

Evaluation einer enzymatischen UV-Methode zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration im Serum

Evaluation of an enzymatic UV-Method for the Determination of Creatinine in Serum

O. Sonntag und G. Schumann

Zusammenfassung:

Es wurde eine enzymatische UV-Methode zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration im Serum evaluiert. Die UV-Methode zeigte eine gute Übereinstimmung mit einer Jaffe-Methode (Adsorption von Creatinin an Fullererde) und mit der Ektachem-Single-Slide-Methode. Im Konzentrationsbereich < 115 µmol/l war die Übereinstimmung mit den Vergleichsmethoden bei einzelnen Proben nicht zufriedenstellend. Die Ursache hierfür konnte nicht geklärt werden. Interferenzen mit erniedrigter Wiederfindung von Creatinin wurde durch Pyruvat > 1,4 mmol/l, Hämoglobin > 2,0 g/l und Ammoniak > 1000 µmol/l verursacht. Bilirubin-Konzentrationen bis zu 800 µmol/l störten die UV-Methode nicht. Trübe oder stark lipämische Seren können am Cobas Bio einen Absorbance-Fehler erzeugen.

Schlüsselwörter:

Creatinin – UV-Methode – Ektachem-Single-Slide-Methode – Fullererde-Methode – Interferenz – Methodenvergleich

Summary:

An enzymatic UV-method for the determination of creatinine in serum was evaluated. The UV-method correlated well with a Jaffe method (adsorption of creatinine on Fuller's earth) and with the Ektachem single-slide method. Deviations between determination by the UV-method and the comparison methods were observed in the lower concentration range (< 115 µmol/l). A decreased recovery was obtained by interferences of pyruvate > 1,4 mmol/l, hemoglobin > 2,0 g/l and ammonia > 1000 µmol/l. Bilirubin up to 800 µmol/l did not interfere. Turbid or lipemic samples can induce an absorbance error on the Cobas Bio.

Keywords:

Creatinine – UV-method – Ektachem single-slide method – Fuller's earth method – interferences – method comparison

Einleitung

In den vergangenen Jahren sind verschiedene enzymatische Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von Creatinin im Serum und im Urin entwickelt und evaluiert worden (1–10). Die Spezifität und Sensitivität der meisten hierbei verwendeten Analysenverfahren sind nicht zufriedenstellend.

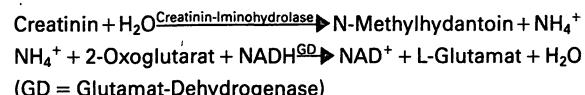
In der Methode von Tanganelli et al. (2) wird Creatinin-Iminohydrolase für eine initiale Creatinin-spaltung verwendet, hierbei entsteht Ammoniak. Dieser dient als Substrat in einer Indikatorreaktion nach dem Prinzip eines Glutamat-Dehydrogenase katalysierten optischen UV-Tests (11). Seit kurzer Zeit wird dieses Analysenverfahren mit einer modifizierten Reagenzienkombination als Test-Kit angeboten.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war die Evaluation dieser neuen UV-Methode. Für die Vergleichsmessungen der Ceatinin-Konzentration im Serum wurden eine Fullererde/Jaffe-Methode (12) und ein enzymatisches Verfahren mit trägegebundenen Reagenzien (8, 9) herangezogen. Die Spezifität der UV-Methode zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration wurde mit Hilfe systematischer Untersuchungen der potentiellen Störeinflüsse bzw. Störsubstanzen überprüft.

Methoden und Material

Test-Methode:

Prinzip der UV-Methode:



Reagenz:

Creatinin-Duo (Biomed, Oberschleißheim). Die Testzusammensetzung ist in Tabelle 1 aufgelistet. Zusätzlich sind die Konzentrationen von zwei ähnlichen Testkombinationen mit vergleichbarem Reaktionsprinzip aufgeführt. Alle Analysen mit der UV-Methode wurden an einem Cobas Bio (Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen) durchgeführt. Das entsprechende Parameter-Listing wurde in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Vergleichsmethoden:

- Modifizierte Jaffe-Reaktion mit Enteiweißung und Bindung des Creatinins an Fullererde (im folgenden Text „Fullerde-Methode“ genannt). Die Durchführung dieses Tests, einschließlich der photometrischen Messung an ei-

RSPRUNG UND ADITION UND INNOVATION



Nichols Institute

Zukunftsorientierte Forschung im eigenen Labor, wirtschaftliche Lösungen und umfassender Service in ganz Europa sowie weltweit gehören zu unseren Identitätsmerkmalen.

Die Kooperation mit internationalen Universitäten, modernste Technologie, garantieren unvergleichliche Produktqualität.

Der intensive Kontakt zu unseren Akademikern in Wissenschaft und Forschung ermöglicht es uns, Ihnen eine große Anzahl von wissenschaftlich fundierten Publikationen zu unseren Kits zur Verfügung zu stellen.

Entdecken Sie die Vorteile unseres Rund-um-Services.

Gerne senden wir Ihnen detaillierte Produktinformationen. Oder lassen Sie sich von einem unserer Außendienstmitarbeiter fachkundig beraten.

