

Immunfixations-Elektrophorese zum Nachweis monoklonaler Gammopathien: Durchführung, Interpretation, Fehlermöglichkeiten*

Maren Baus, T. Müller, L. Thomas

Zentrallabor, Krankenhaus Nordwest, Frankfurt

Zusammenfassung:

Die Laboratoriumsdiagnostik monoklonaler Immunproteine erfolgt seit nahezu 30 Jahren im Routinelabor mit der Immunelektrophorese nach Grabar und Williams. Die Immunfixations-Elektrophorese ist seit etwa 10 Jahren bekannt. Trotz guter Praktikabilität und vieler Publikationen, aber bedingt durch die nicht kommerzielle Verfügbarkeit hochgereinigter präzipitierender Antikörper, hat sie zur Diagnostik monoklonaler Immunproteine keinen wesentlichen Eingang in die Laboratorien gefunden.

Da seit wenigen Jahren hochgereinigte Antisera zur Verfügung stehen, sollte eine breite Einführung möglich sein. Zur Förderung dieses Anliegens werden die Durchführung der Immunfixations-Elektrophorese eingehend beschrieben, Vorteile und Fehlermöglichkeiten aufgezeigt und interpretative Beispiele vorgestellt.

Unsere Untersuchungen an einem großen Patientenkollektiv zeigen im wesentlichen zwei Vorteile der Immunfixations-Elektrophorese gegenüber der Immunelektrophorese:

- die Identifizierung monoklonaler Immunproteine erfolgt in einem weiten Konzentrationsbereich deutlicher, spezifischer und störungsfreier*
- die 50- bis 100fach größere Empfindlichkeit erhöht die diagnostische Sensitivität für Leichtkettenmyelome, Doppelmyelome, IgD-Myelome sowie die Typisierung monoklonaler Gammopathien der Klassen A und M.*

Aufgrund unserer Erfahrungen empfehlen wir den Laboratorien für die Routinediagnostik monoklonaler Gammopathien die Immunelektrophorese durch die Immunfixations-Elektrophorese zu ersetzen.

Schlüsselwörter:

Immunfixations-Elektrophorese – Immunelektrophorese – monoklonale Gammopathie – Bence-Jones-Protein

Summary:

Monoclonal immunoproteins are identified with the immunoelectrophoresis according to Grabar and Williams since 30 years. The immunofixation-electrophoresis is known since 10 years. Nevertheless of good practicability and numerous publications, the technique is rarely used in the laboratories for the analysis of monoclonal immunoproteins. The reason is, that precipitating antisera of high purity were not commercially available.

High purified antisera are now commercially available, an argument for the introduction of immunofixation-electrophoresis into the routine laboratory. We want support the introduction and describe the method, the prevail, the interpretation and the trouble shooting of this technique.

Our investigations on a big group of patients with myelomatosis show two prevails of the immunofixation-electrophoresis in comparison to the immunoelectrophoresis:

- monoclonal immunoproteins can be identified with higher accuracy and in a broader concentration range;*
- the sensitivity is 50–100 fold higher, therefore results a higher diagnostic sensitivity, especially for light chain myeloma, bicalonal myeloma and IgD-myeloma. Furthermore there is a better specificity for typing IgA and IgM monoclonal immunoproteins.*

Immunofixation-electrophoresis is superior to immunoelectrophoresis according to our experiences. We therefore recommend the introduction of this technique for the analysis of monoclonal immunoproteins in routine laboratory diagnosis.

Keywords:

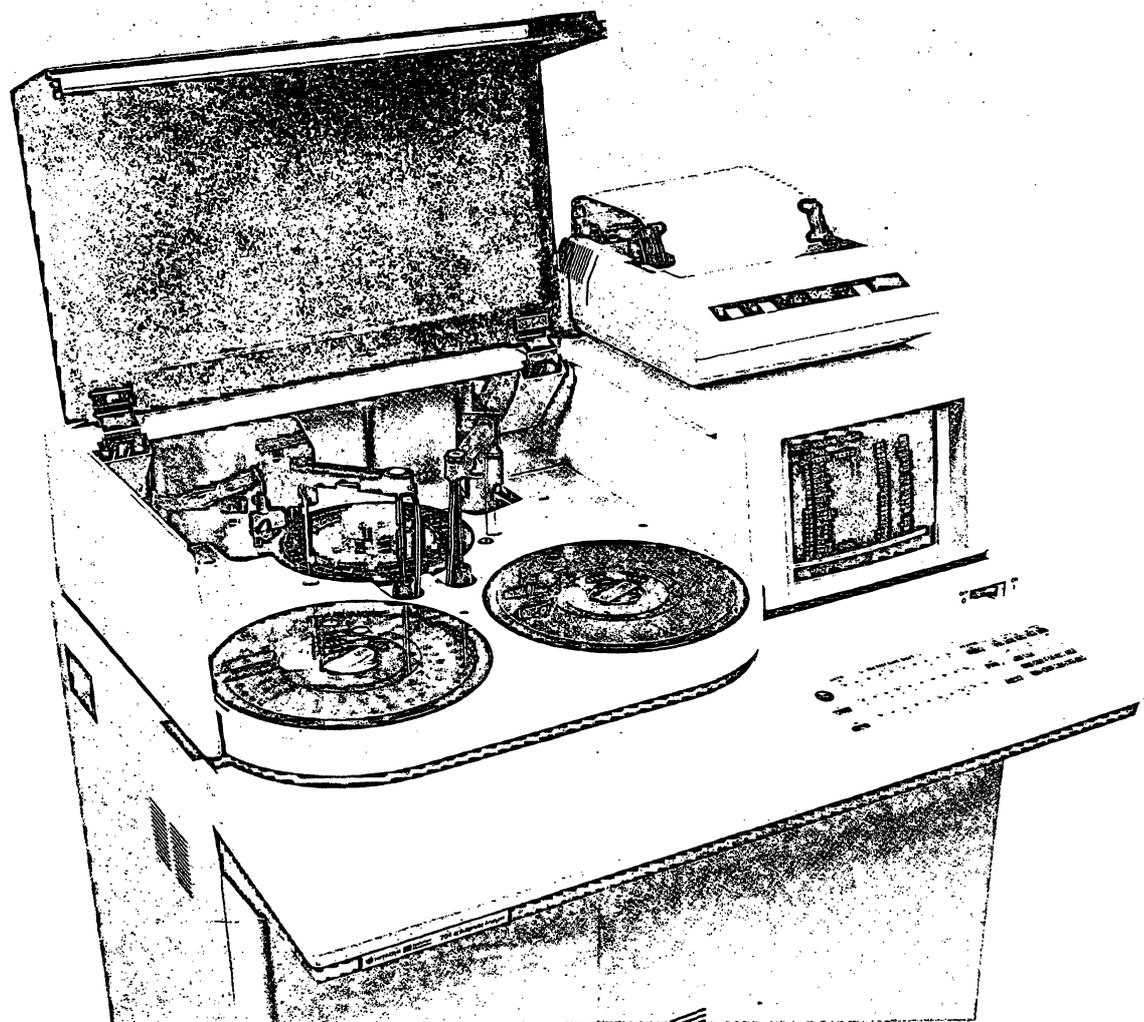
Immunofixation-electrophoresis – immunoelectrophoresis – monoclonal gammopathy – Bence-Jones-protein

* Die Publikation enthält Teile der Dissertationsschriften von T. Müller und M. Baus

Analysensysteme Boehringer Mannheim

Hitachi 704

Der neue hochflexible Analyser



Hitachi 704

- vollselektiv
- 20 Kanäle + 3 ISE
- Flexibles Softwareprogramm
- Durchsatz max. 180 Tests/h (20 Parameter)
bis zu 360 Tests/h mit ISE und Twin Tests
- Notfallproben jederzeit
- Bis jetzt 36 adaptierte System-Reagenzien



Boehringer Mannheim GmbH
6800 Mannheim 31

H. Bürger, Z. Hussain

Tabellen und Methoden zur medizinisch- bakteriologischen Laborpraxis

Isolierung und Identifizierung pathogener Mikroorganismen sind die Voraussetzungen für Diagnose, Therapie, Verhütung von Infektionen und zur Infektionskontrolle.

