zeigten sich T-Zell Subsetquotienten $< 0,6$. Zwei Patienten wiesen zusätzlich ein Kaposi-Sarkom auf.

Der klinische Nutzen der Kombination von Immunfluoreszenz-analytik, automatisierter Durchflußzytochemie und zytochemischer Spezialfärbungen wird diskutiert.

Schrifttum:

1. KNAPP, W.: Verh. Dtsch. Ges. Path. 67, 54-64 (1983).
2. FINK, P. C., KLAPROTH, C., PETER, H. H.: Infection 12, 322-327 (1984).

Enzymimmunologische Testmethode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Drogen und deren Metaboliten im Urin, im Serum und im Speichel

H. Gallati, H. Hager, I. Pracht, R. Wang
Hoffmann-La Roche CH-Basel und Nutley, USA

Dieser neue, hochempfindliche und spezifische Enzymimmunologische Test (EIA) zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Drogen und deren Metaboliten in physiologischen und anderen Flüssigkeiten basiert auf der Festphasentechnik und benützt die „Suppressionsmethode“. Bei dieser Methode wird eine genau dosierte Menge eines bestimmten Drogen-Peroxidasekonjugats zusammen mit der zu analysierenden Probe und den an die Oberfläche einer Polystyrolkugel ($\varnothing = 6,35 \text{ mm}$) adsorbierten Drogen-Antikörper zur Umsetzung gebracht. Mit zunehmender Drogenkonzentration in der Probe wird die immunologische Reaktion des Drogen-Peroxidasekonjugats mit den immobilisierten Antikörpern mehr und mehr gehemmt und schließlich vollständig verhindert. Nach Abtrennen des nichtgebundenen Materials durch einen Waschschriff kann durch eine einfache enzymatische Aktivitätsbestimmung die Menge der an die Kugel gebundenen Peroxidase bestimmt werden. Ist die Probe frei von der betreffenden Droge, so kann das Drogen-Peroxidasekonjugat ungehindert mit den Antikörpern auf der Kugeloberfläche reagieren, und während der enzymatischen Indikatorreaktion wird durch die katalytische Reaktion der immunologisch gebundenen Peroxidase bei Anwesenheit von H_2O_2 Tetramethylbenzidin zu einem blauen Farbstoff oxidiert.

Das Testsystem, das für Amphetamin, Barbiturat, Cocain und Oxazepam ausgearbeitet ist, soll am Beispiel des Morphin-EIA dargestellt werden: In einem Teströhrchen werden zu 0,2 ml Morphin-Peroxidasekonjugat - Testlösung 0,05 ml Probe resp. Morphin-Standardlösungen (0, 1, 6, 8, 40 und 200 $\mu\text{g/l}$ Morphin) zugemischt und zusammen mit einer Kugel, die mit Morphin-Antikörpern sensibilisiert ist, während 10 min bei 15-25°C inkubiert. Durch einen Waschschriff wird das nicht-gebundene Material abgetrennt und die an die Kugel immunologisch gebundene Menge Peroxidase durch Inkubation in Tetramethylbenzidin- H_2O_2 -Pufferlösung während 10 min bei 15-25°C enzyma-

tisch bestimmt. Durch Zumischen von einer 1 mol/l H_2O_2 -Lösung wird die peroxidatische Aktivität gestoppt und die entstandene Farbtintensität stabilisiert. Für eine quantitative Morphin-Bestimmung wird die Farbtintensität der Testlösungen photometrisch bestimmt und an Hand der mitgeführten Morphin-Standards die Morphinkonzentration berechnet. Die Nachweisgrenze für Morphin beträgt 10 ng/l. Für den Ja/Nein-Test können die Resultate von Auge abgelesen werden.

Nachweis von Chlamydia trachomatis mit monoklonalen Antikörpern: Empfindlichkeit und Spezifität

D. Gerhard-Fsadni¹, T. Krech¹, N. Hofmann², S. M. Miller³

¹ Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie

² Hautklinik und

³ Urologische Klinik der Universität Düsseldorf

Die Bedeutung von Chlamydia trachomatis als häufiger Erreger sexuell übertragbarer Krankheiten wurde in den letzten Jahren zunehmend erkannt. Durch Verbesserung der Labormethoden beruht der Nachweis nicht mehr allein auf der technisch anspruchsvollen Zellkultur. Wir prüften fluoreszenzmarkierte monoklonale Antikörper gegen artspezifisches Protein von Chlamydia trachomatis sowohl im Direktnachweis als auch in der Kultur.

Von 99 Männern und 28 Frauen der dermatologischen und urologischen Ambulanz konnten urethrale und endocervicale Abstriche (Entu-Swab, Mast, Hamburg) gewonnen werden, wovon umgehend Objektträgerausstriche zum Direktnachweis angefertigt wurden. Im Transportmedium aufbewahrt, dienten dieselben Abstrichtupfer zur späteren Inokulation von Buffalo green monkey-(BGM-)Zellen (Flow Laboratories, Meckenheim). 23 (9%) der Proben waren sowohl im Direktnachweis als auch im Kulturbestätigungstest positiv (MikroTrak®, Syva-Merck, Darmstadt), weitere 13 Proben (5,1%) wurden nur über die Anzüchtung erfaßt.

Bei insgesamt 4 Patienten ohne Chlamydieninfektion trat im Direktnachweis eine unspezifische Anfärbung von Staphylokokken auf (3 Urethral- und 1 Endocervicalabstrich), in 3 Fällen färbten sich die Staphylokokken auch im Kulturbestätigungstest (obwohl das Nährmedium 10 μg Gentamicin/ml enthielt, konnten sich die Staphylokokken intrazellulär vermehren). Das Erscheinungsbild der fluoreszierenden Staphylokokken war dem der Chlamydienpartikel in bezug auf Leuchtintensität, Größe und Form sehr ähnlich. Weitergehende Untersuchungen zeigten, daß die Anfärbung der Staphylokokken durch eine Bindung des monoklonalen Antikörpers an Protein A zustande kommt, die durch Zugabe von menschlichem Serum eines seronegativen Spenders verhindert werden kann. Die Reagenzien der Firmen Ortho Diagnostic Systems (Heidelberg) und Röhm Pharma (Darmstadt) verhielten sich analog.

Monoklonale Antikörper ermöglichen durch den Direktnachweis von Chlamydia trachomatis in klinischem Material eine schnelle Diagnose, die Empfindlichkeit der Methode ist in unseren Händen jedoch weitaus geringer als die der Zellkultur. Zudem kann die unspezifische Bindung des Antikörpers an Staphylococcus aureus beim unerfahrenen Untersucher zu falschen Ergebnissen führen.

Analytik von Steroidhormonrezeptoren und Catecholaminrezeptoren des Zentralnervensystems in der experimentellen Neuroendokrinologie

R. Ghraf, C. Hiemke

Institut für Physiologische Chemie, Universitätsklinikum Essen

Östrogenrezeptoren und Progesteronrezeptoren der Hypophyse und des Hypothalamus vermitteln bei der adulten weiblichen Ratte die längerfristigen Effekte von Östrogenen und Progesterinen auf die Gonadotropinsekretion und das Sexualverhalten, und sind so an der Steuerung der weiblichen Reproduktion beteiligt. Bei der fetoneonatalen Ratte ist ein Östrogenrezeptor-Mechanismus eingeschaltet in die Steroidhormon-induzierte sexuelle Differenzierung hypothalamisch-hypophysärer Funktionen.

Östrogenrezeptoren und Östradiol-induzierte Progesterinrezeptoren wurden in Cytosol und Zellkernextrakten der Hypophyse und des Hypothalamus bezüglich ihrer Sedimentationskoeffizienten, Bindungskinetiken und Bindungsspezifitäten charakterisiert. Eine Serie nicht-steroidaler Antiöstrogene wurde untersucht bezüglich ihrer Affinität zu den Östrogenrezeptoren, ihrer Translokationskinetik sowie in Hinsicht auf ihre Östradiol-agonistische und -antagonistische Wirkungskomponente bei der Induktion von Progesterinrezeptoren. Progesterin-insensitive Ratten mit einer hypothalamisch-bedingten anovulatorischen Sterilität wurden geprüft hinsichtlich der östrogenabhängigen Induzierbarkeit von Progesterinrezeptoren.

Die catecholaminergen Neurone der präoptisch-hypothalamischen Hirnregion vermitteln die Rückkopplungseffekte von Östrogenen und Gestagenen auf die Sekretion von Lutropin (LH). Dabei stimuliert ein Östradiol-induzierter Anstieg des Noradrenalinumsatzes die Freisetzung von Gonadoliberin (LHRH) aus peptidergen Nerventerminalen in das hypophysäre Portalblut. Permissiv beteiligt an der Östradiol/Progesteron-stimulierten Sekretion von LHRH/LH sind Adrenozeptoren vom Typ α_2 . Es wurde in der präoptisch-hypothalamischen Hirnregion weiblicher Ratten unter den Bedingungen eines Östradiol-stimulierten Noradrenalinumsatzes das Verhalten von α_2 -Adrenozeptoren untersucht. Des Weiteren wurde die in vitro Interaktion von Östrogenen und Antiöstrogenen mit Catecholaminrezeptoren des ZNS überprüft, wobei eine Interferenz der Antiöstrogene vom Triphenyläthyl-Typ mit einer Aminoäthoxy-Seitenkette mit der Bindung von Spiroperidol und Domperidon an Dopaminrezeptoren des Typs D_2 nachweisbar war.

Toxicological Drug monitoring

H. J. Gibitz, I. Schmid

Zentrallaboratorium der Landeskrankenanstalten Salzburg

Unter Toxicological Drug monitoring versteht man die Überwachung einer aktiven Eliminationstherapie (forcierte Diurese, Hämo-perfusion, Hämodialyse, Blutaustauschtransfusion, invasive Antidottherapie) bei akuten Vergiftungen mit Medikamenten durch regelmäßige Bestimmung der Blutkonzentration der zu eliminierenden Gifte. Dazu können unter anderem folgende Analysetechniken benutzt werden: Gaschromatographie, Hochdruckflüssigchromatographie, Massenspektrometrie, Spektralphotometrie, Enzym- und Radioimmunoassays. Ihre Anwendung ist im Gegensatz zu toxikologischen Screeninguntersuchungen, die in jedem Notfalllaboratorium eines Schwerpunktkrankenhauses rund um die Uhr kurzfristig verfügbar sein sollten, im allgemeinen nur toxikologischen Speziallaboratorien in rechtsmedizinischen Instituten oder staatlichen Untersuchungsanstalten vorbehalten. An Hand einiger ausgewählter Fälle soll gezeigt werden, welche Möglichkeiten für die Durchführung des Toxicological Drug monitoring im-chemischen Zentrallaboratorium eines großen Krankenhauses bestehen, wo ihre Grenzen liegen und welche Bedeutung ihnen für die Therapieüberwachung vergifteter Patienten zukommt.

Bestimmung der Lactatkonzentration im Plasma, Serum und Vollblut: Vergleich zwischen Kernspinresonanz (NMR) und enzymatischer Methode

S. Golf¹, C. Sapper¹, H. Sapper², L. Röka¹

¹ Zentrum für Klinische Chemie und Pathobiochemie am Klinikum und

² Institut für Biophysik der Justus-Liebig-Universität Gießen

Die enzymatische Bestimmung der Lactatkonzentration ist schnell und genau. Zuverlässige Ergebnisse setzen eine rasche Enteiweißung des Vollblutes am Patientenbett (1) oder Zusatz von Glykolysehemmstoffen, z. B. NaF/Oxalat (2) voraus. Gegenstand der Untersuchung war die Überprüfung der Lactatkonzentration in spontan geronnenem Blut (Serum) und in Glycolysehemmstoffe enthaltendem Plasma und Vollblut.

Verglichen wurde die Lactatbestimmung des ACA-Systems (3) mit der NMR. Die Probenröhrchen für 5 ml frisch entnommenen

Blutes enthielten entweder 0,097 mmol KF und 0,09 mmol K-Oxalat oder 0,097 mmol KF und 37,5 Einheiten Heparin. Bei der NMR wurde die CH_2 -Resonanz bei 100 mhz gemessen; N = 51.

Die mit der NMR bestimmten Lactatkonzentrationen im Serum und Plasma korrelierten gut mit den durch den ACA ermittelten Konzentrationen. NMR (x), ACA (y): $y = 1,22x - 2,27$; Korrelationskoeffizient = 0,87. Mit Hilfe der NMR ließ sich ohne weitere Probenvorbereitung auch die Lactatkonzentration in Vollblut und Erythrocytenkonzentrat bestimmen. Die durchschnittliche Lactatkonzentration in den Erythrocyten betrug 6,7 mmol/l (2,0–22,1 mmol/l als 1-s-Bereich). In den Erythrocyten wurden Lactatkonzentrationen bis zu 40 mmol/l gemessen. Ein Vergleich der Probenvorbereitung mit Glykolysehemmstoffen ergab:

1. Die Lactatkonzentrationen im Serum waren nur schlecht korrelierbar mit den Lactatkonzentrationen im Plasma (Korrelationskoeffizient 0,83).
2. Die Serum-Lactatkonzentrationen lagen im Mittel bei 2,2 mmol/l (1,3–3,7 mmol/l als 1-s-Bereich) signifikant über den Lactatkonzentrationen im KF/Heparin-Plasma mit 1,8 mmol/l (0,9–3,4 mmol/l als 1-s-Bereich).
3. Im KF/Oxalat-Plasma lag das Mittel der Lactatkonzentration mit 1,6 mmol/l (0,8–3,0 mmol/l als 1-s-Bereich) signifikant unter der Lactatkonzentration im KF/Heparin-Plasma. Ursache war die durch den osmotischen Druck des Oxalats verursachte Verminderung des Hämatokrits im KF/Oxalat-Vollblut.
4. Die Wiederfindung von zugesetztem Lactat war im KF/Heparin-Plasma am besten.

Wenn vorausgesetzt wird, daß im KF/Heparin-Plasma die mit nativem Plasma am besten übereinstimmende Lactatkonzentration vorliegt, dann wurden im KF/Oxalat-Plasma in 14,5% der Fälle eine falsch-normale und im Serum in 15,7% der Fälle eine falsch-pathologische Lactatkonzentration gemessen.

Wir empfehlen zur Lactatbestimmung im Plasma, Vollblut oder Erythrocytenkonzentrat die Entnahme von 5 ml Blut in Probenröhrchen, die 0,097 mmol KF und 37,5 Einheiten Heparin enthalten.

Schrifttum:

1. ROSENBERG, J. C., RUSCH, B. F.: Clin. Chem. 12, 209 (1966).
2. SPEICHER, C. E., FETRAT, M. E., FISKE, M. L., HENRY, J. B.: Am. J. Clin. Pathol. 57, 643 (1972).
3. WESTGARD, J. O., LAHMEYER, B. L., BIRNBAUM, M. L.: Clin. Chem. 18, 1334–1338 (1972).

Die katalytische Aktivität der mitochondrialen Aspartat-Aminotransferase (m-GOT) im Plasma nach Myokardinfarkt

S. Golf¹, H. Temme¹, J. Kunz¹, C. Momm¹, K. Kempf¹, A. Brüstle¹, L. Röka¹, E. Firnkranz¹, A. Hellwig¹, G. Bandemer¹, D. Heinrich²

¹ Zentrum für Klinische Chemie und Pathobiochemie und

² Zentrum für Innere Medizin am Klinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen

Die katalytische Aktivität der GOT setzt sich aus der Aktivität zweier GOT-Isoenzyme zusammen, wobei ein Isoenzym mitochondrialen Ursprungs ist (1). Die m-GOT wird vornehmlich in der quergestreiften Muskulatur, in der Leber und im Herzmuskel gefunden. Daher korreliert die Höhe der katalytischen Aktivität im Plasma mit dem Ausmaß einer Erkrankung dieser Organe (2).

Die katalytische Aktivität der m-GOT wurde im EDTA-Plasma von 33 Patienten mit gesichertem Myokardinfarkt in dreistündigem Abstand über zwei Tage ermittelt. Dazu wurde die Aktivität der GOT vor und nach Zusatz einer Anti-m-GOT-Antikörperpräparation gemessen und die Differenz als m-GOT-Aktivität berechnet.

Als Referenzwerte der katalytischen Aktivität der m-GOT (25°C) im Plasma von Normalpersonen wurde die Aktivität der m-GOT im Plasma von 50 Studentinnen und Studenten (20–30 Jahre alt) verwendet: Mittelwert 2 U/l, 95%-Bereich 0–5 U/l, 25°C. Eine erhöhte katalytische Aktivität der m-GOT wurde im Plasma aller Myokardinfarkt-Patienten gemessen. Das Maximum der katalytischen Aktivität der m-GOT wurde nach 31 + 12 Stunden

mit einer mittleren Aktivität von 24 U/l (6–98 U/l als 95%-Bereich) beobachtet. Bei einem Patienten trat das Maximum der katalytischen Aktivität der m-GOT schon nach 6 Stunden auf. Die höchste Aktivität betrug 34 Stunden nach Eintritt des Infarktes 108 U/l, bei folgenden katalytischen Aktivitäten anderer Enzyme: CK 2319 U/l, CK-MB 127 U/l, GOT 457 U/l. In der Gesamtheit der Aktivitäten der m-GOT aller Patienten wurde ein rascher Anstieg der Aktivität (ca. 1 U/l pro Stunde) bis zur zwölften Stunde beobachtet. Danach folgt ein weiterer, langsamer Anstieg (ca. 100 mU/l pro Stunde) bis zur 45. Stunde.

Dieser Verlauf deutet auf eine biphasisch ablaufende Zellnekrose beim Myokardinfarkt. Auf eine rasch ablaufende irreversible Zellnekrose folgt eine dynamisch verlaufende Zellschädigung.

Die katalytische Aktivität der m-GOT wurde mit einer Halbwertszeit von ca. 12 Stunden eliminiert (N = 4).

Die katalytische Aktivität der m-GOT im Plasma eignet sich zur Beurteilung der Prognose bei Myokardinfarkt-Patienten.

Eine vollmechanisierte enzymatisch-kinetische Mikromethode zur Bestimmung von Sialinsäure (NANA)

A. M. Gressner, K. H. Henn

Abteilung für Klinische Chemie und Zentrallaboratorium, Klinikum der Philipps-Universität, Marburg

Die Sialinsäure (=N-Acetylneuraminsäure, NANA) ist ein in Geweben und Körperflüssigkeiten ubiquitär verbreitetes Monosaccharid, das in Glykoproteinen und Glykolipiden u. a. auf Zelloberflächen und im Plasma vorkommt (1). Als terminaler Zuckerrest der meisten Plasmaglykoproteine bestimmt es deren Halbwertszeit im Serum (2). Neuere Untersuchungen weisen der NANA-Bestimmung im Serum vielversprechende diagnostische und prognostische Bedeutung bei malignen Tumoren und deren Metastasierung und bei der Erfassung akut-entzündlicher, gewebedestruktiver Prozesse zu (3). Eine kürzlich eingeführte enzymatisch-kolorimetrische Endpunktbestimmung der NANA (4) wurde deshalb durch Adaptation auf einen Zentrifugalanalysator (Cobas Bio) vollmechanisiert, durch Minimierung des Ansatzes (153 µl) und Probenvolumens (3 µl) ökonomisiert (auf ca. 1/10 der ursprünglichen Analysenkosten, ≈ 1,20 DM/Test), und durch Einführung eines kinetischen Verfahrens (initial rate) wesentlich verkürzt (3 min statt bisher 20 min). Nach einer Vorinkubation von 1 min folgen 12 Messungen im 10-Sekundenintervall, wobei die Reaktion für ca. 4 min linear verläuft. Die Messung ist nach 3 min beendet. Eine peak rate-Auswertung bietet keine zeitlichen Vorteile, da die Maximalgeschwindigkeit der Absorptionsänderung erst nach 2,7 min erreicht wird. Die Unpräzision in der Serie liegt bei VK = 2,0% ($\bar{x} = 0,81$ g/l, n = 15), von Tag/Tag bei VK = 5,2% ($\bar{x} = 0,80$ g/l, n = 20), die Unrichtigkeit zwischen +1 und -2% ($\bar{x} = 0,84$ g/l). Die Nachweisgrenze wurde mit 0,012 g/l bestimmt und liegt somit etwa um den Faktor 3 höher als bei der Thiobarbitursäuremethode (0,0037 g/l) (5). Zu letztgenannter Methode besteht eine Korrelation mit $r = 0,974$ ($y = 1,0083x - 0,0417$). EDTA bis 3 mg/l, Citrat bis 0,015 mol/l, Bilirubin bis 161 µmol/l und Hämolyse bis 5,25 g Hb/l stören die Methode nicht. Als vorläufiger Referenzbereich (± 2 s) wird eine NANA-Konzentration im Serum von 0,48–0,80 g/l festgelegt, Geschlechtsunterschiede ergeben sich nicht.

Schrifttum:

1. COMB, D. C., ROSEMAN, S.: J. Biol. Chem. 235, 2529–2537 (1960).
2. ASHWELL, G., HARFORD, J.: Ann. Rev. Biochem. 51, 531–554 (1982).
3. SHAMBERGER, R. J.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 647–651 (1984).
4. Boehringer Mannheim GmbH: Testkombination Sialinsäure.
5. WARREN, L.: J. Biol. Chem. 234, 1971–1975 (1959).

Die Bestimmung von IgA-Antikörper bei bakteriellen Infekten

A. J. Gross, R. Marre, G. Schmidt, W. G. Wood

Klinik für Innere Medizin und Institut für Mikrobiologie, Med. Hochschule Lübeck und Abteilung Bakteriengenetik, Forschungsinstitut Borstel

Obwohl IgA als das Immunglobulin mit der zweithöchsten Konzentration im Serum vorkommt, wird seine Wichtigkeit und Rolle

immer noch unterschätzt. Dieser Beitrag beschreibt das Verhältnis der IgA-Antikörper zur IgG- bzw. IgM-Antikörper-Produktion in induzierten Infekten in Ratten sowie bei Patienten mit pulmonalen Infekten.

Der für die induzierte Infektionsstudie benutzte Keim war ein Salmonella typhimurium-Stamm, der aufgrund gentechnologischer Verfahren X-Pili eines Escherichia coli-Stammes bildete. Als Antigen für die Kugelbesichtigung dienten X-Pili von E. coli. Ratten wurden zuerst oral, später peritoneal infiziert und Serum und Darmspüllösungen nach X-Pili-Antikörper der IgA, IgG und IgM-Klassen mittels Festphasen-Lumineszenzimmunoassays nach dem SPALT-Prinzip (Festphasen-Antigen Lumineszenztechnik) untersucht.

Für die Untersuchung klinisch vorkommender Lungeninfektionen wurde Serum von Pneumoniopatienten bzw. langzeitbeatmeten Patienten verwendet. IgA-, IgG- und IgM-Antikörper zu Legionella pneumophila (Serotyp 1 und 4) wurden mittels SPALT gemessen. Vergleichsuntersuchungen wurden mit der Immunfluoreszenz-Technik (IFT) durchgeführt, wobei die IFT-Methode zwischen IgA-, IgG- und IgM-Klasse Antikörper nicht unterscheidet.

Folgende Ergebnisse werden ermittelt: a) In den Ratten steigen im Serum zuerst die IgA- und IgM-Antikörper gegen X-Pili an, gefolgt von IgG. Nach intraperitonealer Applikation, sofern die maximale Antwort zu diesem Zeitpunkt noch nicht erreicht wurde, steigt der X-Pili-IgG-Antikörperspiegel an, nicht aber der IgA- bzw. IgM-Titer. In der Darmspüllösung wurde nur IgA-Antikörper gegen X-Pili nachgewiesen. b) Im Serum einer Patientin mit Legionärskrankheit stieg innerhalb der ersten 5 Tage nach Verdacht auf eine Legionella-Infektion der spezifische IgA-Antikörpertiter an, in geringerem Maß der IgG und IgM-Antikörpertiter.

Für die Durchführung der IFT danken wir Herrn Prof. Dr. Fehrenbach, BGA, Berlin, und Prof. Dr. Rückdeschel, Klinikum Großhadern, München.

Grenzen der Plättchen-in vitro-Diagnostik

K.-H. Grottemeyer, L. Rolf, B. Kuglin

Klinik für Neurologie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Für in vivo-Bedingungen berechnete Born (1) eine Plättchenaktivierungszeit von maximal 10 ms. – Dieses müßte aber theoretisch auch bedeuten, daß venös nur immer aktivierte Plättchen entnommen werden können.

Zusätzlich müssen vor einer in vitro-Diagnostik die Plättchen zentrifugiert werden. Auch kommen unterschiedliche Standzeiten bis zur Weiterverarbeitung bei nicht definierten Temperaturen zwangsläufig noch hinzu. Es erscheint daher durchaus denkbar, daß die vermehrte „Aggregation“ von Plättchen der Migränepatienten oder der Patienten mit Transitorisch Ischämischen Attacken (TIA) ein Ausdruck eines Abnahmeartefaktes ist.

Ein Zeichen der in vivo-Plättchenaktivität soll die „Release-Reaktion“ sein. – Grundsätzlich kann die Freisetzung aus den α -Granula (mit β -Thromboglobulin [β -TG], Plättchenfaktor 4 usw.) und die aus den Densobodies (Serotonin, Dopamin usw.) gemessen werden.

Um die durch in vitro-Manipulation veränderte Plättchenfunktion zu definieren, wurde β -TG und Serotonin bei 15 gesunden Probanden, 15 Patienten mit TIA und 10 Migränepatienten sofort nach der Blutentnahme, nach 15 min Standzeit bei 4 und 25°C, nach Zentrifugation bei 4 und 25°C bis hin zur Aufbereitung der Plättchen in Krebs-Ringer-Lösung gemessen.

Es zeigte sich, daß abhängig von der durchaus üblichen Vorbehandlung der Proben unterschiedliche Freisetzungsreaktionen stattfanden. Zwischen den untersuchten Gruppen waren signifikante Unterschiede zu verzeichnen. Unerwartet war, daß der Unterschied zwischen gesunden Probanden und Patienten mit TIA für β -TG sofort nach der Blutentnahme zwar signifikant ($p < 0,01$) war, aber bereits nach 15 min stehenlassen der Proben bei 4 oder auch 25°C war zwar in beiden Kollektiven ein Anstieg des β -TG zu beobachten, aber alle TIA-Patienten-Plättchen zeigten eine wesentlich stärkere Freisetzung. Alle gemessenen Werte waren oberhalb des MW-3s1-Wertes für gesunde Probanden. – Während die Plättchen gesunder Probanden und die der Migränepatienten zunächst Serotonin aufnahmen und dann freisetzen, war bei den Patienten mit TIA nur eine kontinuierliche Serotonin-

NEU

Glyco Test™

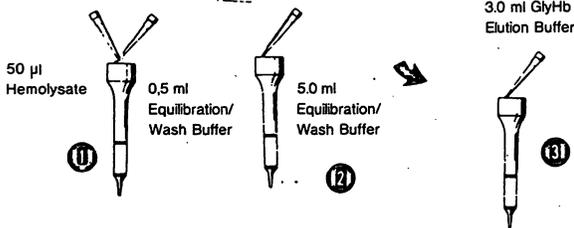
Quantitative Bestimmung von glycosilierten Hämoglobinen über Mikrosäulen mittels

AFFINITÄTS-CHROMATOGRAPHIE

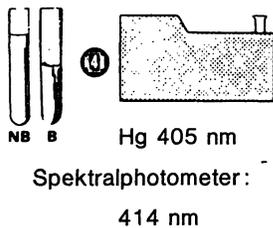
- **schnell** : 20 – 30 Best./Std.
- **unkompliziert** : — kein Wasserbad o. ä. erforderlich
— keine Entfernung von Glucose erforderlich
- **zuverlässig** : — V.K.'s unter 5%
keine Störungen infolge z. B.
Aldimine, HbF, S, C, Wayne, Hope,
Pharmaka, Alkohol, Harnstoff.



TESTABLAUF



BESTIMMUNGSANSATZ



BERECHNUNG

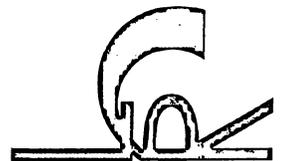
$$\% \text{ GlyHb} = \frac{3.0 \times (\text{EXT. B})}{5.55 (\text{EXT. NB}) + 3.0 (\text{EXT. B})} \times 100$$

B = glyco.Hb
 NB = nicht glyco.Hb

Generalvertrieb für die B.R.D.:

LCR-INTERNATIONAL
(Handelsgesellschaft für Laborprodukte)

D-4650 Gelsenkirchen
Holbeinstraße 15
Telefon (02 09) 49 64 62
Telex 8 121 149 lcr-d



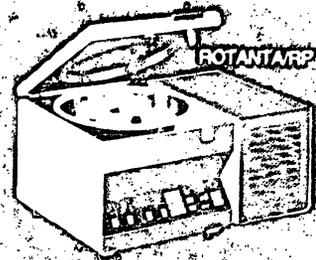
Auftragsabwicklung und Versand:

Fa. Helmut Anders, Medizintechnik-Laborbedarf,
Johann-Strauß-Weg 28, D-4133 Neukirchen-Vluyn, Telefon (0 28 45) 3 30 13

Besuchen Sie uns auf dem Kongreß für Laboratoriumsmedizin im Hamburger Kongreß-Centrum an unserem Stand Nr. 406, Foyer, Saal 41

Drehzahlstabilität, Präzision, Reproduzierbarkeit verschiedener Laufprogramme, Störanfälligkeit, Laufruhe und Geräuscharmut, leichte Wartung und lange Lebensdauer sind Forderungen, die an Kühlzentrifugen gestellt werden.

HETTICH hat diesen Forderungen Rechnung getragen und Labor-Zentrifugen entwickelt und gebaut, deren sämtliche Funktionen



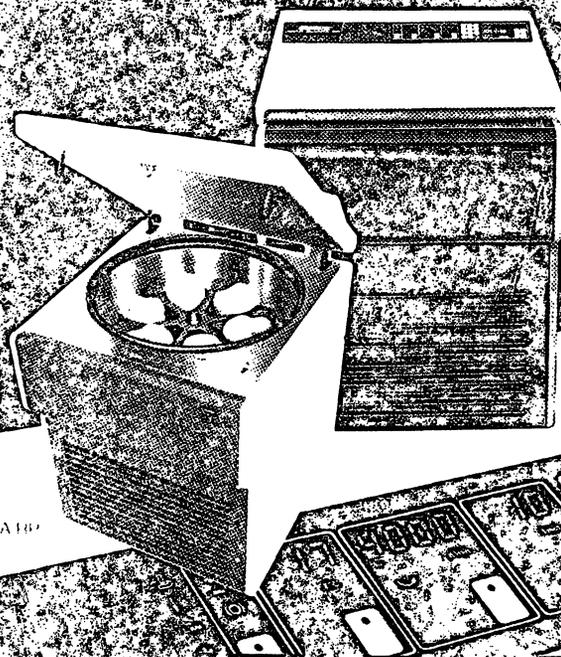
Mikroprozessor-gesteuert

ablaufen. Drehzahl, Laufzeit, Bremskraft, drehzahlgewährte An- und Auslaufzeiten und Temperatur werden über eine 10er Tastatur eingegeben und während der gesamten Einschaltzeit der Zentrifuge überwacht.

Über Programmtasten können 99 Programme gespeichert und abgerufen werden. Die in das wasser- und staubdichte Eingabefeld integrierten Leuchtziffern und Dioden geben über den Funktionszustand der Zentrifugen ständig Auskunft.

Wie alle Zentrifugen von HETTICH sind auch die ROTANTA/RP, ROTIXA/RP, ROTIXA/RP sowie die ROTO SILENTA/RP nach den neuesten Erkenntnissen der Zentrifugentechnik gefertigt und mit den international geforderten Sicherheitseinrichtungen ausgestattet.

In Verbindung mit einem umfangreichen Programm an Schleuderköpfen, Gehäusen und Gestellen aus dem labora-system leisten HETTICH-Zentrifugen in Labor und Klinik Außergewöhnliches. Bitte fordern Sie ausführliche Informationen an!



ROTXA/RP
ROTXA/RP
ROTO SILENTA/RP

Hettich
ZENTRIFUGEN

Postfach 4255 · D-7200 Tuttlingen
Telefon (07461) 705-0

freisetzung, abhängig von der jeweiligen in vitro-Manipulation zu beobachten.

Die Relevanz dieser Ergebnisse für eine nachfolgend aufgepfropfte Aggregationsmessung wird diskutiert.

Schrifttum:

1. BORN, G. V. R.: Platelets in Atherogenesis and Thrombogenesis. Wiener klinische Wochenschrift 96:407-412 (1984).

Über das Danaiden-Phänomen

Cs. Hadnagy

II. Medizinische Universitätsklinik Tirgu-Mures, Rumänien

Es dürfte bekannt sein, daß in der griechischen Mythologie Ägyptos nach mehreren Kriegen den König Danaos besiegte und diesen zwang, 50 seiner Töchter an 50 eigene Söhne zu verheiraten. In der Hochzeitsnacht aber töteten 49 der 50 Töchter ihre Ehemänner und deshalb mußten strafweise Danaos Töchter – die Danaiden – in der Unterwelt bodenlose Fässer mit Wasser füllen. Hoff bezeichnet als „Danaiden-Phänomen“ ein klinisches Krankheitssymptom, wenn durch wiederholte Transfusionen der Blutkörperchenverlust nicht ersetzt werden kann, da in kurzer Zeit das nachgefüllte Blut aus der Blutbahn verschwindet. Dieses wird vor allem bei Tumorkranken beobachtet. Über diese Frage hielt am VII. Freiburger Symposion H. Fischer einen Vortrag unter dem Titel: „Nichtimmunologische hämolytische Serumfaktoren in der menschlichen Pathologie“, wobei die Hämolyse als nicht-antikörperbedingt beurteilt wurde. Seine Patienten benötigen im Laufe von 26–40 Tagen 3,5–6 Liter Blut und blieben trotzdem anämisch. – Wir beobachteten ebenfalls solche Fälle. Bei den 5 ersten Kranken blieb der direkte Coombs-Test negativ, weil wir nicht anti-C Fraktionen enthaltendes Coombs-Serum verwendeten. Auch bei den folgenden 9 Patienten war die Probe negativ, wenn wir die anti-C Fraktionen nicht enthaltende Sera benutzten; wenn wir aber die Probe mit polyvalenten Sera (Boehringer, Dade) durchführten, oder monospezifisches anti-C Sera (Molter, Organon) verwendeten, war die Probe in 6 Fällen intensiv positiv, einmal schwach positiv, einmal verursachte ein hoher anti-i die Hämolyse und in einem Fall kam es nur nach wiederholten Versuchen zum positiven Ergebnis. Deshalb ist unserer Ansicht nach auch das Danaiden-Phänomen als Antikörper bedingte, erworbene hämolytische Anämie zu betrachten. Bei einem Teil der Patienten muß man aber mit mehreren Coombs-Seren arbeiten, mitunter enzymbehandelte Erythrozyten verwenden, die Proben bei verschiedenen Temperaturen durchführen, also gründlichere serologische Untersuchungen in Anspruch nehmen.

Bestimmung der Sekretionskinetik von Cortisol durch Speicheluntersuchungen

R. Haeckel, D. Colic und H. Dirks

Zentralkrankenhaus Bremen

Cortisol gelangt vermutlich durch passive Diffusion aus der Blutbahn in den Speichel. Der Übertritt erfolgt sehr schnell, so daß sich die Konzentrationen in beiden Kompartimenten weitgehend parallel verhalten. Die Konzentration im Speichel entspricht weitgehend der des freien Cortisols im Serum und ist vom Speichelfluß unabhängig. Bei Funktionstests sind die physiologischen Konzentrationsveränderungen im Speichel sogar ausgeprägter als im Blut.

Die Speichelkonzentration lag im Durchschnitt bei 4,5% (s = 3,9, n = 19) der Cortisolkonzentration im Serum. Bei der Bestimmung im Speichel wurde die 20fache Probenmenge bei dem [125 J] Cortisol Radioimmunoassay Kit der Firma Travenol GmbH (München) eingesetzt.

