

Ein homogener Enzymimmunoassay zur Bestimmung der Pankreaslipase am Hitachi 717 Automated Analyzer

A Homogeneous Enzyme Immunoassay for the Determination of Pancreatic Lipase on the Hitachi 717 Automated Analyzer

G. Hafner, Helga Drosdat, W. Ehrenthal, M. Dreher, H. D. Zuchhold, W. Prellwitz

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Zusammenfassung:

Es wird ein automatisierter homogener Immunoassay zur spezifischen und schnellen Bestimmung der Pankreaslipase im Serum beschrieben. Im Test werden Anti-Pankreaslipase Antikörperfragmente vom Schaf verwendet, die an Meerrettichperoxidase (HRP) gekoppelt sind. Einflüsse der Probenmatrix werden durch eine separate Probenleerwertbestimmung mit unspezifischen, an HRP gekoppelten Antikörperfragmenten vom Schaf korrigiert. Die Bestimmungen wurden am Hitachi 717 Automated Analyzer durchgeführt. Das Analysengerät benötigt 24 µl Serum und führt eine Bestimmung in 10 min durch. Der Meßbereich beträgt 20–1 000 µg/l. Für die Präzisionen in der Serie wurden Variationskoeffizienten zwischen 1,1 % und 9,5 % ermittelt, für die Präzisionen von Tag zu Tag zwischen 3,3 % und 15,5 %. Der Vergleich mit den Ergebnissen eines heterogenen Immunoassays ($r = 0,968$; $y = 0,88 x - 4,8$; $n = 101$) und eines turbidimetrischen Tests ($r = 0,948$; $y = 0,31 x - 5,33$; $n = 101$) zeigte eine gute Korrelation. Interferenzen durch endogene Substanzen oder durch Medikamente in therapeutischer Dosierung konnten nicht beobachtet werden. Aus den Lipasekonzentrationen von 187 offensichtlich gesunden Blutspendern (86 Frauen, 101 Männer) wurde ein Referenzbereich von 0–45 µg/l ermittelt (2,5.–97,5. Perzentil, Median: 19 µg/l).

Schlüsselwörter:

Pankreaslipase – homogener Enzymimmunoassay – Hitachi 717 Automated Analyzer – Evaluierung

Summary:

We describe a fully mechanized homogeneous immunoassay using the immunoactivation method for the rapid and specific determination of human pancreatic lipase in serum. The method uses anti-lipase antibody fragments from sheep, conjugated to horseradish peroxidase (HRP). A separate sample blank with non-specific sheep antibody fragments conjugated to HRP corrects for errors introduced by the sample matrix. Measurements were performed with the automated analyzer Hitachi 717. A single determination can be performed within 10 min, requiring 24 µl sample volume. The measuring range is about 20 to 1000 µg/l lipase. For within-run precisions the coefficients of variation are between 1.1 % and 9.5 %; for day-to-day precisions the coefficients of variation are between 3.3 % and 15.5 %. Comparison of the method is shown by the close correlation of results with those from a heterogeneous enzyme immunoassay ($r = 0.968$; $y = 0.88 x - 4.8$; $n = 101$), and those from a turbidimetric method ($r = 0.948$; $y = 0.31 x - 5.33$; $n = 101$). Interferences by endogenous substances and by drugs at therapeutic doses could not be observed. A reference interval was established from results of 187 apparently healthy subjects (2.5th to 97.5th percentile: 0 to 45 µg/l, median 19 µg/l).

Keywords:

Pancreatic lipase – homogeneous enzyme immunoassay – Hitachi 717 automated analyzer – evaluation

Einleitung

Als fester Bestandteil der Diagnostik von Pankreaserkrankungen haben sich neben bildgebenden Verfahren spezifische klinisch-chemische Untersuchungen etabliert (1). Bei der Diagnose von akut entzündlichen Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse liefern Serumbestimmungen der Enzyme Amylase und Lipase erste Hinweise (2, 3, 4). Daneben sind Verlaufsbeobachtungen dieser Parameter für das frühzeitige Erkennen von Komplikationen hilfreich (5). Trotz weitgehend paralleler Verläufe der entsprechenden Enzyme bestehen aber in bezug auf die diagnosti-

sche Sensitivität Unterschiede. Falsch hohe Amylasebestimmungen werden dann beobachtet, wenn das Isoenzym der Speicheldrüse erhöht vorliegt oder bei chronischer Hyperamylasämie eine Makroamylasämie ursächlich ist (6). Zudem sind im Vergleich zur Gesamtamylase die gemessenen pathologischen Veränderungen der Pankreaslipase meist eindeutiger und länger erhöht (6).

