

Evaluierung eines neuen vollmechanisierten HPLC-Ionenaustausch-Systems (Merck-Hitachi L-9100) zur Bestimmung der glykierten Hämoglobine

Evaluating a new, fully mechanical HPLC-ion exchange system (Merck-Hitachi L-9100) for determination of glycated hemoglobin

Ch. M. Niederau, H. Reinauer

Abteilung für klinische Biochemie, Diabetes-Forschungsinstitut an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Zusammenfassung:

Die Leistungsdaten eines neuen vollmechanisierten HPLC-Ionenaustausch-Systems zur Bestimmung der glykierten Hämoglobine werden vorgestellt. Vergleichsmessungen zum bestehenden Analysesystem DIAMAT ergaben gute Korrelationskoeffizienten bei allerdings systematisch niedrigeren Werten für das neue System. Eine Beurteilung der Richtigkeit ist aber mangels internationaler Standards nicht möglich. Präzisionsstudien weisen das neue System in der Serie und von Tag zu Tag als sehr präzise und robust aus. Gegenüber dem DIAMAT-System zeichnen sich Handhabungsvorteile ab, die einen Fortschritt in der Analytik darstellen. Eine Normalbereichsermittlung für die Parameter HbA_{1c} und HbA_{1c} waren Bestandteil einer ersten klinischen Evaluierung.

Schlüsselwörter:

Glykierte Hämoglobine – HPLC – Ionenaustauschchromatographie

Summary:

Performance data of a new, fully mechanical HPLC-ion exchange system for measuring glycated hemoglobin are presented. Method comparison to the currently used DIAMAT system were performed and quite good correlation coefficients were obtained, although the values measured with the new system are systematically lower. Since no international standards for glycated hemoglobin are available, an evaluation of accuracy is not possible. Studies on precision pointed out a robust and precise instrument. Advantages in handling clearly favor the new system compared to the DIAMAT system. Calculations of reference intervals for HbA_{1c} and HbA_{1c} were part of a first clinical evaluation.

Keywords:

glycated hemoglobins – HPLC – ion exchange chromatography

1. Einleitung

Die Bestimmung der glykierten Hämoglobine ist aus der modernen Diabetesdiagnostik und der Therapiekontrolle nicht mehr wegzudenken [1–4]. Die ursprüngliche Entdeckung als sogenannte schnell wandernde Hämoglobine beruht auf der Veränderung der positiven Ladung des Hämoglobinmoleküls durch die Glykierung. Schon 1958 konnten Allen und Mitarbeiter mittels der Ionenaustauschchromatographie drei verschiedene Fraktionen eluieren [5]. Erst viele Jahre später wurden die „fast moving hemoglobins“ als Glykierungsprodukte identifiziert. Ebenso wurde die klinische Bedeutung bei Diabetikern erst 1968 erkannt [6]. Neben der Ionenaustauschchromatographie hat sich,

als Methode, die sich ebenfalls die Ladungsunterschiede zu Nutze macht, noch die Elektrophorese bzw. Elektroosmose etabliert. Methoden, die Strukturunterschiede der verschiedenen glykierten Hämoglobine erkennen, sind die Borsäure-Affinitäts-Chromatographie und Immunoassays. Die Thiobarbitursäure-Methode basiert auf dem Nachweis von Hydroxymethylfurfural in den posttranslational veränderten Hämoglobinen (Methodenübersicht bei [7, 8]). Eine moderne Diabetes-Therapiesprechstunde und die Erfordernisse des Klinikalltages stellen an die Bestimmungsmethode für glykierte Hämoglobine folgende Anforderungen:

1. möglichst überall verfügbar (Klinik, Praxis),

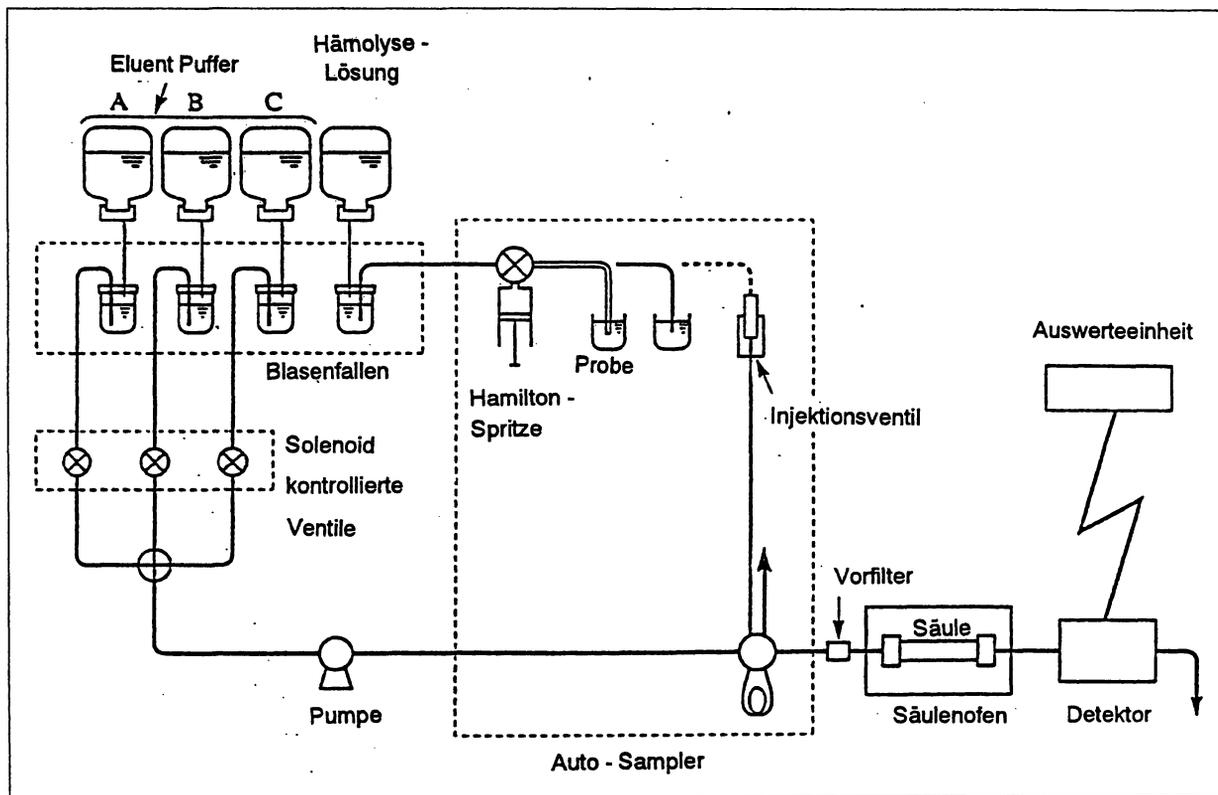


Abb. 1: Schematischer Aufbau Merck/Hitachi L-9100 (Verwendung der Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Dr. B. Stanislowski, Merck Darmstadt).

2. schnelle Ergebniserstellung, möglichst Ergebnisse noch während eines Tages
3. zuverlässige, störungsfreie, reproduzierbare Ergebnisse.

Die Anforderungen eines Labors an eine Methode zur Bestimmung der glykierten Hämoglobine erweitern sich noch auf:

4. weitgehende Automatisierbarkeit,
5. Verwertbarkeit unterschiedlichen Probenmaterials (Vollblut/Hämolysat),
6. Kosten- und Wartungsfreundlichkeit.

Das neue HPLC-Ionen-Austausch-Chromatographiesystem Merck-Hitachi L-9100 wurde auf dieses Anforderungsprofil hin untersucht.

2. Methoden

2.1 Geräte

Getestet wurde das vollmechanisierte HPLC-System der Firma Merck-Hitachi L-9100 (Vertrieb in Deutschland durch Merck, Darmstadt) (Schematischer Aufbau in Abbildung 1). Verwendet wird eine Kationenaustausch-Trennsäule, die im high-speed-analysis Modus eine Auftrennung der

Fractionen HbA_{1c} , HbA_{1b} , HbF , $I-HbA_{1c}$, $s-HbA_{1c}$ und HbA_0 erlaubt (Abbildung 2). Eine korrekte Abtrennung der labilen HbA_1 -Fraktion gelingt aber in diesem Modus nicht immer. Bei der Ergebnisdarstellung wird, bei Abtrennung einer labilen HbA_1 -Fraktion (Aldiminform) zwischen einem Wert für das stabile HbA_{1c} und einem rechnerischen Wert für ein „Totales HbA_{1c} “ unterschieden. Ist eine Abtrennung der labilen Form nicht möglich oder nicht sinnvoll, so entsprechen sich diese Werte. Optional ist ein „high resolution analysis mode“ (7 min Analysendauer) einstellbar, der eine sichere Abtrennung der labilen Fraktion in der meisten Fällen erlaubt. Im high-speed-Modus ist das System für 18 Analysen pro Stunde ausgelegt, die mittlere Analysendauer beträgt 3,3 Minuten. Die analytische Trennsäule wird durch einen Säulenofen auf einer Meßtemperatur bei 40°C gehalten. Der typische Meßbereichsdruck wird von einer Doppelkolbenpumpe aufgebaut und liegt zwischen 30 und 90 bar. Als Probenart stehen Vollblut (Hämolyse durch das System) oder Hämolysat (z. B. Kapillarblut in mit Hämolysierlösung gefüllten Eppendorfhütchen) zur Auswahl, bei einem Probenvolumen von 200–300 µl. Der eingebaute Autosampler entnimmt die Proben aus einem nicht temperierten Rack, das für 98 Patientenproben, 1 Standard und eine STAT- (Eil-) Probe ausgelegt ist. Während eines Laufs kann die STAT- (Eil-) Position für maximal 18 Notfallproben benutzt werden. Vergleichsmessungen erfolgten gegen ein ebenfalls vollmechanisiertes HPLC-System der Firma BioRad (DIAMAT).