Die Cortisol-Bestimmung eignet sich im Speichel besonders dann, wenn pathologische Störungen in der Sekretionskinetik vorliegen, die durch einmalige Konzentrationsbestimmung im Blut oft nicht erfaßt werden. So fanden wir bei einer Patientin mit zentral bedingtem Cushing Syndrom normale Gesamtcortisolkonzentrationen im Serum bei erhöhter Ausscheidung von freiem Cortisol im Urin. Erst die Bestimmung des Speichelcortisols in 60minütigen Abständen zeigte, daß eine spike-ähnliche Ausschüttung von Cortisol in regelmäßigen Abständen von etwa 2 Stunden auch während der Nacht vorlag.

Alkoholbestimmung aus Speichel

R. Haeckel, R. Wille und P. C. Fink

Zentralkrankenhaus Bremen

Ethanol diffundiert wegen seines geringen Molekulargewichtes und seiner Elektroneutralität frei aus der Blutbahn in den Speichel. Die Speichelkonzentration bewegt sich in der postresorptiven Phase weitgehend parallel zur Konzentration im Kapillarblut. In 31 Proben wurden im Speichel ein Mittelwert (\bar{y}) von 0,464‰ (s = 0,139) und im Kapillarblut (\bar{x}) von 0,467‰ (s = 0,132) gefunden (standardisierte Hauptkomponente: $y = 1,053x - 0,026$). Bei der Angabe der Konzentration in Promille ist eine Korrektur wie bei Blut wegen des spezifischen Gewichtes nicht erforderlich.

Ähnlich wie bei den Atemströhrchen muß ein Zeitraum von mindestens 15 Minuten nach der letzten oralen Einnahme vergangen sein, bevor die Speichelentnahme erfolgt. Eine Alkoholbestimmung in einer 2. Probe, die nach weiteren (10–) 15 Minuten entnommen wird, kann sicherstellen, daß der erste Intervall von mindestens 15 Minuten eingehalten wurde. Bei Aufbewahrung des Speichels in einem verschlossenen Gefäß ist die Alkoholkonzentration im Speichel über mehrere Tage konstant.

Die Speichelgewinnung mittels einer standardisierten Technik erscheint daher möglicherweise auch für forensische Zwecke eine Alternative zur derzeit üblichen Blutprobe zu sein, die vor Ort erfolgen könnte und daher wesentlich kostengünstiger sein dürfte.

Beeinflussung von Digoxin-Bestimmungsmethoden durch Digitalis-Antidot BM

D. Hannak¹, P. Neubert², R. Kattermann¹

¹ Klinisch-Chemisches Institut, Klinikum Mannheim

² Boehringer Mannheim GmbH

Bei Digitalis-Intoxikationen hat die Therapie mit dem nierengängigen Fab-Teil von Digitalis-Antikörpern (FAB) sehr gute Behandlungserfolge erzielt (1). Da die Methoden zur Digoxin-Bestimmung auf immunologische Reaktionen mit Anti-Digoxin-Antikörpern beruhen, ist eine Störung dieser Meßmethode durch die therapierten Antikörper-Fragmente zu erwarten. Wir haben deshalb diesen Einfluß auf vier häufig verwendete Digoxin-Bestimmungsmethoden untersucht: ACMIA (ACA, DuPont), FPIA (TDX, Abbott), RIA (Amerlex, Amersham Buchler) und ELISA (ES 22, Boehringer Mannheim).

Poolserum wurde mit Digoxin auf eine Konzentration von 100 µg/l aufgestockt und mit steigenden Mengen FAB versetzt. Der theoretische Äquivalenzpunkt entsprechend der Bindungskapazität von Digoxin an FAB liegt dann bei 7,5 mg/l FAB. Nach Inkubation (60 min, RT) wurden die Gemische mit Digoxin-freiem Poolserum verdünnt und Digoxin entsprechend den Herstellervorschriften bestimmt.

FAB (mg/l)	„freies“ Digoxin (µg/l)	Digoxin (µg/l)			
		ACMIA	FPIA	RIA	ELISA
0	100	96	94	93	100
2,5	66	69	90	68	78
5,0	33	42	88	63	57
7,5	0	24	90	38	42
10	0	11	81	24	30
12,5	0	0	79	14	38
15	0	0	73	30	58
20	0	0	72	56	84
25	0	0	70	94	96
50	0	0	16	264	400
100	0	0	0	680	716
250	0	0	0	1200	1660

Die ACMIA-Methode korreliert am besten mit dem aus der Bindungskapazität berechneten „freien“ Digoxin. Die FPIA-Methode zeigt bis zu 2fachem FAB-Überschuß mit dem Gesamt-Digoxin von 100 µg/l vergleichbare Meßergebnisse und geht erst bei großem FAB-Überschuß auf Digoxinwerte unterhalb der Nachweisgrenze. Die Methoden RIA und ELISA haben eine mi-

nimale Digoxin-Konzentration in der Nähe des Äquivalenzpunktes und bei großem FAB-Überschuß Maximalwerte vom 12- bzw. 16fachen der Gesamt-Digoxin-Konzentration.

Die Digoxin-Werte der Patientenproben eines Intoxikationsfalls (Einnahme von 10 mg Metildigoxin, Serum-Digoxin vor Therapie 28 µg/l) zeigen einen Verlauf entsprechend der in vitro-Mischungen von Digoxin und FAB. Noch 5 Tage nach FAB-Therapie ist eine Beeinflussung der Meßmethoden sichtbar. Wird die FAB-Therapie gemäß den Richtlinien für die Anwendung durchgeführt (80 mg FAB pro 1 mg resorbiertes Digoxin), entsprechen die ACMA-Werte annähernd dem freien Digoxin und die FPIA-Werte annähernd dem Gesamt-Digoxin.

Schrifttum

1 SMOLARZ A., ROESCH, E., LENZ, H., NEUBERT, P., ABSHAGEN, U.: *Z. Kardiol.* 73, 113 (1984)

Die Stellung des SPHA-Tests in der Syphilisdiagnostik

H.-J. Hagedorn, A. Kraminer-Hagedorn
Medizinaluntersuchungsstelle Herford

Der Solid phase-Hämadsorptions-(SPHA-)Test zum Nachweis *Treponema pallidum*-spezifischer IgM-Antikörper ist als diagnostisches Verfahren umstritten. Es wurden daher bei 293 Syphilispatienten aller Infektionsstadien vergleichende Untersuchungen mit dem 19s-IgM-FTA-ABS-Test und einer Modifikation des SPHA-Tests nach Luger im Serum sowie zusätzlich bei 111 Patienten auch im Liquor durchgeführt. Bei der Frühsyphilis in der Phase der beginnenden Antikörperbildung ($n = 4$) ist die Reaktion von 19s-IgM-FTA-ABS-Test und SPHA-Test uneinheitlich. Einmal war nur der 19s-IgM-Test reaktiv, einmal fand sich die umgekehrte Befundkonstellation, in zwei Fällen waren beide Tests positiv. Bei unbehandeltem Lues II und wenige Wochen nach Therapiebeginn ($n = 42$) sind die SPHA-Titer sehr hoch, der 19s-IgM-Test ist reaktiv und die Lipidantikörpertiter liegen über 1:10. Im weiteren Verlauf kommt es dann zu einem signifikanten Titerabfall aller Testsysteme innerhalb weniger Monate. Bei 113 von 118 (95,7%) Patienten mit Lues latens satis curata (19s-IgM-FTA-ABS-Test und Lipidantikörper negativ) war der SPHA-Titer unter 1:10, fünfmal zwischen 1:16 und 1:64. Bei 10 fraglich ausreichend behandelten Fällen fand sich bei negativer Lipidreaktion ein schwach reaktiver 19s-IgM-FTA-ABS-Test bei negativem SPHA-Test. Bei Neurosyphilis waren IgM-Antikörper im Liquor mit dem SPHA-Test nur nachweisbar bei positivem Ergebnis auch im Serum.

Nach unseren Erfahrungen ist der SPHA-Test für die quantitative Verlaufskontrolle der IgM-Antikörper nach Therapie gut geeignet. Basisdiagnostik bei Erstuntersuchungsbefunden unabhängig vom Stadium der Erkrankung sowie die abschließende Untersuchung nach Therapie sollte parallel mit dem 19s-IgM-FTA-ABS-Test erfolgen, da in Einzelfällen sich Befunddiskrepanzen ergeben. Für die Liquordiagnostik bietet sich der SPHA-Test als Methode der Wahl an, da hier für geringe Probenmengen ein empfindliches Antikörpernachweisverfahren zur Verfügung steht.

Methodenvergleich der Mikrosäuleverfahren zur Analyse der glykosylierten Hämoglobine

H. Hampel, H. Reinauer

Diabetes-Forschungsinstitut, Auf'm Hennekamp 65, 4000 Düsseldorf 1

In der Routineanalytik werden die glykosylierten Hämoglobine überwiegend mit dem Mikrosäulenverfahren bestimmt. Bei der Antrennung der glykosylierten Hämoglobine an schwachsauren Ionenaustauschern (BIO-REX 70) ist die Säulentemperatur und der pH der Elutionspuffer sorgfältig einzustellen. Zudem stören abnorme Hämoglobine die Analyse, weil sie z. T. mit der HbA_{1c}-Fraktion eluiert werden. Diese Nachteile soll ein Mikrosäulenverfahren, das als Säulefüllung Agarose, an die m-Aminophenylboronsäure gebunden ist, nicht aufweisen. Borsäure hat die Eigenschaft, mit benachbarten cis-Hydroxygruppen zu komplexieren und auf diese Weise die an beliebigen Stellen glykosylierten Proteine zu binden. Aus dieser Bindung können die glykosylierten

Hämoglobine kompetitiv mit Sorbit eluiert werden. Die auf diese Weise eluierten und quantitativ bestimmten glykosylierten Hämoglobine ergeben vergleichbare Werte, wie sie mit Hilfe der schwachsauren Kationenaustauscher gewonnen werden.

In Parallelmessungen wurde das konventionelle Mikrosäuleverfahren mit den sog. „Affinitätssystemen“ der Firma Pierce und Merck systematisch verglichen. Dabei zeigte sich eine gute Übereinstimmung bei HbA_{1c}-Werten unter 10%, während oberhalb von 10% die „Affinitätssäulen“ in der Regel höhere Werte liefern. Die Korrelation zwischen den beiden Verfahren war relativ gut ($r = 0,7-0,8$). Systematische Untersuchungen über abnorme Hämoglobine liegen nicht vor, aber HbF stört die Analyse mit den „Affinitätssäulen“ nicht. In weiteren Versuchen werden die Temperaturabhängigkeit des „Affinitätssystems“ sowie die Abhängigkeit der Analysenwerte vom Probenalter dargestellt.

Lysis-Zentrifugations-Blutkultursystem: klinische Erprobung

W. Heizmann, P. Ostendorf, T. Klöss, K. Botzenhart

Hygiene-Institut, Med. Klinik, Zentralinstitut für Anästhesiologie der Universität Tübingen

Ein neues Lysis-Zentrifugations-Blutkultursystem (Isolator, Fa. Merck) verglichen wir nach einem erfolgreichen Vorversuch [Heizmann und Botzenhart, *Lab.med.* 9, 16-20 (1985)] im klinischen Teil bei 850 Blutkulturen (30. 1. 1985) mit einem konventionellen Blutkultursystem („Liquoid“ Blutkulturflaschen, Fa. Roche). 25 ml Venenblut wurde mit einer Spritze entnommen, je 7,5 ml in eine aerobe und anaerobe Blutkulturflasche mit 70 ml Hirn-Herz-Bouillon und 10 ml in den Isolator gegeben. Die Bebrütung der Blutkulturflaschen erfolgte sofort nach der Abnahme bei 37°C aerob und anaerob über 8 Tage mit wiederholter Überflutung der Nährbodenträger (BCB Slide „Roche“) und 6maliger Wachstumskontrolle. Mit dem Sediment des Isolators wurde eine Blutplatte, 2 Hirn-Herz-Agar, ein Sabouraud-Glucose-Agar und eine Hirn-Herz-Bouillon beimpft. Die Bebrütung erfolgte über 5 Tage aerob und anaerob (1 Hirn-Herz-Agar), die Wachstumskontrollen täglich. Folgende Mikroorganismen wurden isoliert: Enterobacteriaceae (33), *Pseudomonas* spp. (3), *H. influenzae* (1, nur Flaschen), „vergrünende“ Streptokokken (26), *S. pneumoniae* (4), β -häm. Streptokokken (2), *S. aureus* (14), *S. epidermidis* (3, auf Grund der klinischen Daten keine Kontamination), *Corynebacterium* sp. CDC-JK (1, nur Isolator), *L. monocytogenes* (1), *B. fragilis* (3), *Candida* spp. (4). Insgesamt waren 117 (=13%) positiv, davon 63 in beiden Systemen, 14 nur in den konventionellen Systemen und 40 nur im Isolator. Dieses Ergebnis ist, bezogen auf die Zahl der positiven Kulturen, für den Isolator signifikant erhöht ($p < 0,01$). Die mittlere Nachweisdauer betrug für den Isolator 2 Tage, für das Vergleichssystem 3 Tage. Im Isolator wurden in 15% Kontaminationen gefunden (3% Propionibakterien, 3% aerobe Sporenbildner, 9% koagulase-negative Staphylokokken), in den Flaschen in 5,5% (nur koagulase-negative Staphylokokken). Die deutlich erhöhte Kontaminationsrate im Isolator ist möglicherweise z. T. auf die gute Nachweisempfindlichkeit des Isolators zurückzuführen.

Kreatinkinase-Isoenzyme und Kreatinkinase-Varianten als Ursache einer Erhöhung immunologisch bestimmter „CK-MB“

K. Harm, E. SiragEldin

Zentrallaboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Heidberg und Abteilung für Klinische Chemie der Medizinischen Klinik des Universitäts-Krankenhauses Eppendorf, Hamburg

Die Bestimmung des MB-Isoenzym der Kreatinkinase (CK; EC 2.7.3.2) mit dem Immuninhibitionstest kann zu unspezifisch erhöhten Werten führen, wenn das Serum auch Makroformen der CK enthält, bei denen es sich um immunoglobulingebundene CK-BB (Makro-CK Typ 1) oder um polymere Komplexe von mitochondrialer CK (Makro-CK Typ 2) handelt (1). Neben diesen Varianten können auch freie CK-BB und mitochondriale CK-MiMi den gleichen Effekt verursachen, wie die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Befunde bei einigen ausgewählten Patienten mit erhöhten Gesamt-CK- und „CK-MB“-Aktivitäten zeigen.

Diagnose	Enzymaktivität im UV-Test			Isoenzym-Elektrophorese				
	Gesamt-CK (U/l)	„CK-MB“ (U/l)	„CK-MB“ (%)	BB (%)	MB (%)	MM (%)	Makro 1 (%)	Makro 2 MiMi (%)
Metastasierendes Rektumkarzinom	151	294	194,7	–	–	51,5?	–	48,5
Lungenkarzinom	651	235	36,1	9,6	4,5	82,6	–	3,3
Herzinfarkt	718	74	10,3	–	10,2	89,8	–	–
Grippaler Infekt	232	272	117,2	–	–	67,0	33,0	–

Aus der Tabelle geht hervor, daß besonders bei Patienten mit malignen Tumoren hohe „CK-MB“-Aktivitäten vorgetäuscht werden können, da ein Teil der im Serum vorhandenen mitochondrialen Kreatinkinasen nicht durch Anti-M-Antikörper gehemmt wird. Deshalb ist es in bestimmten Fällen erforderlich, zusätzlich eine Isoenzym-Elektrophorese (2) durchzuführen, um die Ursache einer erhöhten, immunologisch bestimmten „CK-MB“ aufklären zu können.

Schrifttum:

- HARM, K., SIRAGELDIN, E., VOIGT, K. D.: Diagnostic significance of different methods for the characterization of creatine kinase isoenzymes. IV International Congress on Clinical Enzymology, Arlington (Virginia) 1983.
- SIRAGELDIN, E., GERCKEN, G., HARM, K., VOIGT, K. D.: Cellulose acetate and electroendosmosis-low agarose electrophoresis: Advanced methods for the separation and quantitative determination of serum creatine kinase isoenzyme levels. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (im Druck).

Bessere Avidität und Spezifität als herkömmliche humane ABO-Testseren:

SERACLONE ANTI-A – SERACLONE ANTI-B
(Maus Hybridom Monoklonale Antikörper)

Ergebnisse einer Multicenterstudie, die an 17 europäischen Bluttransfusionsdiensten durchgeführt wurde

Wilhelm Herzog

BIOTEST-Serum-Institut, Frankfurt

Über 20000 Blute wurden in 4 deutschen, 7 britischen, 5 italienischen und einer schwedischen Blutbank mit Seralclone Anti-A und Seralclone Anti-B im Vergleich zu kommerziellen ABO-Testseren humanen Ursprungs bestimmt.

Die Monoklonalen zeigten sowohl in der routinemäßigen Blutgruppenbestimmung als auch in pathologischen Fällen gegenüber den bisherigen Anti-A und Anti-B Seren überlegene Ergebnisse.

– Starke und eindeutige Reaktionen mit schwachen A- und B-Varianten, A₂, A₂B, A₃, A₃B, A_x, A_xB und Bweak-Blute.

– Richtig negative Ergebnisse mit Kryptantigenen wie z. B. bei aktivierten T, Tn und Tk-Zellen.

– Richtig negative Ergebnisse des Seralclone Anti-B mit erworbenen B-Merkmalen.

Insbesondere zur ABO-Bestimmung von Bluten mit fehlenden oder reduzierten Isoagglutininen (z. B. Neugeborenen, Hypogammaglobulinämie-Patienten, ältere Personen etc.) ist Seralclone wegen seiner einzigartigen Avidität und Spezifität besonders wertvoll.

Steroidrezeptorenbestimmung bei Mammakarzinompatienten. Spezielle Probleme und Qualitätssicherung in der niedergelassenen Laborpraxis

G. Horpacsy, H. Rathjen, H. Lommel

Gemeinschaftspraxis Lommel-Lommel-Rurainski-Horpacsy, Leverkusen

Die Bestimmung der Steroidrezeptorenkonzentration bei Mammakarzinom ist während der letzten Jahre ein Routineverfahren geworden. Der Schweregrad der Methode ist nicht unerheblich. Eine lückenlose Kühlkette für Materialtransport ist unentbehrlich.

Unser Ziel war es, durch Analyse aus kleineren Krankenhäusern und Praxen niedergelassener Gynäkologen stammender Gewebeproben (insgesamt 540 Mammakarzinome) die speziellen Probleme der Rezeptorenbestimmung auf dieser Ebene zu ermitteln. Aspekte der Organisation, des Materialtransportes und der Verarbeitung wurden durch statistische Vergleiche analysiert.

Wir konnten feststellen, daß

– durch gut vorbereiteten, eindeutig definierten und am Ort der Tumorentnahme besprochenen Organisationsplan eine reibungslose Abwicklung des Materialtransportes möglich ist;

– die von uns eingeführten Spezialbehälter für eine sichere Kühlkette geeignet sind;

– die interne tägliche Qualitätskontrolle mit Meerschweinchenuterus ein wichtiges Mittel der Qualitätssicherung ist;

– die regelmäßige externe Qualitätskontrolle zu einer deutlichen Verbesserung der Genauigkeit beiträgt.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse zeigte, daß

– die Tumormenge bis 100 mg keine Qualitätsminderung bei der Methode verursacht;

– die optimale Eiweißkonzentration bei 2–3 mg/ml Gewebeprotein liegt.

Die Verteilung der positiven und negativen Östrogen- und Progesteronrezeptoren bei unserem heterogenen Patientengut deckte sich mit den bisher in der Literatur beschriebenen Ergebnissen.

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC), isoelektrische Fokussierung (IEF) und Mikrosäulentchnik – ein Methodenvergleich zur Bestimmung der glykosylierten Hämoglobine

S. Humfeld, F. Susanto, H. Reinauer

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

Für die Überwachung des Kohlenhydratmetabolismus bei Diabetes mellitus oder für die Therapiekontrolle der langandauernden Hyperglykämien hat sich die Bestimmung der glykosylierten Hämoglobine bewährt.

Bei der routinemäßigen Bestimmung dieser Hämoglobine, mit der Mikrosäulentchnik, werden die Fraktionen HbA_{1a}, HbA_{1b} und HbA_{1c} additiv erfaßt.

Als Bezugsmethoden haben, wegen der guten Auftrennung, die Hochdruckflüssigkeitschromatographie und die isoelektrische Fokussierung zu gelten. Bei diesen Verfahren ist es möglich, die Komponente HbA_{1c} neben den Fraktionen HbA_{1a} und HbA_{1b} isoliert zu erfassen.

Für die Untersuchung der Präzision dienten Vollblutproben von diabetischen Patienten (n = 19).

Der Vergleich der Meßwerte der HbA_{1c}-Bestimmung mit HPLC/IEF ergab eine Regressionsgerade von $y = 0,97x + 0,23$ und $r = 0,99$, für HbA_{1c} mit HPLC/IEF eine Regression von $y = 0,98x + 0,12$ ($r = 0,99$); mit HPLC/Mikrosäule $y = 0,94x + 0,84$ ($r = 0,97$) und mit IEF/Mikrosäule $y = 0,95x + 0,69$ ($r = 0,97$).

Die Variationskoeffizienten (V_k) betragen für die Komponente HbA_{1c} mit HPLC 2,3% und mit IEF 2,2%, für die Fraktion HbA_{1a} mit HPLC 1,9%, mit IEF 1,9% und mit der Mikrosäulentchnik 2,2%.

Schrifttum:

- HUMFELD, S., REINAUER, H.: Hochdruckflüssigkeitschromatographische Analyse der glykosylierten Hämoglobine. Lab med. 8. 385–390 (1984).

Die Phenylalaninbelastungsteste in prämatrimonialen genetischen Beratungen. Unsere 10jährige Routineerfahrungen

J. Hyánek, H. Viletová, M. Kubík, V. Kunová
Inst. f. Klinische Biochemie,
Diag. Zentrum f. Angeb. Stoffwechselstörungen,
Medizinische Fakultät Karls Universität, Prag, CSSR

Bei 140 Paaren wurden vor der Eheschließung die peroralen Belastungsteste mit L-Phenylalanin durchgeführt, um die Heterozygotie für Phenylketonurie bei Partnern zu identifizieren (12 Eltern von Kindern mit Phenylketonurie, 42 Paare Blutsverwandte von Phenylketonurikern, 68 Ehen zwischen Cousinsen ersten beziehungsweise zweiten Grades, 68 Ehen mit genetischem Risiko und 170 gesunde Ehepaare als Kontrollgruppe).

7 Diskriminanten, bestehend aus Phenylalanin- und Tyrosinwerten, wurden mit Hilfe der Computerauswertung benützt.

Bei 152 Kindern aus empfohlenen Ehen wurde bisher kein Kind mit Phenylketonurie geboren.

Einige Typen von Belastungstesten von empfohlenen und nicht empfohlenen Eheschließungen wurden dargestellt.

Schnelles und praktikables Verfahren zur Eliminierung der labilen HbA_{1c}-Form

T. Kain, Berlin

Die HbA_{1c}-Bestimmung hat in der Diabetesdiagnostik eine große Bedeutung erlangt. Der HbA_{1c}-Wert reflektiert die mittlere Blutglucose-Konzentration der vergangenen 4–6 Wochen.

Das aus Glucose und Hämoglobin in einer nichtenzymatischen Reaktion zunächst gebildete labile HbA_{1c} (Aldim inform) wird bei den gebräuchlichen Meßmethoden (Ionenaustausch an Mikrosäulen) mit erfaßt und kann die Aussagekraft des Ergebnisses vermindern.

Zur Entfernung des labilen HbA_{1c} bietet sich eine Kochsalzdialyse oder die Verwendung geeigneter Eliminatoren an.

Es soll über die Erfahrung mit einem Boratpuffer berichtet werden. Hiermit erfolgt bei pH 7 innerhalb von 30 min eine vollständige Abtrennung der labilen HbA_{1c}-Form. Der Meßwert wird in den Proben, die keinen labilen Anteil enthalten, nicht verändert. Ebenso bleibt die Präzision der Mikrosäulenmethode erhalten.

Bestimmung von Androgenrezeptor-aktiven Materialien im Plasma: Methodik und Anwendung in Menschen und Mäusen zur Bestimmung verschiedener antiandrogener Eigenschaften von Spironolacton und Kaliumcanrenoat

I. Karbowiak, A. Arrigoni, G. P. Buzzetti, F. Mantero, D. Armanini
Ospedale Molinette Torino, Ospedale Niguarda Milano,
Istituto Semeiotica Medica Università Padova,
Società Prodotti Antibiotici Milano and
Medizinische Klinik Innenstadt Universität München

Ein empfindlicher und spezifischer Radiorezeptorassay zur Messung von Androgenrezeptor-aktiven Materialien (ARM) im Plasma wurde entwickelt. Zur Einstellung einer Standardkurve wurde Cytoplasma aus Nieren kastrierter Mäuse über Nacht bei 4°C mit 0,5 mmol/l ³H-Methyltrienolon (RU 1881) in Gegenwart von steroidfreiem Mäuseplasma ohne oder mit unterschiedlichen Konzentrationen kalten RU 1881 inkubiert. Der Anteil von ARM in einzelnen Plasmaproben wurde bestimmt, indem das steroidfreie Plasma durch das Testplasma ersetzt wurde. Die Trennung vom rezeptorgebundenem Tracer wurde mit der Hydroxylapatit-Methode durchgeführt. Die Ergebnisse wurden als % Verdrängung des rezeptorgebundenen Tracers von Seite des ARM des Plasmas ausgedrückt. Für die Bestimmung von ARM im Menschen wurde steroidfreies Plasma verwendet, Inkubationszeit 2 Stunden bei 4°C. Die Affinität änderte sich nicht mit unterschiedlicher Inkubationszeit. Triamcinolon wurde dem Ansatz nicht zu-

gefügt, um die Bindung von RU 1881 an Progesteronrezeptoren zu blockieren, da die Bindungsparameter durch Zugabe des Steroids nicht variiert wurden. Die Ergebnisse der Experimente im menschlichen Plasma wurden in nM Eq RU-1881 der Standardkurve angegeben. Jeweils acht kastrierte Mäuse wurden mit Spironolacton (SP) oder Kaliumcanrenoat (KC) mit verschiedenen Konzentrationen 10 Tage lang behandelt. Nach jeweils unterschiedlichen Zeiträumen bezogen auf die letzten Medikamenteneinnahme wurden die Tiere enthauptet und Blut für den Assay entnommen. Unbehandelte Tiere dienten als Kontrolle.

Die Messungen ergaben für Mäuse mit SP behandelt eine 10fach höhere ARM als in Mäusen mit KC behandelt ($p < 0,001$). Analoge Ergebnisse konnten bei Patienten mit Leberzirrhose erhalten werden, die 3 Monate lang mit SP oder KC in äquivalenter Dosierung behandelt wurden. Die ARM während SP-Therapie war $20,9 \pm 9,8$ ($n = 9$) und während KC-Therapie $6,9 \pm 5,9$ nM Eq ($p < 0,001$). Die Kontrollwerte des ARM vor der Therapie und die Plasmakonzentration von Östradiol und Testosteron war in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Sechs Patienten, die mit SP und nur drei, die mit KC behandelt wurden, entwickelten Gynäkomastie. Parallel durchgeführter Bioassay in Mäusen zeigte, daß SP 5mal stärker als Antiandrogen wirkt als KC.

Zusammenfassung: Da 80% von beiden Medikamenten in Canrenon/Canrenoic-Säure umgewandelt wird, unterstützen diese Ergebnisse die Hypothese, daß durch SP ein geringer Anteil eines nicht identifizierten Metaboliten mit hoher Affinität für den Androgenrezeptor und/oder einer langen Plasmahalbwertszeit induziert wird.

Vergleichende Diagnostik freigesetzter Bakterienantigene im Liquor cerebrospinalis mittels zweier käuflich erhältlicher Latex-Tests

T. O. Kleine

Funktionsbereich Neurochemie, Zentrum f. Nervenheilkunde d. Universität, Marburg/L.

Zwei käuflich erhältliche Latex-Test-Kits zur schnellen Diagnostik freigesetzter Bakterienantigene wurden mit 51 Liquorproben vergleichend untersucht: Von Fa. bioMérieux Latex H. influenzae Typ b, S. pneumoniae omni Typ, N. meningitidis der Gruppe A oder der Gruppe C; von Fa. Wellcome Diagnostics: Wellcogen H. influenzae b-, S. pneumoniae-, N. meningitidis ACY W 135-, Streptococcus Gruppe B-Antigen. Alle Liquorproben wurden gleichzeitig kulturell in der Abteilung für Bakteriologie im Zentrum für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität Marburg differenziert. Für die Latex-Tests wurden die Liquorproben 5 min bei 95°C im Wasserbad erhitzt und der abzentrifugierte Überstand eingesetzt. Die Kontrollen beider Firmen wurden wie vorgeschrieben verwendet und reagierten positiv auch bei kleineren Probenmengen bis zu 10 µl. Leerwerte mit 0,15 mol/l NaCl waren negativ; nur beim Wellcogen-Test reagierten Kontrollen mit Liquor öfters positiv bei negativen Proben. Die Tests beider Firmen zeigten die gleiche Trefferquote bei Meningococcen-Meningitis (2 von 3 Proben positiv) und 0 von 30 keimfreien Kontrollen. Der Wellcogen-Test für S. pneumoniae war empfindlicher: 7/7 positiv gegenüber 2/7 bei bioMérieux, was besonders bei Verlaufsuntersuchungen auffiel. Allerdings waren 10/30 der keimfreien Kontrollen positiv im Vergleich zu 0/30 beim bioMérieux-Test. Bei Streptococcus-B-Meningitiden reagierte der Wellcogen-Test zu 3/3 positiv und zu 2/30 positiv bei keimfreien Kontrollen. H. influenzae-Antigen konnte bei diesen 43 Liquorproben nicht nachgewiesen werden. Bei 5 klinisch diagnostizierten Meningitiden reagierten alle bioMérieux-Tests negativ (0/5); der Wellcogen-Test war zu je 1/5 positiv für H. influenzae- und S. pneumoniae-Antigen, in den übrigen Tests negativ. Bei je einem Fall von Pseudomonas aeruginosa, Zoster, DNase negativer Micrococccae waren alle bioMérieux-Tests negativ, bei den Wellcogen-Tests reagierte nur der S. pneumoniae-Test bei einem Liquor positiv.

Zusammengefaßt war der Nachweis von freigesetzten Bakterienantigenen im Liquor mit den 4 untersuchten Wellcogen-Tests empfindlicher und zeigte trotz mitgeführter Liquorkontrollen häufiger positive Ergebnisse (besonders beim Wellcogen S. pneumoniae) im Vergleich zu den 4 bioMérieux-Tests. Die Wellcogen-Tests reagierten in einigen Liquorproben auch dann noch positiv, wenn der kulturelle Bakteriennachweis negativ war.

Quantitative Bestimmung vier trizyklischer Antidepressiva im Serum mittels Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (EMIT)

T. O. Kleine

Funktionsbereich Neurochemie, Zentrum f. Nervenheilkunde d. Universität, Marburg/L.

Trizyklische Antidepressiva werden heute zur Behandlung Depressiv-Kranker häufig eingesetzt, so daß die quantitative Bestimmung ihrer Serumkonzentration wünschenswert erscheint. Deshalb wurde die qualitative EMIT-toxTM für trizyklische Antidepressiva im Serum (Syva-Merck) auf das vollautomatisierte System EMIT-Auto-Carousel TM mit Spectrophotometer S-III und CP-5000 plus Clinical Processor (Syva) wie folgt quantifiziert:

Probenvolumen 8,3 µl, je 25 µl Reagenz A und B, mit EMIT-Puffer auf 458,3 µl Gesamtvolumen verdünnt. Der Test wurde mit 5 Kalibratoren in Doppelbestimmung, die nicht mehr als 6 ΔE-Einheiten voneinander abwichen, durchgeführt und zeigte für Nortriptylin einen Meßbereich von 30–800 µg/l. Die Nachweisgrenze (3 Standardabweichungen des Mittelwertes [$n = 15$] des 0-Kalibrators) lag bei 33 µg/l. Die Unterschiede zwischen Kalibrator 0 und 1 (31 µg/l) bzw. 1 und 5 (800 µg/l Nortriptylin) lagen bei ~ 10 bzw. ~ 130 ΔE-Einheiten. Mit Kalibratoren und Kontrollseren (Lyphocheck TDM; Fisher Thera Chem TDC) wurde eine Präzision in der Serie und von Tag zu Tag mit einem Variationskoeffizienten (VK) von je $\leq 10\%$ ermittelt.

Mit der Nortriptylin-Eichkurve wurden eingewogene Mengen von Amitriptylin (Sigma), Imipramin (Sigma) oder Desipramin (Serva) in einem Serumpool gelöst und mit einer Abweichung von $\pm 10\%$ bestimmt. Die Abweichung vom Sollwert der beiden Kontrollseren, die Amitriptylin, Desipramin, Imipramin und Nortriptylin neben anderen Medikamenten enthielten, lag im $\pm 10\%$ -Bereich. Der Vergleich (lineare Regression) der Sollwerte (x) dieser mit verschiedenen Pools von Patientenserum verdünnten Kontrollseren mit den mit der EMIT-Modifikation gemessenen Werten (y) war gut:

$$y = 3,4 + 1,0x; r = 0,99 \text{ für } n = 20.$$

Zusammengefaßt können mit der hier beschriebenen EMIT-Modifikation vier häufig eingesetzte trizyklische Antidepressiva im Serum mit der gleichen Empfindlichkeit (und damit simultan) im subtherapeutischen, therapeutischen und toxischen Bereich preisgünstig und quantitativ bestimmt werden.

Zur quantitativen Bestimmung von Benzodiazepinen im Serum mittels Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (EMIT)

T. O. Kleine

Funktionsbereich Neurochemie, Zentrum f. Nervenheilkunde d. Universität, Marburg/L.

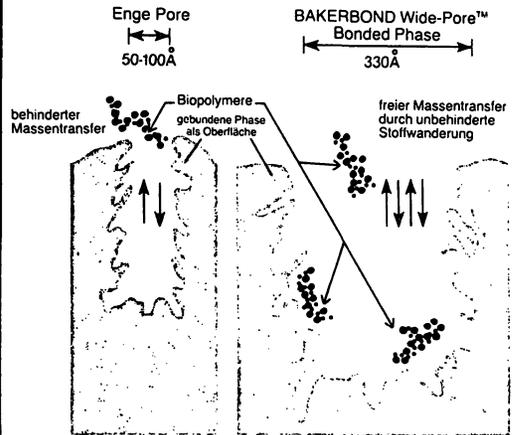
Zur Kontrolle der Therapie mit Benzodiazepinen, einer häufig verschriebenen Medikamentengruppe, ist ein einfacher quantitativer Screening-Test wünschenswert. Deshalb wurde die qualitative EMIT-tox für Benzodiazepine im Serum (Syva-Merck) auf das vollautomatisierte System EMIT Auto Carousel TM mit Spectrophotometer S-III und CP 5000 plus Clinical Processor (Syva) wie folgt quantifiziert:

Probenvolumen 4,1 µl, je 25 µl Reagenz A und B, mit EMIT-Puffer auf 454,1 µl Gesamtvolumen verdünnt. Der Test wurde auf 5 Kalibratoren in Doppelbestimmungen, die nicht mehr als 6 ΔE-Einheiten voneinander abwichen, modifiziert und hatte für Diazepam einen Meßbereich von 60 bis 1500 µg/l. Die Nachweisgrenze (3 Standardabweichungen des Mittelwertes [$n = 14$] des 0-Kalibrators) lag bei 60 µg/l. Die Unterschiede zwischen Kalibrator 0 und 1 (62,5 µg/l) bzw. 1 und 5 (1500 µg/l Diazepam) lagen bei ~ 12 bzw. ~ 200 ΔE-Einheiten. Mit Kalibratoren und Kontrollserum (Biotrol-Therapeutique II) wurde eine Präzision in der Serie und von Tag zu Tag von $\leq 10\%$ Variationskoeffizient ermittelt.