Allégo® PTH rP
PARATHYROID HORMONE
related PEPTIDE

Die Vorteile der Zwei-Seiten-IRMA-Methode

- Einfache Durchführung**
Nur zwei Pipettierschritte, keine Extraktion notwendig, Festphasentrennung.
- Spezifität**
Keine Kreuzreaktion mit hPTH-Fragmenten oder hPTH 1-84, keine Kreuzreaktion mit bekannten PTH-rP-Fragmenten
- Erweiterter analytischer Bereich:**
0-500 pmol/L

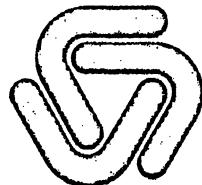
 Nichols Institute

Diagnostika GmbH
Dieselstrasse 18
W - 6350 Bad Nauheim
Tel 0 60 32 3 50 57
Fax 0 60 32 3 50 50

IHR GEBÜHRENFREIES SERVICETELEFON

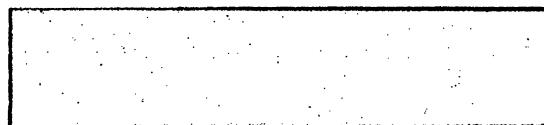
HOTLINE 0130-840791

NICHOLS INSTITUTE BAD NAUHEIM



Nichols Institute

TRADITION UND INNOVATION SEIT 20 JAHREN



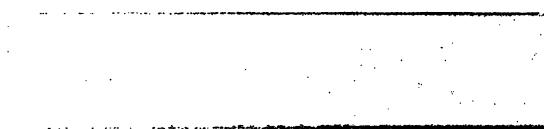
JIRMA

Allegro

PTH rP

Intakt PTH

HS-ACTH



JIRIA

Osteocalcin

Endothelin

Vasopressin

ANP, Extraktion

ANP, direkt

β 2 – Mikroglobulin

Melatonin

Angiotensin II

IGF-I

1,25-Dihydroxyvitamin D



Nichols Institute

Diagnostika GmbH
Dieselstrasse 18
W - 6350 Bad Nauheim
Tel 06032 35057
Fax 06032 35050

Tab. 1: Vergleich der Zusammensetzung und Angaben der Konzentration im Reaktionsgemisch der bisher beschriebenen UV-Methoden (GD-Reaktion) zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration in Serum und Urin.

Substanz	Tanganelli ¹ 1982	Carlo-Erba ² 1984	Biomed ³ 1990
Tris-Puffer, mmol/l	38,4	44,6	41,0
pH-Wert	8,5	8,5	8,0
Creatinin-			
Iminohydrolase, U/l	> 890	> 710	> 14
2-Oxoglutarat, mmol/l	8	8	20,5
NADPH, mmol/l	0,18	0,18	—
NADH, mmol/l	—	—	0,23
ADP, mmol/l	0,45	0,45	1,0
Lactat-Dehydrogenase, U/l	—	—	1 640
Glutamat-			
Dehydrogenase, U/l	> 4 500	> 4 500	> 2 100
Oxypolyethoxydodecan, g/l	5,4	?	?

1 = Angabe nach Tanganelli et al. (3)

2 = Angabe nach Carlo Erba, Testkit nicht mehr erhältlich

3 = evaluierte Methode

(Hinweis: Ein direkter Konzentrationsvergleich ist nicht möglich, da teilweise keine Angaben über die Meßtemperatur der Enzyme gemacht wurde.)

Tab. 2: Parameter Listing für den Cobas Bio zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration im Serum mit einer UV-Methode.

Reaktionsrichtung	(Abnahme)
UNITS	UMOL/L
CALCULATION FACTOR	0
STANDARD 1 CONC	177
STANDARD 2 CONC	177
STANDARD 3 CONC	177
LIMIT	1 200
TEMPERATURE (DEG. C)	25,0
TYPE OF ANALYSIS	3
WAVELENGTH (NM)	340
SAMPLE VOLUME (UL)	50
DILUENT VOLUME (UL)	40
REAGENT VOLUME (UL)	240
INCUBATION TIME (SEC)	180
START REAGENT VOLUME (UL)	05
TIME OF FIRST READING (SEC)	10,0
TIME INTERVAL (SEC)	20
NUMBER OF READINGS	10
BLANKING MODE	1
PRINTOUT MODE	1

nem Eppendorf Photometer M 1011 (Eppendorf Gerätebau, Hamburg), erfolgte manuell (12).

2. Enzymatische Creatinin-PAP-Methode mitträgergebundenen Reagenzien (8, 9), (Single-slide, Generationsnummer 05). Die Durchführung dieses Tests erfolgte am Ektachem 700 (Kodak, Stuttgart).

Kalibration:

Die Fullererde- und die UV-Methode wurden unter Verwendung desselben wässrigen Standards mit einer Creatinin-Konzentration von 177 µmol/l, die Ektachem-Methode mit Hilfe von PAV-Daten (primary assigned values) kalibriert (9). Diese Kalibrationsparameter wurden von Kodak aus Creatinin-Konzentrationsbestimmungen auf der Basis eines HPLC-Verfahrens abgeleitet. Im Unterschied zu den alternativ verfügbaren SAV-Daten (supplementary assigned values), zeichnet sich die Kalibration auf der Basis von PAV-Daten dadurch aus, daß übereinstimmende Messungen der Creatinin-Konzentrationen mit spezifischen Analysenverfahren wie z. B. Fullererde- oder UV-Methode erzielt werden können.