** GLYCATED HEMOGLOBIN REPORT **

MODEL: L-9100 20/10/92 11:07
 SAMPLE NO.: 1-921020-02-00
 ID NO. :

TOTAL A1c = 6.9%
 TOTAL A1 = 8.2%

NAME	%	TIME	AREA	FACTOR
A1a	0.8	0.25	7646	1.000
A1b	0.5	0.53	4731	1.000
F	0.4	0.84	3464	1.000
1-A1c	0.0	1.27	-	1.000
A1c	6.9	1.57	62308	1.000
A0	91.4	2.48	825806	1.000
TOTAL			903955	

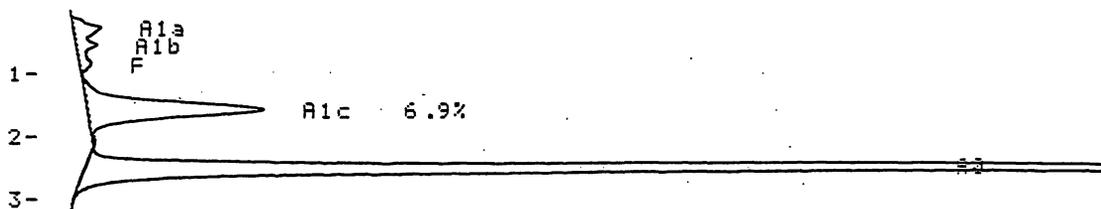


Abb. 2: Beispielchromatogramm.

2.2 Untersuchte Personen

Für die Vergleichsmessungen wurden 196 konsekutive Patientenproben aus der Sprechstunde und von den Stationen unseres Hauses eingesetzt. Das Untersuchungsmaterial war EDTA-Blut, und die Analysen wurden mit beiden Analysengeräten am selben Tag vorgenommen. Das Merck-System wurde im Vollblutmodus gefahren, die Analyse am DIAMAT erforderte eine manuelle Hämolyse vor der automatischen Abarbeitung. Die Ermittlung der Referenzbereiche erfolgte an 124 klinisch gesunden, freiwilligen Probanden ebenfalls aus EDTA-Vollblutproben. Alle Analysen auf dem Merck-System wurden im „standard mode“ (high speed analysis) vorgenommen.

2.3 Statistik

Die Meßergebnisse für die Berechnung der inter-assay-Präzision wurden einmal in 5 Tagen mit je zwei Läufen pro Tag bzw. in 10 Läufen an einem Tag ermittelt. Hierzu, wie zur Ermittlung der Intra-assay-Präzision, wurden tagfrische Patienten- bzw. Normalprobandenproben aus unterschiedlichen Konzentrationsbereichen eingesetzt, die im Falle der Inter-Assay-Präzisionsmessungen bei 4°C gelagert wurden.

Zur Normalbereichsermittlung wurde das Intervall von plus/minus 2 Standardabweichungen vom Mittelwert er-

rechnet. Die Daten aus den Vergleichsmessungen wurden nach dem von Passing und Bablok [9] beschriebenen Verfahren verarbeitet.

3. Ergebnisse

3.1 Vergleichsmessungen zum DIAMAT

Da ein internationaler Standard nicht verfügbar ist, wurden Vergleichsmessungen zu einem eingeführten HPLC-System durchgeführt. Die Ergebnisse der Vergleichsmessungen an 196 Proben sind in Tabelle 1 summarisch beschrieben. Für die Regressionsrechnung wurde die Methode nach Bablok und Passing [9] verwendet. In den Abbildungen 3 und 4 sind die Vergleichswerte für HbA_{1c} und HbA_{1c} geplottet unter Ergänzung der Regressionsgeraden inklusive des Vertrauensbereiches sowie der Winkelhalbierenden ($y = x$). Sowohl für den Vergleich der HbA_{1c}-Werte als auch für die HbA_{1c}-Werte konnten sehr gute Korrelationskoeffizienten gefunden werden ($r = 0,981$ [HbA_{1c}] bzw. $r = 0,974$ [HbA_{1c}]). Für beide Meßgrößen mußte die der Methode von Bablok und Passing zugrundeliegenden Hypothese, einer Steigung der Regressionsgeraden von 1, verworfen werden. Gleiches gilt für die Annahme eines nicht konstant von 0 unterschiedenen Achsenabschnittes für den Vergleich der HbA_{1c}-Werte, nicht aber für die HbA_{1c}-Werte.

Tab. 1: Methodenvergleich Merck Hitachi L9100 gegen Regressionsrechnung nach der Methode von Bablok und Passing (Bereich in Klammern = Vertrauensbereiche)

	HbA _{1c}	HbA ₁
Steigung	0,912 (0,889–0,935)	0,925 (0,897–0,952)
Achsenabschnitt (a)	-0,378 (-0,569 – -0,206)	-0,141 (-0,383–0,109)
Korrelationskoeffizient	0,981	0,974
Anzahl der Proben	196	196