Mit der Diazepam-Eichkurve wurden eingewogene Mengen von Oxazepam (Serva), Nitrazepam (Serva) oder Clonazepam (Hoff-

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

mann La Roche), in einem Serumpool gelöst, bis zu 50–60% und weniger bestimmt. Die Abweichung vom Sollwert (500 µg/l Diazepam) des Kontrollserums, das neben 6 Antikonvulsiva u. a. 20 µg/l Clonazepam enthielt, lag im $\pm 10\%$ -Bereich. Der Vergleich (lineare Regression) der Sollwerte (x) des mit verschiedenen Pools von Patientenserum verdünnten Kontrollserums (2000 µg/l Diazepam) mit den mit dieser EMIT-Modifikation gemessenen Werten (y) war ausreichend: $y = 7,4 \pm 0,95x$; $r = 1,00$ bei $n = 16$.

Zusammengefaßt kann mit dem hier beschriebenen quantitativen Screening-Test von den vier untersuchten Benzodiazepinen Diazepam mit der größten Empfindlichkeit im Serum preisgünstig bestimmt werden. Da dieser EMIT auch mit weiteren Benzodiazepinen reagiert (1), kann ein Gemisch von Benzodiazepinen nicht quantitativ erfaßt werden.

Schrifttum:

1. Firmenvorschrift für Serum Benzodiazepine EMIT[®]tox, Syva 1983.

Automatisierte immunturbidimetrische Bestimmung von IgG und Albumin in Liquor- und Blutserum-Proben

T. O. Kleine

Funktionsbereich Neurochemie, Zentrum f. Nervenheilkunde d. Universität, Marburg/L.

Das vollautomatisierte System EMIT-Auto-Carousel TM mit Spectrophotometer S-III und CP 5000 plus Clinical Processor (Syva) wurde wie folgt für die quantitative immunturbidimetrische Bestimmung von IgG und Albumin modifiziert: Probenvolumen 80 bzw. 10 µl, monospezifisches Antihumanserum vom Kaninchen (Behringwerke, Marburg/Lahn) je 15 µl, Gesamtvolumen 410 bzw. 440 µl mit 7,3 bzw. 4,7 g/l Polyäthylenglycol 6000 (Serva); Verzögerung 15 s und 255 s Meßzeit bei 30°C,

340 nm und 2,667 Con Cal; Betriebsart: Konzentration, berechnet in mg/l mittels polynominaler Eichkurve. Dauer eines Tests 5 min. Die Nachweisgrenze für den IgG- bzw. Albumin-Test (3 Standardabweichungen vom Mittelwert des Leerwertes mit 0,15 mol/l NaCl; n = 33 bzw. n = 20) lag bei 5 mg/l bzw. 50 mg/l. Mit Standardproteinseren (Behringwerke) wurde eine Eichkurve mit je 5 Kalibratoren für IgG zwischen 6 bis 104 mg/l festgelegt, für Albumin zwischen 50 und 400 mg/l. Die Differenz zwischen Kalibrator 1 und 5 lag für den IgG-Test bei ~ 25000 IE-Einheiten, für den Albumin-Test bei ~ 1600 AE-Einheiten. Mit diesen Kalibratoren und Kontrollseren wurde für beide Tests eine Präzision in der Serie mit einem Variationskoeffizienten (VK) von $\leq 10\%$ ermittelt und von Tag zu Tag von $\leq 11\%$ VK. Ein Vergleich der Ergebnisse dieses automatisierten Tests (y) mit von mittels immun-nephelometrisch (vgl. 1) bzw. immun-turbidimetrisch (vgl. 1) bestimmten IgG-Konzentrationen (x) in Liquor- und Serumproben (lineare Regression) war befriedigend $y = 0,49 + 1,01x$; $r = 0,99$ bzw. $y = 0,25 + 1,00x$; $r = 0,97$ bei n = 15 bzw. 20; für Albuminwerte lag der Variationskoeffizient zwischen 0,90 und 0,95 bei n = 16–21.

Zusammenfassend werden mit dem neuen immun-turbidimetrischen Test vergleichbare Ergebnisse für IgG und Albumin in Serum- und Liquorproben wie mit bereits beschriebenen anderen immunologischen Testverfahren erhalten; es können bis zu 12 Proben pro Stunde quantitativ automatisch bestimmt werden.

Schrifttum:

1 KLEINE, T. O., MERTEN, B.: Rapid Manual Immunoturbidimetric and Immunonephelometric Assays of Preactalbumin, Albumin, IgG, IgA and IgM in Cerebrospinal Fluid. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 245–254 (1980).

Zur Heterogenität der Immunglobuline bei der Isoelektrofokussierung auf Polyacrylamidgel

T. O. Kleine, B. Haak

Funktionsbereich Neurochemie, Zentrum f. Nervenheilkunde d. Universität, Marburg/L.

Die isoelektrische Fokussierung in Polyacrylamid-Dünnschichtgelen (PAG) eignet sich für die Differenzierung von oligoclonalen Immunglobulin-Fractionen im Liquor cerebrospinalis (1): Ampholine PAG-Platten (LKB 1804-101), pH 3,5–9,5 und Elektrophoreseapparat (Multiphor) wurden von LKB Schweden bezogen. Das Anfärben der Banden mit der AgNO₃-Technik ist empfindlich genug, um mit nativen Liquorproben zu arbeiten. Zur Charakterisierung der Immunglobulin-Banden wurden Immunglobulin-Reinsubstanzen (Geschenk von Dr. Baudner, Behringwerke, Marburg/L.) zu 1 µg in 20 µl 0,15 mol/l NaCl gelöst und bei 6°C 3 Std. bei 1000 Volt wie beschrieben analysiert. Als Marker dienten pl-Calibration-Kits „Electran“ der Fa. BDH Chemicals Ltd. Die dargestellten Banden wurden in den pH-Bereichen pH 4–5, pH 5–6, pH 6–7, pH 7–8, pH 8–9 und pH > 9 ausgezählt. Monoclonales IgA und IgM zeigten 3–4 Banden im Bereich pH 5–7 sowie an der Auftragsstelle liegendes gebliebenes Material. Monoclonales IgG hatte 12–15 Banden vorwiegend im Bereich pH 6–8. Bei polyclonalem IgG wurden dagegen 20–26 Banden im Bereich pH 6–9,5 gefunden wie in Liquorproben neurologisch kranker Patienten. Dies weist auf eine Heterogenität nur der IgG-Banden im Liquor hin, die wahrscheinlich durch IgG-Subklassen verursacht wird: IgG₁ wies 4–6 Banden im Bereich pH 8–9,5 auf, IgG₂ 9–14 Banden überwiegend im Bereich pH 6–8. Allerdings wurden bei enzymatisch gespaltenen oligoclonalen IgG bei den gereinigten Spaltprodukten 9–13 Banden überwiegend im Bereich pH 8–9,5 bei F(a, b) gefunden und 13–17 Banden überwiegend im Bereich pH 6–8 bei F(c). Damit dürfte die im Liquor beobachtete Heterogenität auch durch enzymatischen Abbau von Immunglobulinen entstehen, was durch die Inkubation von monoclonalem IgG, IgA, IgM mit Proteasen, die im sauren (Cathepsin), neutralen (Chymotrypsin) und alkalischen pH-Bereich (Plasmin, Trypsin) spalten, demonstriert werden kann. Diese Befunde zeigen, daß die Heterogenität der Immunglobuline im Liquor nicht nur durch die Produktion von IgG-Subklassen im ZNS verursacht wird, sondern auch durch Abbau mit Proteasen aus Zellfiltraten des ZNS bzw. aus Liquorleukozyten.

Schrifttum:

1. KJELLIN, K. G., VESTERBERG, O.: Isoelectric focusing of CSF proteins in neurological diseases. *J. Neurol. Sci.* 23, 199–213 (1974).

Kostenminderung der Antikonvulsivabestimmung im homogenen Enzym-Immunoassay (EMIT) mit einem vollautomatisierten System

T. O. Kleine, J. Stroh

Funktionsbereich Neurochemie, Zentrum f. Nervenheilkunde d. Universität, Marburg/L.

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, daß die hohen Reagenzienkosten bei der Enzyme-Multiplied-Immunoassay-Technique (EMIT) durch Verdünnung der Reagenzien und Verminderung des Testvolumens gesenkt werden konnten (1). Hier werden beim vollautomatisierten System EMIT-Auto-Carousel TM mit Spectrophotometer S-III und CP-5000 plus Clinical Processor die Reagenzienkosten auf die Hälfte gesenkt durch Halbierung der Volumen der Originalmethode auf 4,1 µl Probe und je 25 µl Reagenz A und B, mit EMIT-Puffer auf 454,1 µl Gesamtvolumen verdünnt. Unter Zugrundelegung von Listenpreisen und einer Zwei-Punkt-Eichkurve mit Kalibrator 1 und 5 in Doppelbestimmung reduzieren sich die Kosten einer Probe inklusive einer Kontrolle mit Zubehör (Gesamtkosten) auf 51–53% der Originalmethode für die Tests Carbamazepin, Ethosuximid, Phenobarbital, Phenytoin, Primidon und Valproinsäure (Syva-Merck). Dieser modifizierte EMIT wurde nach den von der Fa. Syva angegebenen Kriterien durchgeführt: Doppelbestimmungen wichen nicht mehr als 6 AE-Einheiten voneinander ab, die maximale Abweichung der Kontrollen vom Sollwert war $\pm 10\%$. Die Differenz zwischen Kalibrator 1 und 5 lag im geforderten Bereich. Für die Präzision in der Serie und von Tag zu Tag wurde mit drei Kontrollseren ein Variationskoeffizient (VK) von je $\leq 10\%$ bestimmt.

Bei der Verwendung der gleichen Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen entsprachen die Kontrolle und beide Kalibratoren an bis zu vier nachfolgenden Meßtagen beim Phenytoin-, Phenobarbital- und Primidon-Test den oben angegebenen Kriterien. Die jeweiligen „Rates“ der Kontrolle, mit den Kalibratoren des ersten Meßtages berechnet, wichen nicht mehr als $\pm 10\%$ vom Sollwert ab. Beim Carbamazepin- und Valproinsäure-Test waren diese Werte nur 2–3 Tage konstant. Dies bedeutet, daß die gleiche Eichkurve bei allen Tests zumindest an 2 aufeinanderfolgenden Meßtagen für je eine Probe verwendet werden kann. Dies führt zur Minderung auf je 39% der Gesamtkosten der Originalmethode für beide Proben. Durch mehrmaliges Verwenden von Kalibratoren und Kontrollen reduzieren sich die Gesamtkosten einer Probe um weitere $\geq 5\%$. Zusammengefaßt können mit den hier beschriebenen EMIT-Modifikationen Antiepileptika in Doppelbestimmung von einer Probe kostengleich, eher günstiger bestimmt werden im Vergleich zum Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (TDX-System) in Einfachbestimmungen.

Schrifttum:

KLEINE, T. O. et al.: *Clin. Chim. Acta* 82, 193–195 (1978); *Lab.med.* 6, A + B 203–206 (1982).

Immunochemische Bestimmungen vom Gesamt- und spezifischen IgE

C. Keller, K.-J. Wießmann, W. G. Wood

Klinik für Innere Medizin, Medizinische Hochschule Lübeck

Die Bestimmung des gesamten sowie spezifischen IgE-Spiegels im Serum mittels Lumineszenzimmunoassays erlaubt die komplette Betreuung von Atopikern an Ort und Stelle, auch wenn keine Umgangsgenehmigung für Radioisotopen vorliegt.

Gesamt-IgE wurde mit einem immunochemischen Assay (ILMA) gemessen (1), wobei sich ein Probenvolumen von 20 µl bei einer Inkubationszeit von 3 Std. als günstig erwies. Spezifische IgE-Antikörper wurden mittels SPALT (Festphasen Lumineszenztechnik) Methodik (1) analog zum RAST bestimmt. Für den spezifischen IgE-Antikörper wurde ein Probenvolumen 50 µl und eine Inkubationszeit von 6 bzw. 18 Std. in Kauf genommen.

Der Meßbereich bei 148 gesunden Blutspendern wurde mit dem ILMA von unter 5 bis 1086 kE/l (Median 68 kE/l) und mit dem EIA der Fa. Abbott von unter 5 bis 856 kE/l (Median 59 kE/l) ermittelt. Der Korrelationskoeffizient (r) betrug 0,941. Bei 46

Dialysepatienten wurde kein signifikanter Unterschied gegenüber den Blutspendern gefunden (Spannbreite unter 5 bis 1220 kF/l – Median 51 kE/l). Bei 31 Plasmozytopenpatienten wurde erwartungsgemäß signifikant erniedrigte IgE-Werte gefunden (Spannbreite unter 5 bis 76 kE/l – Median 8 kE/l).

Spezifische IgE-Antikörper gegen verschiedene Allergengemische wurden mit einem RAST-Test der Fa. Pharmacia verglichen, wobei der SPALT sich als ebenbürtige Methode erwies.

Die Autoren möchten Herrn Dr. Maasch der Fa. Allergopharma J. Ganzer KG, Reibek, für die Ausgangssubstanzen für den SPALT danken.

Schrifttum:

1. WOOD, W. G. et al.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 349–356 (1984).

Immundiagnostik von Protozoen-Infektionen unter besonderer Berücksichtigung der Malaria

J. Knobloch

Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg

Die Protozoen-Immundiagnostik wird eingesetzt zum Nachweis einer aktuellen oder zurückliegenden Infektion, bei epidemiologischen Studien, zur Bewertung einer Bekämpfungsmaßnahme, als Suchtest vor der parasitologischen Diagnostik, zur Auswahl von Blutspendern und zur Bewertung des Therapieerfolges. Die übliche Methodik umfaßt den Nachweis humoraler Antikörper der IgG- und IgM-Klassen sowie den Nachweis von lokalen und zirkulierenden Antigenen. Werden Rohantigene zum Nachweis von Antikörpern verwendet, so sind Kreuzreaktionen zwischen Trypanosomen und Leishmanien bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten. Hoch einzuschätzen ist die diagnostische Leistung des Antikörpernachweises bei der invasiven Amöbiasis, der viszeralen Leishmaniose (Kala-Azar) und der Toxoplasmose. Vergleichsweise geringe Erfahrungen liegen vor über den diagnostischen Wert des Antigen-Nachweises (Amöbiasis, Chagas-Krankheit, Lambliasis, Schlafkrankheit, Toxoplasmose, Pneumocystis-Pneumonie und Malaria). Folgende Empfehlungen werden für die Malaria-Immundiagnostik gegeben: Plasmodium vivax- und P. ovale-Antigene können durch P. fieldi, P. malariae-Antigen durch P. brasilianum ersetzt werden. Als Suchantigene haben sich P. falciparum und P. fieldi in Kombination bewährt. Für die retrospektive Diagnose ist der simultane Nachweis von IgG- und IgM-Antikörper hilfreich. Der „Dicke Tropfen“ kann möglicherweise durch den Nachweis von zirkulierendem Antigen ersetzt werden. Bei der Untersuchung von Blutspendern sollen Antikörper gegen P. falciparum, P. fieldi und P. brasilianum bestimmt werden; wobei die unterschiedliche Prävalenz der Plasmodien und der Zeitpunkt der vorangegangenen Exposition des Patienten berücksichtigt werden sollen.

In vitro-Messung der Thrombozytenadhäsion und Aggregation im antikoagulierten Vollblut

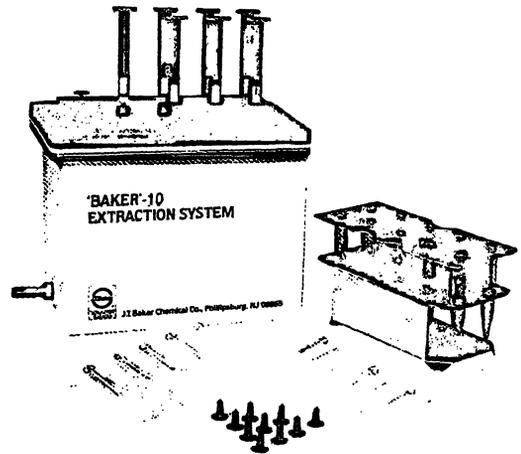
M. A. A. Kratzer

Institut für klinische Chemie, Klinikum Großhadern, Marchioninistr. 15, 8 München 70

Störungen der Plättchenadhäsion oder -aggregation führen zu einer Verlängerung der in vivo-Blutungszeit. Um die grundsätzlichen Probleme, die bei der Messung der in vivo-Blutungszeit auftreten, zu vermeiden, wurde die primäre Hämostase in vitro nachgebildet. Das in vitro-System beruht auf dem Gedanken, daß nicht nur freigelegte Kollagenfasern, sondern auch aus verletzten Gefäßwandzellen freigesetzte Adeninnukleotide, insbesondere ADP, für die initiale Blutstillung verantwortlich sind (Born & Kratzer, 1984).

Menschliches Vollblut, versetzt mit Na-Citrat (Endkonzentration 0,38%), fließt unter konstantem Druck (40 mm Hg) durch eine silikonisierte Glaskapillare (d = 140 µm, Länge 16 mm). Eine

Können Sie sich vorstellen, daß Ihre Scheidetrichter jetzt ins Museum gehören?



Das BAKER-10 Extraktionssystem

mit den BAKER-Einmal-Trennsäulen trennt reproduzierbar, schnell und sparsam Proben für HPLC, DC, GC, RIA, LSC, UV-, IR-Spektroskopie und Elektrophorese. Unterschiedliche, kovalent an Silicagel gebundene, funktionelle Gruppen adsorbieren selektiv. Proben und Eluat durchlaufen mit Hilfe von Vakuum die fertig gepackten Säulen. Mit nur 10% der bisherigen Lösemittelmenge werden bis zu 10 Proben gleichzeitig in etwa 10 Minuten bereitet.

Anwendungsbeispiele und 8seitiger Prospekt kostenlos auf Anforderung von Baker Chemikalien, Postfach 1661, 6080 Groß-Gerau, Telefon (061 52) 71 0371

nachgestellte Apertur – vergleichbar der verletzten Gefäßstelle besteht aus einem Filter (Millipore GSWP 01300, 0,22 µm) mit einem zentrischem Loch (d = 150 µm), der mit Kollagen (Typ I) beschichtet und mit ADP-Lösung (10^{-2} – 10^{-4} M) getränkt ist.

Abhängig von der ADP-Konzentration wird die Apertur – analog zur primären Hämostase in vivo – durch einen Plättchenthrombus zunehmend eingeeengt und schließlich innerhalb von 3 min verschlossen. Mit dem Blutfluß durch die Apertur ist die Bewegung einer Meßflüssigkeit gekoppelt, die elektronisch erfaßt und über einen Analog-Digitalwandler von einem Computer ausgewertet wird. Geeignete Rechenprogramme liefern aus der Änderung des durch die Apertur tretenden Blutvolumens (dV/dt) folgende Meßparameter: 1. Das Blutvolumen in vitro V, 2. die Blutungszeit in vitro t, 3. das Blutvolumen I im linearen Anteil der Kurve, 4. das Blutvolumen II definiert als V-I, 5. die relative Blutviskosität Vis. Die Reproduzierbarkeit der in vitro-Methode lag bei 5%. Verglichen mit der in vivo-Technik erlaubt die in vitro-Methode eine wesentlich bessere Trennung zwischen Kontrollpersonen und Patienten mit Störungen der primären Hämostase (von Willebrand-, Bernard Soulier-, Gray-Syndrom, Thrombasthenia Glanzmann Naegeli). Da die VIII/VWF Plasmapkonzentration (verantwortlich für die Plättchenadhäsion) Parameter I und II beeinflusst und Parameter II selektiv von der Konzentration des Plättchenaggregators ADP abhängt, machen es die Ergebnisse wahrscheinlich, daß die in vitro gemessenen Parameter (I, II) eine Differenzierung zwischen Störungen der Plättchenadhäsion und -aggregation erlauben.

Schrifttum:

BORN, G. V. R., KRATZER, M. A. A.: Source and concentration of extracellular ATP during haemostasis in rats rabbits and man. J. Physiol. 354, 419–429 (1984).
KRATZER, M. A. A., BELLUCCI, S., CAEN, J. P.: The detection of abnormal platelet function in an in vitro model of primary haemostasis (1985) (in press). Mit Unterstützung der DFG KR 818/1-1.

Medikamenten-induzierte hämolytische Anämie

V. Kretschmer, E. Bähr, W. Wesemann

Abteilung für Transfusionsmedizin und Gerinnungsphysiologie, Universität Marburg

Anhand zweier Fälle mit medikamenten-induzierter hämolytischer Anämie soll die diagnostische Problematik des Nachweises allergischer Antikörper gegen Erythrozyten beleuchtet werden.

Fall 1

63jährige Patientin, stationär aufgenommen mit akuten Zeichen einer hämolytischen Anämie (Hb 6,7 g/dl, Bilirubin 4,5 mg/dl, LDH 498 U/l, Haptoglobin nicht meßbar). Anamnestisch Polytokomanie (Analgetica, Antidepressiva), Immunhämatologisch: direkter Coombstest positiv; Antikörpersuchtest unter Fortführung der medikamentösen Therapie positiv, nach Weglassen der Medikamente negativ; Austestung der verschiedenen Medikamente durch in vitro-Zusatz ergab Alival-Antikörper im indirekten Coombstest und Hämolysetest. Nach Absetzen von Alival erholte sich die Patientin spontan.

Fall 2

49jährige Patientin mit Leistungsknick seit etwa 1 Jahr. Anamnestisch regelmäßige Einnahme von Ergo-Lonarid im Zusammenhang mit Menstruationsbeschwerden. Etwa 4 Wochen vor Durchführung der immunhämatologischen Diagnostik unklare hämolytische Anämie (Hb 6,3 g/dl, indirektes Bilirubin 1,0 mg/dl, Eisen 150 µg/dl, Haptoglobin 29 mg/dl). Immunhämatologisch: direkter Coombstest positiv (IgG), Patientenserum und Äthereluat von Patientenerythrozyten positiv im indirekten Coombstest in Anwesenheit von Ergo-Lonarid in bestimmter Verdünnung, deutlicher positiv mit Serum des Ehemannes 2 Std. nach Einnahme von Ergo-Lonarid.

Nur selten führen immunhämatologische Untersuchungen bei Verdacht auf medikamentös-induzierte allergische hämolytische Anämie zum Erfolg. Meist muß man sich mit der klinischen Verdachtsdiagnose begnügen. Für den immunhämatologischen Nachweis der Antikörper ist eine gründliche Medikamentenanamnese äußerst wichtig. Dadurch können die wirklich infrage kommenden Noxen eingegrenzt und mit größerer Chance auf Erfolg eingehender untersucht werden. Dazu zählen neben dem direkten Coombstest mit poly- und monospezifischen Seren, die Untersuchung von Patientenserum und -eluat in verschiedenen Testmethoden unter Zusatz der Medikamente (in unterschiedlicher Konzentration) oder Zusatz von Spenderserum nach Einnahme dieser.

Klinisch-chemische Methoden zur Bestimmung der Lungenreife im Fruchtwasser als Basis einer RDS-Prophylaxe

P. Kriegelsteiner¹, A. Lohninger², H. Salzer³, E. Kaiser⁴

¹ Frauenklinik der TU München, Klinikum r. d. Isar

² Institut für Medizinische Chemie, Universität Wien

³ 1. Univ. Frauenklinik, Wien

Fortschritte in der Forschung über die Entstehung des neonatalen Atemnotsyndroms führte auch zu einer Erweiterung der Lungenreifebestimmung aus dem Fruchtwasser. Bei der Bestimmung des Surfactant-Gehaltes des Fruchtwassers gibt es eine Reihe von Fehlerquellen, wie unterschiedliches Fruchtwasservolumen, die Probengewinnung, Dauer und Geschwindigkeit der Zentrifugation der Probe, sowie Verunreinigungen mit Blut und/oder Meconium. Ergebnisse von vergleichenden Untersuchungen zeigen, daß relative Methoden sichere Ergebnisse liefern als quantitative Bestimmungen der Phospholipide, des Lecithins, oder des digesättigten Lecithins. Dünnschichtchromatographische Trennungen der verschiedenen Fruchtwasser-Phospholipidklassen sind die am häufigsten verwendeten Methoden, vor allem die Bestimmung der Lecithin-Sphingomyelin Ratio. Aber auch das Auftreten von Phosphatidylglycerin und die korrespondierende Abnahme von Phosphatidylinositol im Fruchtwasser werden zunehmend für die Vorhersage der Lungenreife verwendet. Die direkteste Bestimmung des pulmonalen Surfactants im Fruchtwasser ist die kapillargaschromatographische quantitative Be-

stimmung des Dipalmitoyllecithins (DPPC) bzw. der prozentuelle Anteil des DPPC am Gesamtlecithin. Da keine der angeführten Bestimmungsmethoden falsche Vorhersagen ausschließen, werden die Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden diskutiert. Außerdem wird über die Möglichkeit zur frühzeitigen Stimulierung der pulmonalen Surfactant-Synthese durch Carnitin im Vergleich zu Corticosteroiden berichtet.

Störungs- und Einflußfaktoren bei der enzymimmunologischen Bestimmung der Granulozyten-Elastase

J. D. Kruse-Jarres, T. Kinzelmann

Katharinenhospital Stuttgart

Leukozytäre Proteasen stellen die eigentlichen Mediatoren des entzündungsbedingten Zellschadens dar (1). Eine besonders große Bedeutung kommt hierbei bei den neutrophilen Granulozyten-Elastase zu (2). Bei bakteriellen Infektionen sind entsprechend dem Schweregrad unterschiedlich stark erhöhte Elastase-Konzentrationen im Plasma nachweisbar.

In den Extrazellulärraum liberierte Elastase wird durch körpereigene Proteinase-Inhibitoren komplexiert und damit inaktiviert. Hierbei spielt die Komplexbildung mit dem Alpha-1-Proteinaseinhibitor quantitativ (92%) die größte Rolle. In einem Festphasen-Immunoassay wird dieser Elastase-Alpha-1-Proteinase-Inhibitor-Komplex durch zwei aufeinanderfolgende Immunreaktionen nachgewiesen. Als Markerenzym der 2. Reaktion dient das bewährte p-Nitrophenylphosphat. Der VK von Tag zu Tag liegt zwischen 2,4 und 8,8%. Der Normbereich der Plasmaproben von 142 Blutspendern ist 37–156 ng/ml.

Auch nach kurzzeitiger Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur findet sich eine deutliche Erhöhung der Elastase-Konzentrationen. Ferner haben mechanische Irritationen und Endotoxin-zusatz zur Blutprobe eine signifikant ansteigende Wirkung. Eine Anzahl von Medikamenten, vor allem aber durch Corticoide oder Proteinase-Inhibitoren haben keinen Einfluß.

Bei generalisiertem Granulozytenmangel zeigen sich deutlich erniedrigte Plasma-Elastase-Konzentrationen. Bei Patienten mit einem Kreatinin über 13 mg/dl werden auch ohne Vorliegen eines entzündlichen Prozesses deutlich erhöhte Elastase-Konzentrationen gefunden. Nach Polytraumata und operativen Eingriffen finden sich ebenfalls signifikant erhöhte Elastasen. Transfusionen als Vollblutkonserven und Erythrozytenkonzentrate zeigen in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer als Zeichen freigesetzter lysosomaler Enzyme ansteigende Elastase-Konzentrationen auf. Während der extrakorporalen Hämodialyse kommt es im Gegensatz zur Peritonealdialyse infolge einer frustranen Phagozytose an der Dialysemembran und im Schlauchsystem zur Degradation der Granulozyten und infolgedessen zu einer massiven Freisetzung der Elastase.

Schrifttum:

1. KÖNIG, W.: Dtsch. med. Wschr. 104, 1529 (1979).
2. WEISSMANN, G. et al.: J. exp. Med. 134, 149 (1978).

Bestimmung von Steroidrezeptoren im Prostatacarcinom: Möglichkeiten und Grenzen

A. Lämmel, W. Bartsch

Universität Hamburg, Medizinische Klinik, Abt. für Klinische Chemie

Seit der Entdeckung der Androgensensitivität des Prostatacarcinoms (PCA) durch Huggins und Hodges (1941) bilden endokrine Manipulationen zur Ausschaltung des Androgeneinflusses einen Schwerpunkt der therapeutischen Maßnahmen. Nach einer heute allgemein akzeptierten Theorie wird die Sexualsteroidwirkung über spezifische Steroidrezeptoren vermittelt. Die Rezeptormessung im Tumorgewebe kann demnach Hinweise auf eine spezifische Steroidsensibilität des Tumors liefern und somit als Grundlage einer endokrinen (antiandrogenen) Therapie dienen. In PCA, in der benignen Prostatahyperplasie und der normalen Prostata konnten bisher Androgen (AR)-, Östrogen- und Proge-

steron-Rezeptoren mittels radioaktiver Liganden nachgewiesen werden (1). Die prognostische Relevanz dieser biochemischen Rezeptorbestimmungen bezüglich einer therapeutischen Beeinflussbarkeit des PCA ist jedoch umstritten. Dies liegt erstens in technischen Problemen begründet. Diese bestehen in der limitierten Sensitivität und Spezifität der Rezeptorassays sowie in der inkompletten Extraktion cytosolischer, mikrosomaler und nukleärer Rezeptoren. Zweitens ist das Problem der repräsentativen Probengewinnung (biochemische Heterogenität des PCA-Gewebes) ungeklärt, wobei darüber hinaus die sehr geringe stanzbiotisch erhältlichen Gewebemengen eine exakte biochemische Rezeptoranalytik erschweren. Als Alternative bieten sich histochemische Verfahren zur Lokalisation der Steroidrezeptoren und zum Nachweis einer eventuellen Gewebeheterogenität an. Eine spezifische Darstellung des AR mit fluorochromierten Liganden ist allerdings bislang nicht möglich (2). Die Anwendung empfindlicherer Methoden, z. B. des Biotin-Streptavidin-Systems, erfordert die Entwicklung eines monoklonalen Antikörpers gegen das jeweilige Rezeptorprotein. Selbst wenn es gelänge, die Empfindlichkeit, Spezifität und Reproduzierbarkeit der Rezeptorassays zu steigern, bliebe der praktische Wert der AR-Analytik kritisch zu diskutieren. Denn einerseits zeigen ca. 20% der rezeptorreichen PCAs kein Ansprechen (funktionell defekte AR?), andererseits immerhin 55% der rezeptorarmen PCAs eine initiale Remission unter endokriner Therapie (3).

Schrifttum:

1. KRIEG, M.: Progress in cancer research and therapy, Vol. 31, pp. 423-440, eds: BRESCIANI, F. et al., Raven Press, New York, 1984.
2. LÄMMEL, A., KRIEG, M.: In: Advances in urological oncology and endocrinology, pp. 211-219, eds: BRACCI, U., DI SILVERIO, F., Acta Medica, Edizioni e Congressi s. r. l., Rome, 1984.
3. GHANADIAN, R.: In: The endocrinology of prostate tumours, pp. 221-239, ed.: GHANADIAN, R., MTP Press Ltd., International Medical Publishers, Lancaster, Boston, The Hague, 1982.

Differenzierung zwischen Proteinurietypen mittels SDS-Elektrophorese: Erfahrungen bei Anwendung in der nephrologischen Abteilung

A. Lapin¹, H. Gaisl¹, H. J. Zyman¹, F. Gabl¹, H. Kopsa², J. Zazgornik²

- ¹ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik
- ² I. Med. Univ.-Klinik, Universität Wien, 1090 Wien, Lazarettg. 14

Die SDS-Elektrophorese von Harnproteinen stellt eine nicht invasive diagnostische Methode zur Untersuchung von Nierenschädigungen dar (2). Aus der molekulargewichtsmäßigen Auftrennung von Harnproteinen können wichtige Schlüsse über die Art der Schädigung des glomerulotubulären Apparates gezogen werden.

Mit einem selbstentwickelten Verfahren zur batchweisen Herstellung von Polyacrylamid-Gradientengelen für eine horizontale Elektrophorese konnte eine routinemäßige Anwendung der SDS-Elektrophorese von Harnproteinen in unserem Hause etabliert werden.

Die Methode wird seit 6 Monaten wöchentlich für ca. 30 Patientenproben angewendet. Das untersuchte Patientengut setzt sich aus 65 ambulanten Nierentransplantierten, sowie einigen anderen Fällen, wo die Abklärung des Proteinurietyps aktuell erwünscht war, zusammen. Die Proteinuriedifferenzierung wurde in Anlehnung an die Klassifikation von Boesken und Mitarbeiter (1), wobei insgesamt acht Typen unterschieden werden (0 physiologisch, I bis III glomerulär, je nach Selektivität, IV tubulär, V, Va, Vb glomerulär - tubulär [gemischt], VI vaskulär, partiell tubulär und VII Bence-Jones-Proteinurie bzw. Myoglobinurie).

Die Rückmeldung der Resultate erfolgte mittels speziellem Formular mit Angabe von Typus (0-VII) Proteinkonzentration im Harn (Commasieblau-Methode), sowie durch die Beilage des xerokopierten Ausschnittes des Elektrophoreseablaufes mit molekulargewichtsmäßiger Zuordnung der Proteinbanden und semi-quantitativen Hinweis auf die drei Hauptgruppen der Proteine:

- Glomerulär (hochmolekular)
- Albumin
- Tubulär (niedermolekular).

Störungsfreie HPLC

zuverlässige Trennungen
hohe Reproduzierbarkeit
lange Lebensdauer der Säulen



11 Acetonitril 8143
für die Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie
Mol. Gew. 41,1
CH, CN

Baker Analyzed HPLC REAGENT

Original-Chargen-Analyse Nr. 002193	100.0%
Gehalt (CH ₂ Cl ₂) durch GC, um H ₂ O korrigiert	0.051
UV-Absorption (1.00 cm Küvette gegen Wasser)	0.010
bei 200 nm	< 0.002
bei 220 nm	< 0.002
bei 254 nm	189 nm
bei 280 nm	0.8 ppm
UV cut-off	
Verdampfungsrückstand	0.2 ppb
Fluoreszenz-Spurenverunreinigungen (als Chinn-Base) gemessen bei 450 nm	0.7 ppb
gemessen am Emissionsmaximum für Lösemittelverunreinigung	0.004%
Wasser (H ₂ O) durch Karl Fischer Titration	1.343
Brechungsindex n _D ²⁰	0.65
Physikalische Daten	0.786
Elektrischer Wert (auf Al ₂ O ₃) ²⁰	6.2
Dichte (g/ml) bei 20° C	6
Polarität ¹	
Losmittelgruppe ²	

¹ nach I. R. J. Chromatographie, 22 223-30 (1974)
Baker Chemikalien - D-6080 Gross-Gerau
Tel. 0 61 52-71 03 71, Telex 04 191 113 m, Postfach 1661

Die hohe, garantierte Reinheit und das zusätzliche Analysen-Zertifikat auf jedem Flaschenetikett sind ein doppelter Qualitätsbeweis.

Sie können deshalb mit „Baker Analyzed“ HPLC-Lösemitteln ganz sicher sein, daß Ihr Analyseergebnis aus der Probe und nicht aus dem Reagenz stammt.

Mehr Informationen von Baker Chemikalien Postfach 1661 6080 Groß-Gerau

Es werden einige spezielle Fälle von Proteinurien im zeitlichen Verlauf präsentiert.

Auf Grund der bisherigen Erfahrungen hat sich die vorliegende Methode insbesondere zur Diagnostik der glomerulären bzw. tubulären Nierenschädigung bestens bewährt. Dies war besonders wertvoll bei frühzeitigem Erkennen von tubulären Schädigungen bei „Ciclosporin A“ behandelten nierentransplantierten Patienten.

Schrifttum:

1. BOESKEN, W. H.: „Elektrophoresis '81“, pp. 453-462, Edt. Allen, Arnaud 1981, Walter de Gruyter + Co, Berlin, New York.
2. HARDWICKE, J.: Clinical Nephrology, Vol. 21, No. 1-1984 (pp. 50-53).