Patientenproben:

Für den Methodenvergleich wurden überwiegend Seren von intensiv-medizinisch behandelten Patienten ausgewählt. Proben dieser Patienten enthalten erfahrungsgemäß einen hohen Anteil an Störfaktoren, wie Bilirubin, freies Hämoglobin, hohe Konzentrationen endogener Metabolite sowie eine große Anzahl von Arzneimitteln und deren Abbauprodukte. Es wurden insgesamt 165 Seren mit allen drei vorgenannten Methoden analysiert.

Ermittlung der Präzision:

Für die Ermittlung der Präzision in der Serie ($n = 20$) wurden Analysen aus drei Patientenserien mit unterschiedlich hoher Creatinin-Konzentration durchgeführt. Für die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag ($n = 10$) wurden zwei Kontrollseren verwendet (Tab. 3).

Überprüfung der Richtigkeit:

Vier Kontrollseren mit ausgewiesenen Referenzmethodenwerten (13, 14) wurden begleitend zu den Analysen von Pa-

tientenproben eingesetzt, um die Richtigkeit der UV-Methode zu überprüfen.

Linearität und obere Meßbereichsgrenze:

Die Linearität der Testmethode wurde unter Verwendung von 2 Seren mit Creatinin-Konzentrationen von 60 µmol/l bzw. 2300 µmol/l in 11 verschiedenen Mischungsverhältnissen (Volumenanteile: 0 + 10, 1 + 9, 2 + 8, etc.) geprüft.

Aufzeichnung der Reaktionskinetik:

Der zeitliche Verlauf der kinetischen Reaktion wurde von 0 bis 600 Sekunden überprüft. Hierzu wurden mehrere Patientenproben mit unterschiedlichen Creatinin-Konzentrationen (90 µmol/l, 160 µmol/l und 950 µmol/l), sowie der Kalibrator und der Reagenzienleerwert untersucht. Die individuellen Reaktionsverläufe wurden durch jeweils 31 Meßpunkte erfaßt und graphisch dargestellt.

Interferenzstudien:

Die möglichen Interferenzen durch Bilirubin, Hämolyse und Trübung wurden in Vergleichen zur störunanfälligen Fullererde- bzw. Ektachem-Methode überprüft. Hierzu wurden jeweils 10 Seren mit hohen Konzentrationen dieser Störfaktoren analysiert. Der Einfluß der Hämolyse wurde

Tab. 3: Ergebnisse der Präzisionsstudie

Präzision in der Serie ($n = 20$)		
Patienten-probe	\bar{x} (µmol/l)	rs (%)
a	35	6,5
b	151	3,1
c	528	2,1

Präzision von Tag zu Tag ($n = 10$)		
Kontrollserum	\bar{x} (µmol/l)	rs (%)
Kontrollogen L	129	3,9
Kontrollogen LP	280	3,5

darüber hinaus durch In-vitro-Zusatz von Hämolsat überprüft (15). Die jeweilige Hämoglobin-Konzentration wurde in diesen Proben zusätzlich mit Hilfe eines Zweiwellenlängen-Verfahrens (16) gemessen. Mögliche Störungen der UV-Methode durch Ammoniak (NH_4^+) und Pyruvat wurden in Patientenproben nach In-vitro-Zusatz von Ammoniumchlorid bzw. Natriumpyruvat geprüft. Die Konzentration von Ammoniak und Pyruvat wurde in den aufgestockten Proben photometrisch gemessen (17, 18). Die Auswertung der gemessenen Creatinin-Konzentration in Abhängigkeit von Ammoniak- bzw. Pyruvatkonzentration erfolgte graphisch in Interferogrammen (19), wenn die gemessenen Creatinin-Konzentrationen in den aufgestockten Seren gegenüber den nicht aufgestockten Proben tendenziell Abweichungen um mehr als $\pm 10\%$ aufwiesen.

Statistische Auswertung:

Die statistischen Auswertungen der Methodenvergleiche erfolgte unter Verwendung der standardisierten Hauptkomponentenanalyse (20).

Ergebnisse

Präzision, Richtigkeit, Linearität und Meßbereich:

Die Präzision der enzymatischen UV-Methode war zufriedenstellend. Bei Creatinin-Konzentrationsbestimmungen in der Serie am Cobas Bio wurde eine relative Standardabweichung von 6,5% im unteren (35 $\mu\text{mol/l}$) bzw. von 2,1% im oberen (528 $\mu\text{mol/l}$) Konzentrationsbereich erzielt. Die Ermittlung der Präzision von Tag zu Tag ergab relative Standardabweichungen von 3,9% bzw. 3,5% für zwei Kontrollseren mit Creatinin-Konzentrationen von 129 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 280 $\mu\text{mol/l}$ (Tab. 3). Die Abweichung der gemessenen Creatinin-Konzentration vom entsprechenden Referenzmethodenwert lag in vier verschiedenen Kontrollmaterialien zwischen -6,7% und +2,8% (Tab. 4). Aus diesen Vergleichen wurde auf eine befriedigende Richtigkeit der Testmethode geschlossen. Die aufgezeichneten Reaktionskinetiken für den enzymatischen Creatinin-Abbau verlaufen in verschiedenen Testansätzen im Zeitintervall von 10 bis 210 Sekunden nach Reaktionsbeginn linear (Abb. 1). Innerhalb der Meßbereichsgrenzen von $\geq 35 \mu\text{mol/l}$ bzw. $\leq 1200 \mu\text{mol/l}$ waren Creatinin-Konzentrationsbestimmungen mit der UV-Methode linear und ausreichend reproduzierbar (Abb. 2).

