

# **Jahrestagung 1996 der Österreichischen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin**

Tagungspräsidenten  
M. Böhm, G. Wider

Wissenschaftliches Komitee  
E. Artner-Dworzak, K. Bauer, P. M. Bayer, M. Böhm, S. Fang-Kircher,  
M. Fischer, W. M. Halbmayer, A. Haushofer, K. R. Herkner, W. Hübl,  
M. Hubmann, W. Junge, E. Kaiser, M. Krieg, G. Mustafa, H. Rumpold,  
H. Stekel, E. Toth, M. Truschnig-Wilders, W. Woloszczuk

Steyr, 4.–7. Dezember 1996

---

<sup>1</sup> Abdruck der Abstracts nach den eingereichten Vorlagen, ohne redaktionelle Bearbeitung

## Autorenverzeichnis

Andert, Sylvia	727, 728, 734	Köller, U.	731, 732
Baadenhuijsen, H.	734	Kratochvila, J.	734
Baku, M. M.	733	Krejs, G. J.	724
Banczi, V.	732	Kronawetter, M.	734
Bauer, K.	726, 729, 730	Lage, A. L.	724
Bayer, P. M.	727, 728, 733, 734	Lamont, J. V.	735
Beug, H.	726	Lapin, A.	728, 733, 734, 735
Budina, M.	734	Legenstein, E.	734
Caroll, M. C.	724	Lindern Van, M.	726
Demel, U.	724	Mannhalter, Christine	725, 728
Eber, B.	733	Mayer, W.	733
Endle, A. T.	734	Marth, E.	734
Faatz, E.	734	McCusker, C. A.	735
Fischer, M. B.	724	Minghe Ma	724
FitzGerald, S. P.	735	Molinari, E.	736
Föding, Manuela	723, 728, 730	Moll, W.	736
Friedecky, B.	734	Moore Jr., F. D.	724
Fuchs, D.	724	Moshkin, A.	734
Geissler, K.	729	Murrow, J.	724
Haberhauer, G.	730	Nicholson-Weller, Anne	724
Hafner, E.	726	Odpadlik, M.	733, 734
Hamwi, A.	730	Ortner, Sabine	727
Handler, Sylvia	725	Pabinger-Fasching, Ingrid	725
Hauser, A.	729	Partsch, H.	733
Herkner, K. R.	732	Philipp, K.	726
Herold, M.	736	Pierer, Karen	723, 734
Hinterberger, W.	729, 730	Pointner, H.	734
Hippmann, G.	733	Prodeus, A. P.	724
Hirschwehr, R.	733	Quehenberger, P.	725
Hofmann, J.	729	Reiger, J.	733
Hohenwallner, W.	725	Reid, R. R.	724
Hör, W. H.	728, 730	Rosen, A.	726
Huber, K.	726, 729	Rosen, F. S.	724
Hubmann, M. R.	736	Ruckser, R.	729, 730
Hübl, W.	727, 728, 734	Sacher, M.	729
Hübner, Christin	728	Sallinger, W.	731
Jeschke, K.	731	Santner, Brigitte I.	723, 734
Jilma, B.	725	Schmitt, Y.	725
Kabrna, E.	729	Schneiderka, P.	734
Kaiser, E.	734	Schulz, T.	725
Kapiotis, S.	725	Schumacher, M.	733
Kaufmann, P.	724	Sebesta, C.	726
Kessler, H. H.	723, 734	Selleny, S.	729
Kier, P.	729	Sixt, S.	732
Kittl, E. M.	729, 730	Smart, D.	735
Klinger, W.	732	Sommer, R.	733
Klotz, W.	736	Speiser, W.	725
Kohlross, C.	732	Stekler, U.	736
		Sterz, B.	731, 732

Streicher, J. ....	728	Wachter, H. ....	724
Strohmaier, W. ....	733	Warren, H. B. ....	724
Sunder-Plassmann, Gere ....	728, 730	Wasilewski, M. ....	734
Tatzber, F. ....	733	Wiesinger, K. ....	725
Temml, C. ....	733, 735	Wimmer, E. ....	725
Thum, Gabriele ....	727, 728	Wolf, H. ....	726
Tilz, G. P. ....	724	Wolfbauer, G. ....	727, 728
Thustos, L. ....	727	Wonisch, W. ....	733
Voitl, P. ....	729	Worofka, B. ....	726, 729
Vukovich, T. C. ....	730	Ziervogel, G., ....	731

## Molekularbiologische Techniken und Labordiagnostik

Manuela Födinger

Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik, Universität Wien

Derzeit steht eine Fülle von molekularbiologischer Techniken zur Verfügung, welche für die Identifikation von Gendefekten geeignet sind. Der Großteil dieser Methoden jedoch ist nach wie vor sehr zeitaufwendig, weshalb deren Anwendung auf Speziallabors beschränkt ist. Aufgrund rezenter wissenschaftlicher Ergebnisse jedoch konnten genetische Risikofaktoren identifiziert werden, welche für die Entwicklung der Arteriosklerose und Thrombose prädisponieren. Beispiele dafür sind der Polymorphismus im Glykoprotein IIIa Gen (Weiss et al. 1996), welches auf der Oberfläche von Thrombozyten exprimiert wird und Fibrinogen und von Willebrand Faktor bindet, ferner eine Mutation im Methylenetetrahydrofolat-Reduktase Gen (Frosst et al. 1995), dessen Genprodukt normalerweise an der Eliminierung der gefäßtoxischen Aminosäure Homocystein beteiligt ist und die Mutation im Gerinnungsfaktor V, bekannt als Faktor V Leiden (Bertina et al. 1994). Da diese Gendefekte in der Bevölkerung sehr häufig vorkommen ist der Bedarf groß, molekularbiologische Techniken zu entwickeln, welche rasch und zuverlässig die Identifikation von Risikofaktoren ermöglichen. In diesem Übersichtsreferat werden neue molekularbiologische Techniken und Entwicklungen, sowie anhand konkreter Beispiele, deren mögliche Anwendung in der Labordiagnostik diskutiert. Ferner werden eigene rezente Erkenntnisse auf dem Gebiet der Hypertonie, der Arteriosklerose, Hämatologie und Gerinnung kurz präsentiert.

## Molekularbiologische Methoden in der Diagnostik neurotroper Viren

Brigitte I. Santner, H. H. Kessler und Karen Pierer

Labor für klinische Molekularbiologie, Hygiene-Institut der KF-Universität Graz

Infektionen des Zentralnervensystems durch neurotrope Viren führen zu einer Meningitis, Meningoenzephalitis oder Enzephalitis. Das rasche Einleiten einer adäquaten Therapie ist für die Verkürzung des Krankenhausaufenthaltes und zur Verhinderung von Spätfolgen essentiell. Die Detektion von Antikörpern ist nicht zielführend, da sie erst verzögert nachweisbar sind. Molekularbiologische Methoden erlauben eine rasche, sensitive und spezifische Identifikation des Erregers.

Die molekularbiologische Diagnostik von Erregern aus der Gruppe der Herpesviridae ist derzeit nur Speziallabors vorbehalten, da es keine kommerziell erwerbbaren Tests gibt. Es ist jedoch gelungen, die zeitaufwendigen, giftigen und radioaktiven Reagentien verwendenden „klassischen“ Extraktions- und Hybridisierungsverfahren, durch schnelle Methoden, die ausschließlich ungiftige und nichtradioaktive Substanzen benötigen, zu ersetzen. Zum Nachweis von Enteroviren steht seit kurzem ein kommerziell erhältlicher Test, der sich durch eine „one-step“ reverse Transkription und PCR sowie durch eine Hybridisierung mit anschließender kolorimetrischer Detektion auf Mikrotiterplatten auszeichnet, zur Verfügung.

Zukünftige Schwerpunkte liegen in der Qualitätssicherung, in der weiteren Automatisierung und in der Einführung von „multiplex“-PCR-Techniken, die die Detektion verschiedener Erreger aus einem Probenansatz heraus ermöglichen.

## Molekularbiologische Methoden in der Diagnostik von Virushepatitiden

H. H. Kessler, Brigitte I. Santner und Karen Pierer

Labor für klinische Molekularbiologie, Hygiene-Institut der KF-Universität Graz

Molekularbiologische Verfahren zum Nachweis von Hepatitisviren waren bisher wegen ihrer aufwendigen Durchführung Speziallabors vorbehalten. Seit der Einführung kommerzieller Tests, die Fertigreagentien, schnelle Amplifikationsprotokolle und nichtradioaktive Detektionssysteme verwenden, werden diese Verfahren zunehmend auch in diagnostischen Routinelabors eingesetzt.