In dem vorliegenden Buch werden die bisher in jedem qualifizierten mikrobiologischen Labor eingeführten kulturellen und biochemischen Verfahren beschrieben.

Die wichtigsten Daten von ca. 400 als Krankheitserreger geltenden oder aus differentialdiagnostischen Gründen im Bereich der Humanmedizin interessierenden Bakterienspezies sind in einem kompakten Abriß zusammengefaßt.

Der erste Teil des Buches informiert über Gewinnung, Transport und Verarbeitung von Untersuchungsmaterialien, der Hauptteil enthält sehr ausführlich kommentierte Tabellen zur Identifizierung der Mikroorganismen, und im Anschluß daran werden die im Text erwähnten Methoden unter Angabe von Bezugsquellen für notwendige Hilfsmittel erläutert.

Das zum Gebrauch am Arbeitsplatz bestimmte Buch wendet sich an Mikrobiologen, Hygieniker, Pharmazeuten, medizinisch-technische Assistentinnen und alle diejenigen, die routinemäßig bakteriologische Untersuchungen durchführen oder sich im Praktikum auf diese Tätigkeit vorbereiten.

--- ✂ ---

An Verlag Kirchheim, Kaiserstraße 41, 6500 Mainz

Ich bestelle gegen Rechnung Expl. Bürger/Hussain:
Tabellen und Methoden zur med.-bakteriologischen Laborpraxis,
zum Preis von DM 68,-

Name/Praxis: _____

Straße: _____

PLZ: _____ Ort: _____

Datum: _____ Unterschrift: _____

Format 17 × 24 cm,
256 Seiten,
Abbildungen,
Tabellen,
PVC-Einband,
ISBN 3-87409-006-X,
DM 68,-

Bezug über Verlag
oder
Fachbuchhandlung

**VERLAG
KIRCHHEIM
MAINZ**

Einleitung

Ein diagnostisches Kriterium des multiplen Myeloms und der Makroglobulinämie Waldenstroem ist der Nachweis von im großen Überschuß gebildeter monoklonaler Immunproteine (Tab.1). Es kann sich handeln um:

- Strukturell intakte Ig einer Klasse und eines Typs,
- freie Leichtketten eines Typs,
- freie schwere Ketten,
- um verschiedene Kombinationen der zuvor genannten Immunproteine.

Basisuntersuchung zur Erkennung monoklonaler Gammopathien ist die Eiweiß-Elektrophorese von Serum und/oder Urin auf Celluloseacetatfolie oder Agarosegel als Trägermedium (2). Ihre Nachweisempfindlichkeit für monoklonales Immunprotein in Form eines M-Gradienten beträgt etwa 2 g/l, sie ist somit relativ unempfindlich.

Die Klassifizierung und/oder Typisierung monoklonaler Gammopathien wird in vielen Laboratorien noch mit der Immunelektrophorese nach Grabar und Williams (3) durchgeführt. Aufgrund der Nachteile dieser Technik (Tab.2) wird schon seit etwa 10 Jahren die Immunfixations-Elektrophorese zum Nachweis monoklonaler Immunproteine und anderer Plasmaproteine eingesetzt (4-11).

Der Verbreitung einer routinemäßigen Durchführung stand bisher entgegen, daß für diese hochempfindliche Nachweismethode nur ungenügend gereinigte Antisera kommerziell verfügbar waren. Das Problem ist gelöst, da seit einiger Zeit hochgereinigte Antisera sowohl polyklonalen Ursprungs, als auch Antikörper und Antikörper-

cocktails monoklonalen Ursprungs zur Verfügung stehen. Die Durchführung der Immunfixations-Elektrophorese geschieht nach folgendem Prinzip:

- das Probenmaterial (Serum, Nativharn) wird auf einer Agarosegelplatte in 8 parallelen Trennungen elektrophoretisch aufgetrennt;
- die Identifizierung der Immunproteine mittels Präzipitatbildung erfolgt durch das Auflegen von mit Antiserum getränkten Celluloseacetatstreifen auf die Trennschleifen. Pro Patientenprobe werden gewöhnlich 5 Antisera verwendet (Anti-Ig/γ-Kette, Anti-Ig/α-Kette, Anti Ig/μ-Kette, Anti-Ig/L-Kappa, Anti Ig/L-Lambda);
- nach Präzipitatbildung (innerhalb 1 Std.) werden nicht als Immunkomplexe fixierte Proteine ausgewaschen und die Immunkomplexe gefärbt.

Kriterien der Auswertung sind:

- polyklonale Immunproteine formen diffuse Immunpräzipitate;
- monoklonale Immunproteine formen homogene Banden im diffusen Immunpräzipitat oder bei Antigenüberschuß ungefärbte Banden (Auslöschphänomen, Zonenphänomen).

Ziel dieser Publikation ist es, die Ablösung der Immunelektrophorese nach Grabar und Williams durch die empfindlichere und aussagekräftigere Immunfixations-Elektrophorese zu fördern. Deshalb werden die praktische Durchführung, die Interpretation und die Fehlermöglichkeiten dieser Technik ausführlich dargestellt.

Material und Methoden

Herstellung der Agarosegelplatten

Material: Glasplatten 10×10 cm (Behringwerke), Agarose Typ T mit hoher Endosmose (Behringwerke), Gelpuffer (s. Puffer), heizbarer Magnetrührer, Nivelliertisch.

Technische Durchführung: 1,0 g Agarose mit 0,1 l Gelpuffer unter ständigem Rühren, mit Hilfe des heizbaren Magnetrührers, kurz aufkochen. Glasplatte mit einem Tuch säubern, mittels Bunsenbrenners abflammen und Platte auf einen Nivelliertisch legen. Aufgekochte Agarose auf etwa 80°C abkühlen lassen, 12 ml in eine vorgewärmte Pipette aufziehen und gleichmäßig von Plattenmitte beginnend auftragen.

Hinweise: Durch Abflammen der Glasplatte werden vorhandene Flusen bzw. Feuchtigkeit entfernt, hauptsächlich soll jedoch durch das Erwärmen die Temperaturdifferenz zwischen Glasplatte und heißem Gel verringert und ein vorzeitiges Gelieren vor Abschluß des Ausgießens verhindert werden. Damit eine gleichmäßige Schichtdicke der Agarose gewährleistet ist, läßt man aus der möglichst senkrecht auf Plattenmitte gehaltenen Pipette die Agarose herausfließen, fährt mit der Pipettenspitze am Glasplattenrand entlang und führt somit einen vollständigen Randschluß herbei.

Puffer

Gelpuffer: 7,5 mmol/l Diäthylbarbitursäure, 42,5 mmol/l Na-Diäthylbarbiturat, 1,7 mmol/l Calciumlaktat, pH = 8,6 und Ionenstärke = 0,0434 (Laurell-Puffer). Einwaage: 1,38 g Diäthylbarbitursäure, 8,76 g Na-Diäthylbarbiturat, 0,384 g Calciumlaktat mit Aqua dest. auf einen Liter auffüllen.