Methodenvergleiche:

Die statistischen Auswertungen der Creatinin-Vergleichsmessungen in Patientenproben ergab eine gute Übereinstimmung zwischen UV-, Ektachem- und Fullererde-Methode (Tab. 5, Abb. 3-6). Alle drei Methoden korrelierten

Tab. 4: Vergleich von Kontrollseren mit Referenzmethodenwert (8, 9).

Kontrollserum	Referenzmethodenwert $\mu\text{mol/l}$	UV-Methode ¹ $\mu\text{mol/l}$	Abweichung %
A	123,5	127	2,8
B	137,9	138	0,0
C	293	291	-0,7
D	301	281	-6,7

1 = Mittelwert aus Doppelbestimmung

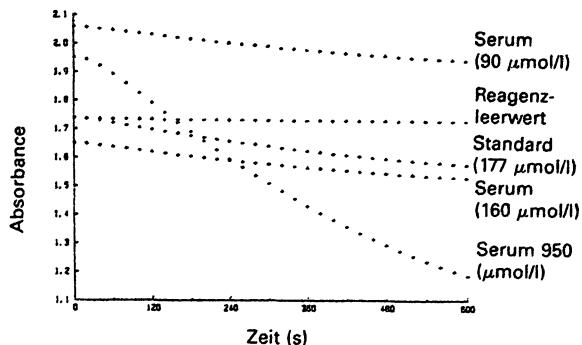


Abb. 1: Darstellung der Reaktionskinetik der UV-Methode.

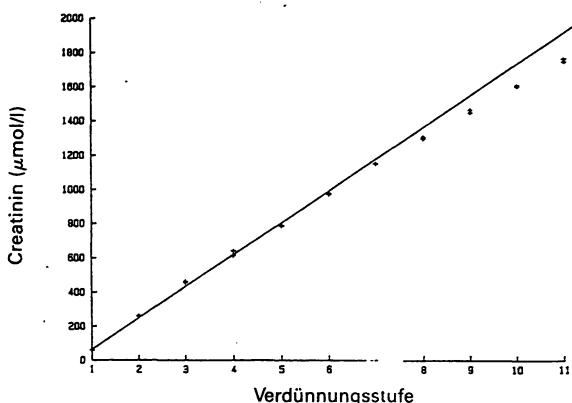


Abb. 2: Darstellung des linearen Meßbereiches der UV-Methode.

sehr gut miteinander, vorausgesetzt, daß die Meßwerte über den gesamten Meßbereich ausgewertet wurden (Abb. 3+5, Tab. 5; I-III). Die Auswertung von Creatinin-Vergleichsmessungen im unteren Meßbereich ($< 115 \mu\text{mol/l}$) ergab keine zufriedenstellende Korrelation zwischen der UV-Methode und den Vergleichsmethoden (Tab. 5; IV+VI und Abb. 4+6).

Interferenzstudien:

Bei systematischen Untersuchungen auf Interferenzen erwies sich die UV-Testmethode anfällig gegenüber den potentiellen Störsubstanzen bzw. Störfaktoren Pyruvat, Ammoniak und Trübungen. Pyruvat führte ab einer Konzentration von 1,4 mmol/l zu einer erniedrigten Wiederfindung der Creatinin-Konzentration als Folge des erhöhten Ver-

Tab. 5: Creatinin-Vergleichsmessungen im Serum mit der enzymatischen UV-Methode (UV), der Ektachem Methode (E-700) und der Fullererde-Methode (FE).

y	vs	x	n	y = ax + b*	\bar{x}	\bar{y}	s_{yx}	r
Creatinin-Konzentration $< 1000 \mu\text{mol/l}$								
(I)	UV	vs	FE	165 y = 1,06x - 8,1	209,0	214,5	18,49	0,9918
(II)	E-700	vs	FE	165 y = 1,03x - 4,3	209,0	209,8	11,58	0,9965
(III)	UV	vs	E-700	165 y = 1,04x - 3,6	209,8	214,5	14,95	0,9947
Creatinin-Konzentration $< 115 \mu\text{mol/l}$								
(IV)	UV	vs	FE	72 y = 1,19x - 17,6	66,8	62,1	11,42	0,7458
(V)	E-700	vs	FE	72 y = 1,06x - 4,9	66,8	65,8	5,56	0,9233
(VI)	UV	vs	E-700	72 y = 1,13x - 12,1	65,8	62,1	9,68	0,8175