Aufgrund schneller Verfügbarkeit des Testergebnisses sind turbidimetrische Testverfahren zur Bestimmung der Lipase weit verbreitet. Dennoch weist dieses Bestimmungsverfahren im Vergleich zu immunologischen Methoden Nachteile auf (7, 8). Neben falsch hohen Bestim-

Wieviel Service brauchen Analysensysteme



Unsere nicht viel. Aber wenn Sie
brauchen, dann sind Bekanntheit,
Reaktion und Flexibilität entschei-
dend. Daran haben wir uns orientiert.
So stellt Ihnen Olympus jederzeit, an
jedem Ort, sofort Service-Spezialisten zur
Verfügung, die Ihr Fach verstehen. Damit
bleiben Ausfallzeiten so kurz wie mög-
lich. Diesen Service, flexible Analysen-
systeme und die darauf perfekt abge-
stimmten Reagenzien bekommen Sie bei
uns aus einer Hand. Und damit Sicherheit
und Wirtschaftlichkeit.

WISSEN FÜR'S LEBEN

OLYMPUS

mungen durch den störenden Einfluß von Esterasen können negative Meßwerte bei einem erhöhten IgG-Gehalt der Probe beobachtet werden. Außerdem muß eine verminderte Empfindlichkeit bei der Abgrenzung vom Normalwert zum niedrig pathologischen Bereich in Kauf genommen werden. Nachteilig bei den bisherigen immunologischen Methoden ist aber der hohe zeitliche und personelle Aufwand. Durch die Verwendung homogener Immunoassays gelingt es, die Vorteile immunologischer Tests mit der Durchführbarkeit der Bestimmung an klinisch-chemischen Analyzern zu verbinden, so daß das Testergebnis in der gewünscht kurzen Zeit zur Verfügung steht. Die Evaluierung eines homogenen Immunoassays zur Bestimmung der Pankreaslipase am Hitachi 717 Automated Analyser wird beschrieben.

Material und Methode

Die Bestimmung der Pankreaslipase erfolgte mit dem Lipase IMAC® (Immunoactivation) Immunoassay (Chargen-Nr. 30119; E. Merck, Darmstadt, FRG) (9, 10). Der Test enthält Antikörperkonjugat, Leerwertkonjugat, Substrat B (1,5 mM 4-Aminophenazon, 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7), Substrat A (80 mM Wasserstoffperoxid, 50 mM Phenol) und Diluent für Substrat A (20 mM TRIS-Puffer, pH 7,5). Das Antikörperkonjugat besteht aus an Meerrettichperoxidase (HRP) gebundenen Anti-Pankreaslipase Antikörperfragmenten (Fab') vom Schaf, das Leerwertkonjugat zur Korrektur von Matrixinterferenzen besteht aus an HRP gebundenen, unspezifischen Antikörperfragmenten (Fab') vom Schaf.

Zur Bestimmung am Hitachi 717 Automated Analyser (Boehringer Mannheim, Mannheim, FRG) werden je eine Flasche lyophilisiertes Antikörperkonjugat und Leerwertkonjugat in 10 ml Substrat B gelöst (Reagenz 1). Das Substrat A wird 1:2 mit Diluent verdünnt (Reagenz 2). Tabelle 1 zeigt die Parametereinstellung am Hitachi 717. Für den Probenwert und den Probenleerwert ist die Belegung jeweils eines Kanals notwendig. Nach der Kalibration des Probenkanals mit den Kalibratoren für Analyseautomaten (Chargen-Nr. 65890, Standard 1: 0 µg/l, Standard 2: 538

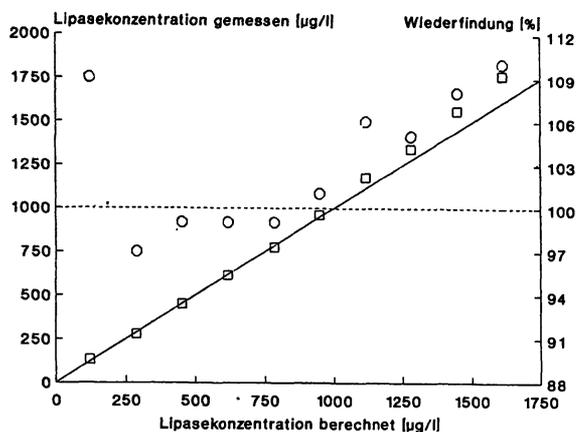


Abb. 1: Überprüfung der Linearität durch Verdünnung eines Poolserums mit hohem Lipasegehalt mit steigenden Volumenanteilen eines Poolserums mit geringem Lipaseanteil (□ Lipasekonzentration in µg/l, O % Wiederfindung, — $y = x$, - - - 100 % Wiederfindung).