Tab.1: Kriterien zur Diagnosestellung Plasmozytom (1)

- 1.0 Tumorzellen
 - 1.1 > 10% Plasmazellen im Knochenmark
 - 1.2 Meßbarer Plasmazelltumor
- 2.0 Zusätzliche Kriterien
 - 2.1 oder 1.2 + eines der folgenden Kriterien
 - 2.1 M-Komponente im Serum
 - 2.2 M-Komponente im Urin
 - 2.3 Osteolysen
Generalisierte Osteoporose
wenn 1.1 > 30%
- 2.4 Plasmazellen im peripheren Blut

Tab.2: Nachteile der Immunelektrophorese

- Mangelnde Empfindlichkeit (~ 1 g/l monoklonales Immunprotein)
- Interpretationsschwierigkeiten bezüglich der monoklonalen Deformierung der Immunpräzipitate
- Schwierige Leichtkettentypisierung monoklonaler Immunproteine der Klassen A und M aufgrund des sogenannten „Schirmeffektes“ von IgG
- Geringe diagnostische Sensitivität zum Nachweis der Bence-Jones-Proteinämie, aufgrund mangelnder Empfindlichkeit und Nichterkennen eines Antigenüberschußphänomens
- Erschwerter Nachweis von Doppelparaproteinämien
- Mangelnde Empfindlichkeit zur Diagnostik von IgD-Myelomen
- Begrenzte Aussagekraft und mangelnde Empfindlichkeit zum Nachweis der mono- und polyklonalen Leichtkettenausscheidung
- Erheblicher Zeit- und Arbeitsaufwand, teilweise bis zu mehreren Tagen

Tab. 3: Probenvorverdünnung von Serum, wenn eine der Immunelektrophorese nach Grabar und Williams vergleichbare Nachweisempfindlichkeit erzielt werden soll. Die Verdünnungen wurden in Bezug zum Muster der Serumweiß-Elektrophorese gesetzt. Die in Klammer angegebenen Verdünnungen können wahlweise eingesetzt werden, z. B. wenn ein hochtitriges und stark avides Antiserum zur Verfügung steht

Serum				Urin
Nachzuweisende monoklonale Immunproteine	Normal geformte Gammaglobulinfraktion bzw. angedeuteter M-Gradient	Stärkerer M-Gradient	Hypogammaglobulinämie	
IgG	1:21	1:51 (1:71)	unverd. und 1:11	unverd.
IgA	1:11 (1:21)	1:21 (1:51)	unverd.	unverd.
IgM	1:2 und 1:6	1:21 und 1:51	unverd.	unverd.
Kappa Typ	1:11 und 1:21	1:21 und 1:51	unverd. und 1:11	unverd.
Lambda Typ	1:11 und 1:21	1:21 und 1:51	unverd. und 1:11	unverd.

Elektrodenpuffer: s. Gelpuffer.

Hinweis: Die Zugabe von Calciumlaktat erhöht die Ionenstärke und damit die Trennschärfe.

Alternativ kann der Glycin II-Puffer nach Sørensen verwendet werden; Gelpuffer: 25,0 mmol/l Glycin und 25,0 mmol/l NaCl; Ionenstärke = 0,05. Elektrodenpuffer: 50,0 mmol/l Glycin und 50,0 mmol/l NaCl; Ionenstärke = 0,1.

Antisera

Verwendet werden die im folgenden beschriebenen Antisera der Behringwerke/Marburg. Es handelt sich um spezielle Antisera für die Immunfixations-Elektrophorese.

- Anti-Human-IgG/γ-Kette (Schaf)
- Anti-Human-IgA/α-Kette (Schaf)
- Anti-Human-IgM/μ-Kette (Ziege)
- Anti-Human-Ig/L-Kette Typ Kappa (Kaninchen)
- Anti-Human-Ig/L-Kette Typ Lambda (Kaninchen)
- Anti-Human-Ig/freie L-Kette Typ Kappa (Ziege)
- Anti-Human-Ig/freie L-Kette Typ Lambda (Ziege).

Vor Durchführung der Immunfixation werden die Antisera zu gleichen Teilen mit Polyäthylenglykol-Puffer (PEG-Puffer) versetzt. Zusammensetzung des PEG-Puffers: 20,0 g Polyäthylenglykol 6000 in 0,25 l frischem Gelpuffer auflösen.

Hinweis: Die Verdünnung der Antisera mit PEG-Puffer erfolgt zur Erhöhung der Präzipitationsgeschwindigkeit.

Probenvorbereitung

Die Immunfixations-Elektrophorese ist etwa 50- bis 100fach empfindlicher als die Immunelektrophorese nach Grabar und Williams (12).

Serum: Sollen der Immunelektrophorese vergleichbare Fragestellungen bearbeitet werden, empfiehlt es sich, das Serum nach den in Tab. 3 gemachten Angaben vorzuverdünnen.

Harn: Harn wird in der Regel unverdünnt, als morgendlicher Spontanurin, aufgetragen.

Hinweis: Liegen keine stärkeren M-Gradienten vor bzw. sind die Immunproteinwerte nicht bekannt, können die

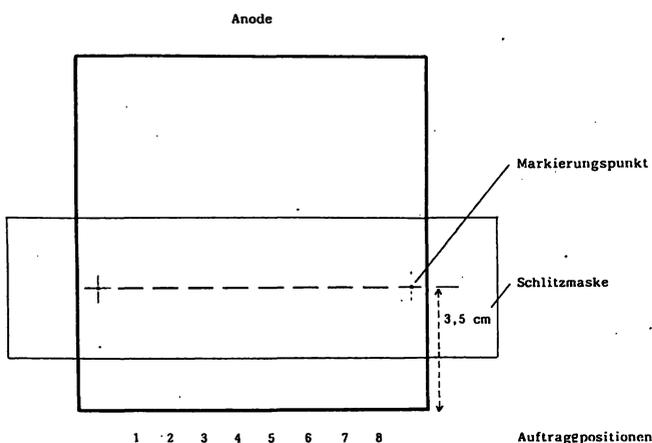
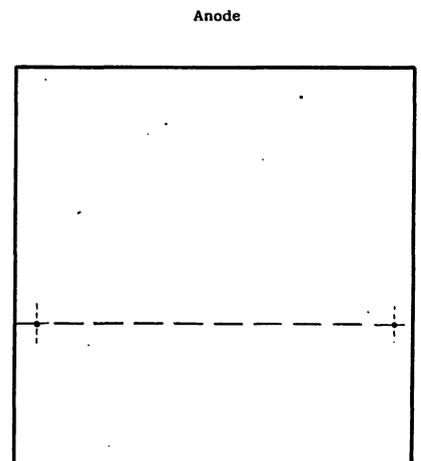


Abb. 1: Positionierung der Schlitzmaske auf die Agarosegelplatte. Sie hat 8 Auftragspositionen und 2 Auftragsmarkierungen (Markierungspunkt). Letztere dienen zur Lagefindung der Auftragszone im Immunfixationsschritt nach der elektrophoretischen Trennung



Auftragsposition	1	2	3	4	5	6	7	8
Serumverdünnung	1: 21	11	2	6	11	21	11	21
Auftragsposition	1	2	3	4	5			
Harn	← unverdünnt →							

Abb. 2: Probenauftrag: Anordnung der Probenverdünnungen (Serum und Harn) auf der Agarosegelplatte

unter „Normal geformte Gammaglobulinfraktion“ angegebenen Verdünnungen empfohlen werden.

Probenauftrag

Material: Schlitzmaske mit Schlitzgröße 0,5×7,0 mm (LKB), Hand-Fön, Glaskapillare oder Stanze, Kanüle und Proteinmarker (mit Bromphenolblau versetztes Albumin).

Durchführung: Agaroseplatte auf eine vorgezeichnete Schablone legen (Abb. 1). Mittels Hand-Fön ca. 45 sec. lang, mit Heizstufe 1, in etwa 5 cm Abstand Auftrageareal zur Entfernung oberflächlicher Feuchtigkeit trocknen. Schlitzmaske möglichst blasenfrei und deckungsgleich mit der durchscheinenden Schablone (s. Abb. 1) so auf die Agaroseplatte auflegen, daß die Auftragepositionen (Schlitze) 3,5 cm vom unteren (kathodischen) Plattenrand zu liegen kommen. 10 µl Serum bzw. 20 µl Harn entsprechend den in Tab. 1 angegebenen Verdünnungen pro Schlitz auftragen (s. als Beispiel Abb. 2). Probe 5 min bzw. 6 min bei Harn in Agarose eindringen lassen, anschließend Probenüberschuß mit Filterkarton aufsaugen und die Schlitzmaske vorsichtig abheben. Rechts und links der eigentlichen Auftragepositionen mit einer Kapillare Stücke aus der Agarose ausstanzen. Diese Auftragemarkierungen dienen zur Wiederfindung der Lage der Auftragepositionen nach elektrophoretischer Trennung.