* Standardisierte Hauptkomponentenanalyse

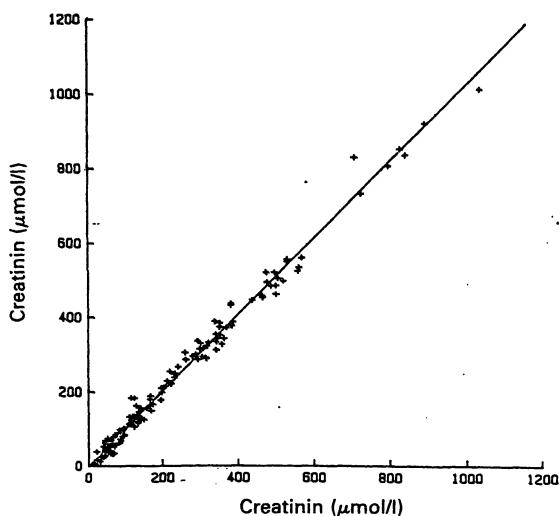


Abb. 3: Vergleich von 165 Patientenserien (gesamter Meßbereich), x-Achse: Fullererde-Methode, y-Achse: UV-Methode. Die statistischen Daten sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

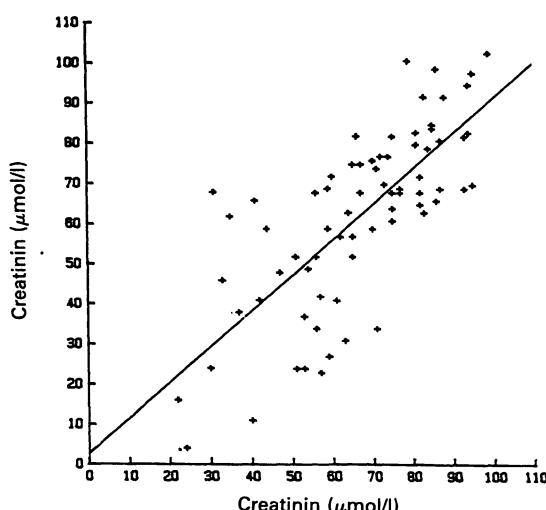


Abb. 4: Vergleich von 72 Patientenserien (< 115 μmol/l), x-Achse: Fullererde-Methode, y-Achse: UV-Methode. Die statistischen Daten sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

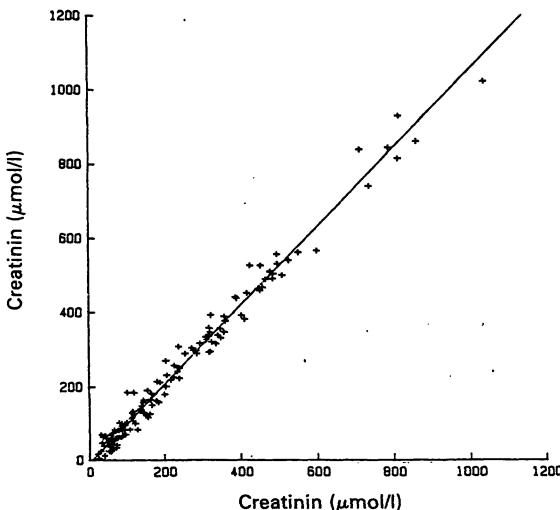


Abb. 5: Vergleich von 165 Patientenserien (gesamter Meßbereich), x-Achse: Ektachem-Single-Slide-Methode, y-Achse: UV-Methode. Die statistischen Daten sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

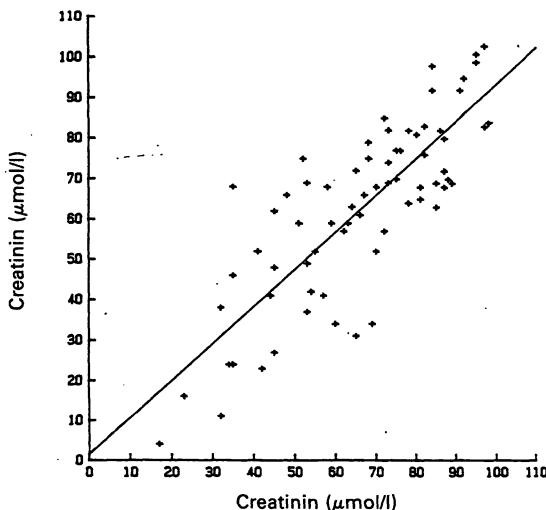


Abb. 6: Vergleich von 72 Patientenserien (< 115 μmol/l), x-Achse: Ektachem-Single-Slide-Methode, y-Achse: UV-Methode. Die statistischen Daten sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

brauchs von Coenzym (Abb. 7). Aus demselben Grund trat eine erniedrigte Wiederfindung bei Proben mit einer Ammoniak-Konzentration > 1000 μmol/l auf (Abb. 8). Die Interferenzen durch Pyruvat bzw. Ammoniak ließen sich dadurch einschränken oder beseitigen, daß die Proben verdünnt wurden. Trübe oder lipämische Proben mit Triglycerid-Konzentrationen > 2,5 mmol/l erzeugten am Cobas Bio einen Absorbance-Fehler, d. h. die Anfangsabsorbance war zu hoch. Solche Proben müssen vor der Messung verdünnt oder mit einem Klärungsmittel vorbehandelt werden. Bilirubin bis zu einer Konzentration von 800 μmol/l und Hämolyse bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 2 g/l verursachten keine Störung der UV-Methode. Bei Hämoglobin-Konzentrationen > 2 g/l nahm die Wiederfindung von Creatinin ab (Abb. 9).