µg/l; E. Merck, Darmstadt, FRG) wird der ermittelte Kalibrationsfaktor in den Probenleerwertkanal übertragen (Programmpunkt „Calibr. List“ im Menü „Monitor Job“). Der Hitachi 717 bietet die Möglichkeit, die Berechnung der Leerwert-korrigierten Lipasekonzentration durch Bildung der Differenz beider Kanäle automatisch vorzunehmen. Probenverdünnungen wurden mit dem Probenverdünnungsmedium IMAC® (Gelatine-Hydrolysat, 20 mM TRIS-Puffer, pH 7,5 und Stabilisatoren; Chargen-Nr. 17009; E. Merck, Darmstadt, FRG) durchgeführt.

Der homogene Lipase IMAC® Immunoassay wurde mit einem heterogenen Immunoassay (Enzygnost® Lipase, Behringwerke AG, Marburg, FRG) und mit einem turbidimetrischen Test (Automatenpackung Lipase, Boehringer Mannheim, Mannheim, FRG) am Hitachi 717 verglichen. Standardheparin (Liquemin®, Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) wurde verwendet. Als Probenmaterial wurde Serum ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt.

Statistik

Die Methodenvergleiche wurden mit dem Regressionsverfahren nach Passing und Bablok ausgewertet (11). Die Signifikanz von Mittelwertunterschieden wurde durch den t-Test nach Student für gepaarte Daten überprüft.

Ergebnisse

Zur Überprüfung der Linearität wurde ein Poolserum mit hohem Lipasegehalt mit steigenden Volumenanteilen eines Poolserums mit geringem Lipaseanteil versetzt. Abbildung 1 zeigt den Vergleich der gemessenen Konzentrationen mit den berechneten Sollkonzentrationen der Mischungen sowie die prozentuale Wiederfindung. Es resultiert ein linearer Meßbereich bis 1 000 µg/l. Da sehr hohe Lipasekonzentrationen die Aggregatbildung durch Absättigung der Bindungsstellen des Antikörperkonjugates unterdrücken können (Prozonenphänomen), wurde ein hoch pathologisches Serum (Meßwert: 4 011 µg/l) durch mehrfaches Verdünnen in den linearen Bereich untersucht. Es konnten keine falsch niedrigen Ergebnisse durch das Auftreten des Prozonenphänomens beobachtet werden.

Tab. 1: Parametereinstellung Hitachi 717 Automated Analyser. Mit dem Antikörperkonjugat wird eine 2-Punkt Kalibration durchgeführt und der resultierende Faktor in die Parametereinstellung des Leerwert-Kanals übernommen (Änderung: Calib. Method = Factor)

Chemistry Parameters	
Test	(Lip 1)
Assay Code	(Rate-A) : (35) - (41)
Sample Volume	(12) (6)
R1 Volume	(90) (100) (NO)
R2 Volume	(180) (100) (NO)
Wave Length	(1) (505)
Calib. Method	(Linear) (0) (0)
Std. (1) Conc.-Pos.	(0) - (3)
Std. (2) Conc.-Pos.	(538) - (5)
Std. (3) Conc.-Pos.	(0) - (0)
Std. (4) Conc.-Pos.	(0) - (0)
Std. (5) Conc.-Pos.	(0) - (0)
Std. (6) Conc.-Pos.	(0) - (0)
SD Limit	(1,0)
Duplicate Limit	(300)
Sensitivity Limit	(0)
Abs. Limit (Inc/Dec)	(32 000) (Increase)
Prozone Limit	(0) (Lower)
Expected Value	(0) - (45)
Panic Value	(0) - (1 000)
Instrument Factor	(1,0)

Tab. 2: Reproduzierbarkeit des homogenen Lipase-Immunoassays am Hitachi 717 Automated Analyzer

	Lipasekonzentration Mittelwert \pm SD [μ g/l]	Variations- koeffizient [%]	Einzel- bestim- mungen
Präzision in der Serie	38,4 \pm 3,3	8,5	21
	51,5 \pm 4,9	9,5	21
	74,0 \pm 6,2	8,4	21
	228,3 \pm 5,2	2,3	21
	541,5 \pm 6,1	1,1	21
Präzision von Tag zu Tag	33,7 \pm 5,2	15,5	10
	45,3 \pm 5,3	11,7	10
	61,9 \pm 6,0	9,8	10
	230,9 \pm 11,9	5,1	10
	537,4 \pm 17,9	3,3	10

Die Reproduzierbarkeit der Methode (Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient) wurde durch die Bestimmung der Präzision in der Serie ($n = 21$) und von Tag zu Tag ($n = 10$) überprüft. Die Ergebnisse, die unter Verwendung verschiedener Poolseren ermittelt wurden, sind in Tabelle 2 gezeigt. Aufgrund der guten Präzisionsdaten kann der Test als Einzelbestimmung durchgeführt werden.