Hinweise: In die Vertiefung der Auftragemarkierungen kann auch mit Bromphenolblau gefärbtes Albumin gefüllt werden, das als Marker während der Elektrophorese mitläuft.

Hilfswise kann statt der Warmlufttrocknung des Auftrageareals ein Cellulose-Acetatstreifen (1,0×11 cm) für 30 sec. auf das Auftrageareal aufgelegt werden.

Nachteil: Nach der Färbung der Platte treten an der Übergangszone Farbsprünge auf, die Immunproteinbanden vortäuschen können, wenn mit Cellulose-Acetatstreifen getrocknet wird.

Elektrophorese

Material: Elektrophoresekammer mit Netzgerät und Kühlvorrichtung, Filterkarton 10,5×10,5 cm und 8,0×20,0 cm (Schleicher und Schüll).

Als Verbindungsstücke von Puffer und Gelschicht den puffergetränkten Filterkarton ca. 1 cm weit auf die Agarose legen und leicht andrücken.

Trennbedingungen: Außenspannung (konstant) 250 V, Feldstärke etwa 10 V/cm, mittlere Anfangsstromstärke 3 mA/cm Plattenbreite, Trennzeit 50 min, Trennstrecke (Auftragestelle – gefärbtes Albumin) 5 cm, äußere Kühltemperatur 13–15°C.

Hinweis: Falls die Pufferlösung nach beendeter Elektrophorese in den Puffertrögen verbleibt, ist die nächste Trennung mit umgekehrter Polarität der Elektroden durchzuführen.

Immunfixation

Material: Antisera, Cellulose-Acetatstreifen geschnitten auf 5×53 mm, Briefmarkenpinzette, feuchte Kammer.

Durchführung: Nach dem elektrophoretischen Lauf wird die Agarosegelplatte in gleicher Weise wie beim Probenauftrag auf die Schablone (s. Abb. 1) positioniert. Antiserummuster ansetzen entsprechend Abb. 3. Dazu wird

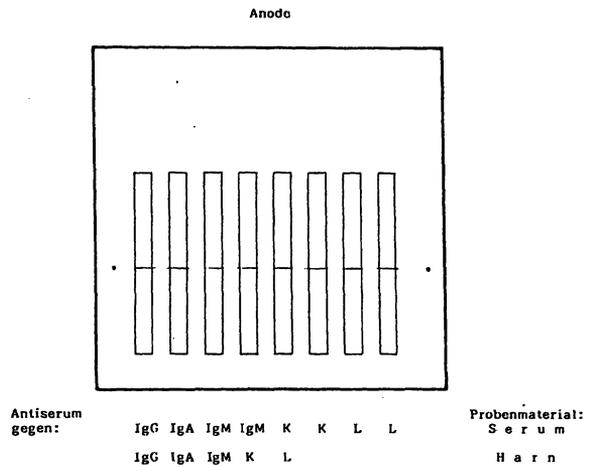


Abb. 3: Immunfixation: Anordnung der Antiserum-getränkten Celluloseacetatstreifen auf der Agarosegelplatte

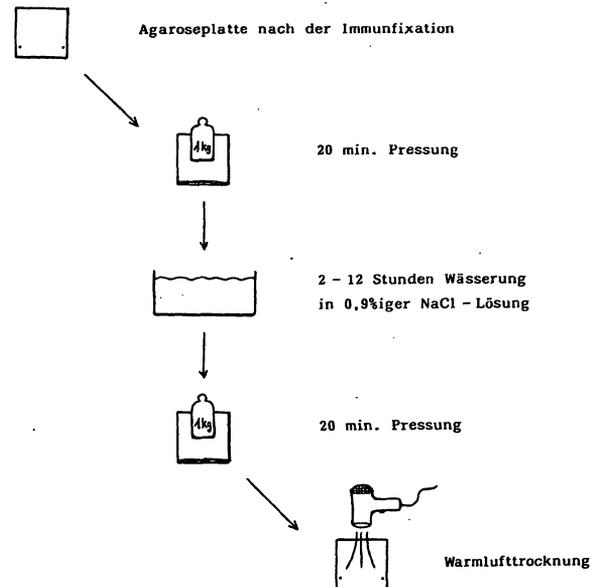


Abb. 4: Darstellung der immunfixierten Fraktionen. I. Auswaschen der nicht fixierten Proteine

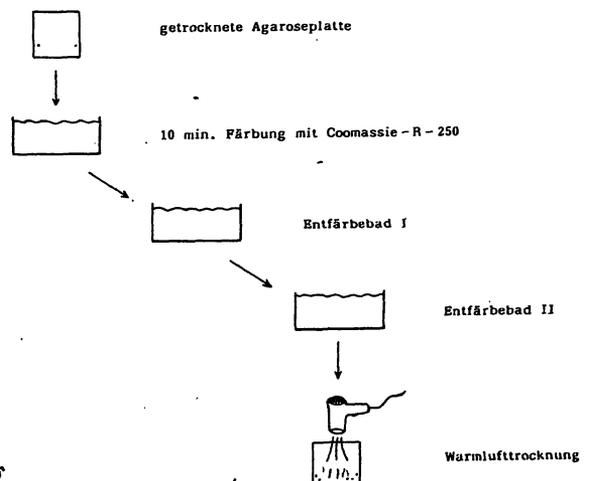


Abb. 5: Darstellung der immunfixierten Fraktionen. II. Färbung der immunfixierten Fraktionen

den 200 µl der jeweiligen Antisera mit 200 µl PEG-Puffer z. B. im Rundboden-Zentrifugenglas versetzt. Mit einer Briefmarkenpinzette Cellulose-Acetatstreifen in das antiserumhaltige Röhrchen eintauchen und durch Neigen des Röhrchens den Streifen komplett benetzen. Trennschleifen mit Antiserum getränkter Cellulose-Acetatstreifen entsprechend Abb.3 belegen und Agarosegelplatte für 30 min in feuchter Kammer inkubieren. Streifen mit Briefmarkenpinzette entfernen. Eine vorläufige Beurteilung des Immunpräzipitatemusters ist möglich.

Hinweis: Die Auflage der antiserumgetränkter Cellulose-Acetatstreifen muß so erfolgen, daß keine Luftblasen eingeschlossen werden.

Färbung

Material: Filterkarton 10,5×10,5 cm, Zellstoff, Hand-Fön, Coomassie R-250 (Serva blau R), Äthanol (96%), Eisessig.

Durchführung: Agarosegelplatte mit Aqua dest. getränktem Filterkarton, trockenem Zellstoff und einem Gewicht von 0,8–1,0 kg beschweren. Nach 20 min. die Platte für 2, besser 12 Std. in physiologischer Kochsalzlösung wässern, nochmals für 20 min. pressen und mit Hand-Fön trocknen. Die Färbung der Immunpräzipitate ist schematisch in Abb.4 und 5 dargestellt.

Färbelösung: 10 g Coomassie-Brilliantblau R-250, 900 ml Äthanol 96%, 200 ml Eisessig, 900 ml Aqua dest.

Färbezeit: 10 min.

Entfärbelösung: 500 ml Äthanol 96%, 200 ml Eisessig, 900 ml Aqua dest.

Ergebnisse und Diskussion

Beurteilung des Serum-Immunfixations-Elektrophogramms

Voraussetzung zum hochempfindlichen Nachweis monoklonaler Immunproteine durch die Immunfixations-Elektrophorese sind optimale Trennbedingungen sowie hochspezifische und avide Antisera. Mit den von uns gewählten Trennbedingungen beträgt die Trennstrecke der Immunproteine bei Normoproteinämie etwa 3,0 cm, so daß die Immunproteine der Klassen G, A und M eine unterschiedliche relative Wanderungsgeschwindigkeit haben.