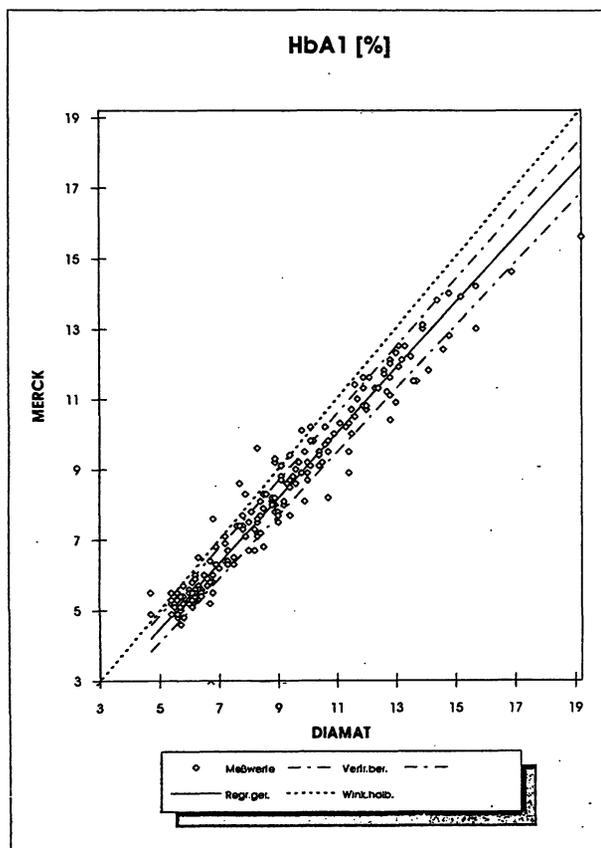


Abb. 3: Vergleichsmessungen DIAMAT/L-9100 HbA₁ (%).

3.2 Präzision (intra assay, inter assay)

Tabelle 2 gibt die Meßergebnisse der Intra-assay-Präzisionsermittlung für Vollblut bzw. Kapillarblut wieder. Es wurden Variationskoeffizienten von 0,28 bis 2,09% über einen weiten Meßbereich bestimmt. Unter Berücksichtigung einer möglichen Probenalterung bzw. Nachglykierung [10, 11], die ab einer Lagerungsdauer von mehr als einer Woche bei Kühlschranktemperatur zu Verschiebungen der Prozentzahlen führen kann, wurden für die Inter-assay-Präzisionsstudien nicht wie üblich je 1 Lauf an 10

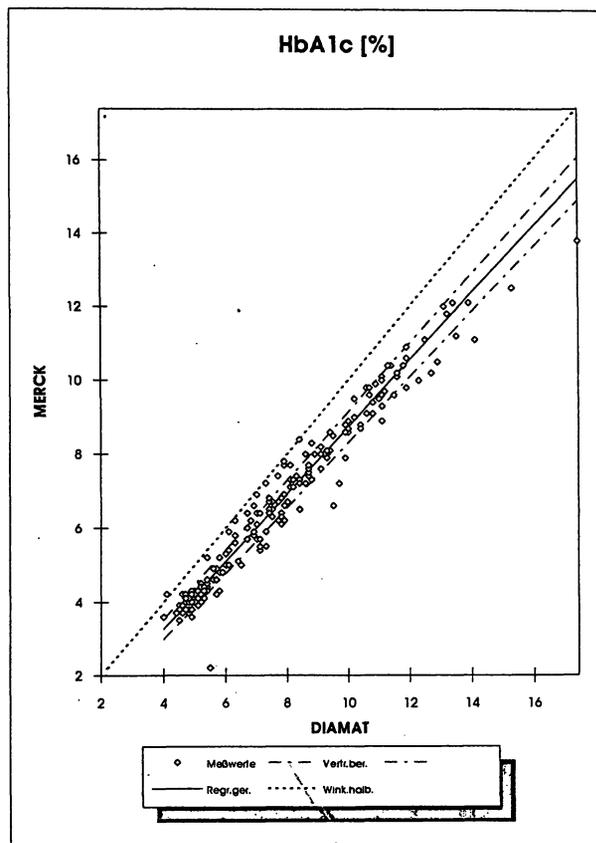


Abb. 4: Vergleichsmessungen DIAMAT/L-9100 HbA_{1c} (%).

aufeinanderfolgenden Tagen geplant, sondern je 2 Läufe an 5 aufeinanderfolgenden Tagen. Die ermittelten Variationskoeffizienten, die z. T. doch erheblich höher lagen als erwartet, waren Anlaß, die Rohdaten und die Chromatogramme auf Alterungsphänomene zu untersuchen. Hierbei zeigten die Rohdaten einen mehr oder weniger deutlichen Trend zur Abnahme der ermittelten HbA₁- bzw. HbA_{1c}-Werte, wofür in den Chromatogrammen aber kein Korrelat zu finden war. Daraufhin änderten wir das Protokoll dahingehend ab, daß zur Ermittlung der Inter-assay-Präzision 10 einzelne Läufe an einem Arbeitstag vorgenommen wurden. Tabelle 3 gibt die so ermittelten Werte wieder, die deutlich bessere Variationskoeffizienten zeigen. Korrekterweise muß bei dieser Vorgehensweise von einer Serie zu Serie-Präzision anstatt von einer „Tag zu Tag-Präzision“ gesprochen werden.

Die Präzisionsmessungen für die Intra-Assay-Präzision wurden zum Teil in einem Lauf gemessen, so daß die Proben im Maximalfall über 6 Stunden im Probenrack standen. Hier konnten keine Einflüsse durch Sedimentation der Erythrozyten oder Probenkonzentrierung festgestellt werden. Bei großzügiger Bemessung des eingesetzten Probenvolumen (besser 350 als 200 µl) kann daher zu recht auf einen Mixvorgang vor Probenentnahme durch den Sampler verzichtet werden.