Die Meßergebnisse von 101 Patientenseren wurden mit einem immunologischen ($r = 0,968$; $y = 0,88x - 4,8$) und einem turbidimetrischen Test ($r = 0,948$; $y = 0,31x - 5,33$) verglichen. Die Abbildungen 2 und 3 zeigen die gute Übereinstimmung des neuen Tests mit beiden Methoden. Im Vergleich zum heterogenen Immunoassay wurden mit dem homogenen Immunoassay signifikant niedrigere Konzentrationen gemessen (t-Test; $p < 0,05$), wobei der Unterschied im Mittel 16% betrug. Der homogene Immunoassay lieferte im Vergleich zur turbidimetrischen Methode (Meßgröße: Enzymaktivitätseinheiten) erwartungsgemäß deutlich niedrigere Ergebnisse. Über den gesamten Meßbereich betrug der Faktor ca. 0,31.

Es wurde der Einfluß von Hyperbilirubinämie, Lipämie und Hämolyse im Untersuchungsgut auf das Testergebnis untersucht. Dabei zeigte sich, daß eine Triacylglycerolkonzentration von 5 g/l und eine Konzentration von 1 g/l freiem Hämoglobin zu keiner Verfälschung der Meßer-

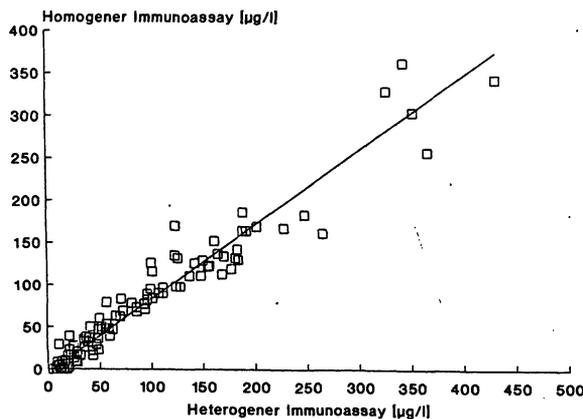


Abb. 2: Vergleich des homogenen Lipase-Immunoassays am Hitachi 717 mit einem heterogenen Enzymimmunoassay ($r = 0,968$; $y = 0,88x - 4,8$; $n = 101$).

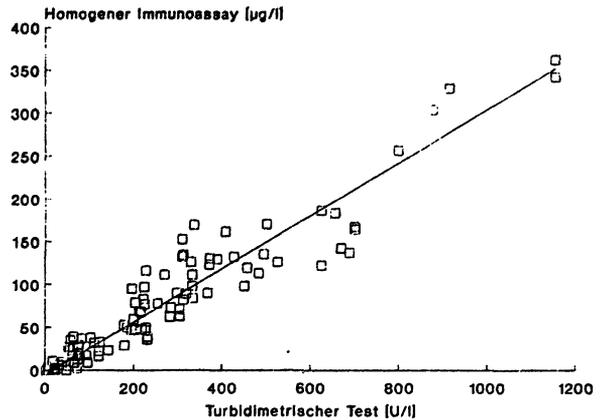


Abb. 3: Vergleich des homogenen Lipase-Immunoassays am Hitachi 717 mit einem turbidimetrischen Test ($r = 0,948$; $y = 0,31x - 5,33$; $n = 101$).

gebnisse führen. In ikterischen Proben wurden bereits bei Bilirubinkonzentrationen unter 170 μ Mol/l Veränderungen im Extinktionsverlauf beobachtet. In Abbildung 4 ist die Absorptions-Meßzeitpunkt-Kurve einer ikterischen Probe für beide Kanäle dargestellt. Die Bilirubinkonzentration betrug 544 μ Mol/l. Da das Meßintervall auf die Meßzeitpunkte 35-41 festgelegt wurde, können auch ikterische Proben bis 510 μ Mol/l Bilirubin ohne Störung gemessen werden. Medikamente (Analgetika, Antiepileptika, Antiarrhythmika, Herzglykoside, Antibiotika und Zytostatika) im therapeutischen Bereich zeigen keinen Einfluß auf das Testergebnis (M. Dreher, unveröffentlichte Daten).