Zur Klassifizierung und Typisierung der Immunproteine wird jedes Patientenserum auf der gleichen Agarosegelplatte in 8 parallelen Spuren aufgetrennt.

Zum Erreichen einer möglichst optimalen Antigen-Antikörper-Balance wurden zur Darstellung der konzentrationmäßig schwer abschätzbaren Immunglobuline der Klasse IgM sowie der Kappa-Typ- und Lambda-Typ-Proteine die Patientenseren in zwei unterschiedlichen Verdünnungen aufgetrennt (Abb.6).

Die gefärbten Immunpräzipitate polyklonal gebildeter Immunproteine zeigen eine inhomogene Verteilung mit kathodischer und anodischer Abschwächung bei Normoproteinämie (Abb.6). Die polyklonale Immunproteinvermehrung dokumentiert sich in einer diffusen oder lokalen Verdichtung der Präzipitate einer oder mehrerer Immunglobulinklassen und beider Immunglobulintypen (Abb.7).

Vergleichbar der Immunelektrophorese ist auch bei der Immunfixations-Elektrophorese nur eine grobe Abschätzung der Immunproteinkonzentrationen möglich.

Empfehlenswert ist, bei Bewertung der Immunfixations-Elektrophorese primär das polyklonale Immunproteinmuster zu beurteilen nach den Kriterien „normal“, „vermehrt“ und „vermindert“.

Die monoklonale Immunproteinvermehrung zeigt sich als homogene, bandenförmige Verdichtung innerhalb oder anodisch bzw. kathodisch der polyklonalen Immunproteinpräzipitationen. Besteht das monoklonale Immunprotein aus schweren und leichten Ketten, zeigt die Immunfixation mit dem entsprechenden monovalenten Schwerketten-Antiserum eine monoklonale Bande. In gleicher Höhe dieser Bande erscheint beim parallel gelauenen Pherogramm nach Anwendung des passenden monovalenten L-Ketten-Antisera eine dazu korrespondierende Bande, die die Typisierung des monoklonalen Immunproteins ermöglicht (Abb.8–10). Die Immunpräzipitate des anderen L-Ketten-Typs können an der gleichen Stelle abgeschwächt oder insgesamt abgeschwächt sein. Sie sind ansonsten aber diffus verteilt. Die Immunpräzipitate der anderen Ig-Klassen können ebenfalls abgeschwächt sein, da durch die Vermehrung des monoklonalen Proteins die Synthese der übrigen Immunglobuline unterdrückt sein kann.

Isolierte Leichtketten eines Typs (Bence-Jones-Protein) zeigen keine Präzipitation mit monovalenten Schwerketten-Antisera. Sie lassen sich durch zwei Methoden nachweisen:

- direkt, mit Antisera gegen freie Leichtketten;
- indirekt, durch Ausschlußverfahren: Tritt nach Anwendung von Antikörpern gegen gebundene L-Ketten eine Bande im Bereich der L-Ketten-Präzipitate auf, der keine korrespondierende Bande im Schwerkettenbereich gegenübersteht, so handelt es sich hierbei um freie Leichtketten (Abb.11).

Isolierte Schwerketten einer Klasse zeigen keine Präzipitation mit monovalenten L-Ketten-Antisera (Abb.12).

An eine biklonale Gammopathie muß gedacht werden, wenn monoklonale Banden in der klassenspezifischen und typenspezifischen Immunpräzipitation nicht auf gleicher Höhe liegen oder wenn monoklonale Banden in mehreren klassenspezifischen oder beiden typenspezifischen Immunpräzipitationen vorhanden sind (Abb.13 und 14).

Beurteilung des Urin-Immunfixations-Elektrophogramms

Der Nachweis monoklonalen Immunproteins im Urin in Form von Immunglobulin und/oder freien Leichtketten erfolgte durch Auftrennung der unkonzentrierten Urinprobe in 5 parallelen Trennschleifen. Zur Immunfixation wurden Antisera gegen IgG, -A, -M und Kappa-Typ- und Lambda-Typ-Immunproteine angewendet. Bei nierengesunden Probanden kommt es nicht zur Immunpräzipitation.

Patienten mit glomerulärem Nierenschaden zeigen ein polyklonales Immunpräzipitat in einer oder mehrerer Immunglobulinklassen (meist IgG) und beider Immunglobulin-Typen. Patienten mit monoklonaler Immunglobulinausscheidung zeigen ein dem Serum-Immunfixations-Elektrophogramm ähnliches Bild.

* IgG IgA IgM IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 21 21 2 6 11 21 11 21

47

Abb. 6: Immunfixation bei Normproteinämie. Zur Darstellung der Immunglobuline der Klasse M und der Kappa-Typ- und Lambda-Typ-Präzipitation wird das Serum in 2 Verdünnungen aufgetrennt und somit der Äquivalenzbereich des jeweiligen Antigen-Antikörpersystems erheblich erweitert

* IgG IgA IgM IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 51 21 2 6 11 21 11 21

48

Abb. 9: Monoklonale Gammopathie IgA, Typ Lambda. Auch polyklonal gebildete Ig sind noch dargestellt

* IgG IgA IgA IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 31 6 21 2 6 21 6 21

131

Abb. 12: Schwereketten-Gammopathie der Klasse A, bei α -Lymphom eines 28jährigen Südländers. Korrespondierende Leichtkettenpräzipitationen fehlen

* IgG IgA IgM K L *

unverdünnter Probenauftrag (Urin)

242

Abb. 15: Immunfixation eines Spontanharnes. Fragestellung Bence-Jones-Proteinurie bei einem Myelompatienten. Ausgeschieden wird monoklonales Immunglobulin IgA, Typ Kappa und Bence-Jones-Protein, Typ Kappa

* IgG IgA IgM IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 21 21 2 6 11 21 11 21

100

Abb. 7: Polyklonale Gammopathie IgG. Diffuse Verstärkung der Immunpräzipitationen von IgG, Kappa-Typ und Lambda-Typ

* IgG IgA IgM IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 71 51 11 51 31 51 31 51

474

Abb. 10: Monoklonale Gammopathie IgM, Typ Kappa. Die polyklonale Ig-Bildung ist aufgrund der hohen Serumverdünnungen nicht sichtbar

* IgG IgA IgM IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 51 21 2 6 11 21 11 21

167

Abb. 13: Biklonale Gammopathie IgA, Typ Kappa und IgG, Typ Lambda. Das monoklonale IgA liegt in unterschiedlicher Form (2 Banden) vor. An der Auftrageposition ist IgM präzipitiert

* IgG IgA IgM K BJK L BJK *

unverdünnter Probenauftrag (Urin)

258

Abb. 16: Immunfixation eines Spontanharns zum Nachweis einer Bence-Jones-Proteinurie. Mit Antiserum gegen gebundene Leichtketten (K) wird eine stärkere Immunpräzipitation erreicht als mit Antiserum gegen freie Leichtketten (BJK)

* IgG IgA IgM IgM K K L L *

Serumverdünnung:

1: 21 21 2 6 11 21 11 21

73

Abb. 8: Monoklonale Gammopathie IgG, Typ Lambda. In der Serum-Eiweiß-Elektrophorese stellte sich ein stärkerer M-Gradient dar. Die polyklonale Ig-Bildung ist vermindert

* IgG IgA IgM IgM K BJK L BJK *

Serumverdünnung:

1: 51 21 2 6 11 uv. 11 uv.

289

Abb. 11: Bence-Jones-Proteinämie Typ Kappa. Eine homogene Bande liegt in der Kappa-Typ-Präzipitation vor, bei Anwendung eines Antiserums gegen gebundene Leichtketten (K). Wird ein Antiserum gegen freie Leichtketten eingesetzt (BJK), tritt aufgrund des geringeren Äquivalenzbereiches ein Zonenphänomen auf

* IgG IgA IgM IgM K BJK L BJK *

Serumverdünnung:

1: 51 21 2 6 11 uv. 11 uv.