Der qualitative Nachweis Erreger-spezifischer RNA- oder DNA-Sequenzen bestätigt das Vorhandensein des Virus. Damit können Infektionen bereits vor der Serokonversion erkannt, Neugeborene seropositiver Mütter definiert und unklare Ergebnisse bei Immunsupprimierten geklärt werden. Darüberhinaus sollten gegenwärtige Methoden zur Bestätigung von Screeningtests durch molekularbiologische Verfahren ersetzt werden. Der quantitative Nachweis erlaubt die Bestimmung der vorhandenen Virusmenge. Damit läßt sich eine genaue Aussage darüber treffen, wann mit einer antiviralen Therapie begonnen werden soll, ob die gewählte Therapie erfolgreich ist und wann eine Therapieänderung erfolgen sollte.

Zukünftige Schwerpunkte liegen in der Standardisierung von Laboratorien, die molekulare Methoden einsetzen, in der Qualitätssicherung und in der weiteren Automatisierung der molekularbiologischen Techniken.

## Neopterin bei akuter Pankreatitis

D. Fuchs, P. Kaufmann, U. Demel, G. P. Tilz,  
H. Wachter, G. J. Krejs

Institut für Medizinische Chemie und Biochemie der Universität  
Innsbruck und Klinik für Interne Medizin, Universität Graz

Entzündungsreaktion und Immunologie spielen bei der Pathogenese der akuten Pankreatitis eine große Rolle. Deshalb ist die Bestimmung von Laborparametern, die die Überwachung entzündlicher und immunologischer Vorgänge erlauben, für die Prognoseeinschätzung der Patienten von großer Bedeutung. Die Neopterinbestimmung ermöglicht eine Erfassung des Aktivierungszustandes des zellulären Immunsystems, da humane Monozyten/Makrophagen nach Stimulation mit Interferon- $\gamma$  große Mengen des Moleküls freisetzen.

In einer prospektiven Studie wurde bei 25 Patienten mit akuter Pankreatitis (15 Männer, 10 Frauen; medianes Alter: 56 Jahre, Bereich: 32–81 Jahre) Neopterin im Plasma mittels Radioimmunoassay (BRAHMS, Berlin) bestimmt. Im Vergleich zu gesunden Kontrollen wurden signifikant höhere Neopterinspiegel gefunden ( $p < 0,001$ ) und wenn die Patienten entsprechend des APACHE-III Score in 2 Gruppen unterteilt wurden, so wiesen Patienten mit schwerer Pankreatitis signifikant höhere Neopterinwerte als jene mit milder Pankreatitis ( $p < 0,01$ ) auf. Patienten, die ein Multiorganversagen (MOF) entwickelten und verstarben, hatten wesentlich höhere Neopterinspiegel als Patienten ohne MOF bzw. Überlebende ( $p < 0,01$ ). Ebenso war der Neopterinspiegel im Plasma bei Patienten, die eine Nekrose entwickelten, höher als bei ödematösen Formen der Pankreatitis ( $p < 0,01$ ).

Erhöhte Neopterinwerte bei Pankreatitis weisen auf ein aktiviertes zelluläres Immunsystem hin und unterstreichen zugleich die Bedeutung immunologischer Phänomene bei der Erkrankung. Dem Neopterinspiegel kommt bei Patienten mit Pankreatitis eine hohe prognostische Wertigkeit zu, höhere Neopterinspiegel weisen auf ein erhöhtes Risiko für Komplikationen, Nekrose und Tod der Patienten hin.

Kaufmann P. et al. Elevated neopterin plasma levels in patients with severe acute pancreatitis (zur Publikation eingereicht).

## Increased susceptibility to endotoxin shock in complement C3- and C4-deficient mice is corrected by C1 inhibitor replacement

M. B. Fischer<sup>1</sup>, A. P. Prodeus<sup>1</sup>, Anne Nicholson-Weller<sup>3, 6</sup>, Minghe Ma<sup>1</sup>, J. Murrow<sup>1</sup>, R. R. Reid<sup>1</sup>, H. B. Warren<sup>7</sup>, A. L. Lage<sup>4, 7</sup>, F. D. Moore Jr.<sup>4</sup>, F. S. Rosen<sup>2, 5</sup> and M. C. Carroll<sup>1</sup>

Departments of

<sup>1</sup> Pathology,

<sup>2</sup> Pediatrics,

<sup>3</sup> Medicine and

<sup>4</sup> Surgery, Harvard Medical School;

<sup>5</sup> The Center for Blood Research;

<sup>6</sup> Beth Israel Hospital; and

<sup>7</sup> Center for Animal Resources and Comparative Medicine, Boston, MA.

Endotoxin shock is a life-threatening syndrome associated with a Gram-negative infection and mediated by a systemic inflammatory response. As a major effector of inflammation, the complement system has been implicated in the pathogenesis and the protection from endotoxin shock. To clarify the role of complement in endotoxin shock, we have used mice totally deficient in either complement component C3 or C4. We found that both the C3 and C4 deficient mice were significantly more sensitive to endotoxin than wild-type controls. Moreover, the endotoxin-challenged complement deficient mice failed to clear endotoxin efficiently from their circulation and this led to excess consumption of C1 inhibitor protein, a major regulator of both complement and the contact system of blood coagulation. Replacement of C1 inhibitor rescued the endotoxin-challenged complement-deficient mice from shock and death.

## Improved characteristics of aPC-resistance assay coatest® aPCTM® resistance by predilution of samples with Factor V-deficient plasma

S. Kapiotis, P. Quehenberger, B. Jilma, Sylvia Handler, Ingrid Pabinger-Fasching, Christine Mannhalter, W. Speiser

Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik, Klinische Pharmakologie und Klinik für Innere Medizin I, AKH Wien

Screening for a resistance against activated protein C (aPCR), which is in most cases is caused by FV:Q<sup>506</sup> mutation, is performed by functional tests measuring the effect of aPC on aPTT. Dwing to an insufficient discrimination between FV:Q<sup>506</sup> mutation negative and positive individuals with the first generation of the functional test Coatest® aPCTM® Resistance, the definition of an arbitrary cutoff level was only possible using the results of DNA analysis. The use of an arbitrary cut-off level still resulted in unsatisfactory low sensitivity and specificity of the functional test. Thus time-consuming and expensive DNA analyses had to be performed frequently to establish the diagnosis. The objective of this study was to evaluate an improved version of this assay which uses predilution of samples with factor V-deficient plasma containing a heparin neutralizer. Using the data from 32 FV:Q<sup>506</sup> mutation positive and 55 negative individuals. we could calculate a cut off value resulting in an enhanced sensitivity (0.91 vs. 1.0) and specificity (0.77 vs. 1.0) of the new assay compared to the old one. Imprecision was lowered from 5.36% (first generation) to 2.43%, particularly samples with longer clotting times. In patients with prolonged aPTT, either to therapy with oral anticoagulants or heparin, correct results were obtained with this second generation assay, in contrast to the first generation assay. With this second generation assay the number of DNA analyses can be substantially reduced.

## Kostenkontrolle im medizinischen Labor – ein Beitrag zur Kostentransparenz

Y. Schmitt, T. Schulz

Institut für Labormedizin, Klinikum Darmstadt, Darmstadt, Deutschland

Obwohl die Kosten eines Krankenhauslabors nur wenige Prozent der Gesamtkosten eines Krankenhauses ausmachen, ist dieses immer wieder Ziel von Einsparungsversuchen vor allem der Verwaltungsdirektoren. Hinzu kommt die Tatsache, daß niedergelassene Laboratorien immer wieder den Versuch machen,

Krankenhauslabors zu übernehmen, in dem sie für die Routineparameter aus den Bereichen der klinischen Chemie, Hämatologie und Gerinnung massiv reduzierte Preise anbieten, wohingegen für die Spezialuntersuchungen nur niedrige Rabattstufen in Betracht kommen. Auch aufgrund der heutigen Gesetzgebung ist es daher für jedes Labor eine unabdingbare Notwendigkeit, die Kosten pro untersuchtem Parameter aus Routine- und Notfallarbeitszeit detailliert zu ermitteln.

Da es auf dem freien Markt nur wenige und meist sehr teure Software zur Lösung dieser Aufgaben gibt, wurde im Institut der Autoren ein Programm auf der Basis „MS-Excel 5.0“ entwickelt, das in der Programmiersprache „Visual Basic“ geschrieben ist. In verschiedenen Datenblättern werden die Quellinformationen für das System zusammengestellt: Analysenstatistik, direkte und indirekte Personal- und Sachkosten. Nach einer initial notwendigen Kostenstellenzuordnung, die für jede Struktur des Labor frei wählbar ist, liefert das Programm die Kosten pro befundetem Parameter. Dabei erfolgt eine detaillierte Unterteilung der Kosten nach Kostenstelle und Kostenträger bzw. nach Routine- und Notfallarbeitszeit. So konnte für das Institut der Autoren gezeigt werden, daß die Kosten mit denen eines großen niedergelassenen Labors durchaus vergleichbar sind. Außerdem wird ein Beitrag zur Kostentransparenz geleistet.