5 gesunden Probanden wurde vor und nach intravenöser Injektion (5, 15 und 30 min) von 5000-10000 U Standardheparin jeweils eine Serumprobe entnommen, um den Einfluß von Heparin auf das Meßergebnis zu untersuchen. Hierbei zeigten der homogene Immunoassay und der turbidimetrische Test keine Konzentrations- bzw. Aktivitätsänderung im Vergleich zum Vorwert.

Die mögliche Beeinflussung von Meßergebnissen anderer Tests durch eine gerätebedingte Verschleppung der Li-

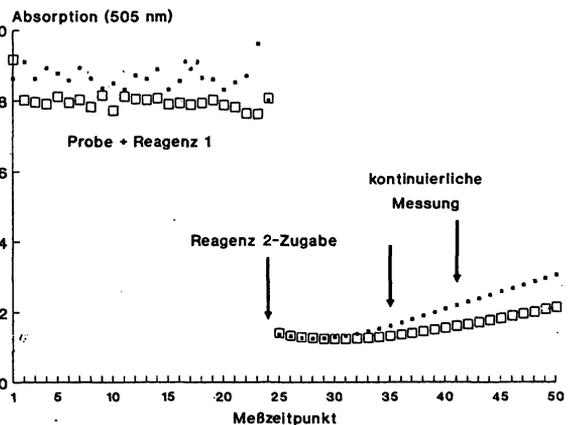


Abb. 4: Reaktionsmonitor des Hitachi 717 bei einem Serum, das 544 μ Mol/l Bilirubin enthält (■ Probenkanal, □ Leerwertkanal). Intervall zwischen zwei Meßzeitpunkten: 12 Sekunden; Reagenz 1 = Zugabe der Antikörperkonjugate; Reagenz 2 = Zugabe von Substrat A₁: 2 mit Diluent verdünnt.

pase IMAC® Reagenzien als Nadel-/Rührer-carry-over oder als Küvetten-carry-over wurde untersucht. Es konnte keine Beeinflussung der Meßergebnisse anderer Tests (Enzyme und Substrate) festgestellt werden.

Die Stabilität der Reagenzien bei Kühlung (4–8 °C) im Analyser wurde über 4 Wochen beobachtet. Nach 15maliger Wiederholung des Kalibrationsvorganges am Hitachi 717 im genannten Zeitraum wurde der Kalibrationsfaktor des ersten Tages mit guter Reproduzierbarkeit bestätigt (Faktor: 8232 ± 189, VK: 2,3%; Maximum: 8589, Minimum: 8023).

Zur Ermittlung eines Referenzbereiches wurden Serumproben von 187 offensichtlich gesunden Blutspendern (20–52 Jahre, 86 Frauen, 101 Männer) verwendet. Abschlußkriterien der nicht parameterfreien Untersuchungen waren eine erhöhte Amylase- und eine erhöhte turbidimetrisch gemessene Lipasekonzentration. Es resultierte ein Referenzbereich von 0–45 µg/l (2,5. bis 97,5. Perzentil) und ein Median von 19 µg/l (Abbildung 5).

Diskussion

Die spezifische, exakte, aber einfache Bestimmung der Lipase im Serum ist für die Pankreasdiagnostik von großer Bedeutung. Das vielfach verwendete turbidimetrische Testverfahren macht der Routinediagnostik den Nachweis durch seine einfache und rasche Durchführbarkeit zugänglich. Enzymimmunologische Verfahren erfassen spezifisch Pankreaslipase (7, 12). Sie sind von der Gegenwart der Colipase unabhängig und messen bei niedrigen Lipaseaktivitäten exakt. Durch die Verwendung eines homogenen Enzymimmunoassays können die analytischen Leistungen der Methode mit der raschen und einfachen Durchführbarkeit an Analyzern verbunden werden.

Das Testprinzip der untersuchten Methode basiert auf der Tatsache, daß freie HRP durch Wasserstoffperoxid über aktive Zwischenstufen in eine enzymatisch weniger aktive Form überführt wird. Diese reagiert mit Elektronendonorsubstraten (z. B. Phenol) unter Rückbildung des aktiven Enzyms. In Gegenwart hoher Wasserstoffperoxid-Konzentrationen kommt es zu einer Akkumulation des weniger aktiven Enzyms und somit zu einer verminderten enzymatischen Aktivität im Reaktionsansatz. Im Falle polymerisierter oder aggregierter HRP akkumuliert abhängig von der Natur des Substrates bei gleichen Wasserstoffper-

oxid-Konzentrationen weniger inaktives Enzym. Es wird entsprechend eine höhere enzymatische Aktivität gemessen (13, 14).