172

Abb. 14: Biklonale Gammopathie IgG, Typ Lambda und IgM, Typ Kappa. Das monoklonale IgM liegt in unterschiedlicher Form vor (2 Banden)

* IgG IgA IgM K L L *

Urinverdünnung:

uv. uv. uv. uv. uv. 1:10

249

Abb. 17: Zonenphänomen, verursacht durch Antigenüberschuß in der Lambda-Typ-Präzipitation. Es stellt sich als ungefärbte Zone innerhalb des Immunpräzipitats dar. Der Übergang gefärbt-ungefärbt ist scharfkantig. Durch Verdünnung des Urins um den Faktor 10 verschwindet das Zonenphänomen

Eine Bence-Jones-Proteinurie liegt vor, wenn sich bei Verwendung von Antiserum gegen gebundene Leichtketten zur Immunfixation nur eine isolierte typenspezifische Präzipitation darstellt (Abb. 15). Voraussetzung sind gleiche Aviditäten der klassen- und typenspezifischen Antisera, so daß die gleiche Empfindlichkeit zum Nachweis von Schwer- und Leichtketten, als auch für beide Leichtketten besteht. Wir empfehlen deshalb, vor Verwendung neuer Antiserachargen die Nachweisempfindlichkeit zu prüfen, wenn Bence-Jones-Protein im Urin nachgewiesen werden soll.

Die Immunfixation mit Antiserum gegen gebundene Leichtketten ist der Verwendung von Antiserum gegen freie Leichtketten (Anti-Bence-Jones-Protein) vorzuziehen, da die Empfindlichkeit größer ist. Der Unterschied in der Präzipitationsstärke ist in Abb. 16 dargestellt.

Empfindlichkeit

Die Bestimmung der Nachweisempfindlichkeit erfolgte durch Schachbretttitration. Eingesetzt wurde ein Serum-Pool bekannter Immunglobulinkonzentration. Bei Verdünnung der Antisera mit gleichen Volumina PEG-Puffer ergaben sich folgende praktische Nachweisempfindlichkeiten:

Im Serum für IgG, IgA, Kappa-Typ- und Lambda-Typ-Immunglobuline etwa 20 mg/l, für IgM etwa 40 mg/l.

Für Immunproteine im Urin gelten die gleichen Werte, so daß der Bence-Jones-Protein-Nachweis mit einer Empfindlichkeit von 20 mg/l im unkonzentrierten Harn möglich ist.

Aufgrund der guten Nachweisempfindlichkeit für monoklonales Immunprotein im Harn empfehlen wir den Einsatz der Immunfixations-Elektrophorese als Suchreaktion für Bence-Jones-Protein im unkonzentrierten morgendlichen Spontanurin.

Die Empfindlichkeit zum Nachweis von Bence-Jones-Protein im Harn vermindert sich auf das 2- bis 3fache (> 50 mg/l), wenn Antisera gegen freie Leichtketten verwendet werden. Außerdem ist der Äquivalenzbereich dieser Antisera kleiner, so daß schon bei geringeren Bence-Jones-Proteinkonzentrationen ein Zonenphänomen auftritt.

Zonenphänomen

Bei Vorliegen eines Antigenüberschusses kommt es innerhalb der Präzipitationszone zum Auftreten von scharf abgegrenzten, ungefärbten Zonen (Auslösch-, Zonen-, Prozonophänomen). Durch das Prozonophänomen wird das Vorliegen von zwei monoklonalen Banden vorgetäuscht (Abb. 17).

Die Unterscheidung zweier monoklonaler Banden vom Zonenphänomen kann anhand der Präzipitationskontur erfolgen. Das Zonenphänomen stellt sich im Gegensatz zu zwei monoklonalen Banden als eine scharfkantig abgegrenzte, ungefärbte Zone dar (Abb. 18). In unklaren Fällen kann durch 10fache Verdünnung der Probe das Zonenphänomen beseitigt werden. Dadurch wird der Äquivalenzbereich mit seinen vorwiegend unlöslichen Immunkomplexen wieder erreicht.

Zeigt das Zonenphänomen keine Tendenz zur Auflösung muß an eine biklonale Gammopathie oder an das Vorliegen von Immunproteinen in mono-, di- bzw. polymerer Form gedacht werden.

Doppel - Myelom:
eingebuchtete Linie

Antigenüberschuß:
dünne scharfe, gerade Linie



Abb. 18: Abgrenzung zweier monoklonaler Banden (Doppelmyelom) vom Zonenphänomen (Antigenüberschuß).

Beim Doppelmyelom zeigt die Immunpräzipitation das Bild zweier ineinanderlaufender Verteilungskurven. Dort wo beide ineinanderlaufen, entsteht in den seitlichen Randzonen eine Einbuchtung durch Auflösung der Immunpräzipitate, aufgrund des an diesen Stellen vorliegenden Antikörperüberschusses. Die Einbuchtung schließt immer das Vorliegen eines Zonenphänomens aus.

Das Zonenphänomen stellt sich als Fenster im Immunpräzipitat dar, scharfkantig begrenzt und an den beiden seitlichen Randzonen in Form gerader Linien. Die geradlinige seitliche Begrenzung beruht auf der in diesem Bereich vorliegenden Antigen-Antikörper-Balance

Technische Fehlermöglichkeiten

Die Durchführung der Immunfixations-Elektrophorese erfordert – vergleichbar der Immunelektrophorese – Fachpersonal. Eine Liste der häufigsten Fehlermöglichkeiten und ihrer Ursachen ist in Tab. 4 dargestellt.

Zu trennen sind Fehlermöglichkeiten, die beim Gießen der Agarosegelplatten entstehen von solchen, die durch den elektrophoretischen Lauf bedingt sind oder auf mangelhafter Immunfixation beruhen. Fehler beim Gießen der Agarosegelplatten werden im allgemeinen optisch gut erkannt. Die Abgrenzung elektrophoretischer Störungen von fehlerhafter Immunfixation kann erfolgen, wenn nach dem elektrophoretischen Lauf auf die Immunfixation verzichtet und die elektrophoretische Trennung durch direkte Anfärbung der Proteinbanden sichtbar gemacht wird. Dazu wird die Agarosegelplatte nach der elektrophoretischen Trennung ohne nachfolgende Immunfixation entsprechend Abb. 5 behandelt.

Vorteile

Die Immunfixations-Elektrophorese hat gegenüber der Immunelektrophorese nach Grabar und Williams erhebliche Vorteile (Tab. 5).

Die etwa 50- bis 100fache höhere Nachweisempfindlichkeit der Immunfixations-Elektrophorese führt zum häufigeren zufälligen Nachweis monoklonaler Immunproteine, als das mit der Immunelektrophorese der Fall ist. Da dem Frühnachweis monoklonalen Immunglobulins, ohne Vorliegen einer klinischen Symptomatik, bisher noch keine klinische Wertigkeit zugeordnet wurde, empfehlen wir die jährliche Verlaufsbeurteilung bei diesen Personen.

Die gute Empfindlichkeit für Bence-Jones-Protein im Serum und Harn erhöht deutlich die diagnostische Sensitivität für Leichtkettenmyelome, Ig-Myelome mit Bence-Jones-Proteinurie und/oder Bence-Jones-Proteinämie sowie für IgD-Myelome. Vorteilhaft ist, daß der Nachweis monoklonaler Leichtketten im unkonzentrierten Spontanurin durchgeführt werden kann. Der Verlust von Bence-Jones-Protein und die Degradation des Peptides während der Harnkonzentrierung entfallen. Beides sind erhebliche Nachteile anderer Nachweismethoden wie der Urineiweiß-Elektrophorese und der Immunelektrophorese.