Tab. 2: Intra-Assay Präzision Vollblut/Kapillarblut

Mittelwert	Standardabweichung	VK (%)
Intra-Assay Vollblut		
HbA1c [%]		
3,89	0,03	0,79
3,95	0,08	2,09
3,97	0,05	1,18
4,08	0,04	0,89
4,39	0,03	0,70
5,20	0,03	0,62
6,34	0,06	0,95
6,69	0,02	0,33
6,79	0,03	0,45
10,64	0,12	1,12
HbA1 [%]		
5,08	0,05	1,03
5,14	0,08	1,60
5,38	0,04	0,68
5,46	0,07	1,25
5,69	0,03	0,54
6,6	0,03	0,49
7,89	0,09	1,23
8,09	0,02	0,28
8,29	0,03	0,27
12,64	0,12	0,94
Intra-Assay (Kapillarblut)		
HbA1c [%]		
3,91	0,03	0,94
6,69	0,08	1,28
7,64	0,05	0,66
11,02	0,08	0,81
HbA1 [%]		
5,12	0,03	0,72
7,99	0,07	0,93
9,24	0,06	0,64
12,75	0,09	0,69

3.3 Ermittlung von Referenzbereichen

An 124 gesunden, freiwilligen Probanden wurden die in Tabelle 4 wiedergegebenen Referenzbereiche ermittelt. Legt man die auf unserem DIAMAT-System ermittelten Referenzbereiche und die Regressionsanalyse des Vergleichs zum Mercksystem zugrunde, so war ein Referenzbereich wie der ermittelte auch zu erwarten.

3.4 Spezifität: Einfluß von Störfaktoren (Abnorme Hämoglobine etc.)

Da zum Zeitpunkt der Evaluation keine frischen Proben mit Hämoglobinopathien zur Verfügung standen, konnte lediglich eine kommerziell erhältliche Kontrolle (Hb AFSC, Fa. Biolab Hürth, BRD) getestet werden. Diese Probe enthielt die wichtigsten Hämoglobin-Varianten HbF, HbS und HbC. Das Chromatogramm des Merck/Hitachi-Systems ist in Abbildung 5 wiedergegeben.

Signifikante Störungen durch andere posttranslationale Veränderungen des Hämoglobin als die Glykierung selbst wie die Carbamylierung, Acetylierung oder Abbaupro-

Tab. 3: Inter-Assay Präzision Vollblut/Kapillarblut

Mittelwert	Standardabweichung	VK (%)
Inter-Assay (Vollblut)		
HbA1c [%]		
4,11	0,05	1,24
8,34	0,09	1,19
10,25	0,11	1,03
HbA1 [%]		
5,16	0,07	1,32
9,92	0,09	0,94
11,78	0,14	1,19
Inter-Assay (Kapillarblut)		
HbA1c [%]		
3,53	0,12	3,45
4,41	0,14	3,25
9,62	0,36	3,72
13,49	0,63	4,68
HbA1 [%]		
4,61	0,16	3,37
5,72	0,17	2,96
11,6	0,28	2,45
15,08	0,63	4,16

dukte (HbA_{1d}) konnten bei insgesamt über 1000 Messungen bisher nicht beobachtet werden. Eine gezielte Untersuchung von z.B. Alkoholikern oder Patienten unter chronischer Einnahme von Acetylsalicylsäure soll in einer weiteren Studie systematisch untersucht werden.

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Geräteevaluierung durchgeführte Präzisionsstudien ergaben sehr gute Variationskoeffizienten sowohl für die Intra-Assay als auch für die Inter-Assay-Präzision. Die Vergleichsmessungen zum DIAMAT-System als Teil einer Richtigkeitskontrolle ergaben eine gute Vergleichbarkeit der Methoden (Korrelationskoeffizient = 0,981), wobei die vom Merck-System ermittelten Werte in einem niedrigeren Bereich angesiedelt waren. Dies erforderte eine eigene Normalbereichsermittlung, die ebenfalls Teil dieser Evaluierung war. Die Nachweisgrenze ist bei der Bestimmung von HbA_{1c} ohne Bedeutung, hingegen muß wegen den bisweilen auftretenden Hämoglobinvarianten die Spezifität des Analysensystems beachtet werden. Hierbei ist eine systematische Untersuchung wegen der niedrigen Prävalenz von Hämoglobinvarianten in Deutschland problematisch und allenfalls an hochspezialisierten hämatologischen Zentren möglich. Die Testung einer kommerziell verfügbaren Kontrolle, welche die häufigsten Varianten HbS und C neben den physiologisch vorkommenden Hämoglobinen A und F enthielt, ergab, daß diese ausreichend sicher erkannt werden können. Im praktischen Einsatz zeigte sich das Merck-System als robust und zuverlässig, grobe Störungen traten nicht auf. Die Möglichkeit der Vollblutverarbeitung erwies sich als Handhabungsvorteil gegenüber dem DIAMAT-System, wobei die Option eines Primärröhrcheneinsatzes wünschens-