Zur Bedeutung der Gentechnologie in der Medizin

R. Laufs

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Hamburg

In den letzten Jahren hat es in der Medizin unerwartete neue Entwicklungen gegeben, die miteinander eng zusammenhängen und für die Zukunft von großem Interesse sind:

1. Die Entstehung und rasche Ausbreitung von Bakterien, die gegen die gebräuchlichen Antibiotika resistent sind.
 2. Die Möglichkeit, in Bakterien seltene Naturstoffe, wie z. B. das Hormon Insulin oder Impfstoff gegen die Hepatitis B, herzustellen.
 3. Die Verpflanzung von Genen in genetisch defekte Zellen.
- Die Beobachtung, daß Bakterien natürlicherweise fremde Erbinformation aufnehmen und vererben können, führte zu der Überlegung, daß auf gleiche Weise auch menschliche Erbinformation vermehrt werden könnte. Es ist möglich, jedes beliebige menschliche Gen in großen Mengen zu vermehren und in fremde DNS einzubauen. Durch Verpflanzung eines Gens für Wachs-

tumshormone gelang die Zucht von Riesenmäusen. Bestimmte menschliche Bluterkrankungen, die durch Gendefekte bedingt sind, waren im Prinzip auf die gleiche Weise heilbar. Das Vorgehen entspräche einer Knochenmarkstransplantation, bei welcher die Stammzellen im Labor genetisch repariert wurden. Die Genmanipulation mit Zellen der Keimbahn ist aber aus ethischen Gründen untersagt.

Evaluation einer einfachen fluoreszenzchromatographischen Methode zur Bestimmung von 5-Hydroxiindolessigsäure im Urin und Vergleich mit zwei HPLC-Verfahren

I. H. Loof, A. M. Gressner

Abteilung für Klinische Chemie und Zentrallaboratorium, Klinikum der Philipps Universität Marburg, Baldinger Straße, Marburg

5-Hydroxiindolessigsäure (5-HIES) ist der Hauptmetabolit des Serotonins (5-Hydroxytryptamin). Die normale Ausscheidung im Urin beträgt 11–47 $\mu\text{mol/d}$ (1). Eine erhöhte Ausscheidung (125–> 500 $\mu\text{mol/d}$) ist charakteristisch für das Karzinoïdsyndrom, verursacht durch die hohe Serotoninausschüttung von Tumoren der chromaffinen Zellen. Für die Diagnostik und Verlaufskontrolle ist ein einfacher und empfindlicher quantitativer Test von Vorteil.

Für die Bestimmung der 5-HIES wird häufig die zeitaufwendige Methode nach Udenfried (1) benutzt. Praktikabler ist hingegen die chromatographische Abtrennung der 5-HIES mit Sephadex G10 nach Korf (2) und anschließende Derivatisierung mit

o-Phthalaldehyd oder Nitrosonaphthol (3), bzw. die Messung der nativen Fluoreszenz der 5-HIES bei 338 nm nach Anregung bei 305 nm. 1 ml Nativ-Urin wird mit 10 ml 0,1 mol/l HCl versetzt und über eine kleine Säule (i. D. 6 mm), die 1 g Sephadex G10 enthält, eluiert. Es wird mit 10 ml 0,1 mol/l HCl und 5 ml Aqua dest. gewaschen und anschließend mit 5 ml 0,02 mol/l NH_4OH eluiert. Das Eluat kann direkt zur Fluoreszenzmessung verwendet werden. Die Nachweisgrenze des Testes liegt unter 100 nmol/l. Die Wiederfindung beträgt 88–93%, die Unpräzision in der Serie ($n = 10$) bei 25 $\mu\text{mol/l}$ 3,0% und bei 175 $\mu\text{mol/l}$ 1,6%, die Interassayvariation liegt bei 4,2 bzw. 3,3% ($n = 21$). Urobilino-gen und Bilirubin bis 150 $\mu\text{mol/l}$ stören nicht.

Die mit der Fluoreszenzmethode erhaltenen Ergebnisse von 126 Patientenurinen wurden mittels zweier unterschiedlicher HPLC-Verfahren überprüft. 1) Isokratisch auf μ -Bondapak-Phenyl 4,6 \times 150 nm, Laufmittel 0,02 mol/l Ammonacetatpuffer pH 4,8 in Wasser/Methanol 5:1 und Fluoreszenzdetektion (Ex. 300 nm, Em. 338 nm). 2) UV-Detektion nach Säulenschaltung, 1. Säule μ -Bondapak-Phenyl 4,6 \times 150 nm, Puffer wie 1) jedoch pH 4,4 und 2. Säule μ -Bondapak-C18 4,6 \times 250 nm Puffer wie 1).

Ergebnis: Die oben beschriebene Methode erfaßt sicher alle erhöhten (> 47 $\mu\text{mol/l}$) 5-HIES-Ausscheidungen ($n = 5$), normale Werte wurden mit 98,3% richtig gefunden ($n = 119$). Zwei Werte (1,7%) im Grenzbereich zwischen 47 und 125 $\mu\text{mol/l}$ konnten mit der HPLC nicht bestätigt werden. HPLC- und Fluoreszenzmethode korrelierten mit $r = 0,980$. Die o. g. Kriterien weisen die Fluoreszenzmethode als ein brauchbares Routineverfahren aus.

Schrifttum:

1. UDENFRIED, A., TITUS, E., WEISBACH, H.: J. Biol. Chem. 216, 499 (1955).
2. KORF, J., VAN PRAAG, H. M., SEBENS, J. B.: Biochem. Pharmacol. 20, 659 (1971).
3. LAURENT, B., CALAF, R.: Pharm. Biol. 132, 111–113 (1981).

PF 4-Bestimmung mittels Enzymimmunoassay in der klinischen Anwendung

R. Lorenz, G. Vogel, P. Bottermann, A. Larcher

II. Med. Klinik des Klinikums Rechts der Isar der TUM

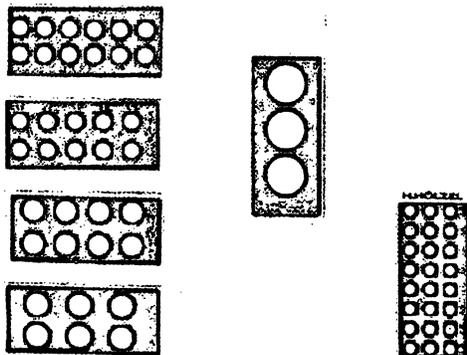
Der Plättchenfaktor 4 (PF 4) wird bei der Release-Reaktion aus den alpha-Granula der Thrombocyten freigesetzt und gilt als spezifischer Parameter einer in vivo-Aktivierung. Ein neu entwickelter Enzymimmunoassay (Enzygnost®-PF 4, Behring Werke Marburg) wurde zur Bestimmung des PF 4 in der klinischen Diagnostik eingesetzt. Die Probenentnahme wurde möglichst atraumatisch durchgeführt. In zwei Zentrifugationsvorgängen wurde plättchenarmes Plasma gewonnen. Der Mittelwert des Referenzkollektives lag bei $2,3 \pm 0,74$ ng/ml ($\bar{x} \pm \text{SD}$). Die klinische Anwendung zeigte unter 29 Diabetikern lediglich bei 6 Patienten PF 4-Werte im pathologischen Bereich ($11,97 \pm 4,91$ ng/ml), es waren ausnahmslos Patienten mit Gefäßkomplikationen. Bei 24 Patienten mit Leberzirrhose ließ sich ein Zusammenhang von PF 4-Wert und Blutungskomplikationen erkennen. Bei 15 Patienten ohne Blutungen wurden im Normbereich liegende PF 4-Spiegel gemessen, bei 9 Patienten mit stattgehabten Oesophagusvarizenblutungen fielen erhöhte Werte auf ($13,97 \pm 10,29$ ng/ml).

Im Normbereich lagen die PF 4-Werte bei 8 Patienten mit akuter Venenthrombose vor Beginn der Antikoagulation, erhöhte Werte ($9,19 \pm 6,01$ ng/ml) zeigten 7 Patienten unter Heparin-Therapie.

Bei 6 Patienten mit Sepsis und Zeichen einer Verbrauchskoagulopathie wurden erhöhte PF 4-Werte gemessen, Verlaufskontrollen bei 3 Patienten ergaben einen Rückgang nach Normalisierung der Gerinnungsstörung. Die Ergebnisse zeigen wesentliche Übereinstimmung mit dem bisher bekannten Verhalten der PF 4-Werte bei Zuständen einer vermehrten Aktivierung von Blutplättchen. Da auch die Referenzwerte mit den Angaben anderer Autoren im wesentlichen korrelieren, kann die PF 4-Bestimmung mittels Enzymimmunoassay bezüglich anderer Bestimmungsmethoden als vergleichbar gelten. Als Vorteile des Enzymimmunoassays in der klinischen Diagnostik können der relativ geringe zeitliche und apparative Aufwand angesehen werden sowie der Verzicht auf die Verwendung radioaktiver Substanzen.

MARKIERTE OBJEKTRÄGER

FÜR IMMUNFLUORESCENZ-TECHNIK



25 x 76 mm, mit Mattrand

H. HÖLZEL
TECHNISCHE GERÄTEFABRIK DAS LABOR IN FORSCHUNG UND INDUSTRIE
 BERNUDNERWEG 7 · 8250 DORFEN 1 · TEL. 08081/2059



Evaluierung des ERIS Selectiv-Multitest-Analysensystems von Eppendorf

V. Maier¹, S. Wattig¹, H. Jordan², D. Skupin³

¹ Zentrale Einrichtung Klinische Chemie des Klinikums Ulm

² Merck AG, Darmstadt

³ Eppendorf Gerätebau, Hamburg

Das neue, mikroprozessorkontrollierte ERIS Selectiv-Multitest-Analysensystem von Eppendorf wurde drei Wochen im Routinebetrieb getestet. Der Analysenautomat kann zur Zeit 20 verschiedene Bestimmungen (Methodenspeicher 37) in jeder beliebigen Kombination oder als Block von einem Patienten durchführen (400 Tests/h). 15 verschiedene Bestimmungen, ALT, AST, Kreatinphosphokinase, Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Gesamtprotein, Alkalische Phosphatase, Cholesterin, Triglyceride, Gesamtbilirubin, γ -GT, LDH, HBDH und Cholinesterase wurden mit den Ergebnissen für Enzyme gewonnen am ACP 5040 (Eppendorf Gerätebau, Hamburg) und dem ASTRA 8 (Beckman Instruments) für Substrate verglichen. Die Präzision innerhalb und zwischen den Tagen kann bei den Variationskoeffizienten zwischen 0,5% und 3,5% als sehr gut bezeichnet werden. Die Ergebnisse des neuen Analysengerätes korrelierten sehr gut mit den beiden Referenzgeräten. Das Gerät kann bis zu 100 Seren aufnehmen, zusammen mit weiteren 15 Gefäßen, die Standards und Kontrollen enthalten. Spezialküvetten sind erforderlich. Bis zu 30 verschiedene Reagenzien können bei 4°C für ungefähr eine Woche vorgehalten werden. Notfallproben können jederzeit eingeschleust werden, die Abarbeitung dauert 10–14 Minuten. Bis zu 2000 Ergebnisse können auf einer Floppy-Disk gespeichert und in frei programmierbarer Form als Patientenbefund-Bericht direkt gedruckt werden. Die Grundpostulate jedes Anwenders, niedriger Reagenzien- (25–100 μ l) und Serenverbrauch (5–25 μ l), kurze Aufrüstzeiten, selbständiges Abrüsten, selbständige Durchführung der Analysen, problemloser technischer Anschluß, ständig einsatzbereites, servicefreundliches Kompaktgerät mit freier Methodenwahl und einfacher Bedienung mit Dialog am Bildschirm sind erfüllt.

HLA und Krankheiten

R. Mayr

Institut für Blutgruppenserologie der Universität Wien

Das HLA-System, welches den Haupthistokompatibilitätskomplex des Menschen darstellt, wird über den kurzen Arm des Chromosoms 6 weitergegeben und umfaßt ungefähr ein Tausendstel des menschlichen Genoms. In dieser chromosomalen Region liegt eine Reihe eng gekoppelter Gene, die folgende Erbmerkmale steuern:

- die Spezifitäten der Loci *HLA-A, B* und *C*, die mit quantitativen Unterschieden an allen kernhaltigen Zellen des Organismus vorliegen,
- die Spezifitäten der *HLA-D* Region, die eine eingeschränkte Gewebsverteilung aufweisen,
- Proteine des Komplementsystems: C2, C4 und Bf.

Weiters liegen im HLA-System noch das Gen, welches die 21-Hydroxylase codiert, deren Fehlen eine Form des adrenogenitalen Syndroms bedingt, ein Gen, das den Eisenstoffwechsel reguliert und dessen Mangel die Basis für die idiopathische Hämochromatose darstellt, sowie Immune-response (Ir) Gene, welche die Immunantwort gegenüber den verschiedensten Antigenen beeinflussen.

Die Gene des HLA-Systems weisen eine stark ausgeprägte multiple Allelie auf; zwischen einigen Allelen liegt ein starkes Koppelungsungleichgewicht vor, d. h. daß einige Allelkombinationen an einem Haplotyp häufiger als erwartet vorkommen und andere seltener.

Zahlreiche Krankheiten sind mit Spezifitäten des HLA-Systems assoziiert, so z. B. der M. Bechterew mit HLA-B27. Die möglichen Ursachen für derartige Assoziationen (Restriktionsphänomene, Koppelung mit Genmutanten, ...) werden ausführlich diskutiert und die praktische Bedeutung des HLA-Systems für die Diagnostik eingehend besprochen.

...da knobeln wir
nicht
lange...

ENZYM-IMMUNOASSAYS
zur Diagnose von:
Sharp-Syndrom
LE
LE und
Sjögren Syndrom
Mischkollagenosen



DNP

ds-DNS

ANA

PROMA
Zwerchgasse 17, 8900 Augsburg
Telefon 08 21/31 30 62

Bitte besuchen Sie uns auf dem Kongreß für Laboratoriumsmedizin an unserem Messestand im Kongreß-Centrum in Hamburg, CC H, Foyer, Saal 4, Eckstand Nr. 405.

HGH- und AFP-Konzentrationen im Fruchtwasser anencephaler Feten

H. Mecke, H. Anger, D. Weisner
Universitäts-Frauenklinik Kiel

Es ist wenig bekannt über die Bedeutung des Wachstumshormons HGH während der Embryonal- und Fetalzeit. In der menschlichen Hypophyse ist HGH ab der 7. Schwangerschaftswoche nachweisbar (1). Die HGH-Konzentrationen im Serum des Feten sind höher als im mütterlichen Serum, ein transplacentaler Übergang findet wahrscheinlich nicht statt (2, 3). Im Fruchtwasser erscheint HGH über die Ausscheidung durch die fetalen Nieren.

Wir untersuchten in dieser Arbeit die HGH- und AFP-Spiegel im Fruchtwasser bei 6 Patientinnen mit anencephalen Feten und einer Kontrollgruppe (n = 11) gleichen Schwangerschaftsalters. Die Diagnose Anencephalus wurde sonographisch gestellt. Die Fruchtwasserpunktionen erfolgten zwischen der 18. und 25. Schwangerschaftswoche zum Ausschluß einer chromosomalen Mißbildung. Die HGH-Konzentrationen maßen wir mit einem kommerziellen Radio-Immuno-Assay-Kit (Serono). Die untere Nachweisgrenze dieses Assays liegt bei 0,2 ng/ml. AFP-Konzentrationen wurden ebenfalls radioimmunologisch (RIA Gnost AFP Behring), Glucose nach der Gluc-DH-Methode (Merck) bestimmt.

Die HGH-Konzentrationen bei ungestörter Schwangerschaft lagen bei 7,7 (± 4,5 SD) mg/dl in der 18. bis 25. Schwangerschaftswoche, die Glucosespiegel bei 53 (± 26 SD) ng/ml. Diese Werte sind vergleichbar mit denen von Chochinow gemessenen (4).

Die HGH-Spiegel im Fruchtwasser bei den Anencephali lagen mit 1,6 (± 0,9 SD) ng/ml ebenso wie die Glucosespiegel mit 27 (± 15 SD) ng/dl deutlich unter denen des Kontrollkollektivs. Die Unterschiede der Konzentrationen in beiden Kollektiven sind augenfällig, eine statistisch gesicherte Aussage läßt sich aufgrund der kleinen Anzahl der untersuchten Proben nicht machen. Eine der 6 Patientinnen mit anencephalen Feten wies normale AFP-Spiegel im Fruchtwasser auf, es lag keine Spaltbildung des Neuralrohres vor, dagegen lagen die HGH-Spiegel bei allen 6 Patientinnen weit unter denen der Kontrollgruppe. Die verminderten HGH-Konzentrationen sind durch die Störung der Hirnentwicklung und der Neurohypophyse erklärbar.

HGH ist beim Erwachsenen an der Glucosehomöostase beteiligt. Die gleichzeitig erniedrigten HGH- und Glucosekonzentrationen können mit einer Störung des Regulationsmechanismus erklärt werden. Möglich ist aber auch, daß weitere hormonelle Störungen als Folge fehlender Hirnentwicklung zu einer Veränderung des Glucosespiegels im Fruchtwasser anencephaler Feten führen.

Schrifttum:

- MATSUZAKI, F., IRIE, M., SHIZUME, K.: Growth hormone in human fetal pituitary glands and cord blood. *J. Clin. Endocrinology* 33, 908-911 (1971).
- SPELLACY, W. N., FACOG, W., BUHI, C.: Maternal fetal and amniotic fluid levels of glucose, insulin and growth hormone. *Obstet & Gynec.* 41, 323-331 (1973).
- POONAI, A. P. V., TABG, K., POONAI, P. V.: Relation between glucose and growth hormone in the fetus during labor and at delivery. *Obstet. & Gynec.* 45, 155-158 (1975).
- CHROCHINOW, R. H., KETUPANYA, A.: Amniotic fluid reactivity detected by somatomedin C Radioreceptor assay: correlation with growth hormone, prolactin and fetal renal maturation. *J. Clin. Endocrinology & Metab.* 42, 983-986 (1976).

Qualitätssicherung in der Virologie

U. P. Merten

INSTAND, Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium e. V.

Seit 1979 führt INSTAND in Zusammenarbeit mit dem Nationalen Referenzzentrum für Virushepatitis, Göttingen, Ringversuche zur Bestimmung von HBs-Antigen (Subtypen ad und ay), HBe-Antigen, Anti-HBe, Anti-HBs, Anti-HBc und IgM-Anti-HBc durch. Als Proben werden Verdünnungen von Nationalen Referenzpräparaten des Bundesamtes für Sera und Impfstoffe, Frankfurt/Main, eingesetzt.

In den ersten Pilot-Ringversuchen sind 8 Proben je Gruppe qualitativ auf einen positiven Nachweis jeweils eines Markers untersucht worden. Hierdurch sind Rückschlüsse auf die Empfindlichkeit der in den einzelnen Laboratorien durchgeführten Bestim-

mung unter Berücksichtigung der jeweils eingesetzten Methoden möglich.

Im Pilot-Ringversuch 1984 sind an die verschiedenen Laboratorien neben einer bekannten Bezugsprobe jeweils zwei unbekannte Proben für die Hepatitis B-Marker versandt worden. Auch diese Proben sind aus den jeweiligen Nationalen Referenzpräparaten des Bundesamtes für Sera und Impfstoffe, Frankfurt/Main, hergestellt und die Teilnehmer aufgefordert worden, die einzelnen Parameter in den jeweiligen unbekanntenen Proben quantitativ in bezug auf eine aus der Referenzprobe hergestellten Kalibrationskurve herzustellen.

Die Ergebnisse dieser Ringversuche werden im einzelnen dargestellt.

Referenzwerte für Apolipoproteine bei Normolipämikern - Altersabhängigkeit, Geschlechtsabhängigkeit, Methodenabhängigkeit

E. Metzmann, G. Münscher, E. Otto, F. Dati

Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, Marburg

Bei 237 Blutspendern wurden in Serien von je 30 Proben die Apolipoproteine A, A-I und B mit den Methoden der radialen Immundiffusion (RID), der Laser nephelometrie (LN) und der kinetischen Turbidimetrie (T) bestimmt.

Die Übereinstimmung der verschiedenen Techniken wird mit der bivariaten Regression und der Methode von Passing und Bablok [*J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21, 709-720 (1983)] an dem Gesamtkollektiv gezeigt. Zur Erhebung der Referenzwerte werden keine Proben mit einem Gesamtcholesterin größer 2,4 g/l oder Triglyceriden größer 2,2 g/l berücksichtigt.

Durch die Bildung von fünf Altersgruppen im Bereich von 18 bis 65 Jahren wird die Altersabhängigkeit der Werte gezeigt.

Neben den Werten für die Apolipoproteine werden auch die Referenzwerte für den Apo B/Apo A bzw. Apo B/Apo A-I-Quotienten angegeben.

Die so ermittelten Referenzwerte sind für das Beispiel Nephelometrie/radiale Immundiffusion in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: Referenzwerte für zwei Methoden; Median (2,5-97,5 Percentile), n = 95 (m), 108 (w), 203 (ges.)

	Apo A (g/l)	Apo A-I (g/l)	Apo B (g/l)
LN			
m	2,33 (1,69, 3,04)	1,38 (0,95, 1,99)	1,08 (0,55, 1,65)
w	2,44 (1,79, 3,25)	1,58 (1,08, 2,30)	0,99 (0,60, 1,44)
ges.	2,35 (1,75, 3,25)	1,48 (1,02, 2,15)	1,04 (0,59, 1,55)
RID			
m	2,28 (1,56, 3,29)		1,04 (0,51, 1,60)
w	2,43 (1,79, 3,30)	nicht bestimmt	0,93 (0,63, 1,36)
ges.	2,37 (1,69, 3,29)		0,97 (0,58, 1,49)

Neue Aspekte der Laboratoriumsdiagnose genitaler Kontaktinfektionen

F. Müller

Hygienisches Institut der Freien und Hansestadt Hamburg

Mit dem Begriff „Geschlechtskrankheiten“ hat auch deren Laboratoriumsdiagnose einen Wandel sowie eine Verbesserung erfahren. Diese sind unter verschiedenen Aspekten zu sehen:

1. Änderung der Definition und Ausweitung auf zahlreiche durch den Genitalkontakt übertragene Infektionskrankheiten mit oder ohne Lokalanifestation durch den Krankheitserreger.

2. Erregerspezifische Frühdiagnose der Infektion aus lokal gewonnenem Untersuchungsmaterial mit Hilfe FITC-markierter monoklonaler Antikörper.

3. Infektionsimmunologische Erkennung der Akuität (und damit der Behandlungsbedürftigkeit) durch den Nachweis erregerspezifischer IgM-Antikörper im Patientenserum.

4. Entwicklung und Einführung hochsensibler Techniken (Enzymelinked immunosorbent assay (ELISA), Western Blotting) zur routinemäßigen Erfassung von Antikörpern, welche gegen Einzelantigene der jeweiligen Krankheitserreger gerichtet sind.

Nach einem Überblick über das Spektrum der häufigsten genitalen Kontaktinfektionen und deren klinische Manifestationen wird auf neue Möglichkeiten des direkten Erregernachweises und auf infektionsimmunologisch gegebene Möglichkeiten zur serologischen Diagnose bei Chlamydien-, Mycoplasma-, Gonokokken- und T. pallidum-Infektionen eingegangen.

Abschließend werden neue Verfahren zur Erkennung von Herpes simplex-Virusinfektionen im Genitalbereich dargestellt und es wird am Beispiel des erworbenen Immundefektsyndroms (AIDS) die diagnostische Problematik virusinduzierter genitaler Kontaktinfektionen besprochen.

Ein präziser und preiswerter Ferritin-Mikro-ELISA unter ausschließlicher Verwendung kommerziell erhältlicher Reagenzien

Ch. Müller, R. Moritz, E. Köttgen

Institut für Klin. Chemie u. Biochemie, Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin

Kommerzielle ELISA-Kits zur Bestimmung des Serum-Ferritins weisen zwei bedeutsame Nachteile auf: (a) sie sind mit Reagenzienkosten von ca. 5,- DM pro Meßpunkt sehr teuer; (b) sie sind zur Bewältigung größerer Serienlängen schlecht geeignet.

Wir stellen einen eigenen Sandwich-ELISA auf Mikrotiterplatten vor, der (i) ausschließlich im Handel erhältliche, nicht-toxische Reagenzien verwendet; (ii) auch große Serien in Doppelbestimmungen komfortabel bewältigt; (iii) in seinen Präzisions- und Richtigkeitsdaten kommerziellen Kits zumindest entspricht; (iv) in den Kosten pro Meßpunkt unter 0,10 DM liegt; (v) in seiner Technologie grundsätzlich auch auf andere Parameter anwendbar ist.

Unser Assay nutzt U-förmige Mikrotiterplatten (NUNC, Wiesbaden), IgG-Fractionen von Antiserum gegen Human-Ferritin [unkonjugiert bzw. mit Peroxidase konjugiert (Dakopatts, Hamburg)], Tetramethylbenzidin (Miles, München) als Substrat, käufliche RIA-Standards, NIBSC-Ferritin Standard (Code No. 80/602) oder käufliche Leber-Ferritin-Reinpräparate. Mit Antikörper durch Adsorption beschichtete Platten werden getrocknet, in Haushaltsfolie eingeschweißt und sind so bis zu 12 Monaten im Kühlschrank haltbar. Das Ferritin-Standardmaterial wird in 33% (v/v) Äthylenglykol gelöst und bleibt bei -20°C ebenfalls mindestens 1 Jahr stabil. Der Meßbereich der Assays ist auf 6-600 µg/l festgelegt; selbst bei einer Ferritin-Konzentration von 32000 µg/l wird kein hook-Effekt beobachtet. Die Präzision in der Serie bzw. von Tag zu Tag liegt über den gesamten Meßbereich unter 5 bzw. 8%. Die Korrelation zu käuflichen Kits (z. B. Ramco, Biermann, Bad Nauheim) ist gut. Die Gesamtdauer einer Ferritin-Bestimmung beträgt etwa 4,5 Stunden (davon 3,5 Stunden Inkubationszeiten), wobei die Serienlänge nur geringen Einfluß hat.

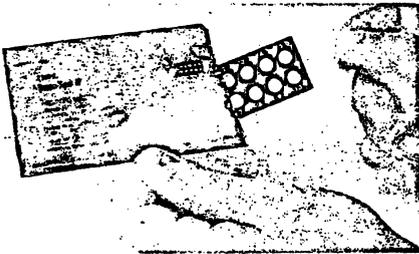
Bedeutung des „cut-off-Wertes“ für die Beurteilung dreier Prostataphosphatase-Tests

H. A. G. Müller, J. Rassweiler, K. Lutz

Klinisch Chemisches Institut und Urologische Klinik Katharinenhospital Stuttgart

Bei 261 unausgewählten Patienten, die mit der Fragestellung Prostataadenom oder -karzinom in stationärer Behandlung wa-

IMMUNFLUORESCENZ



Beschichtete Objektträger

TREPO-SPOT
TOXO-SPOT
FALCIPARUM-SPOT
RICKETTSIA CONORI SPOT
RICKETTSIA MOOSERI SPOT
COXIELLA BURNETI SPOT
ANA-TESTKIT
dsDNA-TESTKIT

- optimale Morphologie
- homogene und dichte Antigenverteilung
- kein Antigenverlust bei den Waschvorgängen
- einfache Handhabung
- wirtschaftlich durch einzeln verpackte Objektträger

Antigensuspensionen

- TREPONEMA PALLIDUM SUSPENSION
- TOXOPLASMA-ANTIGEN (IF)



Flüssige Konjugate

FLUOLINE „H“
FITC-mark. polyvalentes Antihuman-Globulin Titer ca. 1:400
FLUOLINE „M“
FITC-mark. Anti-Human-IgM Titer ca. 1:100
FLUOLINE „G“
FITC-mark. Anti-Human-IgG Titer ca. 1:100

- Sicherheit bei der Anwendung durch hohe Spezifität
- hohe, chargenkonstante Gebrauchsverdünnungen
- keine portionierte Lagerung
- keine Tiefkühlbedingungen erforderlich
- Vermeidung von Verdünnungsfehlern durch kalibrierte Tropffläschchen

Kontroll-Seren an internationalen Referenzseren titriert

- SERO-TROL für den FTA-Abs-Test
- TOXO-TROL für den Toxoplasma-IF

Zusatzreagenzien für die Immunfluoreszenz

- PBS
- EINDECKMITTEL FLUOPREP
- OBJEKTRÄGER MIT REAKTIONSFELDERN
- DECKGLÄSER

Antigen-Direktnachweis

- FLUOFRAGILIS-KIT
- HERPES MONOKLONAL-KIT

bioMérieux
api bio Mérieux GmbH
Diagnostica und Reagenzien

Postfach 1204 · 7440 Nürtingen
Tel. (0 70 22) 3 30 35 · Telex 7 267 414 biom

ren, wurde die saure Prostataphosphatase mit drei kommerziellen Enzymimmunoassays (Behringwerke, Merck, Boehringer-Mannheim) untersucht. Die histologische Untersuchung des Re-sektionsmaterials ergab bei 190 Patienten die Diagnose Prostataadenom, bei 71 Patienten die Diagnose Prostatakarzinom (12 Pat. Stadium 0, 7 Pat. Stadium 2, 35 Pat. Stadium 3 und 17 Pat. Stadium 4). Auf der Basis dieser Patientenverteilung wurden für die einzelnen Tests Sensitivität und Spezifität berechnet: Test Behring Sensitivität 0,75, Spezifität 0,61; Merck 0,69/0,78; Boehringer 0,45/0,88. Die anschließende Berechnung der ROC-Kurven ergab für alle 3 Testsysteme nahezu identische Verläufe. Es ist daher zu vermuten, daß die stark unterschiedlichen Werte für Sensitivität und Spezifität ihre Ursache in einer unterschiedlichen Auffassung über den geeignetsten „cut-off point“ haben, die Testsysteme als solche jedoch gleichwertig sind. Eine Tangente mit der Steigung der a posteriori Prävalenz (Anzahl der Adenomenpatienten/Anzahl der Karzinompatienten) ergab als optimale „cut-off points“ bei unserem Kollektiv für die Tests Behring 3,0 ng/ml, Merck 2,0 ng/ml und Boehringer 3,5 U/l. Diese Werte liegen in allen Fällen deutlich über den angegebenen Normalwerten.

Schrifttum:

1. BAUER, H. W., HACHENBERG, H.: Klinische Wertigkeit der immunchemischen Bestimmung der prostataspezifischen sauren Phosphatase unter besonderer Berücksichtigung eines immunenzymatischen Assays. In: KELLER, H.: Methodik und diagnostische Bedeutung der sauren Prostataphosphatase. Darmstadt 1983.
2. BUTTNER, J.: Die Beurteilung des diagnostischen Wertes klinisch-chemischer Untersuchungen. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15, 1-12 (1977).

Die HPTLC-Bestimmung von Theophyllin und Coffein im Serum nach Clean-up der Proben über Extrelut-1®-Säulen

T. Müller, S. Kapp

Praxis für Laboratoriumsmedizin Dr. med. Kapp/Breuer, 6500 Mainz, Bahnhofplatz 2

Der Bestimmung der Serumkonzentration von Theophyllin kommt wegen der starken interindividuellen Variabilität der Pharmakokinetik und der verschiedenen pharmazeutischen Aufbereitungen – Salze oder Derivate mit unterschiedlichem Gehalt an Theophyllin – klinische Bedeutung zu. Falls Theophyllin als Coffeinmetabolit gemessen werden soll, kann die Konzentration der Ausgangssubstanz von Interesse sein.

Von den zur Verfügung stehenden Bestimmungsmethoden wie Enzymimmunoassay, GC, HPLC, RIA, Fluoreszenzpolarisation setzen wir die HPTLC ein. Diese Methode zeichnet sich durch Rationalisierbarkeit und Wirtschaftlichkeit insbesondere bei kleinen Serienlängen aus. Präzision und Empfindlichkeit sind mit den anderen Methoden vergleichbar.

Die in der Literatur angegebenen Methoden zur HPTLC von Theophyllin basieren auf der Direktauftragung von 2–10 µl Serum auf Dünnschichtplatten (1, 2). Daraus resultiert zum einen eine erhebliche Überladung der Schicht mit Serumbegleitstoffen, was sich als Verschiebung von Rf-Werten im Vergleich zu reinen Lösungen auswirkt. Zum anderen werden an die Empfindlichkeit der Auswertegeräte hohe Anforderungen gestellt.

Wir entwickelten daher eine Clean-up-Prozedur für Serum unter Einsatz von Extrelut-1®-Säulen (Merck):

Auf eine Extrelut-1-Säule pipettieren:

500 µl Serum

500 µl Citrat-HCl-Puffer pH 3,0 (enthält β-Hydroxyethyltheophyllin als internen Standard)

1 ml Lösungsmittel (Dichlormethan/Propanol-2 = 85/15)

10 min warten

mit 6 ml Lösungsmittel eluieren. Bei 37°C abdampfen, den Rückstand in 100 µl Methanol aufnehmen. Davon 2 µl zur Chromatographie einsetzen.

Chromatographie:

Kieselgel 60 HPTLC Fertigplatten (Merck) mit Fluoreszenzindikator

Laufmittel:

Essigester/Methanol/Ammoniak 25% = 80/20/10

15 min bei Kammerfüllung aufsteigend

Auswertung:

In Situ-scan bei 275 nm (Shimadzu CS 920)

Methoden-

parameter:	Theophyllin	Coffein
Linearer Bereich:	bis 200 ng/Spot	bis 300 ng/Spot
Empfindlichkeit:	12 ng/Spot	bis 5 ng/Spot
Präzision zwischen Serien:	5,3%	5,1%
hRf:	23	53

Korrelation zur HPLC: $y = 0,996x + 0,19$; $r = 0,939$.

Interferenzen mit den Xanthinderivat Theobromin (hRf: 47) und anderen Medikamenten wurden nicht beobachtet.

Schrifttum:

1. RIECHERT, M.: J. Chrom. 146, 175-180 (1978).
2. TYNDALL, W.: Appl.letter (1983).

Durchflußzytometrie – Einfluß von Einfach- und Doppelmartierung auf die Analyse von Lymphozyten-Subpopulationen

D. Neumeier, R. Pauls, I. Willing, A. Fateh-Moghadam, M. Knedel
Inst. f. Klin. Chemie, Klinikum Großhadern, LMU München

Die immunologische Phänotypisierung von Lymphozyten-Subpopulationen mit Hilfe der Durchflußzytometrie und monoklonaler Antikörper ist von zunehmender klinischer Bedeutung. Zur besseren Charakterisierung von Zellen oder aus Zeitgründen sind simultane Markierungen mit 2 und mehr monoklonalen Antikörpern, die mit kontrastierenden Fluorochromen markiert sind, von Interesse. Es war daher Ziel dieser Untersuchung, Einflüsse der als Marker verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe und der Markierungstechnik mit Einfach- oder Doppelmartierung abzuklären.

Methode: Bei 35 Patienten wurden mononukleäre Zellen aus EDTA-Blut über Ficoll abgetrennt und mit den monoklonalen Antikörpern Leu 3a, b (T4) und Leu 2a (T8) (Becton-Dickinson, Heidelberg), konjugiert mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC) bzw. Phycoerythrin (PE), in Einfach- und Doppelmartierung inkubiert. Die Proben wurden im Durchflußzytometer analysiert und on line ausgewertet (FACS Analyzer mit Consort 30, Becton-Dickinson). Zum Vergleich der Markierungsmethoden wurde eine standardisierte Hauptkomponenten-Analyse durchgeführt.

Ergebnisse: Die prozentualen Anteile der T-Helfer- bzw. T-Suppressor-Zellen aus Einfach- und Doppelmartierungen korrelieren gut, wenn der entsprechende Antikörper jeweils mit dem gleichen Fluorochrom konjugiert ist (Leu 3a, b, $r = 0,98$; Leu 2a, $r = 0,97$). Für die Hauptkomponentengeraden ergibt sich: Leu 3a, b (FITC) Steigung 0,97, Intercept 3,18; Leu 2a (PE) Steigung 0,957, Intercept 1,70. Damit ist der Prozentwert Leu 3a, b markierter Helfer-Zellen in Einzelmartierungen im Mittel um 3,2% höher als in Doppelmartierungen mit simultaner Quantifizierung der PE-markierten T-Suppressor-Zellen. Für Leu 2a markierte Suppressor-Zellen ergibt sich in der Einzelmartierung ein im Mittel um 1,7% höherer Prozentwert. Diese Differenzen, die allein durch das methodische Vorgehen bedingt sind, sind bei der Untersuchung von Referenzkollektiven und klinischen Fragestellungen zu berücksichtigen.