## Serologische Untersuchungen und Labormethoden zur Bestimmung von Proteinen im Liquor cerebrospinalis

W. Hohenwallner, E. Wimmer, K. Wiesinger

Zentrallabor des Krankenhauses der Barmherzigen Schwestern, Linz

Zur Bestimmung der Immunglobuline IgA und IgM im Liquor cerebrospinalis (CSF) wurde am Array 360 CE ein Verfahren zur Analyse geringer Konzentrationen adaptiert.

Mittels manuell vorverdünnter Kalibratoren wird die Eichkurve für IgA und IgM auf Basis der gemessenen Rate-Units erstellt. Mit der Rechensoftware (FLEXIsoft Fa. Beckman Instruments) können die Konzentrationen der analysierten Proben berechnet werden.

Die Variationskoeffizienten der beiden Applikationen in Serie liegen bei 0,25% für IgA (Mittelwert 1,91 mg/dl) bzw. 1,49% für IgM (Mittelwert 0,475 mg/dl). Von Tag zu Tag: IgA 3,84% (Mittelwert 2,40 mg/dl); IgM 4,64% (Mittelwert 0,645 mg/dl).

Zum Nachweis von humanen IgG- bzw. IgM-Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* (B.B.) in Serum und Liquor verwenden wir den Enzymimmunoassay Enzygnost Borreliosis der Fa. Behring. Die Auswertung für IgG erfolgt als quantitative Aussage mit Hilfe

der „alpha-Methode“. Antikörper gegen das FSME-Virus in Serum und Liquor werden mit dem Test Immunozyt FSME der Fa. IMMUNO nach den Vorschriften des Herstellers durchgeführt.

Bei allen grenzwertigen und positiven Ergebnissen im Borrelien ELISA wird ein entsprechender IgG bzw. IgM Westernblot durchgeführt. Dazu verwenden wir Reagentien der Fa. MRL Diagnostics. Für die Analyse von CSF liegt keine Empfehlung des Herstellers vor. Wir verdünnen den Liquor nicht 1:100 mit Probenpuffer wie das Serum, sondern 1:2 bis 1:3. Durch jeweils chargenspezifische Referenzstreifen bzw. durch das Mitführen von Kontrollen wird die Zuordnung der Banden vereinfacht.

Die Bestimmung spezifischer Antikörper (ELISA für FSME und Borreliose, Westernblot für B.B.), die Verwendung von Indizes bzw. Quotienten sowie der von H. Reiber entwickelten Diagramme sind weitere wichtige diagnostische Hilfsmittel. An Hand von Fallbeispielen wird dies demonstriert.

### **Development of a rapid means of estimating the haemoglobin F content of candidate fetal cells isolated from maternal blood using HPLC**

K. Huber<sup>1</sup>, H. Wolf<sup>2</sup>, M. Van Lindern<sup>3</sup>, B. Worofka<sup>1</sup>, A. Rosen<sup>2</sup>, E. Hafner<sup>2</sup>, H. Beug<sup>3</sup>, K. Philipp<sup>2</sup> and K. Bauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Laboratory Medicine,

<sup>2</sup> Dept. of Gynecology, Donaushpital SMZ-Ost, Vienna;

<sup>3</sup> Inst. for Molecular Pathology, Vienna; InChrom, Klosterneuburg; Austria

Prenatal diagnosis of genetic disorders in nucleated fetal red blood cells present in maternal blood requires methods to detect and enrich such cells. Here we describe a rapid High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method, that allows one to determine as few as 100 cells containing haemoglobin F (HbF) in the presence of a vast excess of haemoglobin A (HbA) containing cells. The HPLC separations of haemoglobins were performed with a weak cation exchange column – silica gel-bound asparaginic acid – and ammonium phosphate buffer as the mobile phase. Separations are carried out in 7 minutes.

When applied to estimation of recovery of fetal cells from maternal blood, the HPLC method indicates in a timely manner whether or not to proceed with further techniques (i.e. FISH or PCR). Several current techniques such as Ficoll gradients, fluorescence (FACS) or magnetic (MACS) activated cell sorting were thus evaluated.

Unexpectedly, our method indicates high cell losses with both single gradient and triple density Ficoll pre-enrichment methods. Less than 20% of the nucleated red blood cells can be recovered in the most optimal

setting. Lysis of erythrocytes may be an alternative technique that leaves nucleated red blood cells of all maturation stages intact.

Thus, any further improvements in technology for fetal cell recovery may be aided by monitoring yield with HPLC.

This work was supported in part by funds from the Austrian National Bank (Jubiläumsfonds) and by the Donaushpital.

### **Detection of common hepatitis C virus subtypes with a third generation enzyme immunoassay**

K. Huber<sup>1</sup>, C. Sebesta<sup>2</sup>, and K. Bauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute for Laboratory Medicine,

<sup>2</sup> Department of Internal Medicine, Donaushpital SMZ- Ost, Vienna, Austria

The causal agent of most post-transfusion non-A, non-B hepatitis infections was characterized in 1989 by molecular biological techniques as a positive-stranded, enveloped RNA virus, designated hepatitis C virus (HCV). Only since 1990 has it been possible to screen for an infection with antibody tests or direct amplification assays for the nucleic acid (i.e. RT-PCR). These nucleic acid-based tests, however, are time-consuming and rather expensive. Recently, third generation enzyme immunoassay (EIA) for hepatitis C virus infection were introduced (i.e. ABBOTT, ORTHO, ROCHE). We have evaluated the ROCHE enzyme immunoassay (ROCHE, Basel, Switzerland) with our patient population. To this end, 1090 samples were assayed by both EIA and polymerase chain reaction:

Nine hundred forty six (87%) of all samples were negative and 107 (9.8%) were positive by both tests. Thirty (2.7%) of the patients showed antibodies but no detectable virus, whereas seven (0.6%) of all patients tested were PCR positive but had not (yet) developed antibodies to the virus. Of these seven patients only one displayed normal serum transaminases.

We have performed virus-strain subtyping and quantification of viral load on the positive samples in parallel and can infer that the EIA detects all the virus subtypes found in our hospital. No correlation between subtypes, viral load and immune response could be measured with this antibody test. Our results indicate that in most circumstances (except in settings where immunocompromized patients are abundant) this EIA can replace the much more expensive PCR tests for the routine screening for HCV infection.

## The value of neutrophil CD16 expression for the detection of left-shift and acute-phase response

W. Hübl, Sylvia Andert, Gabriele Thum, Sabine Ortner, P. M. Bayer

Wilhelminenspital, Zentrallabor, Vienna, Austria

Fcy RIII (CD16) expression of neutrophil granulocytes was measured in 156 patients using fluorescence-labelled antibodies on a Coulter Epics Profile II flow cytometer. Results were related to the 400-cell manual differential; Coulter STKS and Sysmex SE9000 left-shift flagging, the absolute neutrophil count, and acute-phase protein levels. There emerged an asynchrony between neutrophil CD16 expression and microscopically defined neutrophil stage, particularly in heavily left-shifted samples, which made it impossible to enumerate immature neutrophils reliably based on CD16 expression. According to receiver operating characteristics (ROC), the absolute count of CD16neg neutrophils showed a high discriminatory power for detection of left shift with an area under curve (AUC)  $\pm$  SE of  $0.842 \pm 0.03$  and a maximum efficiency  $\pm$  SE of  $81 \pm 3\%$ , but the performance of the absolute neutrophil count was not significantly inferior ( $0.821 \pm 0.03$ ;  $76 \pm 3\%$ ). STKS and SE9000 flagging reached an efficiency of  $76 \pm 3\%$  and  $81 \pm 3\%$ , respectively. For the detection of acute-phase response, the absolute neutrophil count (AUC:  $0.836 \pm 0.04$ , maximum efficiency:  $80 \pm 4\%$ ) outperformed both quantitative neutrophil CD16 expression ( $0.760 \pm 0.05$ ;  $75 \pm 4\%$ ) and the absolute CD16neg neutrophil count ( $0.757 \pm 0.05$ ;  $71 \pm 4\%$ ), whereas the absolute band count performed similarly ( $0.853 \pm 0.04$ ;  $79 \pm 4\%$ ). In conclusion, the diagnostic value of measuring neutrophil CD16 expression was generally similar to that of less complicated analyses.

## Using precision profiles to evaluate the precision of the automated leukocyte differential

W. Hübl, L. Tlustos, P. M. Bayer

Wilhelminenspital, Zentrallabor, Vienna, Austria

The commonly used methods of assessing the precision of the automated leukocyte differential have certain shortcomings that affect the validity and comparability of results. In the present paper, we introduce a procedure based on building precision profiles from a large number of within-run imprecision experiments. The profiles are fitted to the function for the CV of proportions, which yields the number of theoretically differentiated leukocytes. Differences between fitted

curves are evaluated for statistical significance by the F-test method. As an example, we compared the precision of two haematology analysers, the Coulter STKS and the Cobas Argos 5Diff, a flow cytometric technique detecting monocytes by using fluorescence-labelled monoclonal antibodies, and the manual differential. It was possible to establish definite differences in precision between different analysers and different leukocyte classes. Our data also indicated that conventional precision studies may completely misjudge analyzer precision. Furthermore, we could demonstrate that the precision of analysers that analyse a fixed amount of blood rather than a fixed number of leukocytes is strongly influenced by the WBC count of the sample, leading to a high imprecision for leukopenic samples. We believe the proposed procedure to be a useful addition to currently used protocols as it yields clear results and creates a statistical basis of comparison between various instruments and techniques of differentiation.