Tab. 4: Referenzbereichsermittlung mit dem Merck/Hitachi L 9100

	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	HbA1c (%)	HbA1 (%)
Alle Probanden n = 124 (85 männlich, 39 weiblich)					
Mittelwert	29,3	177,2	72,6	4,04	5,26
Median	28	178	72	4,0	5,25
Standardabweichung	7,85	8,61	13,83	0,31	0,39
Minimum	17	158	45	2,2	2,9
Maximum	60	196	125	5,0	6,4
<i>Referenzbereiche (95% Intervall, Mittelwert \pm 1,96 *Standardabweichung)</i>					
HbA _{1c} : 3,4-4,6% HbA1: 4,5-6,0%					
männliche Probanden (n = 85)					
Mittelwert	30,2	180,6	77,8	4,04	5,24
Median	29	180,5	75,5	4,0	5,2
Standardabweichung	7,35	7,50	12,8	0,32	0,41
Minimum	17	160	54	2,2	2,9
Maximum	60	196	125	5,0	6,4
weibliche Probanden (n = 39)					
Mittelwert	27,4	169,7	61,3	4,03	5,29
Median	24	169	60,5	4,0	5,35
Standardabweichung	8,28	5,65	8,12	0,26	0,35
Minimum	20	158	45	3,6	4,6
Maximum	52	180	82	4,6	6,0

** GLYCATED HEMOGLOBIN REPORT **

MODEL:L-9100 20/10/92 11:10

SAMPLE NO.:1-921020-02-01

ID NO. :

TOTAL A1c= 0.0%

TOTAL A1 = 0.0%

NAME	%	TIME	AREA	FACTOR
A1a	0.0	0.30	-	1.000
A1b	0.0	0.53	-	1.000
F	0.0	0.91	-	1.000
1-A1c	0.0	1.27	-	1.000
A1c	0.0	1.57	-	1.000
A0	0.0	2.48	-	1.000
TOTAL			0	

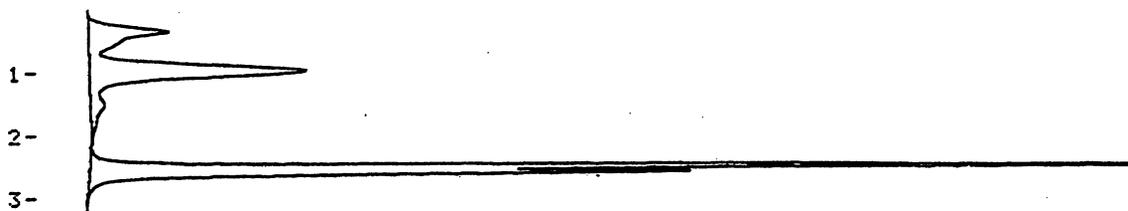


Abb. 5: Chromatogramm einer kommerziell verfügbaren Kontrolle für abnorme Hämoglobine A, F, S und C.

wert ist. Die Reagenzienbeschickung ist unproblematisch, der Wartungsaufwand gering. Die kurze Analysendauer erweist sich gerade bei hohem Probenaufkommen als vorteilhaft. Die Proben- und Ergebnisdokumentation ist nach den jeweiligen Erfordernissen wählbar, wobei eine Dokumentation auch auf einen Datenträger (Diskette) möglich ist. Hierdurch ist eine Langzeitarchivierung auch über die begrenzte Lebensdauer des Thermopapiers hinaus machbar und die Aufbewahrung langer Papierrollen z.T. entbehrlich. Leider ist das Diskettenformat nicht zur DOS-Welt kompatibel, so daß eine Weiterverarbeitung der Daten, z.B. mit Tabellenkalkulationen oder Datenbanken, nicht möglich ist. Ein unidirektionaler EDV-Anschluß für Labor-EDV-Systeme ist nach V24/RS232 Standard vorgesehen. Die in das Gerät eingebaute Logik sollte, trotz zahlreicher Optionen (Bildschirmdialog, kontextsensitive Hilfebildschirme, Reagenzrestance etc.) im Hinblick auf die Rechengeschwindigkeit optimiert werden. Diese verzögerte elektronische Systemperformance wirkt sich aber im Routinebetrieb selten aus.

5. Schlußfolgerungen

Bei dem Merck-Hitachi L-9100 handelt es sich um ein robustes, zuverlässiges, präzise arbeitendes System, dessen Analysenergebnisse zu denen des weitverbreiteten DIAMAT-Systems gut vergleichbar sind. Solange für die Bestimmung der glykierten Hämoglobine noch keine Referenzmethode oder ein zertifiziertes Referenzmaterial verfügbar ist, läßt sich über die Richtigkeit der Ergebnisse keine abschließende Aussage treffen. Die Frage, wie mit der labilen HbA_{1c}-Fraktion (Aldimininform) verfahren werden soll, läßt sich ebenfalls ohne internationale Standardisierung nicht endgültig klären. Das Merck/Hitachi-System läßt hier alle Optionen offen. Ein Aldimin-Eliminations-schritt kann der Analyse wie bei anderen Systemen vorschaltet werden [12]. Ist dieses nicht gewünscht, so kann das Merck/Hitachi-System eine labile HbA_{1c}-Fraktion ausweisen, unterscheidet in diesem Falle dann zwischen einem Wert für das stabile HbA_{1c} und einem rechnerischen „Totalem HbA_{1c}“. Dieser Fall kam während der Evaluierung allenfalls 1–2 mal vor, ansonsten entsprachen sich der Wert für das stabile HbA_{1c} und für das „totale HbA_{1c}“. Bezüglich des in der Einleitung aufgeführten For-derkataloges an ein Analysensystem für die Bestim-

mung der glykierten Hämoglobine bleibt abschließend festzuhalten, daß das hier vorgestellte Merck/Hitachi-Sy-stem L-9100 die meisten Anforderungen voll erfüllt.