Tab.4: Technische Fehlermöglichkeiten der Immunfixations-Elektrophorese und ihre Ursache

Fehler	Ursache	Fehler	Ursache
Gießen der Agarosegelplatten		Immunfixation	
Heiße Agarose weicht beim Auftragen vom Rand zurück	Glasplatte haften Fett- und Silikonreste an Zu heißes Auftragen der Agarose Zu heiße Glasplatte	Wolkige und/oder unterbrochene Präzipitate	Verunreinigte Acetatstreifen (z. B. durch fettige Hände) Luftblasen unter den Acetatstreifen
Rußpartikel in Agarose	Abgeflamnte Plattenseite wurde zum Auftragen der Agarose verwendet	Keine, schwache oder Teilpräzipitatbildung	Verrutschte Schablone bzw. Glasplatte, dadurch keine oder unzureichende Überdeckung des Pherogramms mit Antiserum Kalt gelagerte Antisera vor Verwendung ungenügend geschüttelt und somit Antiserumtiter zu niedrig
Eingetrockneter und/oder kristalliner Agaroserand	Agarosegelplatte ausgetrocknet, aufgrund zu langer und zu trockener Lagerung	Sichtbare Auftragestelle	Acetatstreifen zu weit anodisch oder kathodisch aufgelegt; es bilden sich scharfrandige Abbruchpräzipitate Denaturierte Proteine (Serum zu alt) Fibrinogen Zirkulierende Immunkomplexe, hoher Rheumafaktortiter
Schimmelbildung	Platte zu alt (ohne Merthiolat 4 Tage haltbar bei Zimmertemperatur)	Färbung	
Elektrophorese		Zerrissene Präzipitate	Zu hoher Preßdruck bei Trocknung
Schweifbildung im Präzipitat – gefärbt –	Unsaubere Schlitzmaske* z. B. haftende Proteinreste Schlitzmaske uneben aufgelegt, so daß Probenmaterial unter die Maske läuft	Wässerung	
Schweifbildung im Präzipitat – ungefärbt –	Klumpige Partikel in Agarose Luftblase unter Schlitzmaske	Agarosegelschicht schwimmt im Wässerungsbad	Ungenügende Entfettung der Glasplatte Mangelnder Preßdruck bei Trocknung Keine waagerechte Lagerung der Platten im Wässerungsbad Starkes Hin- und Herschwenken der Platten
Inhomogene, verzogene Präzipitate	Kühlung unzureichend bzw. ungenügender Brückenkontakt (kann an veränderter Wanderungsstrecke des mit Bromphenolblau gefärbten Albumins erkannt werden)		
Verwaschene Präzipitate	Kondenswasser ist während des Laufes auf Agaroseschicht getropft Agarosegelschicht vor Färbung unzureichend getrocknet		
Laufstrecke zu kurz	Kühltemperatur zu tief		

* Die Reinigung der Schlitzmaske nach Probenauftrag sollte folgendermaßen durchgeführt werden:

- Abspülen mit Leitungswasser
- Abreiben mit Flüssigseife evtl. mit Alkohol nachreinigen
- Nachspülen mit Leitungswasser
- Trocknen
- Lagerung in Klarsichthülle

Ver mehrt, als bisher in der Literatur bekannt (13, 14), werden biklonale Gammopathien sowohl des gleichen Typs und unterschiedlicher Klasse, als auch gleicher Klasse und unterschiedlichen Typs nachgewiesen. Aus vorläufigen Schätzungen unseres Krankengutes ergibt sich gegenüber den Zahlen aus der Literatur, die vermittels der Immunelektrophorese erstellt wurden, eine Erhöhung um das 5- bis 10fache. Das Verhältnis monoklonal zu biklonal ist bei uns etwa 10:1. Es handelt sich vorwiegend um nicht zytostatisch behandelte Patienten.

Wesentliche technische Vorteile der Immunfixations-Elektrophorese sind eine Zeitdauer von etwa 4 Std. (Kurzzeitwässerung von 2 Std.), ein kontinuierlicher Arbeitsablauf sowie die Reduzierung des Antiserumverbrauchs gegenüber der Immunelektrophorese.

Wesentlich sind auch die leichtere und eindeutige Interpretation. Die Immunfixation orientiert sich nicht an Verziehungen von Präzipitabögen, sondern konzentriert sich auf das Aufsuchen von verdichteten Immunpräzipitaten und deren Zuordnung zueinander. Die Interpretation erfolgt durch die Beurteilung von nur einer Agarosegelplatte und läßt sich in kurzer Zeit erlernen.

Schwierige Leichtkettentypisierungen monoklonaler Immunproteine der Klassen A und M aufgrund des sog. „Schirmeffektes“ von IgG entfallen bei der Immunfixation. Ebenso gibt es bei der Immunfixation weder das Auftreten eines Depotflecks an der Auftragestelle (IgM), nach das Präzipitieren in den Antiserumtrog.

Tab.5: Vorteile der Immunfixations-Elektrophorese gegenüber der Immunelektrophorese

- gute Nachweisempfindlichkeit für monoklonale Immunproteine (20–30 mg/l)
- Zeitdauer von nur 4 Std.
- kontinuierlicher Arbeitsablauf
- Ersparnis von Antiserum
- geringere technische Fehlermöglichkeiten
- Nachweis von Bence-Jones-Protein im unkonzentrierten Urin

Die genannten Vorteile erscheinen uns und anderen Autoren (4-10) so aussagekräftig, daß wir den Ersatz der Immunelektrophorese zugunsten der Immunfixations-Elektrophorese auf breiter Basis empfehlen.

Dem bedenkenlosen Ersatz der Immunelektrophorese durch derzeit kommerziell angebotene Immunfixations-Elektrophorese-Systeme, können wir aufgrund noch ungenügender Zuverlässigkeit nicht zustimmen.

Anschrift für die Verfasser:

Prof. Dr. L. Thomas
Zentrallabor
Krankenhaus Nordwest
Steinbacher Hohl 2-26
6000 Frankfurt 90

Schrifttum:

1. MOHR, R., GROSS, R.: Das Plasmozytom. Dtsch. Ärztebl., Heft 46. 2721-2727 (1980).
2. THOMAS, L.: Eiweiß-Elektrophorese. Urban + Schwarzenberg (1981).
3. GRABAR, P., WILLIAMS, C. A.: Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange des protéines. Application au sérum sanguin. Biochim. Biophys. Acta 10, 193-194 (1953).
4. RITCHIE, R. F., SMITH, R.: Immunfixation. I. General principles and application to agarose gel electrophoresis. Clin. Chem. 22, 497-499 (1976).
5. RITCHIE, R. F., SMITH, R.: Immunfixation. III. Application to the study of monoclonal proteins. Clin. Chem. 22, 1982-1985 (1976).
6. WHICHER, J. T., HAWKINS, L., HIGGINSON, J.: Clinical applications of immunofixation: a more sensitive technique for the detection of Bence Jones protein. J. Clin. Pathol. 33, 779-780 (1980).
7. MERLINI, G., PIRO, P., PAVESE, F., EPIS, R., AGUZZI, F.: Detection and identification of monoclonal components: Immunelectrophoresis of agarose gel and immunofixation on cellulose acetate compared. Clin. Chem. 27, 1862-1865 (1981).
8. MAUCH, H., HAMMER, H. J.: Die differenzierende Diagnostik monoklonaler und polyklonaler Immunglobuline mit der Immunfixation. Lab.med. 5, 227-230 (1981).
9. BAUER, K.: Immunfixation. Berichte der ÖGKC 5, 175-179 (1982).
10. JOHNSON, M. A.: Immunofixation electrophoresis and electrofocusing. Clin. Chem. 28, 1797-1800 (1982).
11. BAUS, M., MÜLLER, T., THOMAS, L.: Diagnostik monoklonaler Immunproteine mit Immunfixations-Elektrophorese. Bericht der Herbsttagung, Berufsverb. und Ges. Lab.-Med., 1985, S.1-37.
12. MÜLLER, T., BAUS, M.: Dissertationsschrift 1986.
13. FATEH-MOGHADAM, A., LAMERZ, R., KNEDEL, M., TSIRIMBAS, B.: Elektrophoretische Klassen- und Gruppenverteilung von Paraproteinen und normalen Immunglobulinen. Klin. Wschr. 49, 458-467 (1971).
14. KYLE, R. A.: Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Amer. J. Med. 64, 814-826 (1978).