Veränderungen klinisch-chemischer Parameter unter mehrwöchiger kontrollierter Carotinoideinnahme: 2. Proteine/Enzyme

O. Müller-Plathe, W. Schumacher, D. Pohland, K.-L. Elze
Allgemeines Krankenhaus Altona – Zentrallabor
Allgemeines Krankenhaus Altona – Augenabteilung
Altonaer Kinderkrankenhaus – Klinisch-chemisches Labor

Mehrfach wurde in der Literatur über starke Serumverfärbungen nach Einnahme von carotinoidehaltigen Pharmaka und Kosmetika berichtet (1, 2). Wir machten diese Beobachtung bei unseren ambulanten Patienten.

Die Absorptionseigenschaften der Carotinoide im sichtbaren und UV-Licht und ihre Fähigkeit, Radikale einzufangen, veranlassen

uns, in einer klinischen Studie die Einflüsse von Canthaxanthin und beta-Carotin auf klinisch-chemische Parameter näher zu untersuchen. Wir führen z. Zt. eine klinische Studie mit 28 gesunden freiwilligen Probanden durch, die über 3 Monate ein Canthaxanthin- und beta-carotinhaltiges Präparat in abnehmender Dosierung einnehmen.

Über die Ergebnisse nach vierwöchiger Versuchsdauer möchten wir an dieser Stelle berichten. Während dieses Beobachtungszeitraumes zeigte sich ein signifikanter Anstieg ($p = 0,02$) der Cholinesterasen-Aktivität von 4940 ± 1089 U/l ($\bar{x} \pm s$) vor Carotinoideinnahme auf 5190 ± 1125 U/l nach 2 Wochen und ein nichtsignifikanter Abfall auf 4930 ± 1150 U/l nach 4 Wochen. Die Cholinesterasenaktivität wurde mit S-Butyrylthiocholinjodid als Substrat und 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoesäure als Indikator im kinetischen Test bei 405 nm gemessen.

Wir konnten außerdem eine Zunahme des Gesamteiweiß i. S. bei der Bestimmung mit der Biuret-Methode feststellen. Die Gesamteiweiß-Konzentration stieg von $71,6 \pm 3,0$ g/l ($\bar{x} \pm s$) vor Einnahme auf $74,3 \pm 4,1$ g/l ($\bar{x} \pm s$) nach 2 Wochen an, fiel nach 4 Wochen aber wieder auf $72,1 \pm 4,3$ g/l ($\bar{x} \pm s$) ab. Sowohl der Anstieg ($p = 0,01$) als auch der Abfall ($p = 0,05$) erwiesen sich als statistisch signifikant (t-Test für verbundene Stichproben).

Da die gemessenen Gesamteiweißkonzentrationen für die Quantifizierung der elektrophoretisch getrennten Eiweißfraktionen eingegeben werden mußten, ergaben sich bei der Ausrechnung entsprechende Alterationen der einzelnen Fraktionen.

Schrifttum:

BAREFORD, D., CUMBERBATCH, M., DERRICK TOVEY, L.: Plasma Discolouration Due to Sun-Tanning Aids. *Vox Sang.* 46, 180-182 (1984).
ROCK, G. A., DECARY, F., COLE, R. S.: Orange Plasma from Tanning Capsules. *Lancet* I, 1419-1420 (1981).

Bestimmung der Konzentration von Theophyllin und Phenytoin im Speichel und Serum-Wasser

M. Dellerich¹, A. Niemann¹, G. W. Sybrecht², H. Müller-Vah³

¹ Institut für Klinische Chemie

² Zentrum Innere Medizin

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

Es wurde untersucht, welcher Stellenwert der Konzentrationsbestimmung von Theophyllin (THP) bzw. Phenytoin (PTN) im Speichel respektive Serum-Wasser beim Drug Monitoring zukommt.

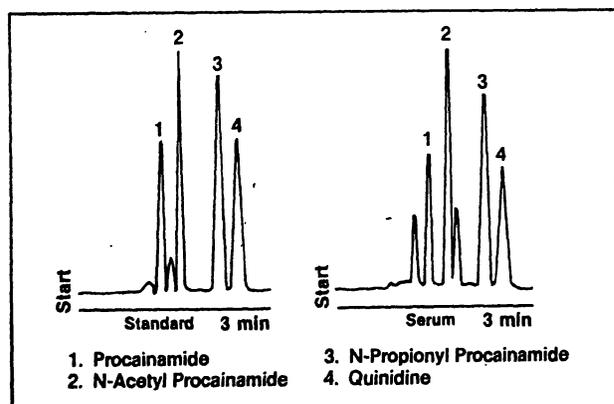
Die mittels Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay bei gesunden Erwachsenen und ambulanten Patienten im Speichel gemessene THP-Konzentration korrelierte gut mit der entsprechenden freien bzw. Gesamt-THP-Konzentration im Serum. Die THP-Konzentration im Speichel lag durchschnittlich etwa 20-30% höher als die freie THP-Konzentration im Serum-Wasser. Das Speichel/Serum-Konzentrationsverhältnis von THP zeigte eine gewisse interindividuelle Variabilität (\bar{x} : $0,68 + 0,08$; Spannweite: $0,50-0,85$). Bei der Vorhersage von steady-state THP-Serum-Konzentrationen ($n = 30$) anhand der entsprechenden Speichel-Konzentrationen ergab sich ein durchschnittlicher Fehler von 7,6% (Spannweite: $0,0-26,8\%$). Die THP-Konzentration im Speichel erscheint als Parameter zur Abschätzung der Patienten-Compliance und zur Erkennung von Patienten mit unangemessener Dosierung geeignet. Für die individuelle Optimierung der Dosierung sollte jedoch die THP-Konzentration im Serum herangezogen werden.

In einer prospektiven Studie wurde von uns eine relativ gute Korrelation ($r = 0,92$) zwischen der freien und der Gesamt-PTN-

MILLIPORE Waters Chromatographie

Waters – die Experten für die Anwendung der HPLC in der Klinischen Chemie

Katecholamine
Antiarrhythmika
Antiasthmatika
Antiepileptika
Immunsuppressiva
Antidepressiva



Klinisch getestete Routine-Analysatoren mit Funktionsgarantie und Methoden-Kit zu sehen auf dem Kongreß für Laboratoriumsmedizin 27. April—2. Mai 1985 in Hamburg

Waters Chromatographie Hauptstraße 71—79 · D-6236 Eschborn/Ts.
Tel. (06196) 4940 · Telex 418180 · Telefax (06196) 43901

Konzentration im Serum von Patienten (n = 147) beobachtet. Für das freie PTN ergab sich jedoch im Vergleich zum Gesamt-PTN eine wesentlich geringere Überlappung von therapeutischem und toxischem Bereich. Während bei 24/147 Patienten trotz hoher Gesamt-PTN-Konzentrationen (20–40 mg/l) keine Intoxikationszeichen beobachtet wurden, lagen die zugehörigen freien PTN-Konzentrationen bis auf zwei Werte $\leq 2,2$ mg/l. Die Konzentration des freien PTN gestattet vergleichsweise eine erheblich bessere Abschätzung der Toxizität und des Dosierungsspielraums.

Diagnostik immunhämolytischer Anämien des Feten und Neugeborenen

A. Poschmann, K. Fischer

Abteilung für Klinische Immunpathologie der Universitäts-Kinderklinik, Hamburg-Eppendorf

Nach den Richtlinien der „serologischen Mutterschaftsvorsorge“ für die Früherkennung des Morbus haemolyticus neonatorum sollen zu einem frühestmöglichen Termin die Blutgruppenmerkmale ABO und Rh(D) bestimmt sowie ein Antikörpersuchtest durchgeführt werden. Irreguläre Blutgruppenantikörper im Serum von Schwangeren können zu schweren hämolytischen Anämien des Kindes führen, wenn sie als IgG-Antikörper bei 37°C wirksam sind, und die entsprechenden Blutgruppenrezeptoren beim Kind entwickelt sind. Während die Rezeptoren des Rhesus- und Kellsystems etc. schon frühzeitig stark ausgeprägt sind, trifft dies weniger für das ABH-System zu. Die Lewis-Eigenschaften werden erst postnatal erworben. Auch wenn einige im Serum von Schwangeren nachgewiesenen Blutgruppenantikörper für das Kind belanglos sind, so müssen sie bei erforderlichen Bluttransfusionen der Mutter berücksichtigt werden. Der Suchtest auf irreguläre Blutgruppenantikörper muß in der Mitte der Schwangerschaft sowie möglichst 6–8 Wochen vor dem errechneten Geburtstermin wiederholt werden. Von den irregulären IgG-Antikörpern mit pathogener Bedeutung für den Fetus lassen sich immer noch am häufigsten Rhesus-Antikörper nachweisen, obwohl eine deutliche Zunahme der bisher selteneren Antikörper nach Einführung der Anti-D-Prophylaxe festzustellen ist. Bei positivem Antikörperbefund muß das Ausmaß der fetalen Anämie durch eine Fruchtwasseruntersuchung ermittelt werden. Hierbei ist der wichtigste Befund der spektrofotometrisch ermittelte Bilirubinwert, dessen Höhe die Indikation für die vorzeitige Entbindung bzw. die pränatale, intraperitoneale Bluttransfusion ergibt. Von der Hamburger Arbeitsgruppe für Perinatale Immunologie wurden von 1966 bis 1984 636 pränatale Bluttransfusionen bei 281 Feten durchgeführt, wovon 55% überlebten. Abschließend werden speziell Untersuchungsverfahren zur Immundiagnostik der ABO-Erythroblastose vorgestellt.

Die Metallintoxikation in der Akut-Medizin – Diagnostik und Therapie

O. Oster, W. Prellwitz

Abt. Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinik der Johannes Gutenberg Universität, Mainz

Die klinische Symptomatik der Metallintoxikation ist vielfältig und berührt ein bereits differentialdiagnostisches Spektrum. Der endgültige Beweis einer Metallintoxikation wird durch die Konzentrationsbestimmung des Elements im biologischen Material (Serum, Vollblut, Urin, Haare etc.) geliefert. Bei der Diagnose der Metallintoxikation haben sich die Normalwerte der Elemente im biologischen Material als nützliche Bezugswerte erwiesen um Intoxikationen zu erkennen. In Tab. 1 sind die Normalwerte von Spurenelementen im Serum, Vollblut, Urin, Haaren zusammengefaßt.

Die Elementbestimmung im biologischen Material sollte bei der Metallintoxikation so schnell wie möglich vorliegen, da die Therapiemaßnahmen hiervon deutlich beeinflusst werden können. Bei akuten Intoxikationen ist das besonders wichtig wegen des frühzeitigen Einsatzes von Antidotas. Der Beitrag berichtet über Therapieergebnisse mit dem Chelatbildner Natrium-2,3-Dimercaptopropansulfonat (DIMAVAL).

Lumineszenzimmunoassays zum Nachweis von Herpes Simplex-Virus Typ 1 und 2

S. Peitzner, R. Dennin, W. G. Wood

Klinik für Innere Medizin und Institut für Mikrobiologie der Medizinischen Hochschule Lünebeck, Ratzeburger Allee 160, Lünebeck

Ziel dieser Arbeit ist es, eine alternative Methodik zum Nachweis und zur Typisierung des Herpes Simplex-Virus aufzuzeigen, die den bestehenden Verfahren hinsichtlich ihrer Qualitätskriterien ebenbürtig ist. Zwei unterschiedliche Assayprinzipien sind dabei in der Erprobung. Als Vergleichsverfahren wählen wir den Fluoreszenzimmunoassay (FIA) von BioMérieux, der mit markierten monoklonalen Antikörpern arbeitet. Das Rachenpülwasser eines Gesunden und der Überstand einer unbeeimpften HeLa-Zellkultur liefern als Negativ-, laborinterne Standards zur Bestimmung der Spreizung und Testempfindlichkeit als Positivkontrollen in jedem Assay mit.

1. ILMA (immunoluminometrischer Assay): Nachweis des Virus und seine Typisierung in klinischen Ausgangsmaterialien (z. B. Rachenpülwasser) und in HeLa-Zellkulturen mit Hilfe von polyklonalen Antikörpern: Je 100 µl Probe inkubieren nach dem Sandwich-Assay-Prinzip in 2 Schritten (4 Std. + 2 Std.) auf einem Horizontalrüttler bei Raumtemperatur. Zwei Paare homologer Antikörper unterschiedlicher Spezifität (a-HSV 1, VR 3 und a-HSV 2, MS) wurden für jede Probe eingesetzt, der eine kovalent an die solide Phase (Polystyrolkugel) gebunden, der andere mit ABEI-H markiert. Je nach Virustyp unterscheiden sich nun die Ergebnisse bei den verwendeten Antikörperkombinationen. Über eine einfache Faktorenbildung, die sich an den mitlaufenden schwach und stark positiven Standard orientiert, ist eine Unterscheidung möglich.

2. ILSA (immunoluminometrischer markierter 2. Antikörper): Die erste Inkubation erfolgt wie unter 1., dann werden 200 µl eines 1:100 verdünnten monoklonalen Antikörpers gegen HSV Typ 1 bzw. Typ 2 in einem zweiten Schritt (2 h) zugegeben. Als universell einsetzbarer Tracer verwenden wir ein mit ABEI-H

Tab. 1: Normalwerte von Spurenelementen in Serum, Vollblut, Urin und Haaren

Element	Serum	Urin	Vollblut	Haare
Fe	0,6–1,8 mg/l			
Cu	0,6–1,7 mg/l	5–25 µg/d		
Zn	0,8–1,2 mg/l	300–800 µg/d		
Se	53–105 µg/l	5–30 µg/d	70–130 µg/l	150–600 ng/g
Cr	< 1 µg/l	< 1 µg/l		
Ni	~ 2 µg/l			
Co	~ 2 µg/l			
Al	< 4 µg/l			
Hg	< 5 µg/l	< 4 µg/l	< 5 µg/l	100–600 ng/g
As	< 5 µg/l	2–25 µg/l	< 5 µg/l	
Tl	< 20 µg/l	< 20 µg/l		
Cd		< 2 µg/l	< 2 µg/l	
Pb		< 40 µg/l	40–150 µg/l	
Pt	< 20 µg/l	< 20 µg/l		
Li*	0,5–1 mmol/l			

* Therapeutischer Bereich

markierten Kaninchen-anti-Maus-Antikörper, der über Nacht inkubiert.

In einem ersten Blindversuch wurden 48 Ausgangsmaterialien und 34 beimpfte HeLa-Zellkulturen untersucht. In 4 von 11 möglichen Fällen gelang der Virusnachweis bereits im Ausgangsmaterial. Ein im FIA negatives (falsch negatives?) Kulturergebnis war im LIA positiv (falsch positiv?). Ein fraglich positives Resultat (bei erneuter Kultur bestätigt positiv) ergab im LIA sicher positive Werte. Die Typisierung stimmte in allen Fällen überein.

Eine Reversed-Phase-HPLC-Methode zum quantitativen Nachweis der Carotinoide Canthaxanthin und beta-Carotin im Serum

D. Pohland, W. Schumacher, O. Müller-Plathe
Altonaer Kinderkrankenhaus, Klinisch-chemisches Labor
Allgemeines Krankenhaus Altona – Zentrallabor

Für die Bestimmung von Carotinoiden im Serum ist die HPLC das Verfahren der Wahl. Mehrere Methoden zur Bestimmung von Lycopene, alpha- und beta-Carotin im Serum wurden in jüngster Zeit publiziert (1). Wir haben im Zusammenhang mit einer klinischen Studie zur Abklärung des Einflusses von Carotinoiden auf klinisch-chemische Parameter eine Methode entwickelt, die den quantitativen Nachweis von Canthaxanthin und beta-Carotin im Serum erlaubt.

Wir benutzen eine Pumpe Beckmann Typ 110A, einen UV-/Vis-Detektor Biotronik BT 3030 und einen Auswerter Shimadzu C-R1B.

Als stationäre Phase setzen wir eine 25 cm x 6 x 4 Nucleosil C₁₈-Säule (Macherey & Nagel) ein; die mobile Phase besteht aus Methanol/Toluol 100:9 (V/V). Die Flußrate beträgt 1,6 ml/min bei einem Druck von 200 bar. Detektiert wird bei 463 nm.

Die Extraktion der Carotinoide aus dem Serum geschieht auf folgende Weise:

In einem 2 ml Probengefäß aus Polypropylen werden 200 µl Serum mit 200 µl 5% Brij 35 Lösung verdünnt. Unter Durchmischung werden langsam 400 µl Äthanol zugegeben. Nach gründlichem Aufwirbeln werden als Extraktionsmittel 200 µl eines Toluol/Chloroform-Gemisches (90:10; v/v) zugegeben. Das Probengefäß wird verschlossen und 2 min gerüttelt. Nach scharfer Zentrifugation werden vom Überstand 100 µl entnommen und mit 300 µl der mobilen Phase versetzt. Von diesem Gemisch werden 50 µl über eine Probenschleife injiziert.

Die Retentionszeit für Canthaxanthin liegt bei 3,2 min und die für beta-Carotin beträgt 9,3 min.

Mit einem Probandenserum, welches 1,74 mg/l Canthaxanthin und 0,20 mg/l beta-Carotin enthielt, wurde ein VK in der Serie von 0,81% für Canthaxanthin und von 6,65% für beta-Carotin ermittelt (n = 15).

Die untere Nachweisgrenze für Canthaxanthin und beta-Carotin beträgt 0,02 mg/l. Die Methode ist linear bis 12 mg/l.

Schrifttum:

1. KATRANGI, N., KAPLAN, L. A., STEIN, E. A.: Separation and quantitation of serum beta-carotene and other carotenoids by high performance liquid chromatography. *J. Lipid Res.* 25, 400-406 (1984).

β-adrenerge Rezeptoraktivität auf Lymphocyten von Patienten mit Phäochromocytom-Veränderungen nach Tumorexstirpation

D. Ratge, H. Wisser

Abteilung für Klinische Chemie, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart

Die Empfindlichkeit des β-adrenergen Systems wird durch chronische Applikation von β-adrenergen Agonisten vermindert. Im Gegensatz zu in vitro-Studien an isolierten Zellen (1) sind die Effekte einer chronischen in vivo-Erhöhung der Katecholamin-

ANTISEREN

aus **monoclonaler und/oder herkömmlicher** Gewinnung stehen in bewährter Qualität aus einer Hand in großer Auswahl zur Verfügung.

Data for clone 5004

- affinity 8×10^{10} mol/l
- cross-reactivity
 - hCG 100%
 - hCG β-chain 132%
 - hCG α-chain 2,5%
 - hLH 0,3%
 - hTSH 0,02%
- RIA sensitivity 3 U/l

monoclonal: – für Histo- und Immunochemie; Anti-AFP, -βhCG, -Lymphocyten-B der IgG- und IgM-Klasse
– für RIA; Anti-βhCG, -LH und -TSH
Weitere werden folgen!

Das breit gefächerte panchem-Programm herkömmlicher Antiseren für Steroid- und Peptidhormone ist seit langem sprichwörtlich und steht ungekürzt zur Verfügung.

Ein gut sortiertes Lager macht schnellste Lieferung zu wettbewerbsfähigen Preisen möglich.

Bezug und weitere Information

panchem

ges. f. chemische produkte mbh

Schloßstraße 3 D-8751 Kleinwallstadt
Postfach 50 Tel. 06022/21005
Telex 04188144 panc-d

konzentration wenig charakterisiert. Wir haben daher bei 7 Patienten mit Phäochromocytom vor, als auch Tage und Wochen nach Entfernung des Tumors die β_2 -Rezeptordichte auf Lymphocyten mit Hilfe von ^3H -Dihydroalprenolol-Bindungsstudien und die cyclische AMP-Bildung nach Isoproterenolstimulation parallel zu den Plasmakatecholaminen verfolgt.

Präoperativ war die Adrenalin-Konzentration bei allen untersuchten Patienten um den Faktor 2–24 höher als die Obergrenze der 95% Perzentile eines Normalkollektives (160 ng/l, n = 66). Bei einer oberen Normgrenze von 510 ng/l Noradrenalin konnten bei 6 Patienten um den Faktor 2 bis 30 erhöhte Noradrenalin-Konzentrationen bestimmt werden, während bei einem Patienten mehrmals Normalwerte ermittelt wurden. Die β_2 -Rezeptordichte war bei allen Patienten mit 500 ± 159 Rezeptorstellen pro Lymphocyt um durchschnittlich 67% niedriger als bei der Kontrollgruppe (1510 ± 355 Rezeptorstellen, n = 29). Die Dissoziationskonstante (K_D) der ^3H -Dihydroalprenolol-Bindung betrug bei den Kontrollen $0,52 \pm 0,19$ nM und war bei den Patienten mit $0,45 \pm 0,16$ nM statistisch nicht signifikant verschieden. Die Adenylatcyclaseaktivität der Lymphocyten war nach Stimulation mit $10 \mu\text{mol/l}$ Isoproterenol bei den Patienten mit 7,5 gegen 22 pmol gebildetes cAMP/10⁶ Zellen/10 min bei der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt ($p < 0,001$).

Bei komplikationsloser Entfernung des Tumors normalisierten sich die Adrenalin- und Noradrenalin-Konzentrationen innerhalb von 24 Stunden, während sich die β_2 -Rezeptordichte bei 3 Patienten von 483 auf 774 Rezeptorstellen innerhalb dieses Zeitraumes erhöhte. Diesem schnellen Anstieg der Rezeptordichte folgte eine langsamere Regenerationsphase, wobei normale β_2 -Rezeptordichten ein bis zwei Monate nach Tumorexstirpation bei allen Patienten nachgewiesen werden konnten. Die Adenylatcyclaseaktivität nahm parallel der Rezeptordichteerhöhung zu. Die Regeneration des β -adrenergen cAMP-Systems unter Hydrocortison und L-Thyroxin-Substitution bei einer hypothyreoten Patientin innerhalb von 10 Tagen wird auf eine erhöhte de novo-Synthese der Rezeptoren unter dieser Medikation zurückgeführt.

Schrifttum:

1. STILES, G. L., CARON, M. G., LEFKOWITZ, R. J.: *Physiol. Rev.* 64/2, 661–743 (1984).

Glycosylierte Plasmaproteine als Parameter der Therapieführung

G. von Recklinghausen, H. Hampel, U. Kleophas, H. Reinauer
Lehrstuhl für Klinische Biochemie und Biochemische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts, Düsseldorf

Plasmaproteine werden ebenso wie Hämoglobine in Abhängigkeit von der Höhe und Dauer der Hyperglykämie nichtenzymatisch glycosyliert. Albumin, mit einer Halbwertszeit von 21 Tagen, macht den Hauptanteil an glycosylierten Plasmaproteinen aus. Die Bestimmung von glycosylierten Plasmaproteinen eignet sich deshalb zur Beurteilung der Stoffwechselführung über einen mittelfristigen Zeitraum von etwa drei Wochen.

Glycosylierte Plasmaproteine wurden nach Johnson et al. (1982) bestimmt. Die Methode beruht auf der Eigenschaft von Ketoaminen in alkalischer Lösung reduzierend auf Nitrotetrazoliumblau zu wirken. Der Anteil des gebildeten Formazan-Farbstoffs ist direkt proportional der Konzentration an Fructosaminen. Als Standard dient glycosyliertes Albumin, kalibriert gegen Desoxymorpholinofructose (DMF)-Standards. EDTA-Plasma wurde von ambulanten und stationär behandelten Diabetikern untersucht. Im Vergleich dazu wurde die Blutglucose und glycosyliertes Hämoglobin (HbA_1) mit der Mikrosäulentechnik bestimmt. Die Ergebnisse zeigen

- einen VK in der Serie des Fructosamin-Tests von 0,98% (n = 24),
- einen VK von Tag zu Tag des Fructosamin-Tests von 3,21% (n = 10),
- eine geringe Korrelation von Fructosamin-Werten zur Nüchternblutglucose-Konzentration ($r = 0,30$, n = 106),
- eine befriedigende Korrelation von Fructosamin-Werten zum HbA_1 ($r = 0,75$, n = 185),
- eine deutliche Trennung zwischen gut und schlecht eingestellten Diabetikern.

Als Maß für die Stoffwechseleinstellung waren die HbA_1 -Werte herangezogen worden. Als schlecht eingestellte Diabetiker wurden solche mit einem HbA_1 -Wert von $> 12,0\%$ eingestuft. Die Fructosamin-Werte dieser Patienten betragen im Mittel 3,91 DMF-Äquivalente ($\text{SD} \pm 0,51$, n = 36). Die Kontrollgruppe hatte HbA_1 -Werte von 7,5% und weniger. In dieser Gruppe betragen die Fructosamin-Werte 2,66 DMF-Äquivalente im Mittel ($\text{SD} \pm 0,31$, n = 22). Die gemessenen Fructosamin-Werte in beiden Gruppen waren statistisch signifikant verschieden ($p < 0,01$).

Dem klinisch tätigen Diabetologen steht damit ein weiterer Parameter zur Verfügung, der die retrospektive Beurteilung des Kohlenhydratstoffwechsels mit einer anderen zeitlichen Auflösung als HbA_1 erlaubt. In der Diskussion werden die Absolutwerte der verschiedenen Analysenverfahren verglichen.

Schrifttum:

JOHNSON, R. N., METCALF, P. A., BAKER, J. R.: Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycoprotein. An index of diabetic control. *Clin. Chim. Acta* 127, 87–95 (1982).

Die neue Eichordnung

J. Roesner¹, R. Nink²

¹ Bundesministerium für Wirtschaft

² Physikalisch-technische Bundesanstalt

1. Die Vorschriften des Eichgesetzes für medizinische Meßgeräte sind vor kurzem geändert worden.

Die im Gesetz festgelegte Eichpflicht für bestimmte, dort aufgezählte medizinische Meßgeräte wurde gestrichen. Dafür wurde der Bundesminister für Wirtschaft ermächtigt, für medizinische Meßgeräte bestimmte im Gesetz vorgesehene Maßnahmen vorzuschreiben. Zu diesen Maßnahmen gehören die Zulassung, die Prüfung der Meßgeräte auf Übereinstimmung mit der Zulassung (Eichung oder Konformitätsbescheinigung des Herstellers), die Wartung der Meßgeräte sowie die Vornahme von Kontrolluntersuchungen und die Teilnahme an Vergleichsmessungen.

Einzelheiten sind in der Eichordnung zu regeln.

Die neuen Vorschriften des Eichgesetzes und die Gründe für seine Änderung werden erläutert.

2. In Zusammenhang mit dem novellierten Eichgesetz wird die Eichordnung z.Z. neu gestaltet. Es wird erläutert, welche Maßnahmen für bestimmte medizinische Meßgeräte vorgesehen sind. Unverändert bleibt die Zulassungs- und Eichpflicht für Thermometer, nicht-invasive Blutdruckmeßgeräte, Blutmischpipetten, Zellenzählkammern, Augentonometer, Ophthalmodynamometer und Therapedosimeter.

Änderungen gegenüber dem derzeitigen Eichrecht wird es geben für Waagen, Dichtemeßgeräte und Volumenmeßgeräte für Flüssigkeiten.

Neu in die staatliche meßtechnische Überwachung werden folgende medizinischen Meßgeräte genommen:

Audiometer, automatisch interpretierende Elektrokardiographen, Ergometer, Photometer und elektronische Blutkörperchen-Zählgeräte. Bei diesen Geräten sind anstelle von Eichung andere Überwachungsmaßnahmen vorgesehen, die im einzelnen erläutert werden.

Der Einfluß körperlicher Leistung auf das rote Blutbild

L. Röcker

Gemeinschaftspraxis Dr. med. Wolfgang Eicke und Prof. Dr. med. Lothar Röcker und Institut für Leistungsmedizin Berlin

Körperliche Aktivität kann in Abhängigkeit von Intensität und Dauer zu langdauernden Veränderungen des roten Blutbildes führen (1, 2). Im folgenden sollen die Ergebnisse akuter Veränderungen des roten Blutbildes (A) nach einmaligen körperlichen Leistungen und die chronischen Veränderungen (B) bei Trainierten dargestellt werden.

A. Bei kurzdauernden körperlichen Leistungen (≤ 30 min) kommt es zu einer Hämokonzentration des Blutes. Die Folge ist ein Anstieg des Hämatokritwertes, der Hämoglobinkonzentration und der Erythrozytenkonzentration von 10–30%. Eine Normali-

sierung erfolgt innerhalb von 30 min. Längere Laufzeiten haben einen geringeren Effekt auf das rote Blutbild, sie führen z.T. sogar zu gegensätzlichen Veränderungen, die jedoch tagelang nachzuweisen sind (1). Durch intrazellulären Wasserverlust zeigen sich hierbei auch Veränderungen der Erythrozytenindices. Außerdem kommt es bei langdauernden Laufleistungen zu einer mechanischen Zerstörung von Erythrozyten. Diese intravasale Hämolyse konnte durch einen Haptoglobinabfall verifiziert werden. Beim Überschreiten der Hämoglobin-Bindungs Kapazität tritt sogar eine Hämoglobinurie auf.

B. Chronische Veränderungen. Da die Erythrozytenkonzentration durch die Regulation der Erythropoese und die Regulation des Blutvolumens bestimmt wird, hängen chronische Veränderungen des roten Blutbildes weitgehend davon ab, in welchem Ausmaß diese beiden Mechanismen durch körperliches Training stimuliert werden. Es ist experimentell gesichert, daß beim Ausdauertrainierten das Blutvolumen vergrößert ist. Durch Querschnitts- und Longitudinalvergleiche konnte gezeigt werden, daß diese Blutvolumenzunahme u. a. durch eine überproportionale Vergrößerung des Plasmavolumens bedingt ist (2). Diese Hämodilution führt dazu, daß beim Trainierten normalerweise subnormale Werte des roten Blutbildes gefunden werden (2). Dieses Phänomen darf jedoch nicht mit der sogenannten Sportanämie verwechselt werden, die nur vorübergehend zu Beginn eines intensiven Trainings in Form einer normochromen hämolytischen Anämie auftreten kann. Allerdings sind Ausdauerportler z. B. durch den erhöhten Schweißverlust im Dienste der Temperaturregulation in besonderem Maße gefährdet, in einen (latenten) Eisenmangel zu geraten, wie wir an einer größeren Gruppe von Marathonläufern anhand des Ferritin-Spiegels nachweisen konnten.

Für die Labordiagnostik kann körperliche Aktivität eine bedeutende präanalytische Fehlerquelle darstellen.

Die antibakterielle Wirkung des Fruchtwassers gegen B-Streptokokken

L. Salgó, A. Pál, L. Kovács

Kinderklinik und Gynäkologische Klinik der Medizinischen Universität Szeged, Ungarn

In den letzten Jahren steigerte sich das Interesse für die biochemische, genetische und mikrobiologische Untersuchung des Fruchtwassers bedeutend.

Zahlreiche Untersuchungen haben bewiesen, daß in dem Fruchtwasser Bakterien zu finden sind, und trotzdem – von wenigen Prozenten abgesehen – keine Infektion nachgewiesen werden konnte. Das zeigt auf die Möglichkeit, daß das Fruchtwasser über eine antibakterielle Wirkung verfügt.

Die Infektion mit Streptokokken der Gruppe B der Neugeborenen bedeutet ein wohlbekanntes und sehr ernstes Problem. Im allgemeinen kommt die Infektion während der Geburt zustande, doch die Möglichkeit einer intrauterinen Infektion kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

Wir haben die antibakterielle Einwirkung von 122 Fruchtwässern mit Hilfe einer Keim-Zählungsmethode und mit der Methode der optischen Densität untersucht. Wir haben nach Zusammenhängen zwischen den anorganischen Bestandteilen und der antibakteriellen Wirkung des Fruchtwassers gesucht. Unsere Ergebnisse haben bewiesen, daß das Fruchtwasser eine Wirkung von bakteriostatischem Charakter (gegen B-Streptokokken) hat und diese Wirkung erst nach der 32. Woche der Schwangerschaft auftritt. Der antibakterielle Effekt hängt bedeutend von der Lysozym- und Zn-Konzentration des Fruchtwassers ab.

Die Bedeutung der Gamma-Glutamyltransferase-Aktivität in der gynäkologischen und perinatalen Praxis

L. Salgó, Á. Szabó, K. Moholi, L. Bódis

Kinderklinik der Medizinischen Universität Szeged und Gynäkologische Abteilung, Krankenhaus Szeged, Ungarn

Das Enzym Gamma-Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2) ist ein Glykoprotein. Die physiologische Rolle dieses Enzymes ist noch

ungenügend geklärt, trotz der sehr intensiven Forschungsarbeiten. Das Enzym beteiligt sich am Aminosäuretransport und katalysiert die Übertragung von Gamma-Glutamyl-Resten verschiedener Peptide auf Aminosäuren oder auf andere Peptide.

Die Zielsetzung unserer Arbeit war, die Gamma-Glutamyltransferase-Aktivität der verschiedenen körperlichen Sekrete von Schwangeren und Neugeborenen zu bestimmen.

Die Untersuchung des Serums von 563 Schwangeren zeigte, daß die Enzymaktivität des Serums durch die Gravidität nicht beeinflusst wird, im Gegensatz zur Aktivität des Fruchtwassers, welche in der 14.-19. Woche maximal war. Im Nabelschnurblut von Frühgeburten ist die Aktivität signifikant geringer ($p < 0,01$) als bei reifen Neugeborenen. Der Unterschied verschwindet erst im zweiten Monat. Die Gamma-Glutamyltransferase-Aktivität der Muttermilch aus verschiedenen Laktations-Perioden zeigt, daß die höchste Enzym-Aktivität im Colostrum nachgewiesen wurde.

Multidimensionale Bioaffinitäts-HPLC von Ribonucleosiden in Harn und Serum nach Applikation von Inosinplex

E. Schlimme¹, K.-S. Boos¹, U. Meyer¹, H. Hobler², T. Schnelle², K. Federlin²

¹ Laboratorium für Biologische Chemie der Universität, Paderborn

² Medizinische Klinik III und Poliklinik der Universität, Gießen

Die Entwicklung eines Bioaffinitäts-hochleistungsflüssigchromatographischen Verfahrens erlaubt mit Hilfe einer Säulenschalttechnik (1) neuerdings die direkte und selektive Aufreinigung sowie Analyse von derzeit etwa 20 Ribonucleosiden in Harn und Serum. Diese automatisierbare „on-line“-Ribonucleosidanalytik ist auch für die direkte Verlaufskontrolle sowie Wirkstoffanalyse bei einer Nucleosidtherapie mit Inosinpräparaten (Inosin comp., Inosin-Hepaticum, Inosin-Panthenol) geeignet, die beispielsweise bei Stoffwechselschwäche von Herz und Leber oder zur Prophylaxe und Dauertherapie von Durchblutungsstörungen appliziert werden.

Nach Gabe einer therapeutischen Dosis von Delimium® ist die N1-Methylinosin-Ausscheidung im Harn etwa fünffach höher ($213,9 \pm 54,3 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$, $n = 5$) als in einer unbehandelten Probandengruppe ($40,6 \pm 9,0 \mu\text{mol}/24 \text{ Std.}$, $n = 5$).

Anderer (methylierter, hypermodifizierter und unmodifizierter – wie das applizierte Inosin-) Ribonucleoside, von denen einige – wie N1-Methylinosin – als pathobiochemische Indikatoren gelten (N2-Dimethylguanidin, N6-Carbamoyl-threonyladenin), zeigen keine auffälligen Ausscheidungsunterschiede vor und nach Einnahme von Delimium®.

Die Serum-Konzentration von N1-Methylinosin ist nach Einnahme von Delimium® ebenfalls deutlich erhöht [$1,0 \pm 0,6 \mu\text{mol}/\text{l}$, $n = 5$; gegenüber $0,1 \mu\text{mol}/\text{l}$, $n = 5$, einer unbehandelten Probandengruppe wie in (2)].

Diese Ergebnisse sprechen für eine direkte selektive Methylierung des Immunmodulators Inosin auf der monomeren Stufe. Ob bzw. inwieweit ein kausaler Zusammenhang zwischen der Bildung von N1-Methylinosin und der therapeutischen Wirkung von Inosinplex besteht, bleibt zu klären.

Schrifttum:

- HAGEMER, E., KEMPER, K., BOOS, K.-S., SCHLIMME, E.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 175 (1984).
- GEHRKE, C. W., ZUMWALT, R. W., McCUNE, R. A., KUO, K. C.: In: Modified Nucleosides and Cancer, Springer Verlag, S. 344 (1983).