Literatur:

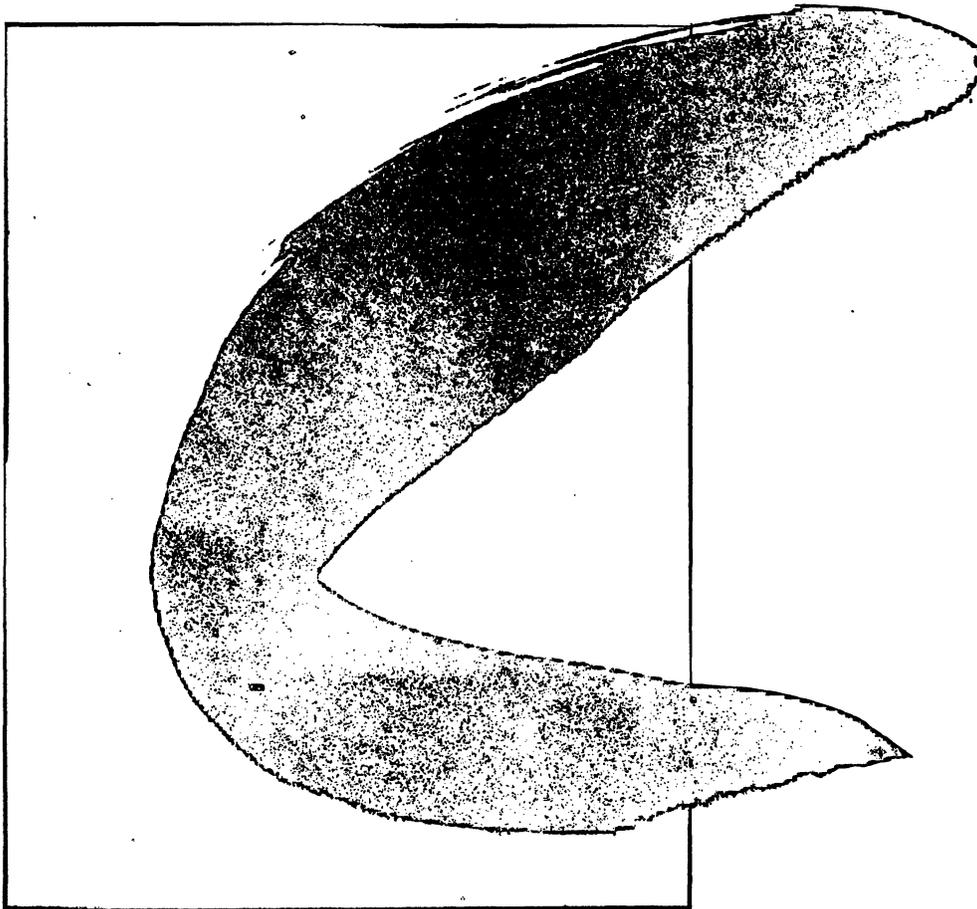
1. Little, R. R., Goldstein, D. E. (1992) Long-term glucose monitoring with glycosylated proteins. *Lab. Med.* 23(8), 533–538.
2. Nathan, D. M., Singer, D. E., Hurxthal, K., Goodson, J. D. (1984) The clinical value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Engl. J. Med.* 310, 341–346.
3. Niederau, C. M., Potthoff, S., Gries, F. A., Reinauer, H. (1980) Zum Aus-sagewert von glykosylierten Hämoglobinen bei Diabetes mellitus und bei Gravidität. *Lab. med.* 4, 9–14.
4. Larsen, M. L., Horder, M., Mogensen, E. F. (1990) Effect of long term monitoring of glycosylated Hemoglobin levels in insulin dependent diabe-tes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 323, 1021–1025.
5. Allen, D. W., Schroeder, W. A., Balog, J. (1958) Observations on the chro-matographic heterogeneity of normal adult and fetal hemoglobin: a study of the effects of crystallization and chromatography in the heterogeneity and isoleucine content. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 1628–1632.
6. Rahbar, S. (1968) An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. *Clin. Chim. Acta* 22, 296–298.
7. Schleicher, E., Wieland, O. H. (1989) Protein glycation: measurement and clinical relevance. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 27, 577–587.
8. Niederau, C. M., Reinauer, H. (1981) Analyseverfahren für glykosilierte Hämoglobine. Ein Methodenvergleich. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 19, 1097–1101.
9. 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, 709–720.
10. Simon, M., Hoover, J. D. (1982) Effect of sample instability on glyco-hemoglobin (HbA_{1c}) measured by cation-exchange chromatography. *Clin. Chem.* 28/1, 195–198.
11. Little, R. R., England, J. D., Wiedmeyer, H. M., Goldstein, D. E. (1983) Effects of whole blood storage for glycosylated hemoglobin as measured by ion-exchange chromatography, affinity chromatography, and colori-metry. *Clin. Chem.* 29/6, 1113–1115.
12. Reinauer, H., Niederau, C. M. (1984) Glykosylierte Hämoglobine – Bil-dung und Beseitigung der Aldiminform. *Lab. med.* 8, 68–73.