## Verification of impedance-based leukocyte counts using flow cytometry with fluorescence-labelled antibodies

G. Wolfbauer, W. Hübl, P. M. Bayer

Wilhelminenspital, Zentrallabor, Vienna, Austria

Various interferences can cause as falsely increased impedance-based white blood count (WBC). Although analysers usually flag such samples, it remains difficult to assess the true WBC. The aim of this study was to overcome these difficulties by using a no-wash, absolute-counting flow-cytometric method counting leukocytes after staining with fluorescence-labelled monoclonal antibodies CD45-PE-CY5 and CD41-FITC (Immunotech, Paris, France). The WBCs of 123 samples analysed on a Coulter STKS (Coulter Corp., Hialeah, FL) – 63 with and 60 without an R-flagged WBC – were compared with the WBCs obtained with an Ortho CytoronAbsolute flow cytometer (Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, NJ, USA). Results: unflagged STKS WBCs showed a very good correlation with those of the Cytoron ( $r = 0.989$ , slope = 1.05, intercept =  $-0.17$ ) and only a small bias (mean  $\pm$ SD:  $+0.21 \pm 0.51 \times 10^9/l$ ,  $p < 0.01$ ). However, the R-flagged STKS WBCs also showed a strong correlation ( $r = 0.966$ , slope = 1.04, interc. = 0.22) and only a slightly higher bias ( $+0.67 \pm 0.91 \times 10^9/l$ ,  $p < 0.001$ ). Only eight R-flagged STKS WBCs showed a statistically significant bias and in only two cases the bias exceeded  $2.5 \times 10^9/l$ . Examination by microscope showed NRBC to be present in only 3% of R-flagged samples, while platelet clumps, giant platelets and *in vitro* coagulation were found to be the main reasons for the R-flag.

Conclusion: Flow cytometry employing fluorescence-labelled antibodies is an efficient tool to check



questionable impedance-based WBCs, however, the generally small deviations hardly justify routine verification of all R-flagged results.

### **Mutation (677 C-T) in the methylenetetrahydrofolate reductase (Mthfr) gene: a pivotal role for hyperhomocysteinaemia in haemodialysis patients**

Manuela Födinger<sup>1</sup>, Christine Mannhalter<sup>1</sup>, W. H. Hör<sup>2</sup> and Gere Sunder-Plassmann<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik,

<sup>2</sup> Universitätsklinik für Innere Medizin III, Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Universität Wien

Hyperhomocysteinaemia represents an independent risk factor for atherosclerosis and is frequent in haemodialysis patients. Elevated homocysteine (Hcy) plasma levels can result from vitamin deficiencies and from defective remethylation of Hcy to methionine owing to decreased activity of the enzyme methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Recently, a genetic defect in the MTHFR gene (677 C to T substitution) has been shown to result in reduced MTHFR activity. We tested the hypothesis that elevation of Plasma Hcy levels in haemodialysis patients is influenced by the 677 C to T mutation of the MTHFR gene and examined the relation of the genotype with total Hcy (tHcy), folate and vitamin B12 plasma levels in these patients. The presence of the MTHFR mutation was evaluated in 203 patients maintained on chronic haemodialysis treatment and in 72 healthy subjects. The allelic frequency of the 677 C to T transition in the MTHFR gene in hemodialysis patients was 34.7% *versus* 32.6% in healthy controls. The mean tHcy levels were  $36 \pm 13.4 \mu\text{mol/l}$  in homozygous (+/+) patients and  $16.0 \pm 8.7 \mu\text{mol/l}$  (+/+) controls,  $28.7 \pm 10.8 \mu\text{mol/l}$  in (-/-) haemodialysis patients *versus*  $9.6 \pm 2.6 \mu\text{mol/l}$  in (-/-) controls. There was no significant difference of folate and vitamin B12 concentrations in patients and controls with different MTHFR genotypes. Together, our data demonstrate that the extent of hyperhomocysteinaemia in haemodialysis patients is not only the result of uraemia but is also genetically determined. Laboratory screening might be useful to identify homozygous patients who are at risk for development of high homocysteine levels.

### **Toward a new reference method for the leukocyte five-part differential**

G. Wolfbauer, W. Hübl, Sylvia Andert, Gabriele Thurn, J. Streicher, Christin Hübner, A. Lapin, P. M. Bayer

Wilhelminenspital, Zentrallabor; Anatomisches Institut der Universität Wien, Allgemeine Poliklinik, Zentrallabor; Vienna, Austria

A flow cytometric method performing a five-part leukocyte differential based on three-colour staining with anti-CD45-FITC, anti-CD-14-PE/Cy5, and a cocktail of PE-labelled anti-CD2, anti-CD16, and anti-HLA-DR antibodies was evaluated. Results obtained using three different sample preparation procedures and two different flow cytometers were compared with those of a 1000-cell manual differential. We observed excellent correlations with the manual differential for all leukocyte subclasses and even higher correlations between the different flow cytometric methods. Flow cytometric basophil results were identical to the manual counts regardless of which sample preparation technique or flow cytometer was used. We, therefore, propose our flow cytometric method as the first acceptable automated reference method for basophil counting. For the other leukocyte subclasses a small influence of the sample preparation by the flow cytometer used. In establishing reference values, we observed a higher monocyte count for males (relative count:  $7.08 \pm 1.73\%$  vs.  $6.44 \pm 1.33\%$ ,  $p < 0.05$ ; absolute count:  $0.536 \pm 0.181 \times 10^9/l$  vs.  $0.456 \pm 0.139 \times 10^9/l$ ,  $p < 0.01$ ). Our data indicate that flow cytometry is a highly suitable reference method for the five-part differential; it also shows, however, that studies will have to put more emphasis on methodological issues to define a method that shows a high inter-laboratory reproducibility.

## Der RSV-Schnelltest und seine Bedeutung in der Klinischen Routine

J. Hofmann<sup>1</sup>, P. Voithl<sup>2</sup>, K. Huber<sup>1</sup>, E. M. Kittl<sup>1</sup>, B. Worofka<sup>1</sup>, K. M. Sacher<sup>2</sup>, K. Bauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Labormedizin, Donauespital im SMZO

<sup>2</sup> Kinderinterne Abteilung, Donauespital im SMZO

Das Respiratory Syncytial Virus (RSV), ein Pneumovirus aus der Gruppe der Paramyxoviridae, ist die wichtigste und häufigste Ursache von Pneumonie und Bronchiolitis bei Säuglingen und Kleinkindern. Der epidemisch in den Winter- und Frühlingsmonaten auftretende Virusbefall veranlaßte uns, im kritischen Zeitraum einen RSV-Schnelltest im Zentrallabor zu etablieren. Wir setzten den RSV-Schnelltest der Fa. Abbott ein, der als EIA den Nachweis des Antigens im Sekret und/oder der Spülflüssigkeit des Nasopharynx auf der Basis einer positiv/negativ-Entscheidung erlaubt. Im Zeitraum 1994 bis 1996 wurden 702 Tests durchgeführt, davon waren 236 positiv. Im Winter 94/95 gab es einen Häufigkeitssgipfel im Jänner, während in der Saison 95/96 zwei Epidemiewellen im Jänner und im März aufgetreten sind. Der RSV-Test ist ein wichtiges und schnelles Entscheidungskriterium für die Unterbringung und eventuelle Isolation von hospitalisierten Kindern. Darüberhinaus dient der Test zur Sicherung der Indikationsstellung für die Ribavirin-Therapie bei Hochrisikopatienten.