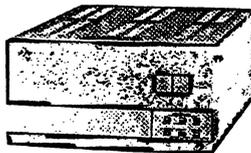
□

Ultraschall-Diagnostik:

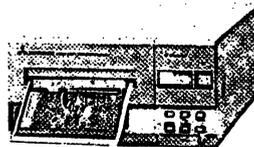
 MITSUBISHI ELECTRIC

Für ca. 10, 25 oder 45 Pfg. eine Dokumentation...

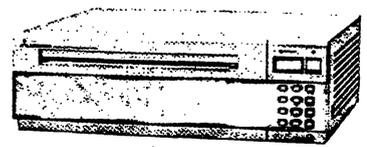
...als Papierbild. Die Mitsubishi Video Copy-Processoren drucken jede beliebige Darstellung in fotoähnlicher Qualität aus. Fast geräuschlos, in den Formaten **100 x 84 mm (P-50E)**, **100 x 67 mm (P-60B)** und **200 x 148 mm (P-70B)**. Die Darstellung läßt eine einwandfreie Dokumentation und Analyse der Darstellungen zu.



Mit der Standard-Version der Mitsubishi Video Copy-Processoren, dem P-50E, läßt sich innerhalb von 15 Sekunden jede beliebige Darstellung, die über ein Ultraschall-Gerät, einen Monitor, eine Video-Kamera, einen Video-Recorder bis hin zum TV-Bildschirm sichtbar gemacht werden kann, für circa 10 Pfennige ausdrucken. Die fotoähnlichen Drucke im Format 100 x 84 mm sind nicht nur besonders preiswert, sondern überzeugen vor allem durch ihre gute Bildqualität. Die Auslösung kann, ebenso wie bei den anderen Modellen der Mitsubishi Video Copy-Processoren, manuell, automatisch und per Fernauslösung erfolgen.



Für circa 25 Pfennige Papierpreis liefert der P-60B in nur 17 Sek. auf 100 x 67 mm ein Papierbild, das aufgrund der besonders hohen Bildauflösung mit 640 x 512 Punkten und der 16fachen Schwarz-Weiß-Abstufung von einem Foto fast nicht zu unterscheiden ist. Zudem bieten alle Mitsubishi Video Copy-Processoren die Möglichkeit, Bilder direkt zu vervielfältigen bzw. von der positiven in die negative Darstellungsform umzuwandeln.



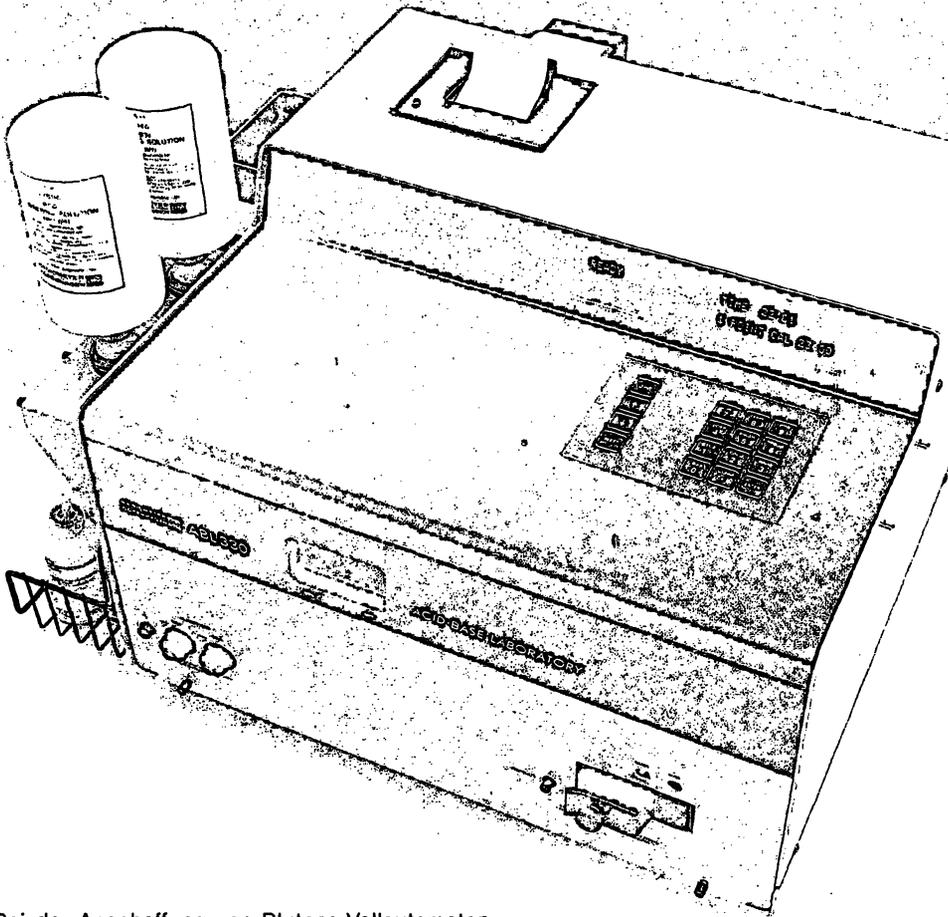
Den Beweis Schwarz auf Weiß in den Händen zu halten, für nur ca. 45 Pfennige im Format 200 x 148: mit dem P-70B. In einer Abbildungsqualität und Bildgröße, die zu jeder Zeit eine einwandfreie Dokumentation, Analyse von Diagrammen, Identifizierung von Personen oder Situationen zuläßt. Über einen ebenfalls anschließbaren PC oder ein Teletex-Gerät lassen sich Ziffern, Zahlen und Schriften gleichzeitig mit auf das Papier drucken.

Informationen und Händlernachweise über

 MITSUBISHI ELECTRIC EUROPE GMBH
GOTHAER STRASSE 8 · 4030 RATINGEN 1 (WEST)
ABTEILUNG CP-SPECIAL

Blutgas-Vollautomat ABL330

Die WIRTSCHAFTLICHE Alternative



Bei der Anschaffung von Blutgas-Vollautomaten stehen heute nicht nur Zuverlässigkeit und klinische Relevanz der gemessenen Daten im Mittelpunkt des Interesses. Sie sind selbstverständlich! Infolge der knappen Haushaltsmittel spielt DIE WIRTSCHAFTLICHKEIT eine immer größer werdende Rolle.

Dieser Situation hat RADIOMETER mit dem neuen ABL330 Blutgas-Vollautomaten entsprochen. ABL330 als jüngstes Mitglied der bewährten RADIOMETER-ABL-Familie ist eine wirtschaftliche Alternative. Die bewährte Qualität und Präzision der RADIOMETER-Blutgas-Automaten ist in diesem Gerät mit modernster Technologie vereinbart:

- ◆ 85 µl Probenvolumen
- ◆ computerüberwachte Messung von der Proben-
eingabe bis zur Datenausgabe
- ◆ automatische Kalibrierung in programmierba-
ren Intervallen.

Das sind nur einige der wichtigen Leistungskenn-
daten. Einfache Wartung, niedrige Verbrauchskosten und eine lange Lebensdauer machen den ABL330 zu einer wirtschaftlichen Investition für die Zukunft.

RADIOMETER 
COPENHAGEN

RADIOMETER DEUTSCHLAND GMBH
Am Nordkanal 8 · D-4156 Willich 3
Telefon: (0 2154) 818-0 · Telex 8531700 rdeu