Durch die Kopplung von Anti-Pankreaslipase Antikörperfragmenten an HRP werden monomere Konjugate erhalten, die in Gegenwart des Substratgemisches aus Phenol und 4-Aminophenazon und der hohen Konzentration an Wasserstoffperoxid eine niedrige enzymatische Aktivität aufweisen. Reagieren die monomeren Konjugate in einer vorgeschalteten Reaktion mit Pankreaslipase aus der Probe, entstehen Immunoaggregate mit hoher Enzymaktivität. Über einen weiten Bereich ist die Enzymaktivität direkt proportional zur Konzentration an Lipase in der Probe (Abb. 1). Potentiell störend wirken alle HRP-Effektoren und Substanzen, die per se Peroxidaseaktivität aufweisen. Diese Störungen werden durch die Verwendung eines Leerwertkonjugates kompensiert, das Einflüsse der Probenmatrix korrigiert (15). Dies setzt die Belegung eines zweiten Kanals für das Leerwertkonjugat voraus. Da dieses Konjugat im Gegensatz zum Antikörperkonjugat durch die Verwendung unspezifischer Antikörperfragmente keine Immunaggregate mit humaner Pankreaslipase bildet, kann der Leerwertkanal nicht in gleicher Weise kalibriert werden. Die Übernahme des Kalibrationsfaktors aus dem Probenkanal ist notwendig. Auf diese Weise ist sichergestellt, daß Meßsignale, die durch die Probenmatrix verursacht werden, zu identischen Änderungen der Konzentrationswerte in beiden Kanälen führen.

Der Vergleich mit einem etablierten immunologischen Test (16) erbrachte eine gute Übereinstimmung ($r = 0,968$; $y = 0,88x - 4,8$). Die im Mittel geringfügig niedrigeren Konzentrationen im homogenen Immunoassay sind am ehesten auf unterschiedliche Herstellungs- und Reinigungsverfahren der Standards zurückzuführen. Die spezifische Aktivität für das Verhältnis der Aktivität im turbidimetrischen Test zur Konzentration im homogenen Immunoassay wurde mit 3,2 (heterogener Immunoassay 2,62) berechnet. Sie lag damit erwartungsgemäß etwas höher als die Werte 2,7 (4) und 2,85 (17), die von anderen Autoren unter Verwendung des heterogenen Immunoassay gefunden wurden.

Lipasen nicht pankreatischen Ursprungs, wie z. B. die Lipoprotein-Lipase und hepatische Triacylglycerol-Lipase, werden vom homogenen Immunoassay nicht erfaßt. Die Meßwerte vor und unmittelbar nach Gabe eines Heparinbolus differierten in einem Bereich von < 10%. Die Abweichungen im turbidimetrischen Test waren mit < 20% etwas größer. Da alle Proben in dieser Untersuchung Konzentrationen im Normbereich aufwiesen, ist diese größere Abweichung am ehesten mit der schlechteren Präzision im Normalbereich des turbidimetrischen Tests zu erklären. Im Gegensatz zu diesen beiden Nachweismethoden zeigte ein neuer enzymatischer Lipasefarbtest eine deutliche Abhängigkeit von der Heparin-gabe (unveröffentlichte Ergebnisse des Autors).

Eine Beeinflussung der Meßwerte von Enzym- und Substratbestimmungen durch Verschleppungen des Lipase-reagenzes über die Pipettornadeln, die Rührer oder die Küvetten konnte nicht nachgewiesen werden. Ebenso konnte keine Beeinflussung der Meßergebnisse des Immunoassays durch andere Tests (z. B. mögliche Peroxidaseverschleppung) gefunden werden. Im Gegensatz zum turbidimetrischen Test können auch bestimmte Esterasen, die z. B. zum Triacylglycerolnachweis oder zur Trübungsaufhellung lipämischer Probenmatrices im Harnsäurereagenz verwendet werden, das Meßergebnis im

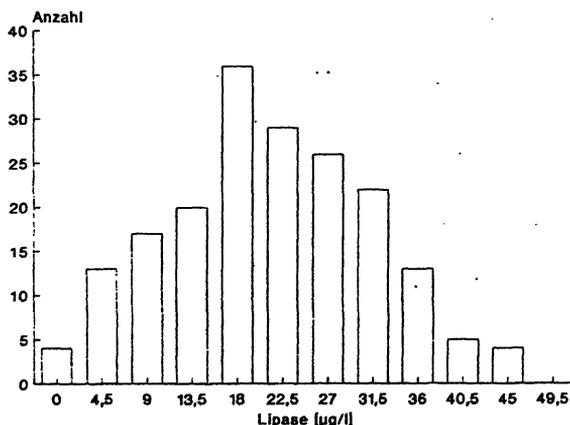


Abb. 5: Bestimmung der Lipasekonzentration von 187 offensichtlich gesunden Blutspendern (86 Frauen, 101 Männer; Median 19 µg/l; 2,5.–97,5. Perzentil: 0–45 µg/l).