## The use of flow cytometry to guide peripheral blood stem cell collection

E. M. Kittl<sup>1</sup>, K. Huber<sup>1</sup>, J. Hofmann<sup>1</sup>, B. Worofka<sup>1</sup>, P. Kier<sup>2</sup>, R. Ruckser<sup>2</sup>, A. Hauser<sup>2</sup>, S. Selleny<sup>2</sup>, E. Kabrna<sup>3</sup>, K. Geissler<sup>3</sup>, W. Hinterberger<sup>2</sup>, K. Bauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Labormedizin, Donauespital, Wien

<sup>2</sup> 2. Medizinische Abteilung und Ludwig Boltzmann-Institut für Stammzelltransplantation, Donauespital, Wien

<sup>3</sup> Abteilung für Innere Medizin I, AKH, Wien

Collection of autologous peripheral blood stem cells (APBSC) mobilized by chemotherapy and growth factors has become frequently used. Especially, the immunophenotyping of mobilized haematopoietic progenitor cells (HPC) has been proven to be useful in optimizing APBSC-transplantation procedures. Flow cytometric quantification of mobilized CD34+ cells in the circulation is paramount for the optimal timing of leukapheresis. Rapid and reliable evaluation of the number of CD34+ cells harvested in leukapheresis samples is necessary to ensure collection of sufficient HPC. We use a sensitive and specific multiparameter flow cytometric assay for the enumeration of CD34+ progenitors. Briefly, HPC must fulfill following criteria: CD34+ (FITC clone 8G12), lineage-cocktail neg(PE); CD45+ low level (PerCP), low side scatter, within blast/lymphocyte gate in forward scatter *versus* side scatter. We have evaluated 75 leukapheresis samples up to now (Correlation of the absolute number of CD34+ cells in peripheral blood to their absolute counts in leukapheresis products:  $r = 0.86$ ,  $p < 0.0001$ ). In our experience, flow cytometric determination of CD34+ cells is critical for decision making during leukapheresis. Contrary to flow cytometry, the CFU-GM-assay (colony forming unit granulocyte, macrophage), commonly used as an indirect predictor for the quality of the graft, has the obvious disadvantage of providing information with a delay of at least 14 days.

We show a clear-cut correlation between the absolute numbers of CD34+ cells and CFU-GM in leukapheresis samples ( $n = 56$ ,  $r = 0.66$ ,  $p < 0.0001$ ).

Thus, quantification of HPC in leukapheresis samples by means of flow cytometry enables real-time estimation of the haematopoietic potency of the graft. All patients ( $n = 13$ ), transplanted with autografts that were quality controlled in our laboratory (CD34+ cells/kg: median:  $3.05 \times 10^6$ , range:  $2.26 - 7.94 \times 10^6$ ) had an established take at day 9 (= median; range: 8–13, neutrophil count  $> 0.5 \text{ G/l}$ ).

Our data suggest that estimation of  $> 2 \times 10^6$  CD34+ cells per kg body weight in the graft predicts quick and safe haematopoietic recovery after APBSC transplantation (assuming immediate deep-freezing of the cells).

## Erhöhte Serumspiegel der löslichen Adhäsionsmoleküle CD44(v5) und CD44(v6) bei rheumatoider Arthritis

E. Kittl<sup>1</sup>, G. Haberhauer<sup>2</sup>, R. Ruckser<sup>2</sup>, W. Hinterberger<sup>2</sup>, K. Bauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Labormedizin, Donauespital, Wien

<sup>2</sup> 2. Medizinische Abteilung, Donauespital, Wien

CD44 ist ein multifunktionelles Transmembrannglykoprotein, welches als Adhäsionsmolekül an zahlreichen Zell-Zell und Zell-Matrix Interaktionen beteiligt ist. Die CD44 Gruppe umfaßt neben dem Standardmolekül variante Formen, welche sich durch die Insertion zusätzlicher Proteinsequenzen im extrazellulären Anteil des Moleküls unterscheiden. Jüngste Studien haben sowohl die große Bedeutung von CD44 Varianten (CD44v) für immunologische Zellfunktionen als auch seine zentrale Rolle innerhalb der Metastasierungskaskade (CD44v4-7) und Tumورprogression aufgezeigt.

Die Beziehung zwischen entzündlich rheumatischen Erkrankungen und Malignomen ist von erheblichem Interesse, da epidemiologische Studien ein erhöhtes Malignom-Risiko für Patienten mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, vor allem für lymphatische Systemerkrankungen, belegen. Entzündlich systemischen Erkrankungen und malignen Tumoren könnten gemeinsame ätiologische und pathophysiologische Mechanismen zugrunde liegen.

Wir untersuchten die Serumspiegel von CD44(v5) und CD44(v6) (ELISA Tests, Sandwich-Assay, Bender MedSystems) bei 87 Patienten mit entzündlich rheumatischen Erkrankungen.

Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit IgM-Rheumafaktor positiver rheumatoider Arthritis (RA+) und anderen Erkrankungen des entzündlichen rheumatischen Formenkreises ( $p < 0,001$ ).

Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis korrelierten die Serumspiegel der CD44 Varianten (v5) und (v6) mit höheren Steinbrocker Stadien sowie CRP- und Rheumafaktor Werten.

Zusammenfassend scheinen die CD44 Isoformen (v5) und (v6) bei Patienten mit rheumatoider Arthritis ein Serummarker für schwere, progressive Krankheitsverläufe zu sein. In weiteren Studien soll ihre Wertigkeit als möglicher unabhängiger Prognosefaktor und als Verlaufsparemeter zum Therapiemonitoring beurteilt werden.

## Disturbed latex immunoassays for C-reactive protein and ferritin in a renal transplant patient owing to polyclonal IgM hypergammaglobulinaemia

A. Hamwi<sup>1</sup>, Manuela Födinger<sup>1</sup>, Gere Sunder-Plassmann<sup>2</sup>, W. H. Hör<sup>2</sup>, T. C. Vukovich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik

<sup>2</sup> Klinik für Innere Medizin III, Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, AKH Wien

**Background.** C-reactive protein (CRP) and ferritin serum levels represent routine laboratory parameters in the monitoring of renal failure patients. Analysis of CRP, ferritin and other serum proteins can be performed using latex enhanced or non-latex enhanced immunoassays. We report on a renal transplant patient with polyclonal IgM hypergammaglobulinaemia having markedly elevated serum CRP and ferritin levels (as detected by latex enhanced immunoassays) in the absence of clinical signs of inflammation, infection or malignancy.

**Methods.** CRP and ferritin serum levels were determined with various immunoassays with and without latex enhancement. To characterize the causative agent for the elevated CRP and ferritin values, the patient's and a control serum were fractionated by gel filtration on a Sephacryl S-300 column. Serum fractions were subjected to further analysis for reactivity in CRP and ferritin assays. In addition, patient's serum was investigated for reactivity with various other latex based immunoassays (rheumatoid factor (RF), anti-streptolysin (ASLO), anti-streptococcal DNase B (ADNase B)).

**Results.** Using latex-enhanced CRP and ferritin immunoassays, markedly elevated serum levels were obtained (CRP: 726 mg/l determined by turbidimetry, 398 mg/l determined by nephelometry; ferritin: 20000 µg/l determined by turbidimetry). In contrast, assays without latex enhancement revealed levels within the normal range for both serum proteins (CRP: <5 mg/l, ferritin: 52 µg/l). Furthermore, the latex-enhanced ASLO and ADNase B assays showed elevated levels, whereas RF result obtained by a latex based assay was within the normal range. The analysis of the patient's serum by gel filtration revealed an interference of the patient's IgM with latex particles used in the CRP and ferritin assays.

**Conclusion.** Our study demonstrates that not only monoclonal but even polyclonal IgM hypergammaglobulinaemia can disturb a large array of latex-enhanced immunoassays used for routine diagnostic procedures. We therefore recommend to reanalyze the respective plasma proteins by latex-free assays in patients with hypergammaglobulinaemia showing no clinical signs of inflammation, infection or malignancy.

## Lues-Serologie: Erfahrungen mit zwei verschiedenen ELISA-Testsystemen

W. Sallinger, G. Ziervogel, B. Sterz, U. Köller

Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik,  
LKH Klagenfurt

Im Rahmen der Übernahme der Syphilisdiagnostik durch unser Institut standen wir vor der Fragestellung der zu etablierenden Untersuchungsmethode. Die verbreitetste Methode in Österreich ist nach wie vor noch der TPHA, während andere europäische Staaten schon großflächig den bedeutend weniger personalintensiven ELISA anwenden. Größere Vergleichsstudien liegen in erster Linie von transfusionsmedizinischen Zentren in den Niederlanden vor. Weitere wichtige Vorteile des ELISA's sind die bessere Standardisierbarkeit und Quantifizierbarkeit.

Anfang 1995 waren in Österreich zwei ELISA-Testsysteme verfügbar – ENZYGNOST-Syphilis der Fa. Behring, sowie CAPTIA-Syphilis von CENTOCOR. Beide Kits wurden auf dem Behring-Elisa-Vollautomaten BEPIII etabliert und in Routineläufen ausgetestet. Im Rahmen dieser Untersuchungen traten folgende Probleme auf: Der ganz neu am Markt befindliche Enzygnost-Syphilis IgG + IgM-Test der Fa. Behring hatte anfänglich das Problem, daß mehr als die Hälfte der ausgetesteten Patienten im Bereich von mehr als 20% über dem cut-off-Wert lagen.

Bei Wiederholungstestungen am nächsten Tag waren etliche dieser vorher positiven Proben dann negativ. Nach Rücksprache mit der Fa. Behring wurde der Test kurzfristig vom Markt genommen und entsprechende Korrekturen vorgenommen. Die Zahl fraglich positiver Fälle reduzierte sich mit dem neuen Test auf ca. 3%, die bestätigt werden konnten. Derartige Probleme traten mit dem Centocor CAPTIA-System nicht auf, jedoch können bei diesem Test in der Abarbeitung Schwierigkeiten auftreten, sofern kein Automat zum Pipettieren der Primärröhrchen vorhanden ist. Die Ergebnisse werden im Detail präsentiert.