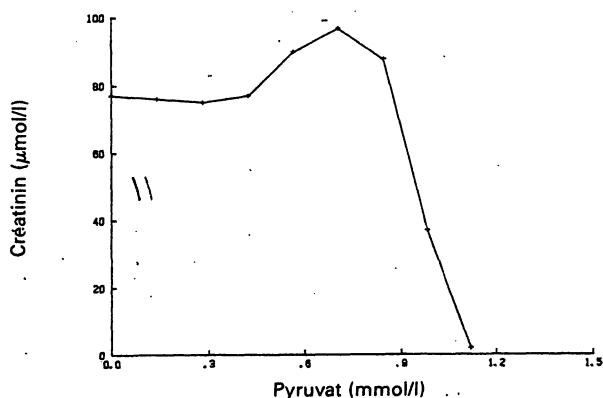


Abb. 7: Einfluß von Pyruvat auf die neue UV-Methode.

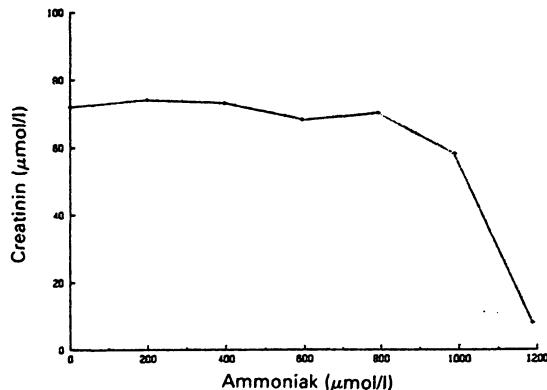


Abb. 8: Einfluß von Ammoniak auf die neue UV-Methode.

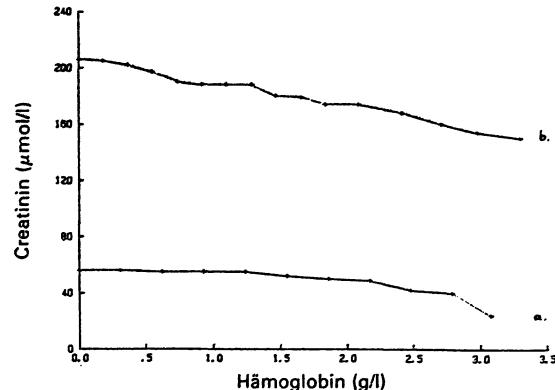


Abb. 9: Einfluß von Hämolyse auf die neue UV-Methode. Serum von Patienten mit a) niedriger und b) hoher Creatininkonzentration.

Diskussion

Die enzymatische UV-Methode zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration im Serum ist ein zufriedenstellendes Analysenverfahren mit vergleichbarer Spezifität wie Fullererde- und Ektachem-Methode. Die neue UV-Methode unterliegt nicht den bekannten Interferenzen der PAP-Methode (4, 5, 21). Selbst extrem erhöhte Bilirubin-Konzentrationen bis zu 800 µmol/l verursachten keine Störung. Nur in Proben mit sehr hoher Konzentration von Ammoniak, Pyruvat bzw. in stark hämolytischen Proben (Hämoglobin-Konzentration > 2 g/l) wurde eine relevante Erniedrigung der gemessenen Creatinin-Konzentration beobachtet. Trübe Seren können photometrische Probleme verursachen, da im Test ein relativ hohes Probenvolumen eingesetzt wird. In diesen Fällen muß das Serum vor der Analyse verdünnt bzw. die Trübung durch Vorbehandlung mit Klärungsmittel beseitigt werden.

Im Testansatz entsprach dem enzymatischen Creatinin-Abbau in einer Probe mit einer Creatinin-Konzentration von 50 µmol/l eine Extinktionsdifferenz von nur ca. 6 Milli-Extinktionseinheiten pro Minute. Eine hochwertige Photometriertheit war erforderlich, um eine angemessene Präzision bei Creatinin-Konzentrationsbestimmungen im unteren Meßbereich zu erzielen. Diese Voraussetzungen waren mit der Adaptierung der UV-Methode auf das Cobas Bio Analysensystem erfüllt. Andere Evaluatoren hatten bei Verwendung eines anderen Analysensystems unbefriedigende Resultate mit der UV-Methode erzielt (22).

Bei Vergleichen der Creatinin-Konzentration < 115 µmol/l in Patientenproben korrelierte die UV-Methode unzureichend mit der Fullererde- bzw. Ektachem-Methode, jedoch stimmten die Mittelwerte aller drei Methoden gut überein. Die Ursachen für die vergleichsweise große Streuung (s_y) der Meßergebnisse der UV-Methode konnten im Rahmen der vorliegenden Studie nicht eindeutig ermittelt werden. Die zufriedenstellende Präzision der UV-Methode im niedrigen Konzentrationsbereich widersprach der beobachteten Streuung in den Methodenvergleichen. Alle untersuchten Interferenzen verursachten eine Erniedrigung der Creatinin-Konzentration im Vergleich zu Fullererde- und Ektachem-Methode. Sie waren deshalb nicht allein als Gründe für die beobachtete Streuung verantwortlich zu machen. Es ließ sich nicht ausschließen, daß in einzelnen Patientenproben als Folge unspezifischer kinetischer Reaktionen falsch hohe Creatinin-Konzentrationen gemessen wurden. Sol-

che Störungen wurden bereits früher bei der Bestimmung der Glutamat-Dehydrogenase-Aktivität im Serum beobachtet (23, 24). Die Creatinin-Konzentrations- und die GD-Enzymaktivitäts-Bestimmung beruhen auf derselben Indikatorreaktion.