Glycosylierte Hämoglobine: Ionenaustauschverfahren und Affinitäts-Chromatographie im Vergleich

G. Schmid, R. Vormbrock

Biochemische Forschung E. Merck, Darmstadt

Ein Ionenaustauschverfahren und eine affinitätschromatographische Methode zur Bestimmung von glycosylierten Hämoglobinen mittels Mikrosäulen wurden miteinander verglichen.

Die Ionenaustauschchromatographie führt zur Bestimmung von Hb A₁ (Hb A_{1a} + Hb A_{1b} + Hb A_{1c}), da die durch Glycosylierung am β-terminalen Valin des Hämoglobins bedingte Ladungsänderung eine Auftrennung von Hb A₀ und Hb A₁ ermöglicht. Die Affinitätschromatographie dagegen beruht auf der Bindung von cis-diol-Gruppen der stabilen Ketoaminform des glycosylierten Hämoglobins an Aminophenylboronsäure-Agarose und führt zur Bestimmung von Glyc-Hb (Hb A₁ + glycosyliertes Hb A₀).

Während bei der Ionenaustauschmethode Temperatur- und pH-Schwankungen, labiles Hb A₁, Hb-Varianten (Hb F, Hb C, Hb S) und Pharmaka (Acetylsalicylsäure) zu signifikant unterschiedlichen Hb A₁-Werten führen, bleibt die affinitätschromatographische Bestimmung davon weitgehend unbeeinflusst.

166 Proben wurden mit beiden Methoden bestimmt, wovon 94 im Normalbereich und 70 Proben im diabetischen Bereich lagen. In 2%-Schritten (Hb A₁) wurden die jeweiligen Mittelwerte (\bar{x} Hb A₁, \bar{x} Glyc-Hb) miteinander verglichen. Dabei zeigte sich, daß die affinitätschromatographischen Werte mit zunehmenden Hb A₁-Werten überproportional anstiegen. Es besteht daher zwischen Hb A₁ und Glyc-Hb ein nicht-linearer Zusammenhang, der zeigt, daß Glyc-Hb eine Erhöhung der Glycosylierungsrate empfindlicher anzeigt als Hb A₁.

Diese höhere Sensitivität der affinitätschromatographischen Methode im diabetischen Bereich kann auf die zunehmende Seitenkettenglycosylierung am Hb-Molekül zurückgeführt werden. Insgesamt führen die Unabhängigkeit von Interferenzen und die erhöhte Empfindlichkeit der Glyc-Hb-Bestimmung zu einer besseren diagnostischen und therapeutischen Aussage.

Immundiagnostik tropischer Virusinfektionen

H. Schmitz

Bernhard-Nocht-Institut, 2000 Hamburg 4

In den letzten Jahren wurde durch Einführung von Immunezymtesten die Diagnostik auch der tropischen Viruserkrankungen erheblich vereinfacht und verbessert.

Durch Verwendung von Enzym-markiertem Antigen (ELA) lassen sich IgM-Antikörper gegen Flavi und alpha-Viren nachweisen, so daß akute Infektionen mit diesen Erregern besser diagnostiziert werden können. Auch für den Nachweis von IgG-Antikörpern kann unser Testsystem Verwendung finden. Allerdings werden für den virus-spezifischen IgG-Nachweis die Platten nicht mit anti-Schwerketten-Antikörper beschichtet wie beim IgM-Test, sondern mit Rheumafaktor.

Eine weitere Verbesserung der Methoden konnte durch die Gewinnung monoklonaler Antikörper gegen verschiedene Tropen-Viren erhalten werden. Durch den Einsatz dieser Antikörper können nun die immunologischen Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen Flavi-Viren ausgeschaltet werden. Außerdem gelingt es mit diesem monoklonalen Antikörpern, Virusantigen mit hoher Empfindlichkeit in Patientenmaterialien nachzuweisen.

Schließlich werden auch Immunofluoreszenz-Methoden vorgestellt, die den Nachweis von Antikörpern gegen erst kürzlich isolierte Erreger wie das Hantaan-Virus oder das HTLV-III-Virus ermöglichen.

Synovia-Analyse in der Laborpraxis

(Untersuchung von Punktaten aus Gelenken, Sehnenscheiden und Schleimbeuteln)

F. Schilling

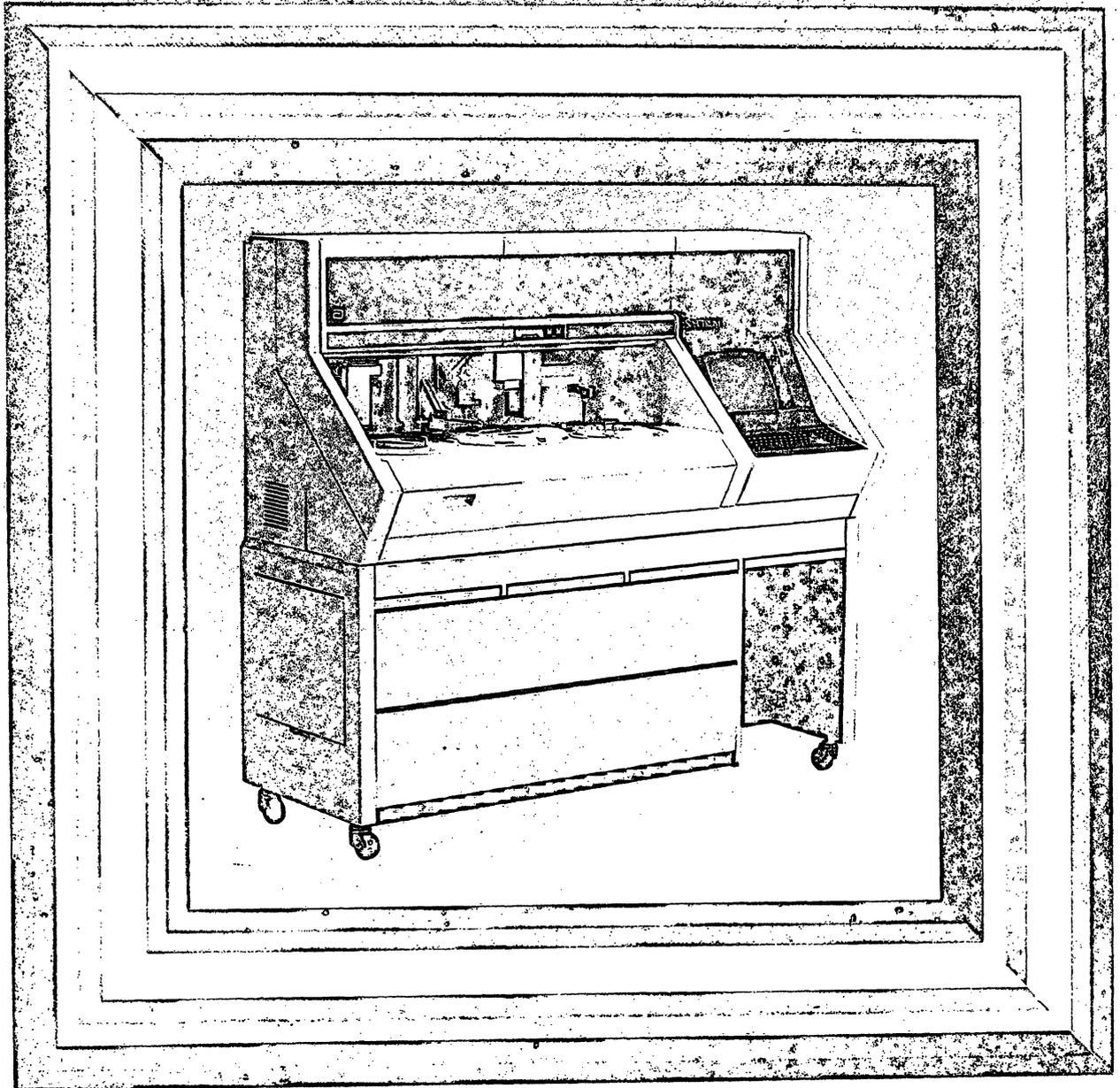
Rheumaklinik Bad Kreuznach und

Zentrum für Rheuma-Pathologie Mainz

	Nicht bis wenig entzündlicher Reizerguß	Entzündliches Exsudat (Synovitis)			Pyoarthritits
		Arthritis	Gicht	Pseudogicht	
1. Aspekt	hell, durchsichtig	trüb, undurchsichtig			eitrig
2. Viskosität	fadenziehend	erniedrigter Muzingehalt			
3. Zellzahl (kernhaltige Zellen/μl)	0-800 (-2000)	6000->40000			>60000
4. Mikroskopie					
a) Nativtropfen:					
Ragozyten	0	10 bis 80	(+)		bis 100%
Mikrokristalle	0	0	Na-Urat neg.	Ca-Pyrophosphat pos.	
pol.-opt. doppelbrechend					
b) Ausstrich:					
Segmentkernige Granuloz.	<10%	akut: >80% chron.: <70%			massenhaft
5. Chemie					
a) Eiweiß	<2,5 g% (3,0)	3 bis >5 g%			
b) Harnsäure	dem Serumwert entsprechend		= >6,4 mg/dl		
c) Glukose	wie Serumwert	erniedrigt			stark erniedrigt
d) Laktat		>30 mg/dl			>60 mg/dl
6. Enzyme					
a) Aldolase	~ <3,5 U/l	>3,5 U/l			
b) saure Phosphatase	~ <13 U/l	>13 U/l			
c) Laktatdehydrogenase	~ <240 U/l	>240 U/l			
7. Immunologie					
a) Rh.-Faktor	negativ	pos./neg.	neg.	neg.	neg.
b) Immunologie	1/2 Serumwert	=, ↑			
c) C3, C4		=, ↓, ↑			
8. Bakteriologie					
a) Allg.-Kultur	steril	steril	steril	steril	+
b) Go.-Kultur					
c) Tbc-Kultur					

ABBOTT SPECTRUM™

Das Analysensystem für Ihre individuellen Anforderungen.



Polychromatische Messung
Prozeß-optimierte Software
Variabel-selektive Arbeitsweise

Arbeitsweise: Serie, Profil, Notfall, variabel-selektiv
Methoden: 23 frei wählbar, davon 3 Elektrolyte
Methodenspeicher: 128 Methoden
Analysendurchsatz: ca. 600 Tests/Stunde
Probenvolumen: durchschnittl. 5 μ l
Reagenzvolumen:
durchschnittl. 250 μ l

 **ABBOTT Diagnostic
Products GmbH**

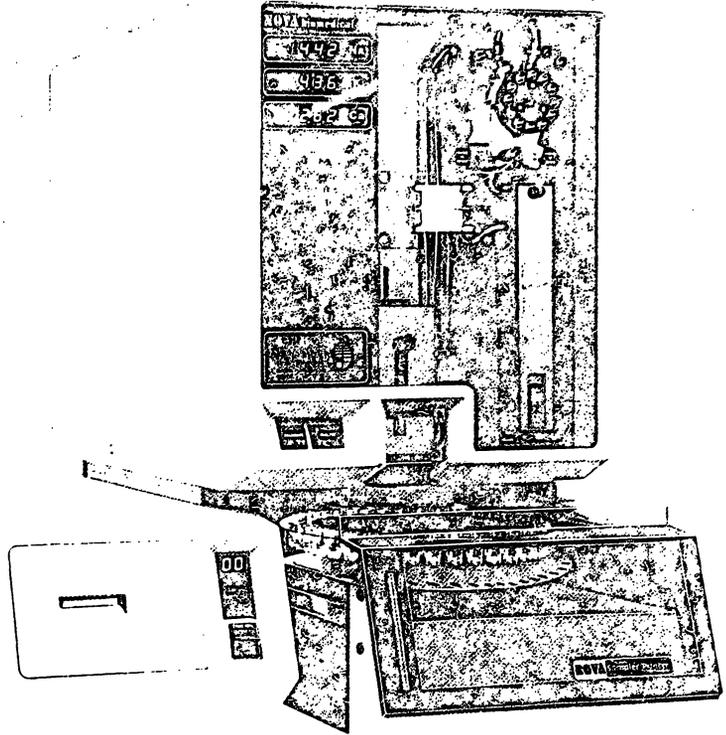
Max-Planck-Ring 2
D-6200 Wiesbaden-Delkenheim
Tel. 06122/501431/487


 Ich bitte um den Besuch eines Außendienstmitarbeiters
 Ich bitte um Zusendung von Prospektmaterial
Name:
Adresse:
Tel.:

NOVA
biomedical GmbH

NOVA 10

**potentiometrisch ionenselektiv messende
Geräte für Na⁺, K⁺, Cl⁻ und Ca²⁺**



NOVA 10 ist ein preiswertes, leichtes Gesamt-
messgerät für Ionenkonzentrationen – mit einer
Messwertweite bis zu 10⁻¹ mol/l – eingebaut ist in
die Modelle NOVA 9, NOVA 9 und NOVA 10.
Die Geräte sind für die meisten Ionen-Geräten so
konstruiert, daß sie für bis zu 5000 Messungen
ohne Nachjustierung ausreichen. Einsetzbar Auto-
messung.

NOVA 10 ist ein sehr genaues und leicht
bedienbares Messgerät für die
potentiometrische Messung von Ionenkonzentrationen
in Flüssigkeiten. Die Messung erfolgt
über eine selektive Ionenelektrode.

Wissenschaftliche Untersuchungen haben
bestätigt, daß nur die direkte, also ohne Verdun-
nung arbeitende Potentiometrie, bei lipamischen
Serum richtige Ergebnisse liefert. Alle NOVA-
Geräte arbeiten nach diesem Prinzip.

Wir treten den Beweis an, durch eine Vortführung
in Ihrem Labor. Rufen Sie uns an.

Rufen Sie uns an!
(0615) 26188

NOVA
biomedical GmbH

Wiederholungsbestellung: 0615 26188
Telefax: 0615 26188

Wiederholungsbestellung: 0615 26188
Telefax: 0615 26188

MASTDIAGNOSTICA



Es ist soweit:
Immunfluoreszenz
Made in Germany

MAST.

Mast Diagnostica
Laboratoriumspreparate GmbH
Schubertstr 5 2000 Hamburg 76
Tel 040/2 20 14 27
Telex 2 11 319 mast d





MEDICA MONTREUX

12. Internationaler Seminar-Kongreß für ärztliche Fortbildung

22. Juli – 2. August 1985, Montreux/Schweiz

Kurzprogramm

1. WOCHE vom 22.–26.7.1985

- * **Ultraschall-Grundkurs mit praktischen Übungen**
** Dr. v. Klinggräff, Dr. Gebhardt, Dr. Hoffmann, Dr. Christensen, Hamburg
- * **Langzeit-EKG-Kurs I mit praktischen Übungen**
** Prof. Dr. Bethge und Dr. Gonska, Göttingen
- Thermographie-Kurs**
Dr. Engel, Baden-Baden; Dr. Gautherie, F-Straßburg
- EKG-Kurs für Anfänger**
Prof. Dr. Egidy, Wiesbaden
- * **Einführung in die endoskopische Magendiagnostik mit praktischen Übungen am Phantom**
** Dr. Feinauer, Dr. Fular, Dr. Lüke und Dr. Sachs, Stuttgart
- Neuralthherapie-Kurs (Grundkurs)**
Dr. Klaus, Würzburg
- Lungenfunktions-Kurs**
Prof. Dr. Lanser, Marburg
- * **Hämatologisches Seminar (Mikroskopierkurs)**
Prof. Dr. Hellriegel und PD Dr. Fülle, Berlin
- Manuelle Medizin (Chirotherapie)**
Dr. Wolff, Trier
- Neurologischer Untersuchungskurs**
Prof. Dr. Lahoda und Dr. Pickl, Ingolstadt
- * **Wichtige Untersuchungsmethoden in der gynäkologischen Sprechstunde (Kolposkopier- und Mikroskopierkurs)**
Dr. Bauer, Wiesbaden; Prof. Dr. Breinl, Rüsselsheim;
Dr. Gundlach, Oberkochen; Dr. Seidl, Hamburg
- * **Hypnose-Kurs** — Prof. Dr. Haring, Düsseldorf
- * **Computer-Kurs** — Dr. Alboth, Wiesbaden; Dr. Köhle, Grafing
- Abrechnungs-Kurs** — H. Liebold, Stuttgart
- Gynäkologische Sprechstunde** — PD Dr. Kaiser, Wiesbaden
- Sterilität bei Mann und Frau** — Prof. Dr. Lehmann, Bielefeld
- Klimakterium** — Prof. Dr. Lauritzen, Ulm
- Rheuma-Seminar** — Dr. Miehle, Bad Aibling
- Die Anwendung von Steroiden in der Dermatologie**
Prof. Dr. Schröpl, Wiesbaden
- Proktologisches Seminar** — PD Dr. Arnold, Wiesbaden
- Häufige Fehldiagnose in der Inneren Medizin**
Prof. Dr. Kaiser, Augsburg
- Psychopharmaka in der Allgemeinpraxis**
Prof. Dr. Stucke, Hannover
- Die lumbale Bandscheibenerkrankung** — Dr. Kügelgen, Bayreuth
- Herzinsuffizienz** — Prof. Dr. Dürr, Landshut
- Präparate zur Hochdrucktherapie**
Prof. Dr. Rahn, NL-Maastricht
- Autogenes Training für Anfänger**
Prof. Dr. Haring, Düsseldorf
- Akupunktur für Anfänger**
Dr. Studer, CH-Basel, Dr. Lenggenhager, CH-Bern
- Balint-Gruppe** — Prof. Dr. Stucke, Hannover
- Aktuelle Rechtsprobleme aus dem Sozialrecht**
Prof. Dr. jur. Narr, Tübingen;
Dr. jur. Reiter und Herr Schroeder-Printzen, Kassel
- Praxis-Organisationsseminar** — O. C. Trillinger, Ohlsbach
- Klinische Demonstrationen**
Prof. Dr. Anschütz, Darmstadt; Dr. Weber, Montreux

Jedes Wochenprogramm ist in sich abgeschlossen.
Änderungen vorbehalten!

Seminargebühr:

2-wöchige Teilnahme DM 300,—, 1-wöchige Teilnahme DM 180,—.
Ermäßigung um 50% für Assistenzärzte, in der Praxis des Ehegatten tätige Ärzte, Medizinalassistenten, Studenten und Med. Assistenzberufe sowie Ärzte im Ruhestand.

* begrenzte Teilnehmerzahl ** Schutzgebühr DM 50,—

Hotel-Pauschalarrangements:

Zimmer mit Frühstück von sfr. 35,— bis 160,—
Zimmer mit Halbpension von sfr. 65,— bis 210,—
jeweils pro Person/Nacht.

Das ausführliche Programm mit Anmeldeformular kann ab 25. März 1985 beim Veranstalter angefordert werden.

2. WOCHE vom 29.7.–2.8.1985

- * **Ultraschall-Aufbaukurs mit praktischen Übungen**
** Prof. Dr. Braun, Reutlingen; Dr. Börner und Dr. Reuss, Mainz;
Dr. Pernice, Friedrichshafen
- * **Langzeit-EKG-Kurs II mit praktischen Übungen**
** Prof. Dr. Bethge und Dr. Gonska, Göttingen
- EKG-Kurs für Fortgeschrittene** — Prof. Dr. Donat, Hamburg
- * **Echokardiographie-Kurs**
** Dr. Hofmann, Dr. Schinz und Dr. Röder, Bernried;
Dr. Richter-von Arnould, Hamburg
- * **Bronchoskopischer Untersuchungskurs mit praktischen Übungen**
** Prof. Dr. Maaßen und Dr. Bauer, Essen
- Neuralthherapie-Kurs (Aufbaukurs)**
Prof. Dr. Gerbershagen, Mainz
- Manuelle Medizin (Chirotherapie)** — Dr. Wolff, Trier
- Physikalische Therapie in der Praxis**
Dr. Schneider, München
- Interne Notfallmedizin / Medikamente in der Notfallmedizin**
Prof. Dr. Bartels, Erlangen
- Seminar notfallmedizinischer Probleme und Techniken mit praktischen Übungen**
PD Dr. Grimm und Dr. Götz, Erlangen
- Ergometrie und Belastungs-EKG**
Prof. Dr. Rost, Dortmund
- Ozon-Therapie** — Dr. Kief, Wolfratshausen
- Kompressions-Therapie der venösen und lymphatischen Ödeme**
Dr. Földi, Feldberg
- Differentialdiagnose alltäglicher Beschwerdekompexe**
Prof. Dr. Kaiser, Augsburg
- Koronare Herzkrankheit**
PD Dr. Hossmann, Köln
- Diagnose und Therapie psychosomatischer Erkrankungen in der täglichen Praxis**
Dr. Laakmann und Dr. Buchheim, München
- Chronisch obstruktive Ventilationsstörungen und Notfälle in der Pneumologie** — Prof. Dr. Kaukel, Hamburg
- Die akuten zerebralen Zirkulationsstörungen**
Prof. Dr. Kugler und Prof. Dr. Paal, München
- Sportverletzungen und Überlastungsschäden im Sport**
Dr. Pabst, Grünwald
- Allergie-Seminar** — Dr. Debelic, Bad Lippspringe
- Chronischer Schmerz** — PD Dr. Wörz, Bad Schönborn
- Dermatologisches Seminar** — PD Dr. Vogt, München
- Sexualmedizin** — PD Dr. Vogt, München
- Das Ulcus — eine chronische Krankheit und ihre Therapie**
Prof. Dr. May, Bochum; Prof. Dr. Holtermüller, Frankfurt
- Schilddrüsen-Seminar** — Prof. Dr. Horster, Düsseldorf
- Kardiologische Intensivmedizin** — PD Dr. Hombach, Köln
- Diagnostik und Therapie von Dermatomykosen**
Prof. Dr. Nolting, Münster
- Urologisches Seminar** — Prof. Dr. Hallwachs, Darmstadt
- Metaplan-Seminar: Hochdruck** — Prof. Dr. Heimssoth, Damp
- Neues Behandlungsschema der Hochdruckkiga**
Prof. Dr. Gotzen, Berlin
- Praxis der Phytotherapie**
Prof. Dr. Maiwald, Würzburg
- Homöopathie-Seminar**
Dr. Gebhardt, Karlsruhe; Dr. Köhler, Freiburg
- Akupunktur für Fortgeschrittene**
Dr. Jost, CH-Lugano; Dr. Fisch, CH-Lausanne
- Autogenes Training für Fortgeschrittene**
Prof. Dr. Stucke, Hannover
- Balint-Gruppe** — Prof. Dr. Stucke, Hannover
- Diabetes-Seminar** — Prof. Dr. Haslbeck, München
- Hepatologisches Seminar** — Prof. Dr. Maier, Esslingen
- Immunologie-Seminar** — Prof. Dr. Baenkler, Erlangen
- Musikmedizin** — Prof. Dr. Rauhe, Hamburg

Veranstalter und Auskunft:

MEDICA
Deutsche Gesellschaft zur Förderung der Medizinischen Diagnostik e.V.
Löffelstraße 1, 7000 Stuttgart 70, Telefon (0711) 763443 + 761454

Magnesium-Prophylaxe in der Schwangerschaft

A. Schroll¹, A. Wischnik²

¹ Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie, Deutsches Herzzentrum, München

² Gynäkologisch-geburtshilfliche Abteilung der Krankenanstalt Rotes Kreuz, München

Die Bevölkerung in Industrieländern zeigt eine weit verbreitete Verarmung an dem essentiellen Bioelement Magnesium, wofür nicht nur eine ungenügende Zufuhr verantwortlich ist durch einseitige Ernährung, vorgefertigte Nahrung, mineralarmes Trinkwasser und Mg-arme Böden, sondern auch durch erhöhte Verluste bei Alkoholkonsum, Streß, sportliche Betätigung, Diuretika-Therapie oder eingeschränkter Resorption bei kalzium-, phosphat-, eiweiß- und fettreicher Ernährung. Ein latenter Mg-Mangel wird bei langsamer Ausbildung meist gut toleriert, doch zeigen sich unter Belastung: Bedingungen mit erhöhtem Mg-Bedarf wie Streß, Trauma, Sport, Schwangerschaft, Laktation, Operation oder einem schnell auftretenden Mg-Defizit die verschiedensten Mg-Mangelsymptome, von denen nahezu alle Organfunktionen betroffen sind. Doch korrelieren weder der Schweregrad noch die Vielfalt der Symptome mit der Höhe des Mg-Defizits.

Mg-Mangel und Schwangerschaft: Mg-Mangel im Verlauf der Schwangerschaft ist ein progredienter Risikofaktor für Mutter und Kind. Unter Mg-Mangel zeigen sich gehäuft Gestosen, vorzeitige Wehen, eine höhere Abort- und Frühgeburtsrate, neben häufigen Symptomen wie Hyperemesis und Wadenkrämpfen. Der tokolytische Einsatz von β_2 -Mimetika bringt zusätzliche kardiovaskuläre Alterationen, die unter Mg-Mangel verstärkt werden. Der ohnehin bei Schwangeren weit verbreitete Mg-Mangel kulminiert im letzten Trimenon. Ferner wird im Mg-Mangel die tropische Situation des Feten beeinträchtigt und kann so führen

zu Wachstumsretardierung, Mißbildung, Chromosomenanomalie, Hämatoepoese-störung u. a.

Mg-Substitution in der Schwangerschaft: Plasma-Mg-Spiegel an der unteren Normgrenze von 0,7 mmol/l sind ein deutliches Warnsignal, entsprechen aber kaum dem generellen Mangelzustand, da der extrazelluläre Anteil des Mg nur 1% beträgt. Kontinuierliche orale Mg-Zufuhr bringt nur über einen längeren Zeitraum Erfolg. Zur schnell wirksamen Substitution eignet sich nur die parenterale Gabe von Mg, wobei dem Mg-Aspartat eine Affinität zum Intrazellulärraum zukommt und der Zusatz von Vit. B6 die Organanreicherung verbessert. Die parenterale Substitution erfolgt unter Beachtung der Patellarsehnenreflexe, der Atemfrequenz und einer ausreichenden Nierenfunktion. Die Bestimmung des Plasma-Mg-Werte und der renalen Mg-Ausscheidung speziell bei eingeschränkter Nierenfunktion geschieht zur Sicherheit der Patienten und zur Kontrolle des Substitutionserfolgs.



Das Poster zeigt 7 einprägsame grafische Darstellungen zur Thematik ergänzt durch Textangaben zur Substitution und Physiologie des Magnesium, ferner Normal- und Therapiebereich, renale Ausscheidung und Meßmethodik für Magnesium.

Versandssysteme nach Maß

NUNC-Versandssysteme für die Sicherheit der Proben auf dem Transportweg und für die Sicherheit aller Personen, die die Proben handhaben.

Nunc Außenbehälter werden aus schlagfestem Polystyrol hergestellt, mit einer Schraubkappe oder einem Schnappdeckel verschließbar. Für 110 x 16 mm und 26 ml Innenröhrchen sind die Außenbehälter auch transparent lieferbar. Innenröhrchen oder -gefäße haben alle einen Schraubverschluß und werden in verschiedenen Ausführungen, z.B. steril, mit Schreibfeld, mit Löffel etc., geliefert.

Nuncool® Thermobehälter (ohne Abb.) für 3 oder 24 Proben halten die Proben über einen Zeitraum von 24 oder 45 Stunden konstant zwischen 1° und 5°C.



Veränderungen klinisch-chemischer Parameter unter mehrwöchiger kontrollierter Carotinoideinnahme:

1. Metabolite

W. Schumacher, O. Müller-Plathe, D. Pohland, K.-L. Elze
Allgemeines Krankenhaus Altona - Zentrallabor
Altonaer Kinderkrankenhaus - Klinisch-chemisches Labor
Allgemeines Krankenhaus Altona - Augenabteilung

Carotinoidhaltige Präparate, die Canthaxanthin und β -Carotin enthalten, werden als perorale Bräunungsmittel von vielen Menschen über längere Zeiträume hinweg eingenommen. Für Patienten mit EPP (Erythropoietische Protoporphyrin) stellen ähnliche Präparate eine wichtige Therapiemöglichkeit dar. Außerdem werden Carotinoide in großen Feldstudien als potentielle Krebsprophylaxe geprüft (1). Die Einnahme der o.g. führt zu einer Carotinämie mit deutlicher Verfärbung des Serums, die bei der Bestimmung klinisch-chemischer Parameter interferieren könnte.

Diese möglichen Veränderungen werden von uns z.Zt. in einer 5 Monate dauernden klinischen Studie mit 28 freiwilligen, gesunden Probanden näher untersucht. Diese nehmen einheitlich in der ersten Versuchswoche 3×1 Kapsel, in der 2.-4. Versuchswoche 2×1 Kapsel und in der 5.-12. Versuchswoche 1×1 Kapsel/die eines Präparates ein, welches 5 mg β -Carotin und 35 mg Canthaxanthin pro Kapsel enthält. Vor Einnahmebeginn, nach 2, 4, 8, 12, 14 und 20 Wochen wird jeweils eine Nüchternblutentnahme und eine augenärztliche Untersuchung bei jedem Probanden vorgenommen.

Hier soll über erste Ergebnisse nach 4 Wochen Versuchsdauer berichtet werden.

Bei der Bestimmung des Gesamtcholesterins mit der CHOD-PAP-Methode zeigte sich ein hochsignifikanter Anstieg ($p = 0,001$) nach 2 Wochen Carotinoideinnahme von vorher 222 ± 36 mg/dl ($\bar{x} \pm s$) auf 244 ± 46 mg/dl. Nach 4 Wochen war das Gesamtcholesterin wieder auf 232 ± 41 mg/dl abgefallen. Dieser Abfall der Konzentration war signifikant ($p = 0,05$) im t-Test für verbundene Stichproben.

Triglyceride und HDL-Cholesterin stiegen ebenfalls an, jedoch nicht signifikant.

Das nach Fällung mit Phosphorwolframsäure und Magnesiumionen indirekt bestimmte LDL-Cholesterin stieg nach 2 Wochen von 140 ± 34 mg/dl ($\bar{x} \pm s$) auf 158 ± 43 mg/dl in sehr signifikanter Weise an ($p = 0,005$) und fiel nach 4 Wochen wieder auf 147 ± 38 mg/dl ab ($p = 0,05$).

Ob es sich bei den von uns gemachten Beobachtungen um Interferenzen oder um pharmakologische Effekte handelt, kann noch nicht abschließend beurteilt werden, sondern muß im weiteren Verlauf unserer Studie abgeklärt werden.

Schrifttum:

1. PETO, R., DOLL, R., BUCKLEY, J. D., SPORN, M. B.: Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? *Nature* 290, 201-208 (1981).

Quantitativer Methodenvergleich zur Bestimmung von Pentobarbital im Serum mittels Gaschromatographie und GC-MS einschließlich Isotopenverdünnung-Massenspektrometrie

F. Susanto, S. Humfeld, H. Reinauer

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

Es wird ein Methodenvergleich zur quantitativen Analyse von Pentobarbital [5-Ethyl-5-(1-methylbutyl)-barbitursäure] im Serum, unter Verwendung von [3 H]₅Pentobarbital als internem Standard, für GC-MS mit Hilfe von Isotopen-Verdünnungsprinzip, und Butabarbital [5-Ethyl-5-(1-methylpropyl)-barbitursäure] als internem Standard für einfache massenfragmentographische - und gaschromatographische Bestimmung, beschrieben.

Die Analysen werden in aufgestockten Seren nach Extraktion über Clin-ElutTM-Säulen mit einem Siemens Gaschromatograph-Stickstoffdetektor (NSD) durchgeführt. Die quantitative Berechnung erfolgt nach Peakfläche-Integration.

Die McLafferty-Fragmentationen m/e 156 von Pentobarbital und m/e 161 (Verschiebung um 5 Masseneinheiten) des deuterierten Standards dienen als Intensitätsvergleich zur massenspektrometrischen Quantifizierung und die Basis-Fragmentationen m/e 156 von Pentobarbital und Butabarbital für die einfache massenfragmentographische Bestimmung. Die massenspektrometrischen Untersuchungen wurden am kombinierten GC Varian 3700 - Massenspektrometer MAT 112S und Rechner SS188 durchgeführt.

Die Richtigkeit und Präzision der einzelnen Analysenverfahren werden bestimmt und verglichen.

Einfache quantitative Bestimmung von Mexiletin im Serum mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie

F. Susanto, S. Humfeld, H. Reinauer

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

Mexiletin [1-(1,6-Dimethylphenoxy)-2-aminopropan] ist ein Antiarrhythmikum und wird zur Behandlung von ventrikulären Extrasystolen/Tachykardien bei koronarer Herzinsuffizienz (mit und ohne Herzinfarkt) eingesetzt.

Der therapeutische Konzentrationsbereich von Mexiletin liegt zwischen 0,5-2,0 μ g/ml Serum, in diesem Bereich beträgt die Proteinbindung 55-70%.

Diese Arbeit beschreibt eine einfache HPLC-Methode zur Bestimmung von Mexiletin im Serum unter Verwendung von [1-(2,4,6-Trimethylphenoxy)-2-aminopropan] als internem Standard.

Die Extraktion erfolgte bei pH 12 über Clin-ElutTM-Säulen mit Diethylether-Ethylacetat (1:1).

Für die Untersuchung der Präzision dienten aufgestockte Serumproben (n = 90) im Konzentrationsbereich von 0,1-5,0 μ g/ml. Der durchschnittliche Variationskoeffizient (V_k) ergab 2,3%. Bei der Überprüfung der Präzision von Tag zu Tag lagen die V_k -Werte bei 3,5%.

Die Nachweisgrenze betrug 50 ng/ml Serum, die Wiederfindungsrate lag im Durchschnitt bei 95,7%.

Eine gaschromatographische Methode zur Analyse von Propafenon im Serum mit Elektroneneinfangdetektor

F. Susanto, S. Humfeld, H. Reinauer

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

Propafenon [2'-(2-Hydroxy-3-propylaminopropoxy)-3-phenylpropiofenon] ist ein Antiarrhythmikum, das in seiner chemischen Struktur wesentliche Merkmale der β -Blocker aufweist.

Die sekundären Hydroxyl- und Aminogruppen in Propafenon führen zu einer starken Adsorption auf der Säule und verursachen ein starkes Tailing in der gaschromatographischen Bestimmung. Um die Detektion dieses Stoffes mittels EDC zu ermöglichen, werden die sekundären Hydroxyl- und Aminogruppen mit Heptafluorbuttersäureanhydrid derivatisiert.

Die Extraktion aus dem Serum erfolgt, nach Zugabe von Propafenol als internem Standard, mit einer einfachen flüssig-flüssig Extraktion, unter Verwendung von n-Hexan, in alkalischem Medium. Nach der Derivatisierung werden die Fluoracyl-Derivate an einer 25 m langen Quarz-Kapillarsäule (OV-1) getrennt.

Der Meßbereich liegt zwischen 50 und 1000 ng/ml Serum, die Wiederfindungsrate beträgt 88-95%. Die Präzision hat einen V_k von 3,2%, die Nachweisgrenze liegt bei 5 ng/ml Serum.

Schrifttum:

SUSANTO, F., REINAUER, H.: Gas-chromatographische Bestimmung von β -Rezeptorblockern in Plasma durch einen Elektroneneinfangdetektor. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 318, 425-427 (1984).

Häufigkeit von Autoantikörpern gegen Doppelstrang-DNS bei negativem ANA-Immunfluoreszenztest

A. Stiefel¹, E. W. Rauterberg²

¹ Hautklinik und

² Institut für Immunologie und Serologie, Universität Heidelberg

Autoantikörper gegen nukleäre Antigene (ANA) werden bei zahlreichen Autoimmunprozessen, insbesondere bei Kollagenosen und hier beim systemischen Lupus erythematoses (SLE) im Patientenserum nachweisbar. Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS (anti-ds-DNS-AK) korrelieren jedoch noch enger mit der klinischen Diagnose eines SLE.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, wie häufig die Befundkonstellation: ANA negativ/anti-ds-DNS-AK positiv im Einsendegut des Instituts für Immunologie und Serologie, Heidelberg, bei insgesamt 4380 mit beiden Tests untersuchten Seren auftrat. Die Antwort erlaubt abzuschätzen, inwieweit die Suche nach ANA als „screening“-Test weiterhin als sinnvoll anzusehen ist.