## Toxoplasmose: IFT versus Abbott-MEIA am Beispiel einer frischen Infektion

B. Sterz, W. Sallinger, G. Ziervogel, U. Köller

Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik,  
LKH Klagenfurt

Das österreichische Screeningmodell der obligatorischen Toxoplasmoseüberwachung Schwangerer hat weltweit Vorbildwirkung. Die entsprechende Untersuchung ist seit 1975 im Mutter-Kind-Paß verpflichtend eingeführt. Als Referenzmethoden gelten nach wie vor IFT und SFT. Im niedergelassenen Bereich und auch in Laboreinrichtungen der Krankenhäusern kommt aber in höherem Ausmaß der ELISA zum Einsatz. Relevante Daten über die Vergleichbarkeit der Methoden sind nur in relativ geringen Mengen verfügbar und publiziert. Wir haben Toxoplasmose-Antikörperbestimmungen IgG (IMX) bzw. IgM (Abbott Axsym) mit dem IFT verglichen.

Zusammenfassend kann folgendes gesagt werden: Die beiden Testsysteme ergaben generell gut vergleichbare Ergebnisse. Allerdings zeigte der IFT bei einer Schwangeren einen Titeranstieg um nur 2 Stufen, was vom Referenzlabor als nicht richtungweisend für eine frische Infektion interpretiert wurde. Der 10fache Anstieg im ELISA hingegen bewies eindeutig die beim Neugeborenen schlußendlich nachgewiesene connatale Infektion.

Ein Problem ergibt sich auch dahingehend, daß der Mutter-Kind-Paß nur auf den IFT Bezug nimmt und daher der Befund als Titerstufe angegeben wird. Da besser standardisierbaren und auch quantifizierbaren Verfahren im modernen Routinelabor der Vorzug zu geben ist, wäre es sinnvoll, im Mutter-Kind-Paß auch die Angabe in U/ml zu verankern.

Die entsprechende Auswahl der zugelassenen Testsysteme könnte ähnlich wie beim HIV-Screeningtest erfolgen und die Auswahl der für die Durchführung verantwortlichen Labors müßte an die erfolgreiche Teilnahme bei Rundversuchen gebunden sein. Dieser Weg erscheint in jedem Fall sinnvoller als die teilweise gepflogene Umrechnung von Units in Titerstufen.

## NMP-22: Wertigkeit als nicht invasiver Tumormarker beim Blasencarcinom

G. Ziervogel<sup>1</sup>, K. Jeschke<sup>2</sup>, U. Köller<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für medizinische u. chemische Labordiagnostik

<sup>2</sup> Urologische Abteilung LKH Klagenfurt

Die Fragestellung unserer Untersuchung war der mögliche Einsatz des neu am Markt erhältlichen Markers NMP-22 (= Nuclear-Matrix-Protein) für die Diagnostik des Blasencarcinoms. Dieser Tumormarker

hätte den Vorteil, dem Patienten invasive Methoden, wie die Blasenpunktion, zu ersparen. In einzelnen Verlaufsstudien wurde dieser Marker als Parameter mit signifikantem positivem bzw. negativem Voraussagewert beschrieben. Wir bestimmten bei einem kleinen Kollektiv Patienten die NMP 22-Werte im Harn und verglichen sie mit den Ergebnissen der Harnzytologie nach Punktion, sowie den histologischen Befunden.

17 Patienten mit der Verdachtsdiagnose „Blasenkarzinom“ wurden untersucht. Von diesen 17 Patienten lagen 8 über dem angegebenen „cut off“ Wert. Vergleicht man diese Ergebnisse mit zytologischen Daten bzw. den histologischen Diagnosen, so konnte keinerlei Korrelation festgestellt werden. Im Detail waren von den 9 NMP-22 negativen Patienten bei 7 histologisch Tumorzellen nachweisbar, zytologisch waren 5 negativ, 3 fraglich positiv. Von den 8 NMP-22 positiven Patienten wurden 5 histologisch bestätigt, 2 waren negativ. Die Ergebnisse mit den entsprechenden Gradiings werden im Detail präsentiert.

Dieser neu am Markt befindliche Marker hatte bei unserem Patientenkollektiv keinerlei positiven bzw. negativen Voraussagewert in Bezug auf Tumorzellen und wurde daher nicht in unser Parameterspektrum aufgenommen.

## Verwendung von Merozell-Tupfern ist Ursache von negativen $\beta$ -2-Transferrin-Nachweisen

B. Sterz, W. Klinger, U. Köller

Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik, LKH Klagenfurt

Da  $\beta$ -2-Transferrin (Asialotransferrin) praktisch nur im Liquor cerebrospinalis, nicht aber in anderen Körperflüssigkeiten vorkommt, kann der Nachweis in Sekreten der Nase und des Ohrs für die Diagnose einer Rhino- bzw. Otoliquorrhoe verwendet werden. Aufgrund negativer  $\beta$ -2-Transferrinnachweise bei operativ nachgewiesenen Duraverletzungen gingen wir der Frage nach eventuellen Fehlerquellen nach.

Als erster Schritt wurde die etablierte Methode (Elektrophor. Auftrennung) nach Arrer et al. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1987) mittels reinen Liquors und Verdünnungsstufen überprüft. Nachdem bei diesen Untersuchungen  $\beta$ -2-Transferrin immer eindeutig nachweisbar war, stellte sich als nächster Punkt die Frage nach möglichen präanalytischen Fehlerquellen.

Bei der Untersuchung verschiedener Tupfermaterialien, die in Liquor eingelegt wurden, stellten wir fest, daß bei der Verwendung der für Tamponaden gängigen Merozell-Schwämmchen der  $\beta$ -2-Transferrin-Nachweis nicht mehr gelang. Beim Einlegen von Merozell-Schwämmchen in Nativ-Liquor zeigte sich, daß mit zunehmender Einwirkdauer des Materials die

Nachweisbarkeit des  $\beta$ -2-Transferrins abnahm bzw. verschwand. Dabei spielt die Zeitspanne zwischen Abzentrifugieren der Schwämmchen und Durchführung der elektrophoretischen Trennung eine wichtige Rolle. Der  $\beta$ -2-Transferrin-Nachweis gelang nur bei sofortiger Durchführung der Elektrophorese und wurde negativ, sobald das abzentrifugierte Material länger als 1 Stunde stand. Dieses Phänomen trat nur bei der Verwendung von Polyvinylacetat, Hauptbestandteil des Merozell-Tupfers, und nicht bei Verwendung reiner Baumwolle auf. Die Frage, ob es sich hierbei um Zerstörung oder Abbildung des  $\beta$ -2-Transferrins handelt, konnte noch nicht geklärt werden. Allerdings sollte bei der Materialwahl zum Nachweis von  $\beta$ -2-Transferrin in einer Probe auf die Verwendung von Merozell-Tupfer verzichtet werden.

## Identifizierung der Antigenkomponenten aus zirkulierenden Immunkomplexen (CIC) mittels horizontaler 1D Elektrophorese

V. Banczi<sup>1</sup>, C. Kohlross<sup>1</sup>, S. Sixt<sup>2</sup> und K. R. Herkner<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> LBI für Pädiatrische Endokrinologie und Immunologie, Wien

<sup>2</sup> Hautlabor, Univ.Klinik f. Kinder- u. Jugendheilkunde, Wien

**Einleitung:** Zirkulierende Immunkomplexe (CIC) sind primär mit Autoimmunphänomenen assoziiert. Isolierte CIC ermöglichen einen schnellen Zugang zur Antigenidentifizierung unter Verwendung eindimensionaler SDS-Page in Kombination mit der IIF.

**Material und Methoden:** Patienten: n = 150, alle mit pathologisch erhöhten CIC Werten (88 Erwachsene mit verschiedenen Lebererkrankungen, 52 Kinder mit JRA und 10 Patienten mit anderen Erkrankungen). Alle Patienten wurden mittels 2 Methoden hinsichtlich ihrer CIC Konzentrationen gescreent:

1. C3d-Elisa,
2. CIC-Fällung mit modifizierter PEG-Methode und nephelometrischer Quantifizierung.

Zusätzlich wurden Autoantikörper (AAK) mittels IIF auf HEp-2 und KSL untersucht. Elektrophorese: horizontale 1D SDS-PAGE (12.5%, homogen), unter reduzierenden und, nichtreduzierenden Bedingungen. Immunoblotting mit dem AAK aus dem (Fällungs-) Überstand, bzw. mit MoAK gegen Myosin und Aktin.