Immunoassay durch Verschleppung über die Küvetten nicht beeinflussen. Selbst optimale Einstellung des Spüldruckes zur Reinigung der Küvetten und eine entsprechende Testanordnung im Gerät sind beim turbidimetrischen Test nicht ausreichend, falsch hohe Meßwerte durch Verschleppung zu verhindern. Durch Zugabe von Salzsäure zum Testansatz nach erfolgter Messung als 2. Reagenz (z. B. Triacylglycerolnachweis) kann diese Verschleppung vermieden werden. Diese Lösung ist aber bei Substratbestimmungen mit zwei Testreagenzien nicht möglich. Die hier beschriebene Methode zum Nachweis der Lipase im Serum ist als sensitive, präzise und über einen weiten Meßbereich lineare Bestimmung in weniger als 15 Minuten am Hitachi 717 Automated Analyzer ohne besondere Probenbehandlung durchführbar.

Danksagung

Wir danken Frau H. Erbes für ihre ausgezeichnete technische Assistenz.

Schrifttum:

1. Münch, R. (1988) Rationelle Diagnostik von Pankreaserkrankungen. Schweiz. Med. Wochenschr. 118, 478.
2. Salt, W., Schenker, S. (1976) Amylase - its clinical significance: a review of the literature. Medicine 55, 289.
3. Vandermeers, A., Vandermeers-Piret, M. C., Rathe, J., Christophe, J. (1974) On human pancreatic triacylglycerol lipase: isolation and some properties. Biochim. Biophys. Acta 370, 257.
4. De Caro, A., Figarella, C., Amic, J., Michel, R., Guy, O. (1977) Human pancreatic lipase: a glycoprotein. Biochim. Biophys. Acta 490, 411.
5. Ammann, R. W. (1980) Zur Klinik und Differentialdiagnose der chronischen Pankreatitis. Schweiz. Med. Wochenschr. 110, 1322.
6. Kolars, J. C., Ellis, C. J., Levitt, M. D. (1984) Comparison of serum amylase, pancreatic isoamylase and lipase in patients with hyperamylasemia. Dig. Dis. Sci. 29, 289.
7. Weiss, T., Lorentz, K. (1984) Vergleichende Lipasebestimmung mit turbidimetrischer Technik und Enzymimmunoassay. Lab.med. 8, 63.
8. Rick, W., Hockeborn, M. (1982) Zur Bestimmung der Aktivität der Lipase mit dem sogenannten turbidimetrischen Test. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 735.
9. Drosdat, H., Dreher, M., Linxweiler, W., Gunzer, G. (1989) Homogeneous immunoassay for determination of pancreatic lipase in routine use. Biochim. Clin. Suppl. 1/8 13, 166.
10. Uhl, W., Büchler, M., Malferttheiner, P., Drosdat, H., Martini, M., Beger, H. G. (1990) Immuno-activation technology to determine pancreatic lipase: A rapid test system with high sensitivity and specificity. Digestion 46, 182.
11. Passing, H., Bablok, W. (1983) A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21, 709.
12. Hoffmann, G. E., Junge, W., Schmidt, D., Weiss, L., Hoffmann, S. (1984) Immunechemische und turbidimetrische Lipasebestimmung. Ärztl. Lab. 30, 193.
13. Hoshino, N., Nakajima, R., Yamazaki, I. (1987) The effect of polymerization of horseradish peroxidase on the peroxidase activity in the presence of excess H₂O₂: a background for a homogeneous enzyme immunoassay. J. Biochem. 102, 785.
14. Hoshino, N., Hama, M., Suzuki, R., Kataoka, Y., Soe, G. A. (1985) A new homogeneous enzyme immunoassay. Its application to measurement of α -fetoprotein. J. Biochem. 97, 113.
15. Dreher, M., Gunzer, G., Lang, H. (1989) Neuer, homogener Enzymimmunoassay zur Routinebestimmung des Komplexes PMN-Elastase/ α_1 -Proteinaseinhibitor. GIT Labor-Medizin 12, 671.
16. Grenner, G., Deutsch, G., Schmidberger, R., Dati, F. (1982) Hochempfindlicher Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Human-Pankreas-Lipase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20, 515.
17. Junge, W., Leybold, K., Kraack, B. (1982) Detection of colipase in serum and urine of pancreatitis patients. Clin.-Chim. Acta. 123, 293.