Schlußfolgerung

Die enzymatische UV-Methode ist für die spezifische Bestimmung von Creatinin gut geeignet. Voraussetzung für eine befriedigende Präzision ist eine Adaptierung der Methode an ein Analysensystem mit einem hochwertigen Photometer. Bei Proben mit einer niedrigen Creatinin-Konzentration sind in einzelnen Fällen falsch erhöhte Meßergebnissen nicht auszuschließen. Die Creatinin-Clearance und eine Beurteilung ihres Verlaufs sind vorsichtig zu interpretieren, wenn niedrige Creatinin-Konzentrationen in die Berechnungen einfließen.

Hinweis

Nach Fertigstellung der Evaluation wird jetzt von der Firma Biomed eine sogenannte Endpunkt-Version für 2-Punkt-Messungen mit verbesserter Präzision angeboten. Erfahrungen mit dieser Test-Kombination liegen uns nicht vor.

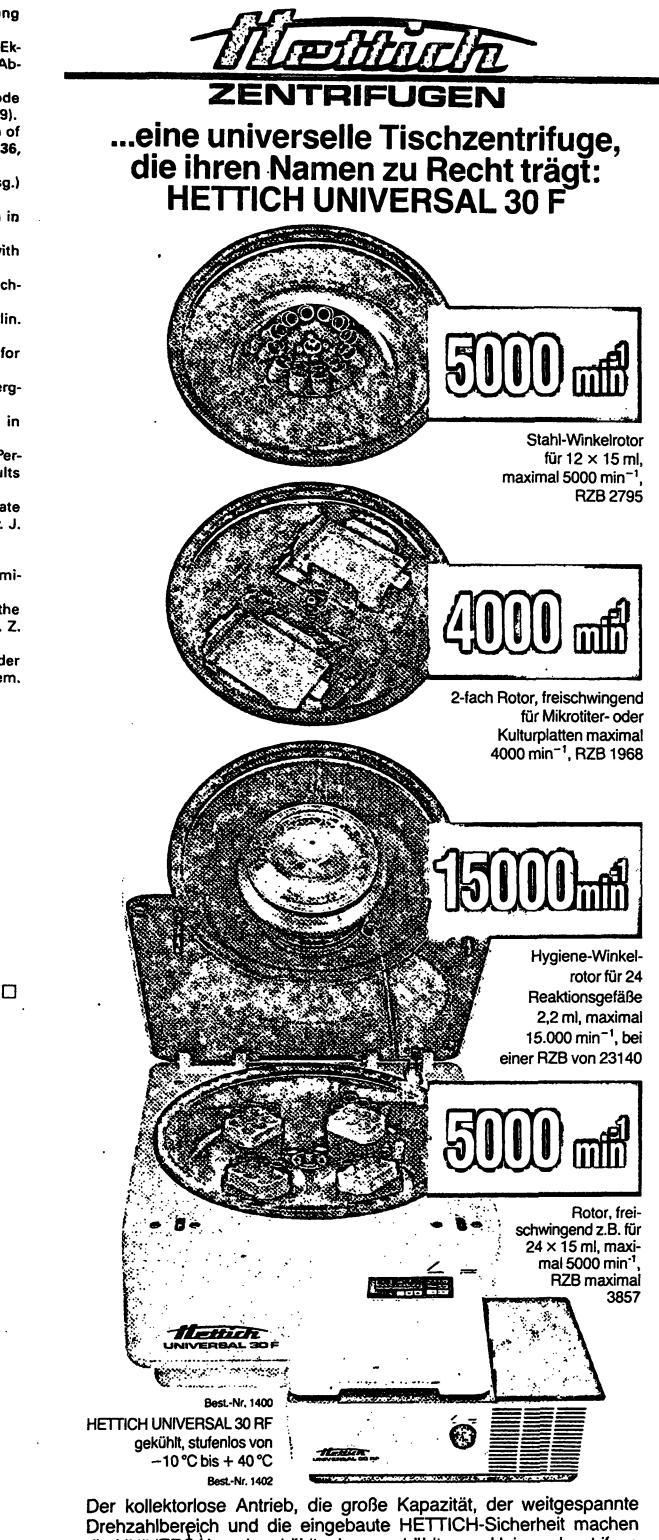
Schriftum:

- WAHLEFELD, A. W., HOLZ, G., BERGMAYER, H. U.: In: Methoden der enzymatischen Analyse, Vol. II (Bergmeyer, H. U. ed.), 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim, 1834–1838 (1974).
- TANGANELLI, E., PRENCIPE, L., BASSI, D., CAMBIAGHI, S., MURADOR, E.: Enzymatic assay of creatinine in serum and urine with creatinine iminohydrolase and glutamate dehydrogenase. Clin. Chem. 28, 1461–1464 (1982).
- KIHARA, K., YASUKAWA, E.: Determination of creatinine with a sensor based on immobilized glutamate dehydrogenase and creatinine deiminase. Anal. Chim. Acta 183, 75–80 (1986).
- FOSSATI, P., PRENCIPE, L., BERTI, G.: Enzymatic creatinine assay. A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin. Chem. 29, 1494–1496 (1983).
- GUDER, W. G., HOFFMANN, G. E., HUBBUCH, A., POPPE, W. A., SIEDEL, J., PRICE, C. P.: Multicentre evaluation of an enzymatic method for creatinine determination using a sensitive color reagent. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24, 889–902 (1986).
- SIEDEL, J., STAEPELS, J., ZIEGENHORN, J.: Enzymatic color reagent for the assay of serum and urine creatinine without interference by even grossly elevated sample bilirubin levels. Clin. Chem. 34, 1189–1190, Abstr. 180 (1988).

7. SONNTAG, O.: Evaluierung einer neuen enzymatischen Methode zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration im Serum und Urin. *Lab.med.* 12, 438–444 (1988).
8. MAUCK, J. C., MAUCK, L., NOVROS, G. E.: Development of a single-slide Kodak Ektachem thin film assay for serum and urine creatinine. *Clin. Chem.* 32, 1197–1198, Abstr. 735 (1986).
9. SONNTAG, O., SCHUMANN, G.: Evaluierung der Ektachem-Single-Slide-Methode zur Bestimmung der Creatinin-Konzentration im Serum. *Lab.med.* 13, 351–356 (1989).
10. SONNTAG, O., BÜTTNER, J.: Evaluation of an UV-method for the determination of creatinine compared with Ektachem 700 and Fuller's earth method. *Clin. Chem.* 36, 1179, Abstr. 1061 (1990).
11. SCHMIDT, E.: In: Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H. U., Hrsg.) Verlag Chemie, Weinheim, 2. Aufl. 607–613 (1970).
12. HAECKEL, R.: Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 385–394
13. SCHUMANN, G., BÜTTNER, J.: A candidate reference method for creatinine with HPLC. *Fres. Z. Anal. Chem.* 324, 278–279 (1986).
14. SCHUMANN, G.: Referenzmethode für die Kreatinin-Bestimmung durch Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie. *Fres. Z. Anal. Chem.* 324, 209–211 (1986).
15. SONNTAG, O.: Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 24, 127–139 (1986).
16. BLAKNEY, G. B., DINWOODIE, A. J.: A spectrophotometric scanning technique for the rapid determination of plasma hemoglobin. *Clin. Biochem.* 8, 96–102 (1975).
17. CZOK, R., LAMPRECHT, W.: In: Methoden der enzymatischen Analyse. Vol. II (Bergmeyer, H. U. ed.), 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim, 1491 (1974).
18. VAN ANKEN, H. C., SCHIPHORST, M. E.: A kinetic determination of ammonia in plasma. *Clin. Chim. Acta* 56, 151–157 (1974).
19. GLICK, M. R., RYDER, K. W., GLICK, S. J., KROLL, M. H., SONNTAG, O.: Toward Perfection in Clinical Chemistry Analyses: Reducing the Incidence of Non-Specific Results Due to Interferences. Science Enterprises Inc., Indianapolis (1990).
20. FELDMAN, U., SCHNEIDER, B., KLINKERS, H., HAECKEL, R.: A multivariate approach for the biometric comparison of analytical methods in clinical chemistry. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 19, 121–137 (1981).
21. BÜTTNER, J., SONNTAG, O.: In Vorbereitung
22. SPAETT, R., GÄSSLER, N.: Enzymatische Kreatininbestimmung mit Kreatinin-Iminohydrolase – eine kritische Evaluation. *Ärztl. Lab.* 36, 136–144 (1990).
23. HAECKEL, R.: A simple, kinetic procedure for the optimized determination of the activity of serum glutamate dehydrogenase (EC 1.4.1.2.) with an enzyme analyzer. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 11, 184–188 (1973).
24. OLGEMÖLLER, B., BAUER, S., GERBITZ, K. D.: Automatisierte Bestimmung der Glutamatdehydrogenase – Zum Einfluß der Vorreaktion. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 27, 758–759, Abstr. VI 63 (1989).

Anschrift der Verfasser:

Dipl.-Ing. O. Sonntag
Dr. G. Schumann
Medizinische Hochschule Hannover
Institut für Klinische Chemie I
Postfach 610 180
3000 Hannover 61



Der kollektorlose Antrieb, die große Kapazität, der weitgespannte Drehzahlbereich und die eingebaute HETTICH-Sicherheit machen die UNIVERSAL – ob gekühlt oder ungekühlt – zur Universalzentrifuge für Arzt, Krankenhaus, Wissenschaft und Forschung.

Andreas Hettich · Gartenstr. 100 · D-7200 Tuttlingen
Telefon (0 74 61) 7 05-0 · Telex 762 636 hetic-d · Telefax (0 74 61) 7 05-125

coupon

C2



Bitte senden Sie mir ausführliche Unterlagen über die universellen Tischzentrifugen HETTICH UNIVERSAL 30 F / 30 RF

Wir stellen aus: Medica '91 Düsseldorf, Halle 8, Stand 8 FO3.