**Ergebnisse:** 60% der präparierten CIC zeigten in der IIF ein distinktes Muster gegen das Zytoskelett oder andere Strukturproteine. Der CIC-freie Überstand nach PEG-Fällung ergab in der IIF idente AAK-Muster gegen das Zytoskelett, jedoch mit höheren Titern, als in den isolierten CIC beobachtet. Verglichen mit den Mustern in der 1D EP, zeigte sich daß die freien AAK des Überstandes gegen die selben Proteine gerichtet waren, die in gebundener Form in den CIC-Präzipitaten gefunden wurden. Der Immu-

noblot mit dem Überstand zeigte, daß diese im CIC Pellet Proteine der Größen 260 kD, 230 kD und 220 kD erkannten. In Kombination mit den Ergebnissen aus der IIF wurde geschlossen, daß die Antigene Proteine des Zytoskelettes sind. Immunoblotting unter Verwendung von MoAK bestätigte die Antigene Myosin und Aktin.

### Whole blood assay SimpliRed® versus plasma immunoassay Nycocard™ for the diagnosis of clinically suspected deep vein thrombosis

R. Hirschwehr<sup>1</sup>, W. Mayer<sup>1</sup>, G. Hippmann<sup>1</sup>, H. Odpadlik<sup>2</sup>, P. M. Bayer<sup>2</sup>, H. Partsch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dermatologische Abteilung,

<sup>2</sup> Zentrallabor, Wilhelminenspital, Vienna, Austria.

Deep vein thrombosis (DVT) is a common medical condition which, if untreated, carries a significant risk of morbidity and mortality. The level of D-dimer (DD) in blood has been found helpful as a diagnostic marker in patients with suspected DVT. In this study we analysed the diagnostic utility of a new whole blood DD assay – SimpliRED® against the rapid plasma immunoassay Nycocard™ in 108 consecutive patients referred to our department because of clinically suspected DVT. The SimpliRED® assay is based on the principle of haemagglutination, using an unique bispecific reagent prepared from Fab fragments of two monoclonal antibodies (mAb). This bispecific antibody was formed by the conjugation of Fab fragments of mAb (3B6/22), directed against an epitope of the  $\gamma$ -chain of DD and mAb (RAT-IC3/86) raised against glycophorin A, a red blood cell membrane antigen. DD levels above 200 ng/ml result in an agglutination of red blood cells which can be seen with naked eye. This assay can be performed at bedside within 2 minutes. The diagnosis was confirmed by Duplex sonography and/or phlebography. Thirty-three patients had DVT, in 75 patients the diagnosis could be ruled out. The SimpliRED® test showed a sensitivity of 100% and a specificity of 75% (negative predictive value 100%, positive predictive value 63%). By contrast, the plasma immunoassay Nycocard™ displayed a sensitivity of 85% and a specificity of 65% (negative predictive value 91%, positive predictive value 52%). The results demonstrate that the SimpliRED® assay is a valuable tool for excluding clinically suspected DVT in situations where lab facilities are not available.

### Antikörper gegen oxydiertes LDL (oLab): ein Parameter für Rehabilitation nach oxidativem Streß?

C. Temml<sup>1</sup>, F. Tatzber<sup>2</sup>, W. Wonisch<sup>2</sup>, M. M. Baku<sup>3</sup>, J. Reiger<sup>4</sup>, W. Strohmaier<sup>5</sup>, M. Schumacher<sup>6</sup>, B. Eber<sup>6</sup>, R. Sommer<sup>7</sup>, A. Lapin<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MA15, Ref. f. Gesundheitsvorsorge Wien;

<sup>2</sup> Inst. f. Biochem. d. Univ. Graz;

<sup>3</sup> Allg. Poliklinik Wien;

<sup>4</sup> LandesKH Klagenfurt;

<sup>5</sup> L. Boltzmann Inst. f. klin. u. exp. Traumatol. Wien;

<sup>6</sup> LandesKH Graz;

<sup>7</sup> Landes-Kinderklinik, Linz

Lipidoxidation wird bei vielen Pathomechanismen von zellulären Schädigungen diskutiert, etwa bei biologischer Zellalterung, Atherosklerose, Sepsis, Ischämie oder Mangelernährung. In mehreren Studien wurden immunologische Prozesse im Zusammenhang mit oxidativ veränderten Lipoproteinen bzw. Zellmembranen diskutiert und durch Nachweis von Antikörpern gegen oxidiertes LDL (oLab) im Blut belegt. In unseren Studien untersuchten wir die mögliche diagnostische Bedeutung von oLab in Hinblick auf die Verlaufsprognose von diesbezüglichen Erkrankungen. Zu diesem Zwecke wurden untersucht:

- Verteilung der oLab in der arbeitenden Bevölkerung (N = 756)
- sowie in einem geriatrischen Kollektiv (N = 76).
- oLab-Spiegel in pädiatrischen Proben
- Zeitlicher oLab-Verlauf im Zuge von Rehabilitation nach Herzinfarkt, Sepsis sowie bei post-operativen Zuständen.
- oLab-Spiegel bei Hunden in einem Hungerversuch, sowie im Zuge der Normalisierung ihrer Ernährungssituation.

Wir fanden bei oLab eine indirekte Alterskorrelation mit einer bimodalen Verteilung, weiters deutlich niedrigere oLab-Werte im Zuge akuter Situationen der o. a. pathologischen Zuständen bzw. Angleichung an das jeweilige Kontrollkollektiv in Folge klinischer Besserung. Die Analyse unseres Datenmaterials führt uns zur Ansicht, daß die Charakteristik des zeitlichen Verlaufs von oLab die Effizienz des biologischen Rehabilitationsprozesses nach einer oxidativen Lipidstörung widerspiegelt.

## „Ocean-to-Ocean“: Ein transkontinentaler klinisch-chemischer Rundversuch von mehr als 550 Laboratorien des Eur-Asiens

H. Baadenhuijsen<sup>1</sup>, M. Budina<sup>2</sup>; A. T. Endle<sup>3</sup>, B. Friedecky<sup>4</sup>, E. Kaiser<sup>5</sup>, J. Kratochvila<sup>2</sup>, A. Lapin<sup>6</sup>, E. Legenstein<sup>5</sup>, A. Moshkin<sup>7</sup>, P. Schneiderka<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Sint-Radboudziekhuis, Nijmegen, Niederlande;

<sup>2</sup> Nemocnice Nymburk, Czechien;

<sup>3</sup> Königin Elisabeth Hospital, Wien, Österreich;

<sup>4</sup> Inst. klin. Chem. & diagn., Univ. Karlova, Hradec Kralove, Czechien;

<sup>5</sup> Inst. f. Klin. Chemie, Univ. Wien, Wien, Österreich;

<sup>6</sup> Allgemeine Poliklinik, Wien, Österreich;

<sup>7</sup> Inst. Neurochirurgii, Moskva, Rußland;

<sup>8</sup> Dept. klin. biochem., Univ. Karlova, Praha, Czechien

Die Harmonisierung von diagnostischen Laboratorien gehört zu den wichtigsten Zielen der externen Qualitätssicherung (EQA). Aus diesem Grunde wurde in mehreren geo-politisch sehr unterschiedlichen Ländern ein gemeinsamer klin.-chemischer Rundversuch initiiert. Die insgesamt 553 teilnehmenden Laboratorien erstreckten sich vom Pazifik bis zu Nordsee und waren an folgende EQA-Organisationen assoziiert: ÖQUASTA (Österreich)[255 Labors], SEKK (Tschechien)[199], SKZL(Niederlande)[6] sowie BKKSystem(GUS und Litauen)[93]. Es wurden insgesamt 30 Analyte getestet. Dazu wurde nach Austestung durch das Referenzlabor der SEKK „Kontrollen L & LP“ (Behring) ausgewählt. Die Auswertung erfolgte nach modifiziertem Algorithmus der DGKC und ergab folgendes:

- gute Übereinstimmung von einzelnen EQA-Institutionen bezüglich rezent postulierten Variationskriterien („Eurogoal“)
- spezifische Problematik (z. T. durch veraltete Methodik, mäßige Qualität von Verbrauchsmaterialien und des Wassers)
- allgemeine Problematik (Kommutabilität des Kontrollmaterials, Vorteil bei standardisierten Enzymen, teilweise Abweichungen im nationalen Konsensus).

Die problemlose Kommutabilität der Organisationen, sowie die technische Machbarkeit eines Rundversuches in diesem Ausmaß lassen das „Ocean-to-Ocean“ Projekt zur dauerhaften Einrichtung werden. Gegenwärtig wird an Erweiterungen in Richtung Spezialdiagnostik (TDM, Tumormarker ...) gearbeitet.

## Erste Erfahrungen mit dem neuen Enzymun® Boehringer Mannheim HIV-1 Serotypisierungsassay

Karen Pierer<sup>1</sup>, H. H. Kessler<sup>1</sup>, E. Faatz<sup>2</sup>, M. Kronawetter<sup>3</sup>, Brigitte I. Santner<sup>1</sup> und E. Marth<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hygiene-Institut der KF-Universität Graz

<sup>2</sup> Boehringer Mannheim, Werk Penzberg

<sup>3</sup> 4. Medizinische Abteilung des LKH Graz

Für das HIV-1 Virus wurden bisher 9 Serotypen (A bis I) beschrieben. Da derzeit keine Daten zur epidemiologischen Verteilung in Österreich verfügbar sind, wurde die HIV-1 Serotypisierung an einem gut dokumentierten Patientenkollektiv der 4. Medizinischen Abteilung des LKH Graz durchgeführt.