Insgesamt 4380 Patientenseren wurden immunfluoreszenzmikroskopisch (IF) mit Gefrierschnitten von Rattennieren auf ANA und mit Hilfe eines Radioimmunoassays (Amersham-Buchler), bzw. eines Farr-Assays mit ¹⁴C-markierter DNS (Amersham-Buchler) auf anti-ds-DNS-AK untersucht. ANA-IF Titer > 1:40 und Seren mit einer ds-DNS Bindungskapazität von > 25% bzw. mit > 25 units anti-ds-DNS-AK wurden als positiv gewertet. In 105 Fällen (2,4%) konnten anti-ds-DNS-AK bei negativem ANA-Test beobachtet werden. Diese Befundkonstellation wurde auch von anderen Untersuchern in einer ähnlichen Größenordnung beschrieben. Das Auftreten dieser Befundkonstellation erscheint per se erstaunlich, da anti-ds-DNS-AK insgesamt zur Gruppe der Autoantikörper gegen nukleäre Antigene gehören. Die Ursachen für das Auftreten dieser Befundkonstellation könnte in den folgenden Faktoren liegen:

- Höhere Sensitivität des anti-ds-DNS RIAs gegenüber der ANA-IF Methode,
- Miterfassung von Antikörpern gegen Einzelstrang-DNS (ss-DNS) im Amersham-anti-DNS-Kit (Autoantikörper gegen ss-DNS reagieren normalerweise bei der ANA-IF Methode nicht),
- Autoantikörper gegen denaturierte Kernproteine (die kommerziellen radioaktiv-markierten DNS-Produkte sind nicht frei von Begleitproteinen).

Unsere Untersuchungen an einem größeren Einsendegut zeigen in jedem Falle, daß einerseits die „screening“-Untersuchung auf ANA durch indirekte Immunfluoreszenz nicht geeignet ist, alle anti-ds-DNS positiven Seren zu entdecken, und daß andererseits die kommerziell angebotenen Produkte zum radioimmunologischen Nachweis von anti-ds-DNS-Antikörpern nicht frei von inneren Störgrößen sind.

Rationelle Mikrotechnik für immunologische, mikrobiologische und klinisch-chemische Untersuchungen

W. Stöcker, G. Geusendam, H. Berndt

Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin, Med. Hochschule Lübeck

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Berndt)

Einer sparsamen Verwendung von Proben und Reagenzien stehen bei den meisten Analysemethoden technische Schwierigkeiten entgegen: Das Analyseergebnis wird um so stärker durch Verdunstung der Flüssigkeit verfälscht, je kleiner das eingesetzte Volumen ist, außerdem lassen sich Volumina im Bereich weniger Mikroliter mit vielen herkömmlichen Dosiergeräten nicht ausreichend schnell und genau abmessen. Die hier beschriebene Mikrotechnik verringert diese Schwierigkeiten und ermöglicht gleichzeitig eine rationelle Bearbeitung großer Untersuchungsreihen:

Zwei plane Glasplatten werden mit einer hydrophoben Schicht Polytetrafluoroethylen überzogen, wobei beliebig viele Reaktionsflächen ausgespart werden und hydrophil bleiben. Die beiden Platten werden mit einem definierten Abstand voneinander in einem Gestell so angeordnet, daß sich ihre Reaktionsfelder gegenüberliegen. Zwischen den Platten können je nach Zahl der

Reaktionsfelder beliebig viele Miniaturproben mit Volumina von weniger als 1 Mikroliter separat voneinander gleichzeitig analysiert werden („Titerplane-Technik“). Bei allen Tests herrschen identische Bedingungen, die Analysen dauern gleich lange, die Ergebnisse sind daher untereinander sehr gut vergleichbar.

Die Dosiergeräte bestehen aus einem Führungsschlitten und mehreren Spritzen, deren Gesamthub von einem Rasterwerk in definierte Teilstrecken zerlegt wird. Der Inhalt der Spritzen oder vorgeschalteter Dosiergefäße wird in kleinen Schritten abgegeben. So können beispielsweise 12 verschiedene Reagenzien innerhalb einer Sekunde gleichzeitig aufgetragen werden, beliebig viele Male nacheinander.

Die Mikrotechnik wird bereits zum Nachweis von Autoantikörpern mit Gefrierschnitten (1) und zur serologischen Diagnose der Lues und der Toxoplasmose (2) eingesetzt. Über weitere Anwendungsbeispiele wird hier zum ersten Mal berichtet: Blutgruppenbestimmung, Messung des Glucosespiegels im Serum, Nachweis von Antikörpern gegen Thyreoglobulin und andere lösliche Antigene mit Immunblotting-Verfahren (die Testantigene werden an eine Nitrocellulosefolie gekoppelt, die rückseitig mit einer für Klebstoff undurchlässigen Polyester membran ausgerüstet ist, Fragmente der Folie werden dann auf die Reaktionsfelder einer der beiden Platten geklebt und mit Proben und Reagenzien inkubiert; für Screening-Untersuchungen werden mehrere, mit unterschiedlichen Antigenen gekoppelte Nitrocellulose-Folien nebeneinander auf ein Reaktionsfeld geklebt und in einem Tropfen der Probe bzw. Reagenzlösung inkubiert).

Im Vergleich zu herkömmlichen Techniken konnte bei gleichbleibenden Analyseergebnissen durch die hier beschriebene „Titerplane-Technik“ der Arbeitsaufwand für große Untersuchungsreihen stark reduziert werden, die Reagenzienkosten wurden auf Bruchteile gesenkt.

Schrifttum:

1. STÖCKER, W., SCRIBA, P. C.: In: SCHATZ, H., DONIACH, D. (Hrsg.): Autoimmunität bei Schilddrüsenerkrankungen. Thieme, Stuttgart-New York 1984, 157.
2. STÖCKER, W., HOLLANDT, H.: 4. Int. Symposium on rapid methods and automation in microbiology and immunology. Book of abstracts.

Autoantikörperprofile bei Morbus Crohn und Colitis ulcerosa

W. Stöcker, M. Otte, P. C. Scriba

Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Berndt) und

Klinik für Innere Medizin (Direktor: Prof. Dr. P. C. Scriba), Medizinische Hochschule Lübeck

Bei Colitis ulcerosa (CU) werden häufig Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen beobachtet. Um festzustellen, ob auch bei Morbus Crohn (MC) spezifische Autoantikörper auftreten, wurde ein Autoantikörperscreening durchgeführt.

Methoden

Untersucht wurden die Seren von 59 Patienten mit MC, 46 Patienten mit CU und 100 gesunden Kontrollpersonen. Die Diagnosen aller Patienten waren durch Endoskopie und Histologie eindeutig gesichert. Für den Nachweis der Autoantikörper mit der indirekten Immunfluoreszenztechnik wurden Deckgläser, deren Oberfläche zur Verbesserung der Gewebehaftung chemisch aktiviert war (1), mit Gefrierschnitten beschichtet und mit einer Diamantspitze in kleine Quadrate zerteilt. Eine Person konnte pro Tag mehrere tausend dieser Gefrierschnitt-Fragmente herstellen und portionsweise in Bliester verpacken. Die Fragmente wurden auf kleinstem Raum in flüssigem Stickstoff gelagert, wobei die Qualität der Gefrierschnitte über Jahre gleichblieb. Fragmente mit Gefrierschnitten 22 verschiedener humaner Organe, darunter adulten Pankreas und fetalen Darmgewebes, wurden nebeneinander auf ein Reaktionsfeld geklebt („Bunter Schnitt“) und gemeinsam in einen Tropfen des verdünnten Serums und danach des Fluoreszein-markierten Antihumanserums getaucht. Ein Untersucher konnte bequem 4000 Gefrierschnitte gleichzeitig inkubieren, 40mal mehr als mit der herkömmlichen Technik. Der Analysegang für die bei Titrationen ausgeführten Einzeltests wurde ebenfalls stark rationalisiert (2, „Titerplane-Technik“).

Ergebnisse

MC und CU ließen sich immunologisch klar voneinander unterscheiden (3): Bei 39% der Patienten mit MC wurden Antikörper

gegen Azinuszellen des Pankreas (PAK) festgestellt (CU 4%, Gesunde 3%), in den meisten Fällen war die PAK-Konzentration sehr hoch (Titer ab 1/100 bei 29%; CU 0%, Gesunde 0%), höher als bei allen anderen bisher untersuchten Erkrankungen einschließlich Pankreatitis. Die Verteilung des Autoantigens im Pankreasgewebe und Absorptionsuntersuchungen deuten darauf hin, daß die PAK gegen Bestandteile des Pankreassekrets gerichtet sind. Antikörper gegen intestinale Becherzellen (BAK) traten nur bei CU auf, und zwar bei 28% der CU-Patienten, in Titern zwischen 1/10 und 1/1000. BAK waren nicht Colon-spezifisch, sie reagierten gleichstark auch mit den Becherzellen des Duodenum, Jejunum und Ileum. Bei MC wurden darüberhinaus oft Antikörper gegen Magenschleimhaut gefunden (von Antikörpern gegen Belegzellen unterscheidbar), bei CU Antikörper gegen Kupffersche Sternzellen, über ihre Bedeutung ist bisher nichts bekannt. Antikörper gegen Enterozyten und gegen Zellkerne wurden bei beiden Erkrankungen sehr häufig nachgewiesen, andere Antikörper waren selten.

Diskussion

Autoantikörper gegen Darmschleimhaut bei CU wurden schon 1962 beschrieben (4). Aber erst jetzt stellte sich heraus, daß bei MC spezifische, gegen Pankreassekret gerichtete Autoantikörper vorkommen. Dieser Sachverhalt wurde durch den Einsatz neuer Analyseverfahren (1, 2) aufgedeckt, die nur einen Bruchteil des bisher für Immunfluoreszenztests nötigen Aufwandes erforderten und deshalb eine ungezielte Ausweitung des Spektrums untersuchter Autoantikörper erlaubten. PAK und BAK könnten Ausdruck einer Autoimmunität sein, die bei MC gegen Pankreassekret gerichtet ist und bei CU gegen intestinale Becherzellen. Für diese Vermutung spricht die hohe Krankheitsspezifität der beiden Autoantikörper: Hohe Konzentrationen der PAK im Serum sind nach unseren Erfahrungen pathognomonisch für MC, BAK werden dagegen ausschließlich bei CU angetroffen. Mit diesen Befunden steht offensichtlich in Zusammenhang, daß die MC-Patienten im Durchschnitt signifikant mehr Kohlenhydrate zu sich nehmen als Patienten mit CU und Gesunde (unbewußte Abwehrreaktion der Patienten? Süßigkeiten stimulieren das exokrine Pankreas nicht oder stellen es vielleicht sogar ruhig) und daß die Darmschleimhaut bei CU (aber nicht bei MC!) makroskopisch und histologisch in den Bereichen der höchsten Becherzell-dichte (Rektum, Krypten) in der Regel am stärksten befallen ist. Es werden weitere Gesichtspunkte erörtert, die dieses Konzept einer Immunpathogenese beider Erkrankungen stützen.

Schrifttum:

1. STÖCKER, K., STÖCKER, W., RITTER-FRANK, Y., SCRIBA, P. C.: Chemisch aktivierte Glasobjektträger für Gefrierschnitte und ihre Anwendung in der Autoantikörperdiagnostik. *Acta Histochem.* (Jena), Suppl. (im Druck).
2. STÖCKER, W.: Rationelle Histochemie mit einer neuen Mikroanalysemethode. *Acta Histochem.* (Jena), Suppl. (im Druck).
3. STÖCKER, W., OTTE, M., ULRICH, S., NORMANN, D., STÖCKER, K., JANTSCHKE, G.: Autoantikörper gegen exokrines Pankreas und gegen intestinale Becherzellen in der Diagnostik des Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa. *Dtsch. med. Wschr.* 109, 1963-1969 (1984).
4. BROBERGER, O., PERLMANN, P.: Demonstration of an epithelial antigen in colon by means of fluorescent antibodies from children with ulcerative colitis. *J. Exp. Med.* 115, 13-25 (1962).

Ein Expertensystem zur Unterstützung labormedizinischer Diagnostik

Chr. Trendelenburg, H. Zeller, Y. Schmitt, J. D. Kruse-Jarres
Klinisch-Chemisches Institut, Katharinenhospital Stuttgart

Einleitung: Expertensysteme erlauben die Eingabe und Pflege von Regelwerken aus eng umschriebenen Wissensgebieten mit nachfolgender Konsultation für individuelle Fragestellungen. Derzeit ist in zahlreichen wissenschaftlichen und industriellen Bereichen eine rasche Verbreitung dieser Systeme zu beobachten.

Fragestellung: Der Einsatz von Expertensystemen für medizinische Fragestellungen (1) hängt in hohem Maße von ihrer tatsächlichen Verfügbarkeit ab. Einschränkungen ergeben sich dadurch, daß Expertensysteme auf Grund ihrer Komplexität vor allem auf Minicomputern und Großrechnern entwickelt wurden. Zusätzlich fehlen bei den bisher entwickelten Systemen häufig wichtige Eigenschaften, wie z. B. die Implementation des diagnostisch unerlässlichen Zeitbegriffes.

Methodik: Basierend auf der Verfügbarkeit der für die Entwicklung von Expertensystemen sehr gut geeigneten Programmiersprache PROLOG auf Kleinrechnern wurde die Eignung dieser Kombination speziell für laborärztliche Fragestellungen untersucht. Eingesetzt wurden ein Sirius-1-Computer (Victor Technologies, Frankfurt) und ein PROLOG-1-Interpreter (Expert Systems International, Oxford). Als exemplarisches Anwendungsgebiet wurde die serologische Hepatitisdiagnostik gewählt.

Ergebnis: Aus diesem methodischen Ansatz wurde das Expertensystem PRO. M. D. (PROLOG-System zur Unterstützung medizinischer Diagnostik) mit den folgenden Eigenschaften entwickelt: 1. Berücksichtigung der logischen, der numerischen und der zeitlichen Ausprägung von Laborbefunden und Krankheitssymptomen. 2. Gewichtung unsicherer Wahrscheinlichkeiten durch dynamischen Aufbau sog. certainty factors. 3. Natürlich-sprachige Interaktion mit dem Experten und dem Benutzer. 4. Zahlreiche Hilfsfunktionen während des Ablaufs der Regelpflege oder einer Konsultation. 5. Einfache Pflege von Regelwerken für unterschiedliche Fragestellungen. 6. Speicherung von Befund- und Symptomkombinationen individueller Patienten.

Die Anwendung am Beispiel der serologischen Hepatitisdiagnostik zeigt, daß bei entsprechender Konfiguration des Regelwerkes auch komplexe Fragestellungen unter gesamthafter Einbeziehung des Zeitbegriffes bearbeitet werden können.

Schrifttum:

1. SCHNEIDER, W.: Possibilities and Limitations of Expert Systems in Medicine. In: BERGER, J., HÖHNE, K. H.: *Methoden der Statistik und Informatik in Epidemiologie und Diagnostik.* Springer 1983.

Lipase-Referenzwerte für die turbidimetrische Methode zur Bestimmung der katalytischen Aktivität der Lipase im Serum nach Ziegenhorn mit dem ACP-5040 Eppendorf

H. Temme, A. Brüstle, L. Roka

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

Die turbidimetrische Methode zur Bestimmung der Lipase im Serum nach Ziegenhorn (1) wird in der Literatur unterschiedlich bewertet (2-7). Für eine vergleichende Bewertung müssen aber die jeweils gewählten Testbedingungen berücksichtigt werden, da jede Probe ein individuelles Verhalten zeigt. Geht man von der Definition aus, daß die maximale Aufhellung/Zeit der in einer Probe enthaltenen Lipasemenge proportional ist, dann variieren die optimalen Meßzeiten von Probe zu Probe. Für die Praxis bedeutet dies, daß nur die manuelle Methode unter fortlaufender Registrierung der Extinktionsänderung eine zweifelsfreie Bestimmung der Lipase im normalen und pathologischen Bereich erlaubt. Der frühest mögliche Meßzeitpunkt variiert und ist durch das Volumenverhältnis von Probe/Reagenz beeinflussbar. Jede Automation dieser Methode zwingt zu Kompromissen. Für die von uns an den ACP 5040 adaptierte Methode bedeutet dies bei einem Probe/Reagenz-Verhältnis von 25 µl/250 µl eine Einschränkung des linearen Meßbereiches auf 30-450 U/l (25°C) für Serum und bis 300 U/l (25°C) für den Standard. Unter den gewählten Bedingungen konnte der Anteil der Bestimmungen mit steigender oder unlinearer Kinetik von 4,5% auf 0,5% gesenkt werden. Für Patientenserum wurden folgende Präzisionen erreicht (Tabelle 1):

Tab. 1:

U/l	30	50	100	150	200	300	400	450
VK _s	9,7	6,8	4,2	3,0	2,5	2,2		
VK _T	14,0	9,8	5,5	4,2	3,6	3,3	3,1	3,0

Der Vergleich mit der immunologischen Enzygnost-Lipase-Methode (Behring = x, µg/l) ergab folgende Ergebnisse für die manuelle Monotest-Methode (BM = y, U/l, 25°C) N = 119, $y = 2,202 X + 5,5$, $r = 0,938$ und für die an den ACP-5040 adaptierte Monotest-Methode (BM = y, U/l, 25°C) N = 212,

Tab. 2:

Alter Jahre	Männer N	Median U/l	Referenzbereich 2,5%-97,5% U/l	Frauen N	Median U/l	Referenzbereich 2,5%-97,5% U/l
0-15	17	-	-	14	-	-
16-30	226	34	5-116	266	39	5-122
31-45	242	46	7-131	298	54	13-132
46-60	420	57	10-155	303	62	10-142
61-75	295	57	8-155	332	65	14-142
76-90	78	51	7-135	97	61	5-150
üb. 90	2	-	-	3	-	-
0-99	1280	51	6-142	1314	56	8-139

$y = 2,226 X + 4,4$, $r = 0,946$ im Bereich von 0,5-300 µg/l Lipase im Serum.

Zur Ermittlung von Referenzwerten wurden aus allen Patienten des Klinikums Gießen des Jahres 1983 diejenigen ausgewählt, welche folgende Kriterien erfüllten:

1. Lipase, Amylase, Harnstoff, Creatinin, GPT und γ -GT mußten an einem Tag bestimmt worden sein,
2. Harnstoff-, Creatinin-, GPT- und γ -GT-Werte mußten im Normalbereich liegen und
3. Amylase-Werte mußten unter 60 U/l (25°C, Testomar-Amylase-Behring) liegen.

3252 Patientenbefunde erfüllten diese Bedingungen. Anhand der Geburtsdaten und des Geschlechtes wurden mehrfach vorkommende Befunde eines Patienten ermittelt und durch eine Zufallsauswahl auf ein Lipase-Amylase-Wertepaar reduziert. Von den nur noch einmal vorkommenden 2688 Patienten waren 1280 männlich, 1314 weiblich und von 94 das Geschlecht unbekannt. Die Referenzbereiche wurden auf graphischem Wege ermittelt. Wie aus Tabelle 2 zu entnehmen ist, steigt die Lipaseaktivität im Serum bei Männern und bei Frauen mit dem Alter an und fällt im hohen Alter wieder geringfügig ab. Die Referenzwerte stimmen mit denen für den immunologischen Enzygnost-Lipase-Test (7) gut überein (Umrechnungsfaktor 2,2) und erreichen in den Altersgruppen 46-60 und 61-75 annähernd die obere Normalbereichsgrenze von 160 U/l der titrimetrischen Methode nach Rick (8).

Schrifttum:

1. ZIEGENHORN, J., NEUMANN, U., KNITSCH, K. W., ZWEZ, W.: Determination of serum lipase. Clin. Chem. 25, 1067 (1979).
2. WEISSHAAR, H. D., SUDHOFF, H., KOLLER, P. U., BABLOK, W.: Pankreaslipase: Referenzwerte für 25°C. Dtsch. Wschr. 106, 239 (1981).
3. ALLNER, R., GASCHLER, E., HERRMANN, B.: Referenzwerte für die Lipase im Serum. Med. Welt 32, 1533 (1981).
4. GRENNER, G., DEUTSCH, G., SCHRIMDTBERGER, R., DATI, F.: Hochempfindliche Enzymimmunoassay zur Bestimmung der Human-Pankreas-Lipase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 515 (1982).
5. HOFFMANN, G. E., JUNGE, W., SCHMIDT, D., WEISS, L., HOFFMANN, S.: Immunchemische und turbidimetrische Lipasebestimmung im Serum und Urin. Ärztl. Lab. 30, 193 (1984).
6. WEISS, T., LORENTZ, K.: Vergleichende Lipasebestimmung mit turbidimetrischer Technik und Enzymimmunoassay. Lab.med. 8 63 (1984).
7. DATI, F., GRENNER, G.: Lipase-Enzymimmunoassay: Normalwerte und diagnostische Relevanz. Lab.med. 7, 110 (1983).
8. RICK, W.: Kinetischer Test zur Bestimmung der Lipaseaktivität. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 7, 530 (1969).

Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselanomalien

O. Thalhammer, A. Pollak

Department of Neonatology, Univ. Kinderklinik, Wien

Routinemäßiges Neugeborenen-Screening ist bei Störungen angezeigt, deren erste klinische Zeichen bereits Folge irreversibler Schäden sind, die übliche Diagnose über Symptome also zu spät kommt. Solche Störungen können nur durch Erfassung biochemischer Merkmale rechtzeitig erkannt werden. Da die betroffenen Neugeborenen sich zunächst durch nichts von den gesunden unterscheiden, müssen alle, also sehr große Zahlen - im Österreichischen Screening-Labor z. B. rund 90000 jährlich - untersucht werden.

Dies stellt sehr spezielle Anforderungen an die einzusetzenden Methoden: sie müssen technisch einfach, in großen Zahlen anwendbar und relativ billig sein, sie sollen möglichst wenig falsch positive, und womöglich keine falsch negativen Resultate liefern. Nicht zuletzt müssen sie mit Proben auskommen, die leicht zu gewinnen, und, wegen der notwendigen Zentralisierung, einfach zu versenden sind.

Eine solche Probe stellt Guthrie's geniale Filterpapier-Blutprobe dar: sie ist bruchsicher und leicht zu versenden. Im getrockneten Blut finden fast keine Umsetzungen statt, so daß Substrate, wie Aminosäuren und Zucker, viele Monate bis viele Jahre, aber auch Enzyme und Hormone einige bis viele Wochen unverändert bleiben. Da das Spezialfilterpapier eine konstante Porengröße hat, entspricht einer konstanten Fläche eine konstante Blutmenge. Da die Fläche von der Stanze vorgegeben ist, fallen Pipettierfehler weg. Die Blutabnahme - beim Neugeborenen durch Fersenstich - ist einfach, muß jedoch berücksichtigen, daß die vorgezeichneten Kreise ganz und durch- und durch blutgefüllt sind, die Kärtchen erst nach Trocknen in die Schutzhülle kommen, und das Trocknen nicht durch Wärme beschleunigt wird. Selbstverständlich dürfen die Kärtchen vor und nach der Blutabnahme nicht mit Fremdstoffen (Harn, Puder, Desinfizienzien) kontaminiert werden.

Im Österr. Screening-Programm werden derzeit 6 Substrat-nachweisende, 1 Enzym- und 2 Hormon-nachweisende Methoden verwendet, um 8 verschiedene angeborene Störungen zu erkennen. 3 der Substratteste und 1 Enzym-nachweisender sind biologische, das Wachstum von Testbakterien fördernde bzw. hemmende Tests („Guthrie-Teste“ im engeren Sinn), 2 Substratteste sind Fluoreszenzteste und 1 Dünnschichtchromatographisch, für T4 und TSH werden Radioimmunteste verwendet. Die Methoden werden kurz dargestellt und die damit gewonnenen Ergebnisse gezeigt.

Stellenwert eines CK-MB-EIA in der Diagnostik des akuten Myocardinfarktes

P. Trietsch, E. W. Schmidt-Marttila, H. Pitschner, H. Reck

Inst. f. Laboratoriumsmedizin und Kardiologische Abteilung, Stadt Krankenhaus Rüsselsheim

Durch Verwendung eines schnellen Enzymimmunoassays (CARDIA-CK®) konnte die Empfindlichkeit und Treffsicherheit des klinisch-chemischen Nachweises eines Myocardinfarktes wesentlich verbessert werden. Der mit Doppelantikörper-technik arbeitende Test erfaßt Enzymprotein-konzentrationen bis herab zu 4 ng/ml und wird weder durch Makro-CK noch durch CK-BB gestört. Die kurze Inkubationszeit von zweimal 30 min erlaubt auch eine notfallmäßige Durchführung. Bei 12 ng/ml lag der Variationskoeffizient bei manueller Technik bei 6,1% (n = 17). Bei klinisch und elektrokardiografisch gesichertem Myocardinfarkt in bisher 40 Fällen betrug die Sensitivität des CK-MB-EIA 97,4% gegenüber 81,6% bei Verwendung des Immuninhibitions-tests; die Probenahme erfolgte jeweils im 24-Std.-Intervall, um die Treffsicherheit unter klinischen Routinebedingungen zu prüfen. Die Untersuchung der Spezifität an einem vergleichbaren Kollektiv mit sicher ausgeschlossener Myocardinfarkt ergab mit 97% richtig negativen-Ergebnissen gleichfalls eine Überlegenheit gegenüber der konventionellen Bestimmung der katalytischen Aktivität der CK-MB mit nur 88% Treffsicherheit. Die Kombination von hoher Empfindlichkeit und Treffsicherheit bei nur einmal

täglich durchgeführter Messung erlaubt den Nachweis eines Myocardinfarktes mit einer dem EKG vergleichbaren Sicherheit; mögliche Interpretationsschwierigkeiten durch vorausgegangene Infarkte, Schenkelblockbilder o.ä. entfallen ebenso wie die Störungen durch Enzymvarianten beim Immuninhibitionstest.

Schrifttum

DODS, R. F.: *Clin. Chem.* 30, 439-441 (1984)
SCHMIDT, E. W., BENDER, W., WELLSTEIN, A.: *Lab. med.* 3, 167-170 (1979).

Tropenmedizinisch wichtige Hämoglobinopathien und Enzymdefekte

F. W. Tischendorf
Tropeninstitut Hamburg

Unter dem Begriff der Hämoglobinopathien werden erbliche Störungen der Hämoglobinsynthese zusammengefaßt, die mit einer strukturell abnormen Hb-Komponente (Hb-Anomalien) und/oder der verminderten Bildung einer oder mehrerer Polypeptidketten des normalen Hämoglobins assoziiert sind (Thalassämien). Erbliche Defekte im intraerythrozytären Enzymstoffwechsel führen wie die Hämoglobinopathien zu hämolytischen Anämien.

Das Referat gibt eine umfassende Übersicht über die laborchemisch und hämatologisch relevanten Befunde bei den Thalassämien und Hb-Anomalien der Typen S, C, D und E sowie ihren Kombinationen. Von den hämolytischen Anämien mit intraerythrozytärem Enzymdefekt wird der tropenmedizinisch wichtige Glucose-6-P-Dehydrogenase-Mangel abgehandelt und seine Beziehung zu den Hämoglobinopathien und zur medikamentösen Therapie tropischer Erkrankungen diskutiert.

Blutgruppenbestimmungen mit Erytype

H. Uthemann
Biotest-Serum-Institut GmbH, Frankfurt

Blutgruppenbestimmungen in Mikrotiterplatten wurden erstmals 1966 beschrieben (1), und seither hat diese Technik vorwiegend im angelsächsischen Raum und besonders für Blutbank-Laboratorien zunehmend an Bedeutung gewonnen (2-4). Es wird die gebrauchsfertige, mit Antiseren beschichtete Mikrotiterplatte Erytype zur Blutgruppenbestimmung im ABO- und Rh-System vorgestellt. Bei eigenen Blutgruppenbestimmungen mit Erytype ($n = 3100$) und einer Reihe externer Prüfungen ($n = 2900$), die jeweils parallel zu konventionellen Untersuchungen durchgeführt worden sind, wurden übereinstimmende Ergebnisse erhalten. 650 Agglutinations-Suspensionsmuster sind mit einem Prototyp der Microgroupomatic (Kontron Instruments) ausgewertet worden. Als Vorteile der Verwendung der gebrauchsfertigen Mikrotiterplatten Erytype für blutgruppenserologische Un-

tersuchungen erwiesen sich die deutliche Zeiteinsparung, der Wegfall der Inkubation, Sicherheit durch exakte Zuordnung der Proben und die Möglichkeit der automatischen Auswertung.

Schrifttum:

1. WEGMANN, T. G., SMITHIES, O.: A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion* 6, 67-73 (1966).
2. CRAWFORD, M. N., GOTTMANN, F. E., GOTTMANN, C. A.: Microplate system for routine use in blood bank laboratories. *Transfusion* 10, 258-263 (1970).
3. DEPEW, K. A., BALK, J. W., MEIERS, J., SCHORR, J. B.: Adaption of the microtiter technique for use in a blood bank laboratory. AAB, Atlanta, Georgia, USA (November 1977).
4. AAB: Technical Methods and Procedures. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., p. 261 (1974).

Eine neue Methode zur Calcium-Bestimmung im Serum und im Urin

H.-P. Wahl¹, P. C. Christensen², H.-J. Drygas²

¹ Biochemische Forschung, E. Merck, Darmstadt

² Allgemeines Krankenhaus Harburg - Zentrallabor, Hamburg

Die vorgestellte Methode ist sowohl für Calcium-Messungen im Serum als auch im Urin sehr gut geeignet. Sie ist als bichromatische Endpunkt-Bestimmung auf dem ERIS Analyser 6170 (Fa. Eppendorf Gerätebau) adaptiert, was den Anwendungsbereich dieses selektiven, methodenorientierten Analysensystems erweitert und den Arbeitsablauf im klinischen Routinelaboratorium vereinfacht.

Die Messungen im Serum stimmen sehr gut überein mit Ergebnissen der Atomabsorption (Flammenphotometer FL 6, Zeiß).

Die statistische Auswertung erfolgte nach dem Verfahren von H. Passing und W. Bablok (A new bio-metric procedure for testing the equality of measurement from two different analytical methods, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21, 709-720, 1983).

Da Flammenphotometrie des Calciums im Urin Störungseinflüssen unterliegt, wurde für Calcium im Urin als Vergleichsmethode die komplexometrische Titration mit dem Calcium-Analyser von Corning genommen (K. Dörner, Fluorimetrische Calcium-Bestimmung durch EGTA-Titration, *Ärztl. Lab.* 21, 48-55, 1975).

Auch hier zeigt sich nach dem oben angeführten biometrischen Verfahren eine außerordentlich gute Übereinstimmung der Meßergebnisse beider Methoden.

Diagnose Eisenmangel: Möglichkeiten und Grenzen in der Praxis

Ch. Wirkner-Thiel, B. Heinisch, A. Gripp, R. Neth
Universitätskrankenhaus Eppendorf, Medizinische Klinik,
Abteilung für klinische Chemie

Eisenmangel ist ein weltweites Problem und es ist wahrscheinlich die häufigste Ernährungsstörung. Die Eisenmangelanämie ist mit

DIFCO

bakteriell. Nährmedien, Reagenzien und serolog. Präparate

ISMUNIT

virolog. Antigene und Seren, Agglutinatoren
Pertussis, Echinococcosis, Listeria u. a.

liefert seit über 30 Jahren

OTTO NORDWALD KG., Heinrichstr. 5, 2000 Hamburg 50
Telefon (0 40) 43 28 27

Auf Wunsch Listen und Spezialliteratur

Ihre

EINBANDECKE

für die
Zeitschrift

Laboratoriumsmedizin

Jahrgang 1984

erhalten Sie zum

Preis von DM 21,80

beim

Verlag Kirchheim + Co

Postfach 2524

6500 Mainz.

70–80% die häufigste aller Anämien. Die normalen Risikogruppen für Eisenmangel sind Kinder in den ersten zwei Jahren und Frauen in der Schwangerschaft. Normalerweise findet man häufig einen Eisenmangel bei Frauen bis zum 40./50. Lebensjahr und relativ selten bei erwachsenen Männern. Es ist bekannt, daß Eisenmangel das Krankheitsrisiko erhöht.

Wir haben bei über 500 Patienten geprüft, welche in der Praxis durchführbaren Methoden für die Diagnose Eisenmangel sinnvoll sind und hierbei Hämoglobin, MCH, Serum-Eisen, Eisenbindungskapazität und Ferritin benutzt. Ein Vergleich von Serum-Eisen, ungesättigter Eisenbindungskapazität und Serum-Ferritin für MCH-Werte unter 25 pg, 25–28 pg und mehr als 28 pg hat gezeigt, daß Serum-Eisen im Vergleich zur ungesättigten Eisenbindungskapazität und dem Serum-Ferritin weniger nützlich ist. Die Literatur bestätigt diese Befunde (1, 2). Der Vergleich von Serum-Ferritin und Makrophagen-Eisen im Knochenmark zur Erfassung des Eisendepots zeigt gute Übereinstimmung (2, 3).

Aus unseren Ergebnissen und den Mitteilungen der Literatur hat sich die Serum-Ferritin-Bestimmung als bester Indikator für einen Eisenmangel erwiesen. Neben den normalen Risikogruppen ist ein erniedrigter MCH eine Indikation für eine Serum-Ferritin-Bestimmung. Im Vergleich hierzu ist die Serum-Eisen-Bestimmung allein für die Diagnose Eisenmangel nur beschränkt brauchbar.

Schrifttum:

1. SCHRÖCKSNADL, W., GABL, F.: Die Diagnostik des gestörten Eisenstoffwechsels. Wien. Med. Wochenschr. 1984, Feb. 29; 134/3–4, 63–68 (Engl. Abstr.).

Die Standardisierung der Romanowsky-Giemsa-Färbung

D. Wittekind

Anatomisches Institut II, Universität Freiburg i. Br.

Die Standardisierung von Substanzen und Präparationsmethoden, die in ärztlichen Laboratorien Verwendung finden, ist in ständigem Fortschreiten begriffen. Die Zunahme des Verständnisses, welches dem Bemühen des Instituts für Standardisierung und Dokumentation neuerdings entgegengebracht wird, dürfte zu wesentlichen Anteilen mitbedingt sein durch die ständig weitergeführte Automatisierung im ärztlichen Labor. Automation ist auf die Reproduzierbarkeit der zu verwertenden Daten angewiesen und die Erzielung von reproduzierbaren Ergebnissen ist das zentrale Anliegen jeglicher Standardisierung.

Es ist nun eine bemerkenswerte und doch wenig beachtete Tatsache, daß die Anstrengungen zur Standardisierung von Labormethoden die Färbeverfahren der cytologischen und histologischen Diagnostik recht weitgehend ausgespart haben. Die Romanowsky-Giemsa-(RG)-Färbung ist das erste Verfahren seiner Art, für welches eine DIN-Norm (Nr. 58995 Teil 1) erstellt worden ist. Diese Arbeit wurde vom Normen-Ausschuß DIN E 11 (Farbstoffe in Medizin und Biologie) geleistet*. – Die Normung der RG-Färbung kann in fast allen wesentlichen Abschnitten als Paradigma für andere wichtige cyto/histologische Färbeverfahren gelten. Im einzelnen waren in die Standardisierung einzubeziehen:

1. Die Reinigung der Trägerfarbstoffe Azur (DIN 58981 Teil 1) und Eosin Y (DIN 58981 Teil 2). Nachfolgend wurde die Entwicklung von Verfahren notwendig, um die reinen Farbstoffe „finanziell zugänglich“ zu machen. Diese Arbeiten sind nun erfolgreich abgeschlossen.

2. Entwicklung einer RG-Stammlösung, die folgenden Ansprüchen genügt:

a) sie enthält beide Farbstoffe,

b) sie ist haltbar für mindestens mehrere Monate; d.h. über längere Zeiträume werden Azur B und Eosin Y weder abgebaut, noch präzipitieren sie miteinander,

c) diese Standardstammlösung ist nicht teuer (sie wird sogar etwas billiger sein), als die bisher handelsüblichen RG-Mischungen. – Die Standard-RG-Färbung wird anhand von Beispielen aus der hämatologischen und allgemeinen Cytologie, auch der Histologie, vorgestellt.

* Für ihre konstruktive Mitarbeit sei an dieser Stelle besonders gedankt den Herren Doktoren: N. Grubhofer, U. Gunzer, A. Frhr. v. Klein-Wisenberg, H. Mociak, S. Witte, V. Zanker, H. Zimmermann.