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. Christoph Marcus Niederau
 Prof. Dr. med. Hans Reinauer
 Diabetes-Forschungsinstitut an der Heinrich-Heine-Universität
 Abteilung für klinische Biochemie
 Auf'm Hennekamp 65
 40225 Düsseldorf

Danksagungen:

Für die Überlassung des Analysengerätes sowie der Reagenzien sei Frau Kroker, Herrn Müller und Herrn Dr. Stanislawski (alle Fa. E. Merck, Darmstadt) gedankt. Weiterhin gilt allen Mitarbeiterinnen des Zentrallabors des Diabetes-Forschungsinstitutes besonderer Dank.



MONOLISA® ANTI HCV

Die Auswahl der rekombinanten Proteine NC-450 aus der Capsid- und 409-1-1 aus der NS3-Region führt zu einer höchstmöglichen Sensitivität. Das Expressionssystem E.coli mit dem Fusionsprotein SJ26 gibt dem Test eine außergewöhnliche Spezifität. Bewährtes Mikrotiterformat im 12 x 8 Streifendesign machen diesen Test anwenderfreundlich und ermöglichen auch kleinste Testansätze.

(Zulassungs-Nr.: 570a/91)

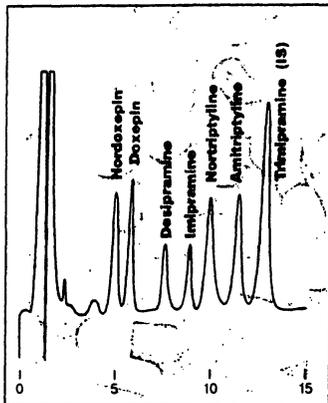
Die Alternative in der Hepatitis C Diagnostik



SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR GMBH

Sasbacher Straße 5
79111 Freiburg
Tel. (07 61) 4 90 51-0
Fax (07 61) 4 90 51-99

Therapeutisches Medikamenten- Screening mit HPLC



Spezifische Bestimmung von
Benzodiazepinen und
Tricyclischen
Antidepressiva im Serum

- Substanzen und deren Metabolite in einem Lauf
- Isokratische HPLC-Analyse
- UV-Detektion
- Kurze Analysenzeit
- Einfache Proben-
vorbereitung
- Kompletter Testkit
- Überwachung der Analytik
durch BZ/TCA-Kontrollen
von *BIO-RAD*

⇒ Eindeutige Identifizierung
von **Flunitrazepam**
(**Rohypnol** ®)



BIO-RAD
Laboratories GmbH
Abteilung Diagnostica
Heidemannstraße 164
D-80939 München
Telefon: 089/31884140
Telefax: 089/31884100

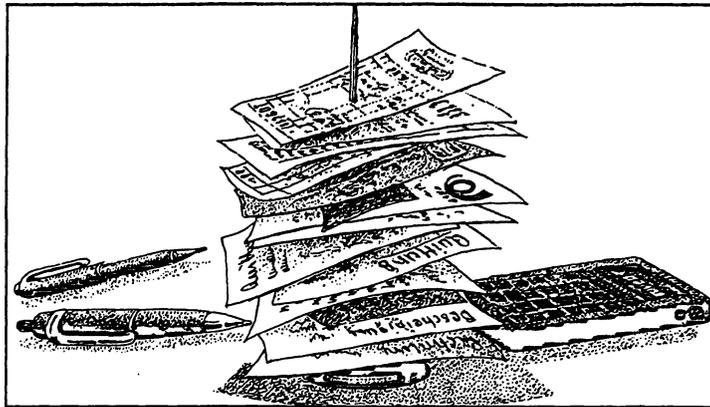
Praxishilfen – Wissen, Tips und Service für den Arzt

Herausgeber: Frank H. Mader

Kostenstruktur der Arztpraxis

Praxiskosten-Test, Statistik, Steuerprüfung

Von Robert Linden, 60 Seiten, 24,80 DM, ISBN 3-87409-169-4



**Dieses Buch soll Sie motivieren, sich einmal
die Fragen zu stellen:**

Arbeitet meine Praxis wirtschaftlich?

**Entspricht mein Praxisgewinn dem
Durchschnitt meiner Fachkollegen?**

**Kann ich durch Rationalisierungen dieses
Ergebnis verbessern?**

Die neuen Kostenprozentsätze des Statistischen Bundesamtes sind die Grundlagen für den Praxiskosten-Test, der den Vergleich der eigenen Praxiskosten-Prozentsätze mit denen der Statistik in der passenden Umsatzgruppe ermöglicht. Auch der Steuerprüfer benutzt diese Vergleichswerte, um zeitsparend Prüfungsschwerpunkte zu setzen. Es ist gut, schon vor dem Prüfer selbst den Test zu machen, um für Abweichungen geeignete Erklärungen und Argumente bereitzuhalten. Ein ausführliches Kapitel ist der Steuerprüfung in der Arztpraxis gewidmet. Spezielle Erfahrungen, Hinweise und Tips können die Steuerprüfung erleichtern.

Verlag Kirchheim Mainz

Postfach 25 24, 55015 Mainz

Ich bestelle ... Expl. Linden, Kostenstruktur der Arztpraxis, 24,80 DM, ISBN 3-87409-169-4

Name _____

Straße _____

PLZ/Ort _____

Datum _____

Unterschrift _____

Lab.med. 9/93