Anschrift für die Verfasser:

Dr. Gerd Hafner
 Dr. Helga Drosdat
 Dr. Dr. Wolfram Ehrenthal
 Dr. Michael Dreher
 Dr. Hans-Dieter Zuchhold
 Prof. Dr. Winfried Prellwitz
 Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
 Johannes Gutenberg-Universität Mainz
 Langenbeckstraße 1
 6500 Mainz

□

URSPRUNG UND ZUKUNFT TRADITION UND INNOVATION SEIT 20 JAHREN

Nichols Institute

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

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

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

Entdecken Sie die Vorzüge unseres Rund-um-Services.

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

Nutzen Sie unser gebührenfreies Service-Telefon:

IGF - I

Insulin-Like-Growth Factor-I

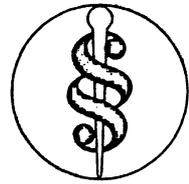
- Eliminiert die Interferenz mit den verschiedenen Bindungsproteinen
- Rekombinante IGF-I-Standards, kalibriert gegen den WHO-Standard
- Wahl von zwei Extraktionsprotokollen
- gebrauchsfertige Extraktionsreagenzien
- geringes Probenvolumen (50 od. 100 µl)



Nichols Institute

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

HR GEBÜHRENFREIES SERVICE-TELEFON
HOTLINE 0130-849191
NICHOLS INSTITUTE BAD NAUHEIM



GESAMTDEUTSCHE AUSGABE

Die auslegepflichtigen Praxisvorschriften

(Ärzte, Zahnärzte, Tierärzte)

von W. M. Nentwig (Notar) und R. J. Gläser (Rechtsanwalt)

220 Seiten, Broschur, 39,80 DM, ISBN 3-87409-186-4, 4. ergänzte Auflage

Eine komplette Sammlung aller Gesetze und Verordnungen, die in jeder Praxis ausgelegt werden müssen. Geldbußen bis zu 1.000 DM drohen, wenn auslegepflichtige Vorschriften dem (ohne vorherige Anmeldung in der Praxis erscheinenden) Beamten des Gewerbeaufsichtsamtes nicht vorgelegt werden können.

4. ergänzte Auflage
nach 16 Monaten

- Jugendarbeitsschutzgesetz, wenn regelmäßig mindestens ein Jugendlicher beschäftigt wird,
- Mutterschutzgesetz, wenn regelmäßig mehr als drei Frauen beschäftigt werden,
- die Arbeitszeitordnung in jedem Fall,
- die Unfallverhütungsvorschrift (Berufsgenossenschaft) in jedem Fall
- die Röntgenverordnung, wenn ein Röntgengerät betrieben wird,
- das Bestandsverzeichnis oder Gerätebuch gem. Medizingeräteverordnung, wenn energetisch betriebene med.-technische Geräte betrieben werden.

Kann ein Bestandsverzeichnis oder Gerätebuch nicht vorgelegt werden, droht eine Geldbuße bis zu 10.000 DM!

Die Anschaffung dieses Werkes kann daher ohne Übertreibung als "Pflichtlektüre für jede Praxis" bezeichnet werden. Demgemäß sind die Anschaffungskosten selbstverständlich als Praxisausgaben steuerlich absetzbar.

Jetzt als "gesamtdutsche" Ausgabe mit den Ergänzungen des Einigungsvertrages und dessen Auswirkungen auf Praxen und ärztlich geleitete Polikliniken in den fünf neuen Bundesländern. Darüber hinaus wurden die verlängerten Fristen zur Abnahme von Röntgengeräten gemäß § 45 Abs. 3 RöV sowie die neue Verordnung über die ärztlichen Untersuchungen nach dem Jugendarbeitsschutzgesetz eingearbeitet.

 KIRCHHEIM

Postfach 25 24, 6500 Mainz, Telefon 0 61 31/67 10 81

Ich bestelle ... Exemplare:

Nentwig/Gläser

Die auslegepflichtigen
Praxisvorschriften

ISBN 3-87409-186-4,
4. Auflage 1991, 39,80 DM.

Name: _____

Straße: _____

PLZ/Ort: _____

Datum/Unterschrift: _____