Antiarrhythmika: Plasmaspiegelbestimmungen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie von Amiodaron und Chinidin

H. A. Weinand, M. Erdweg, M. Hoffmann

Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin der Städt. Krankenanstalten Krefeld (Dir. Prof. Dr. med. H. Finger)

In der Langzeitbehandlung von Herzrhythmusstörungen nimmt die medikamentöse Therapie nach wie vor eine zentrale Stellung ein. Bei der klinischen Anwendung von Antiarrhythmika finden die elektrophysiologische Wirkung, der kardiovaskuläre Effekt, die pharmakokinetischen Eigenschaften sowie meßbare Plasmaspiegel mehr und mehr Beachtung.

Mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) steht heute ein Meßverfahren zur Verfügung, das die Erfassung von Antiarrhythmika wie Amiodaron und Chinidin erlaubt.

Methodik: Mikroprozessorgesteuertes Pumpensystem, variabler Wellenlängendetektor und Rechner mit Schreiber (Spectra Physics).

Amiodaron: 1 ml Plasma wird angesäuert und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird aufgearbeitet und in einem isokratischen Analysengang untersucht. Die Substanz hat unter den gewählten Testbedingungen eine Retentionszeit von 16 min. Die Auswertung erfolgt nach externer Standardmethode.

Chinidin: 1 ml Plasma wird alkalisiert und im weiteren Analysengang wie Amiodaron aufgearbeitet. Die Analysendauer beträgt bei den von uns gewählten Bedingungen 10 min.

Die bisher für die beiden Antiarrhythmika Amiodaron und Chinidin durchgeführten Plasmaspiegelbestimmungen zeigen, daß mit der HPLC ein Untersuchungsverfahren zur Verfügung steht, daß ein exaktes Therapiemonitoring bei behandlungsbedürftigen Patienten mit Herzrhythmusstörungen möglich macht.

Schrifttum:

BREITHARDT, G., BORGGREFF, M.: Herz und Gefäße 3, 167–171 (1983).
GUENTERT, Th. W., COATES, P. E. et al.: Journal of Chromatographie 162, 59–70 (1979).

Untersuchungen zur Optimierung eines nach V. Silano (1) und M. O'Donnell (2) hergestellten Inhibitors zur Inhibierung der Speichel- α -Amylase

P. Witt

Gödecke AG, Bereich Labordiagnostica, Freiburg

Unter dem Begriff „ α -Amylase“ werden mehrere Isoenzyme zusammengefaßt, die im Pankreas und Parotis gebildet werden und dem enzymatischen Abbau von Polysacchariden im Gastrointestinaltrakt dienen. Zu einer differenzierten Pankreas-Diagnostik ist es notwendig, die Aktivität in der Isoamylase zu bestimmen, die als hochgradig pankreasspezifisch gilt. Eine Möglichkeit besteht in der selektiven Aktivitätshemmung der parotogenen Isoamylase (2). Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde der nach V. Silano (1) und M. O'Donnell (2) hergestellte Inhibitor verwendet. Es konnte eine Inhibierung der Pankreas- α -Amylase von 50% sowie eine 92%ige Inhibierung der Speichel- α -Amylase erhalten werden. Durch Zusatz von Guanidin bzw. Guanidin-Derivaten insbesondere von Arginin konnte bei 50%iger Hemmung der Pankreas- α -Amylase eine Erhöhung der Inhibierung der Speichel- α -Amylase auf 95% erreicht werden.

Die prozentuale Hemmung ändert sich bei Zusatz von Arginin zum Inhibitor nicht im Konzentrationsbereich von 0–250 U/l Amylase. Somit können, ohne daß mit Hilfe von Speichel- und Pankreas- α -Amylase-Standardlösungen Bezugskurven erstellt werden müssen, durch Messung der α -Amylase ohne bzw. mit Inhibitor, die Aktivitätsanteile der Pankreas- und der Speichel- α -Amylase mit Hilfe einer einfachen Formel errechnet werden.

Die Messungen zur Bestimmung der α -Amylasen wurden mit „EnzAmyl-K“, Gödecke AG, der Maltotetraose-Methode nach K. J. Pierre (3), durchgeführt. Zur Inhibierung der α -Amylase wurde ein Serum-Inhibitor-Gemisch 20 min bei 25°C inhibiert.

Schrifttum:

1. SILANO, V.: Biochim. Biophys. Acta 391, 170 (1975).
2. O'DONNELL, M.: Biochim. Biophys. Acta 422, 159 (1976).
3. PIERRE, K. J., TUNG, K. K., NADJ, H.: Clin. Chem. 22, 1219 (1976).

Immunogold Silver Technique for Light Microscopical Analysis of Blood Lymphocyte Subsets with Monoclonal Antibodies

J. Wybran, F. Romasco, J. Rosenberg

Dept. of Immunology, Hematology and Transfusion, Université Libre de Bruxelles, Belgium and Geometric Data, Wayne, PA 19087, U.S.A.

This study presents a new methodological approach to the identification of human blood lymphocyte subpopulations with optical microscopy. Blood buffy coat cells are incubated with conventional antilymphocytic monoclonal antibodies followed by gold labeled secondary antibodies and silver sensitization. Smears are made and counterstained with conventional panoptic Wright or Giemsa stain. The surface antigens appear as black dots on the lymphocytes (capping phenomenon is usually observed). This new technique (IGSS) has been compared to classical immunofluorescence (IF) in 56 patients. The following results were obtained: respectively for IF and IGSS: OKT3: 64,8% vs 72,2%, OKT4: 40,9% vs 45,4%, OKT8: 24,5% vs 27,3%, OKIA1: 11,4% vs 14,1%, OKT4/OKT8 ratio: 1,94 vs 1,95. These results clearly indicate that the IGSS method is specific and more sensitive than classical immunofluorescence. It has the advantages of using small amounts of blood (1 ml per test), being rapid (3 hours) as well as allowing cell morphological recognition on smears. These slides can be stored and are thus useful for longitudinal studies in the same patient. Finally, IGSS does not require sophisticated equipment and may be subjected to automated analysis.

Pathophysiologie der Synovia

H. Zeidler

Medizinische Klinik C der Universität Düsseldorf

Die Synovialflüssigkeit ist bezüglich ihrer niedermolekularen Substanzen ein Dialysat des Blutes. Hinzu kommen Serum-Proteine und andere Makromoleküle, deren Konzentration und Zusammensetzung infolge der selektiven Permeabilität der Synovialmembran gegenüber dem Serum verändert ist. Schließlich findet sich als Syntheseprodukt der Synovialdeckzellen die Hyaluronsäure, die für die besonderen physikalisch-chemischen und rheologischen Eigenschaften der Gelenkflüssigkeit verantwortlich ist. Eine pathophysiologische Betrachtung der Synovia muß gleichzeitig die Synovialmembran und den Gelenkknorpel mit berücksichtigen, da alle Teile des synovialen Milieus in enger Wechselbeziehung miteinander stehen.

Zunächst wird allgemein die Entstehung der Gelenkergußbildung und die damit verbundenen physikalischen, rheologischen, biochemischen, immunologischen und zellulären Veränderungen dargestellt. Es schließt sich die spezielle Pathophysiologie einiger wichtiger Gelenkerkrankungen, wie der Arthrosen, der Arthritiden, der Kristallarthropathien und der bakteriellen Arthritiden an.

Amidolytische Bestimmung von α_2 -Makroglobulin und α_1 -Antitrypsin mit einem Zentrifugalanalysator (Cobas Bio)

O. Zerbe, A. M. Gressner

Abteilung für Klinische Chemie und Zentrallaboratorium, Klinikum der Philipps-Universität Marburg

Die beiden wesentlichen Proteinaseinhibitoren α_2 -Makroglobulin (α_2M) und α_1 -Proteinaseinhibitor = α_1 -Antitrypsin (α_1AT) sind aufgrund ihrer hohen Serumkonzentrationen und breiten Inhibitorspezifität entscheidend an der Homöostase des proteolytischen Enzymsystems beteiligt (1). Ihre Bestimmung erfolgt bisher überwiegend immunologisch. Eine funktionelle Bestimmung, die der physiologischen und wahrscheinlich auch diagnostischen Bedeutung dieser Proteine wesentlich näher kommt, ist unter Einsatz chromogener Substrate möglich geworden (2, 3), doch stellte insbesondere der Reaktionsablauf des α_2M Probleme bei der Vollmechanisierung dieser Testverfahren dar und war so-

mit der Praktikabilität dieser Methode hinderlich (4). Es wurde deshalb eine Adaptation des kinetischen Farbtastes der Fa. Boehringer, Mannheim, auf den Cobas Bio (Roche) mit Programmversion 8326 vorgenommen, die eine Vollmechanisierung der α_1AT - und α_2M -Bestimmung, eine Reduktion des Probenvolumens auf 5 μ l (α_2M) und 10 μ l (α_1AT), eine Minimierung der Analysenkosten auf ca. 1/10 der manuellen Methode und einen hohen Probendurchsatz (24 Tests/3 min) gewährleistet. Die Meßdauer beträgt 2–3 min, die Meßintervalle 10 sec. Für α_1AT liegt die Unpräzision in der Serie bei einem VK = 1,2% (\bar{x} = 1,69 kIU/l, n = 23), von Tag/Tag bei VK = 4,2% (\bar{x} = 1,22 kIU/l, n = 12). Die Unrichtigkeit ist ca. -3% (\bar{x} = 0,73 kIU/l). Die Nachweisgrenze beträgt 0,12 kIU/l (ca. 1/10 der unteren Referenzwertgrenze), die Linearität der Reaktion liegt zwischen 0,18 und 7,16 kIU/l (ca. 2,5faches der oberen Referenzwertgrenze) (4). Für α_2M liegt die Unpräzision in der Serie bei einem VK = 1,1% (\bar{x} = 4,74 kIU/l, n = 24), von Tag/Tag bei VK = 6,2% (\bar{x} = 4,52 kIU/l, n = 17). Die Unrichtigkeit bei dieser Konzentration beträgt ca. -1,2%, die Nachweisgrenze liegt bei 0,8 kIU/l (unterer Referenzwert: 3,6 kIU/l, die Linearität im Bereich zwischen 1,2 und 12 kIU/l (oberer Referenzwert 9,1 kIU/l) (4). Ein Vergleich mit der immun-lasernephelometrischen Bestimmung ergab für α_1AT eine Korrelation von $r = 0,940$ ($y = 0,99x + 0,15$, n = 35), für α_2M $r = 0,87$ ($y = 0,61x + 0,47$, n = 35). Die gegebenen methodischen Kriterien empfehlen den Einsatz dieses Verfahrens im Routinelabor. Die im Vergleich zu α_1AT geringere Korrelation für α_2M zwischen Immunnephelometrie und funktioneller Bestimmung ist sehr wahrscheinlich nicht analytisch, sondern durch unterschiedliche Meßprinzipien bedingt, z. B. Inaktivierung des Proteinaseinhibitors oder unterschiedlicher endogener Sättigungsgrad mit Proteinasen (4).

Schrifttum:

1. TRAVIS, J., SALVESEN, G. S.: Ann. Rev. Biochem. 52, 655–709 (1983).
2. GANROT, P. O.: Clin. Chim. Acta 14, 493–501 (1966).
3. DICK, W., CULLMANN, W.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 57–60 (1982).
4. GRESSNER, A. M., PELTZER, B.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 633–640 (1984).

Ein neues Silberfärbefahren zum Nachweis oligoclonaler Immunglobuline im Liquor cerebrospinalis

G. Zoulek¹, G. Menzel², M. Wick², A. Fateh-Moghadam²

¹ Max v. Pettenkofer-Inst., Ludwig-Maximilians-Universität München

² Inst. f. Klin. Chemie am Klinikum Großhadern der LMU München

Der Nachweis von oligoclonalen Immunglobulinen im Liquor gewinnt zunehmende Bedeutung für die Diagnostik von Erkrankungen des zentralen Nervensystems. Als Nachweismethode hat sich die isoelektrische Fokussierung in Polyacrylamid- oder Agarosegelen mit Coomassie Blau (CB)-Färbung bewährt. Diese Proteinfärbung erfordert wegen ihrer geringen Sensitivität das Einengen des Liquors. Die Silberfärbung in Agarosegelen ist etwa 10- bis 20fach sensitiver, jedoch aufwendiger und störanfälliger. Ziel der Arbeit war die Entwicklung einer einfachen und reproduzierbaren Silberfärbung, die bei Einsatz von Nativliquor mindestens ebenso empfindlich ist, wie die CB-Färbung von eingengtem Liquor. In Anlehnung an Willoughby und Lambert (1983) haben wir die Silberfärbung vereinfacht, modifiziert und eine Methode entwickelt, die das Aufbringen von bis zu 100 μ l Liquor auf Dünnschichtagarosegele erlaubt. Alle bisher untersuchten Licores, bei denen oligoclonale Banden im IgG-Bereich mit der CB-Färbung nach Liquorkonzentration nachweisbar waren, waren auch nach Silberfärbung mit Nativliquor positiv. Der gesamte IgG-Gehalt der untersuchten Licores lag zwischen 0,012 und 0,216 g/l. Zwei Licores mit fraglichem Befund in der CB-Färbung waren nach Silberfärbung eindeutig positiv. Vorteile dieser Methode sind: Die Färbelösungen sind bei Raumtemperatur über mehrere Wochen haltbar, die Liquorkonzentration entfällt, die isoelektrische Fokussierung und das Fixieren des Gels ist für CB- und Silberfärbung identisch, die Hintergrundfärbung ist minimal und erlaubt 4–5 Färbeyklen, die gesamte Analyse (IEF, Fixieren, Färben) dauert nur 100–200 min.

Zusammenfassend zeichnet sich die Methode durch einfache Handhabung, gute Reproduzierbarkeit und mindestens ebenso hohe Empfindlichkeit wie CB-Färbung/Konz. Liquor aus. Der Zeitaufwand ist nicht größer als bei CB-Färbung.

Abstracts

(nach Redaktionsschluß eingegangen)

Der zeitverzögerte Fluoreszenz-immunoassay

D. Biermann

LKB Instrument GmbH, 8032 Gräfelfing

In der vorliegenden Arbeit wird ein neuer Fluoreszenzimmunoassay vorgestellt. Die ungewöhnlichen physikalischen Eigenschaften der als Fluorophore verwendeten Europium-Chelate lassen sich mit einer hochempfindlichen zeitaufgelösten Fluoreszenz-Meßtechnik zu einer leistungsfähigen Methode zur Messung von Proteinen, Hormonen und Arzneimitteln kombinieren. Die Bestimmung z. B. von Glykoprotein-Hormonen kann als Solid-Phase-Fluoreszenzimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip unter Verwendung von zwei monoklonalen Antikörpern gestaltet werden. Steroide können kompetitiv mit Hilfe eines Carrierprotein-immobilisierten Antigens und eines Europium-markierten freien Antikörpers bestimmt werden.

Der vor einem Vierteljahrhundert entwickelte Radioimmunoassay zur Bestimmung von Proteinen, Hormonen, Arzneimitteln und Antikörpern in biologischen Proben ist eines der wichtigsten Instrumente des klinischen Laboratoriums geworden. Maßgebend für diese Vormachtstellung ist nicht nur seine enorme Empfindlichkeit, sondern ebenso seine Zuverlässigkeit meßbar mit den Kriterien Präzision und Richtigkeit.

Die zunehmende Verschärfung der Auflagen im Umgang mit Radioaktivität, aber auch die spürbaren Kosten der Abfallbeseitigung und die Limitation des Gebrauchs durch die relativ kurzen Halbwertszeiten des markierten Materials führten in den 70iger Jahren zur Entwicklung der Alternativmethoden Enzym-, Lumineszenz- und Fluoreszenzimmunoassay.

Der auf verschiedenen Prinzipien basierende konventionelle Fluoroimmunoassay hat bisher nicht die Empfindlichkeit des RIAs erreicht, hauptsächlich wegen des Problems der z. B. von biologischem Material stammenden Hintergrund-Fluoreszenz. Die hier vorgestellte neue Generation zeitaufgelöster Fluoreszenzimmunoassays nutzt die Vorteile einer einzigartigen chemischen Fluoreszenz-Verstärkung, die mit einer hochempfindlichen zeitverzögerten Fluoreszenz-Meßtechnik kombiniert ist.

Diagnostik der exokrinen Pankreasfunktion

G. H.-K. Dürr, Stuttgart

Die klassischen und modernen Verfahren zur Überprüfung der exkretorischen Funktion des Pankreas werden dargestellt und kritisch bewertet. Zunächst werden die Sondentests besprochen. Ihre meßtechnischen Probleme (Sekretgewinnung, Stimulationstechniken, Meßgrößen) sowie ihre diagnostische Zuverlässigkeit werden diskutiert. Danach erfolgt die Darstellung der sondenlosen Tests. Bei den „Digestionstests“ wird überprüft, in welchem Ausmaß Nahrungsbestandteile oder peroral zugeführte synthetische Testsubstanzen durch Pankreasenzyme gespalten werden; einer anderen Gruppe sind diejenigen Verfahren zuzuordnen, bei denen die Konzentration pankreasspezifischer „Markersubstanzen“ im Blut oder im Stuhl (Chymotrypsin) überprüft wird; von einem „Evokationstest“ spricht man, wenn die Serumkonzentrationen solcher Markersubstanzen vor und nach einem Sekretionsreiz bestimmt werden. Die diagnostische Zuverlässigkeit der sondenlosen Tests wird diskutiert. Schließlich werden noch Richtlinien für die praktische Handhabung der Pankreasfunktionsdiagnostik gegeben.

Neuere Aspekte der pränatalen Chromosomendiagnostik

K. R. Held

Institut für Humangenetik, Universität Hamburg

Durch die Verkürzung in der Anzüchtungsdauer sowie Verbesserung in der Anzüchtungsrate und in der Chromosomenpräpara-

tion hat sich die pränatale Chromosomendiagnostik in der Vorsorge Schwangerer mit Altersrisiko zu einer Routinediagnostik entwickelt. Bei 1500 Fruchtwasserproben konnte bei Verwendung eines hormonangereicherten Wachstumsmediums (1) und einer CO₂/O₂-kontrollierten Inkubatorgasgemisches (2) eine Anzüchtungsrate von 100% erzielt werden, gleichzeitig wurde die Dauer bis zur Analyse von 18,5 auf 8,8 Tage verkürzt. Die Kontrolle der CO₂/O₂-Konzentration (4,7% CO₂, 2,5% O₂) im Inkubatorgasgemisch hat sich darüber hinaus als entscheidender Faktor für eine befriedigende Bänderungsanalyse *in situ* herausgestellt. Die Abgrenzung chromosomaler Mosaik von Pseudomosaikbe-funden bereitet weiterhin die größten diagnostischen Probleme. Die Summe der Chromosomen- und Genommutationen pro Kultur betragen bei 500 Fruchtwasserproben bei der *in-situ*-Technik 1,86% und bei der Trypsinierungsmethode 2,46%.

Durch die Chorionozottenbiopsie kann die pränatale Chromosomendiagnostik in die 8.-12. Schwangerschaftswoche vorverlegt werden. Die Direktpräparation (3) erlaubt eine Diagnose innerhalb von 24 Stunden, die Zahl auswertbarer Metaphasen und die Bänderungsqualität sind jedoch unbefriedigend. Bei Anzüchtung in hormonangereichertem Medium und CO₂/O₂-kontrolliertem Gasgemisch können Kulturen etabliert werden, die nach 2-3 Wochen Kulturdauer eine hohe Ausbeute von Metaphasen mit guter Bänderungsqualität ergeben.

Schrifttum:

Chang, H. C. et al (1982): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 4795-4799
HELD, K.-R., SÖNNICHSEN, S. (1984): Prenat. Diagn. 4, 171-179
SIMONI, G. et al (1983): Hum. Genet. 63, 349-357

Die klinische Bedeutung der Hormonrezeptorbestimmung für das Mammacarcinom

W. Jonat

Universitäts-Frauenklinik Hamburg-Eppendorf

Die Steroidhormonrezeptorbestimmung im Mammacarcinomgewebe der Frau gilt bis heute als einziges biochemisches Testverfahren, welches Eingang in die individuelle Therapieplanung gefunden hat. Die ersten grundlegenden Untersuchungen von Jensen (1) und Mass Ende der sechziger und Anfang der siebziger Jahre sind inzwischen durch zahlreiche klinische Studien bestätigt worden. Danach läßt sich die klinische Bedeutung der Rezeptorbestimmung in folgenden sechs Punkten zusammenfassen:

1. Der Nachweis des Östrogenrezeptors erlaubt die Charakterisierung von Patientinnen mit fortgeschrittenen Mammacarcinomen, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 55-60% mit einer Remission auf eine alleinige endokrine Therapie reagieren. Dieser Prozentsatz entspricht den erreichbaren Remissionsraten unter Polychemotherapie.
2. Der zusätzliche Nachweis des Progesteronrezeptors verbessert den Prozentsatz der richtigen Vorhersage auf etwa 70%.
3. Der Rezeptorstatus erlaubt eine bessere Charakterisierung des Tumors als die Lokalisation der Metastasen, die Anzahl der Metastasen und die Dauer des freien Intervalls.
4. Der Rezeptorstatus ist ein Prognoseparameter. Patientinnen mit rezeptorpositiven Carcinomen weisen eine längere Überlebenszeit auf (und ein längeres rezidivfreies Intervall?).
5. Der Rezeptorstatus unterliegt einem therapie- und zeitabhängigem Wechsel, möglicherweise hauptsächlich in der Phase der Metastasierung in die regionären Lymphknoten.
6. In der Therapieplanung für das metastasierte Mammacarcinom muß der Rezeptorstatus berücksichtigt werden. Ebenso sollte bei adjuvanten Therapiestudien der Rezeptorbefund miteinbezogen werden.

Die wesentlichen Untersuchungen, die zur Zeit auf dem Gebiet des klinischen Einsatzes des Rezeptorkonzeptes für das Mammacarcinom gemacht werden, beziehen sich einmal auf die Überprüfung der Rezeptorhypothese für moderne endokrine Therapieverfahren. Hierzu zählen z. B. die hochdosierte Gestagenthe-

rapie, oder der Einsatz pharmakologisch „ablativ“ wirksamer Medikamente, Therapeutika, die eine medikamentöse Hemmung der Effekte der Steroidhormone bewirken. Weiterhin wird heute versucht, den Nachweis für Rezeptoren zu vereinfachen. Die Entwicklung monoklonaler Antikörper gegen das hochspezifische Östrogenrezeptorprotein hat den Aufbau von Nachweisverfahren ermöglicht, die auf der direkten Erkennung des Antigens beruhen und nicht, wie in den bisher üblichen biochemischen Verfahren, auf der Bestimmung einer Steroidbindungsaktivität. Diese neuen Verfahren erlauben den Nachweis von Östrogenrezeptoren auch bei Anwesenheit von Östrogenen oder Antiöstrogenen und eliminieren eine potentielle Beeinflussung der Bindungskapazität durch unspezifische Steroidbindungsproteine. Durch Anwendung der Peroxydase/Antiperoxydase-Technik besteht weiterhin die Möglichkeit der Visualisierung der Östrogenrezeptoren in Gewebsschnitten.

Diese letztgenannte Entwicklung kann als Meilenstein in der Rezeptorforschung angesehen werden.

Plasmaspiegel-Bestimmungen zur Therapiekontrolle bei Patienten mit Niereninsuffizienz

F. Keller, T. Lenz, K. Wagner

Freie Universität, Klinikum Steglitz, Med. Klinik, Berlin

Die Niereninsuffizienz hat wesentliche Auswirkungen auf die Pharmakokinetik zahlreicher Medikamente. Im Vordergrund steht die verminderte renale Ausscheidung mit der Gefahr einer Kumulation bis zur Intoxikation. Die Dosis muß deshalb reduziert werden und es entsteht andererseits die Gefahr der Unterdosierung, insbesondere bei Patienten mit instabiler Nierenfunktion. Für eine therapeutische Dosierung von Medikamenten wie Vankomycin, Aminoglykosiden oder Tuberkulostatika sind somit Plasmaspiegelbestimmungen von großer klinischer Bedeutung. Die Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz erfordert eine Sättigungsdosis und eine reduzierte Erhaltungsdosis, aber zusätzlich eine Supplementär-dosis bei den Patienten, die hämodialysiert werden müssen. Die Dosisberechnung muß sich je nach gewünschtem Effekt an einer Identität der theoretisch maximalen oder mittleren Gleichgewichtskonzentration orientieren. Die therapeutischen Plasmaspiegelgrenzen müssen für Nierenpatienten neu definiert werden. Erfahrungen mit der Dosierung von Vankomycin (500 mg/Woche) bei 12 Hämodialysepatienten zeigen, daß bei Niereninsuffizienz die therapeutischen Talspiegel etwa doppelt so hoch wie bei normaler Nierenfunktion liegen. Bei 50 Hämodialysepatienten, die mit Netilmicin behandelt wurden, zeigte sich, daß die Mortalität bei Spitzenspiegeln unter 5 mg/l statistisch signifikant höher war ($P = 0.01$). Die Bestimmung der Isoniazid-Spiegel bei 3 Hämodialysepatienten, die tuberkulostatisch behandelt wurden, hatte zur Konsequenz, daß bei 2 Patientinnen die Dosierung modifiziert werden mußte. Die Interpretation von Plasmaspiegeln bei Patienten mit Niereninsuffizienz erfordert gewisse pharmakokinetische Grundkenntnisse und klar definierte Abnahmebedingungen.

Analyse von Pleura- und Perikardergüssen, Wertigkeit von Tumor- und Entzündungsmarkern

H. Klech¹, G. Rona-Selnic¹, F. Kummer¹, H. Köhn², P. M. Bayer³
2. Med. Abt.¹, Institut für Nuklearmedizin
und Ludwig Boltzmann Institut für Nuklearmedizin²,
Zentrallaboratorium³, Wilhelminenspital, Wien

Transsudate können durch Messung des spezifischen Gewichtes, des Proteingehaltes (quantitativ oder orientierend durch die sog. Rivaltaprobe) oder des LDH-Gehaltes (Light RW et al. Ann Med 77:507-13, 1973) leicht von Exudaten unterschieden werden.

Bei der aetiologischen Zuordnung von Exudaten ist zweifellos die zytologische Analyse von hervorragender Bedeutung. Trotzdem gelingt in nur 70% der malignen Exudate der zytologische Nachweis von Tumorzellen (Storey DD et al. JAMA 236:2183, 1976). Hinzu kommt, daß auch in malignen Ergüssen durchaus unspezifische Entzündungszellen (Granulozyten, Lymphozyten) vorzufinden sind. Die biochemische oder immunologische Bestimmung sog. Tumormarker einerseits als auch von Entzündungsmarkern andererseits in der Exudatflüssigkeit, kann hierbei differentialdiagnostisch von Nutzen sein.

Bei entzündlichen Ergüssen ist ein hoher Anteil von Granulozyten (Empyem) oder Lymphozyten (Tuberkulose) bei gleichzeitig niedrigem pH-Wert (Sahn SA et al. Am Rev Resp Dis 128:811-15, 1983) und Verminderung der Glukose (Halla JT et al. Ann Med 92:748-52, 1980) hinweisend. Zirkulierende Immunkomplexe, Rheumafaktoren, sowie Veränderungen der Lymphozytenpopulation können bei rheumatisch bedingten Pleura- und Perikardergüssen nachgewiesen werden (Pettersen T. et al. Thorax 37:354-61, 1982).

Als gut geeignet zur Entscheidungshilfe entzündlich oder maligne hat sich die Bestimmung von Elastase α_1 , Proteininhibitor Komplexen (E α_1 PI) in der Pleuraflüssigkeit mittels eines neuartigen Festphasen-Enzymimmunoassays (Neuman S et al. J. Clin Chem Clin Biochem 22:693-97, 1984) erwiesen. Wir untersuchten 101 Pleurarergüsse. Benigne entzündliche Exudate zeigten deutlich höhere Werte als maligne ($p < 0,001$) oder cardiale Ergüsse ($p < 0,001$) E α_1 PI charakterisieren damit besser das tatsächliche Ausmaß der Entzündung als bloße Leukozytenzählungen des Exudates.

Bei den sog. Tumormarkern handelt es sich im wesentlichen um onkofetale z. B. Carcinoembryonales Antigen = CEA oder α_1 Fetoprotein = AFP etc., onkoplaszentale (Chorion Gonadotropin = β HCG) oder andere Tumorproteine (Tissue polypeptide antigen = TPA), sowie ektop gebildete Enzyme und Isoenzyme.

In einer Analyse von 105 Pleurarergüssen (Klech H et al. Cancer Detec. and Prevention 7,5/6:466, 1984) zeigten 42% der malignen Ergüsse erhöhte CEA-Werte, benigne Ergüsse zeigten immer Werte < 5 ng/ml. Interessanterweise zeigten Ergüsse von Pleuramesotheliomen, kleinzelligen Bronchialkarzinomen sowie Ovarialkarzinomen nie erhöhte pleurale CEA-Werte. β -HCG war in 47% der malignen Ergüsse erhöht (niemals jedoch bei kleinzelligen Bronchialkarzinomen) gegenüber 15% der benignen Ergüsse. α_1 Fetoprotein war in unserer Untersuchung nicht aussagekräftig. Bronchialkarzinome zeigten auffallend tiefe Werte bei β_2 Mikroglobulin. Ergüsse verursacht durch kleinzellige Bronchialkarzinome zeigten hohe Werte von CK-B, während z. B. Pleuramesotheliome immer niedrige Werte aufwiesen.

Zusammenfassend ist die gezielte biochemische Analyse von Pleura- und Perikardergüssen eine sinnvolle Ergänzung der Pleurazytologie, wobei sowohl sog. Tumor- als auch Entzündungsmarker eingesetzt werden sollten.

Wie werden Normalwerte ermittelt?

D. Märkowetz, Mannheim

Normalwerte werden häufig als absolute Zahlen angesehen. Diese Annahme ist aber falsch. Aus diesem Grund werden die zwei Verfahren vorgestellt, nach denen heute Normalwerte erstellt werden. Im ersten Verfahren geht der Ersteller von der Meßwertverteilung einer Population aus, die nicht an der Krankheit X erkrankt ist. Der sogenannte Normalbereich wird durch die Angabe von Perzentilen relativ willkürlich eingegrenzt. Im zweiten Verfahren werden zwei Populationen betrachtet. Die eine Population ist wie im ersten Verfahren nicht an der Krankheit X erkrankt. Die Mitglieder der zweiten Population leiden an der klinisch gesicherten Krankheit X. Der optimale Diskriminationspunkt (die Normalwertgrenze) ist die Abszisse der Schnittstelle beider Populationen. Anhand von Beispielen wird gezeigt, wie sich die Lage eines optimalen Diskriminationspunktes in Abhängigkeit unterschiedlicher Einflüsse verändern kann. Durch diese Beispiele wird gezeigt, daß Normalwerte keine absoluten Zahlen darstellen.

Syphilis-Diagnose in der Schwangerschaft. Diagnostische und therapeutische Konsequenzen für Mutter und Kind

F. Müller

Hygienisches Institut Hamburg

Beim Fehlen einer entsprechenden Anamnese sollte durch gezielte *Treponema pallidum* (Tp)-spezifische Antikörperuntersuchungen bei jeder Graviden festgestellt werden, ob sie eine Syphilis durchgemacht hat. Bei positivem Testausfall ist zu klären, ob es sich lediglich um eine durch Tp-spezifische IgG-Antikörper bedingte „Serumnarbe“, die keine Behandlung („Sicherheitskur“) erfordert oder vielmehr um eine persistierende, behandlungsbedürftige Tp-Infektion handelt. Infektionen der Graviden durch Tp in den letzten Wochen der Schwangerschaft dürfen nicht übersehen werden. – Nicht in jedem Fall wird die Syphilis von der werdenden Mutter auf den Foeten übertragen. Neugeborene von Müttern, die während der Schwangerschaft spezifisch behandelt worden sind oder die bei der Entbindung Zeichen einer konnatal erworbenen Infektion aufweisen, sind auf Tp-spezifische IgM-Antikörper zu untersuchen und – im positiven Fall – zu behandeln oder – im negativen Fall – serologisch zu beobachten, bis die diaplazentar erworbenen Tp-spezifischen IgG-Antikörper aus dem kindlichen Serum eliminiert sind.

Symposium genetische Krankheitsdispositionen Einführung

E. Passarge

Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen

In diesem Symposium sollen einige durch Laboruntersuchungen feststellbare genetisch bedingte Krankheitsdispositionen erörtert werden. Im Gegensatz zu von Umwelteinflüssen mehr oder weniger unbeeinflussten Erbkrankheiten kommt den genetisch bedingten Krankheitsdispositionen eine zunehmende Bedeutung zu. Es handelt sich um ein oder ggf. mehrere genetisch bedingte Merkmale, die für das Auftreten einer bestimmten Erkrankung prädisponieren können. Ob und wann die Erkrankung tatsächlich auftritt, hängt von vielen anderen Umständen ab. In der Ätiologie vieler Krankheitsprozesse stehen sich nicht einfach seltene, genetisch bedingte und häufige, nicht genetisch bedingte Faktoren gegenüber, sondern viel häufiger bilden sie ein Äquilibrium, das auf mancherlei Weise gestört werden kann. Ein bestimmtes HLA-

Antigen mag deshalb zu einer bestimmten Erkrankung prädisponieren, aber nicht unbedingt das sichere Auftreten dieser Erkrankung anzeigen. Ein Umweltfaktor, wie z. B. das im Zigarettenrauch entstehende Benzpyren stellt nicht einen stets gleichen Risikofaktor dar, sondern das Ausmaß seiner Wirkung wird von genetischen Faktoren beeinflusst. Erkennbare, genetisch bedingte Krankheitsdispositionen kann somit ein Warnzeichen darstellen, das prophylaktische Bedeutung haben kann. Bestimmte Laboruntersuchungen können dadurch einen Beitrag liefern, Individuen mit einem höheren Risiko von denen mit einem niederen Risiko zu unterscheiden, bevor eine Erkrankung eingetreten ist. Auch neuere molekular-genetische Ansätze zur Risikoermittlung sollen vorgestellt werden.

„Therapeutic Drug Monitoring“ (TDM) von Antibiotika in der Kinderheilkunde

R. Roos, S. König, H. Dörr, F. Bidlingmaier

Kinderklinik der Universität München
im Dr. von Haunerschen Kinderspital

Die Indikationen zum TDM von Antibiotika bei Kindern unterscheiden sich im Prinzip nicht von den Erwachsener. Eine Sonderstellung haben Frühgeborene (FG), bei denen die Pharmakokinetik einzelner Substanzen abhängig vom Gestationsalter, Lebensalter, Nieren- und Leberfunktion u. a. sehr unterschiedlich sein kann. Daher ist TDM wichtig bei Antibiotika, die eine geringe therapeutische Breite haben, bei denen bei empfohlenen Standarddosierungen Unter- bzw. Überdosierungen leicht möglich sind. Dies trifft vor allem für Chloramphenicol und die Aminoglykoside zu. Weniger wichtig ist TDM bei Antibiotika mit großer therapeutischer Breite wie Penicillinen, Cefalosporinen, Makrolidantibiotika, Fosfomycin oder Metronidazol sofern die Pharmakokinetik dieser Substanzen für FG verschiedener Altersklassen untersucht ist. Da Chloramphenicol heute wesentlich seltener eingesetzt wird als früher, bleibt heute als klinisch wichtige Indikation zum TDM bei FG die Therapie mit Aminoglykosiden. Dazu wurden eigene Untersuchungen durchgeführt: Regelmäßige Blutspiegelkontrollen ($n = 253$) bei FG ($N = 28$) wurden nephelometrisch durchgeführt. Die Dosierung von Tobramycin entsprach Literaturangaben: FG unter 1000 g 2 mg/kg/die in 1 ED, FG über 1000 g 3–5 mg/kg/die in 2 ED. Dies führte bei den Kindern unter 1000 g und den reifen Neugeborenen regelmäßig zu subtherapeutischen Serumspiegeln, während die Spiegel bei Kindern zwischen 1000 g und 2000 g im therapeutischen Bereich lagen. Geringe Kreatininerhöhungen führten zu Serumspiegeln, die potentiell als ototoxisch angesehen werden müssen. Bei der Therapie mit Aminoglykosiden von FG ist eine TDM daher zwingend erforderlich um eine individuelle Dosisanpassung zu ermöglichen.