Nativblut wurde von 60 HIV-1 Infizierten und einem HIV-2 Infizierten gewonnen. Die Sera wurden unmittelbar nach der Abnahme aliquotiert und bis zur Bestimmung bei -20 °C aufbewahrt. Die Serotypisierung erfolgte mit einem EIA nach dem bekannten Prinzip des Enzymun® Testsystems der Fa. Boehringer Mannheim. Die Tests wurden auf dem Laborautomaten ES 300 entsprechend der Anleitung des Herstellers durchgeführt. Mit diesem EIA lassen sich die HIV-1 Serotypen A, B, C, D und E unterscheiden.

Alle 60 Proben der HIV-1 Infizierten konnten ausgewertet werden. Die HIV-2 Probe zeigte keine Reaktion. Der am häufigsten gefundene HIV-1 Serotyp war Typ B (63%). Es folgten Serotyp C mit 23% und Serotyp A mit 14%. Die HIV-1 Serotypen D und E konnten im untersuchten Patientenkollektiv nicht gefunden werden. Mischinfektionen fanden sich bei 5 Proben (A+B, A+C und B+C). Sowohl Testwiederholungen als auch die Testung weiterer Proben desselben Patienten ergaben in allen Fällen übereinstimmende Ergebnisse.

Aus den bisher vorliegenden Ergebnissen weist in unserem Kollektiv der Serotyp B die höchste Prävalenz auf. Ob die Zugehörigkeit zu einem der Serotypen für das Ansprechen auf ein bestimmtes antiretrovirales Therapieschema von Bedeutung ist, wird derzeit in weiterführenden Studien beobachtet.

## CH-50 activity in patients with hepatitis C

Sylvia E. Andert<sup>1</sup>, M. Wasilewski<sup>2</sup>, M. Odpadlik<sup>1</sup>, W. Hübl<sup>1</sup>, H. Pointner<sup>2</sup>, P. M. Bayer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zentrallabor,

<sup>2</sup> 4. Medizinische Abteilung, Wilhelminenspital, Wien

The complement system plays an important role in the immunological defense mechanism of the human body. In a retrospective study 63 patients suffering

from hepatitis C confirmed by PCR were investigated. Serum complement activity was determined comparing a new automated Liposome Lysis Immunoassay (Wako) on a Hitachi 917 with an automated haemolytic CH-50 test (Behring) on a Behring Coagulation Timer. CH-50 activity results of the liposome lysis test showed a good correlation with the haemolytic CH-50 test ( $r = 0.936$ ). Thirty-one patients suffering from hepatitis C showed a reduced CH-50 activity; mean CH-50 activity was  $8.1 \text{ kU/l} \pm 11.45$  (mean  $\pm$  SD) for the liposome lysis test (reference range: 23–46 kU/l) and  $55.11\% \pm 16.42$  of the normal activity (mean  $\pm$  SD) for the haemolytic CH-50 test (reference range: 70–140%). In 30 patients cryoglobulins were determined. Thirteen patients were found positive, 17 patients were found to be negative. 77% of the patients with cryoglobulinaemia had a reduced CH-50 activity, whereas CH-50 activity was decreased in only 47% of the patients without cryoglobulins. Our results show that this new liposome lysis assay can be useful for routine measurement of total complement activity.

### Reference values for various antioxidant parameters in a normal working population

D. Smart<sup>1</sup>, C. McCusker<sup>1</sup>, J. V. Lamont<sup>1</sup>, S. P. FitzGerald<sup>1</sup>, C. Temml<sup>2</sup> & A. Lapin<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Randox Laboratories Ltd., Crumlin, N. Ireland, UK

<sup>2</sup> Municipal Department of Preventative Care (MA15), Vienna, Austria

<sup>3</sup> Allgemeine Poliklinik der Stadt Wien, Vienna, Austria

Oxidative damage has been implicated in the aetiology or pathogenesis of a large number of diseases and tissue injury. The antioxidant defenses interact to form an integrated system, therefore measurement of single component may not provide reliable information on the functioning of the entire system. The Randox Laboratories Total Antioxidant Status (TAS) kit is multiparametric assay for evaluating the overall performance of the antioxidant system. Blood, serum and plasma samples from 158 individuals in the Viennese working population were assayed for TAS, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), malondialdehyde (MDA), and a range of other parameters both to establish a reference range for these parameters, and to investigate their correlation with each other. Mean values for TAS, SOD, GPx, GR and MDA were  $1536 \mu\text{mol/l}$ ,  $1351.7 \text{ U/g Hb}$ ,  $50.51 \text{ U/g Hb}$ ,  $54.6 \text{ U/l}$  and  $1052.2 \text{ nmol/l}$ , respectively. Small differences in the values for TAS, superoxide dismutase and glutathione reductase were noted between males and females. There was no significant sex difference in the values of GPx, or of MDA, a marker for oxidative damage. Correlation of TAS with a number of different analyses

suggests that TAS is a complex function derived from several different parameters. Abnormal TAS values may indicate possible problems with the antioxidant system not readily apparent from consideration of a single antioxidant parameter and it may be possible to use TAS to define new components of the system.

### Interrelationships between antioxidant status and some clinical chemistry parameters, and an indicator of oxidative damage: a neural network analysis

D. Smart<sup>1</sup>, C. A. McCusker<sup>1</sup>, J. V. Lamont<sup>1</sup>, S. P. FitzGerald<sup>1</sup>, C. Temml<sup>2</sup>, A. Lapin<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Randox Laboratories Ltd., Crumlin, Co. Antrim, N. Ireland, UK

<sup>2</sup> Municipal Department of Preventative Care (MA15), A-1010 Vienna, Austria

<sup>3</sup> Allgemeine Poliklinik der Stadt Wien, A-1090 Vienna, Austria

The antioxidant defences of the body act in concert to form an integrated defense mechanism. Monitoring of a single component of the antioxidant system may not give a reliable indication of the overall status of the system. The Total Antioxidant Status (TAS) assay, introduced by Randox Laboratories Ltd., is intended to be used to monitor the overall functioning of the antioxidant defense system. A study of TAS and other parameters in individuals from the Viennese working population showed only small linear correlations between a number of different clinical analyses and TAS. It was, therefore, decided to use a non-linear pattern recognition technique, neural network analysis, to try and discern trends in the data. Two networks were produced, one correlating a number of factors with TAS, and the other correlating the same factors with MDA, an indicator of oxidative damage. The networks predicted significant age variations in the effects of different parameters on the formation of MDA, which were not seen with TAS. Significant variations in the predicted output of MDA were caused by varying TAS, glutathione reductase, creatinine, AST, ALT, gammaGT, HDL-cholesterol, bilirubin, albumin, iron, transferrin, uric acid, ALP and glucose. Alterations in predicted TAS were caused by MDA, ALP, glucose, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, bilirubin, albumin, transferrin, uric acid, AST, ALT and gammaGT. The results suggest that TAS indeed functions as a multiparametric assay for antioxidant activity, and that a number of components appear to interact, in a non-linear fashion, to produce the TAS value.



## **ANA-Suchtest auf HEp-2 Zellen unterschiedlicher Hersteller und auf einer kommerziell erhältlichen Ro/SS-A 60 kDa Antigen transfizierten HEp-2 Zelle**

W. Klotz, M. Herold

Klinik für Innere Medizin, Universität Innsbruck

48 ausgewählte, antinukleäre Antikörper (ANA) positive (überwiegend gesprenkeltes Muster) und 21 ANA negative humane Serumproben wurden mit HEp-2 Zellen (humane Epithelzellen) unterschiedlicher Hersteller (Inova Diagnostics, San Diego, USA; Kallestad, Chaska, USA; Immuno Concepts, Sacramento, USA) und mit Ro/SS-A 60 kDa Antigen-cDNA transfizierten HEp-2 Zellen (HEp-2000 der Firma Immuno Concepts, Sacramento, USA; Keech et al. 1994) mit der Verdünnung 1:40 untersucht.

Die ANA-negativen Proben wurden auf den Zellen aller Hersteller als negativ beurteilt. Die ANA-positiven Proben zeigten auf den unterschiedlichen HEp-2 Präparaten ein ähnliches Muster in vergleichbarer Intensität. Isoliert Ro/SS-A positive Proben mit niedrigem Antikörpertiter waren auf der HEp-2000 Zelle deutlich zu erkennen und zeigten bei den Präparaten zweier Firmen ein schwach positives gesprenkeltes Muster. Bei den Präparaten einer Firma waren einige dieser Proben negativ.

Die Antigen transfizierte HEp-2000 Zelle ergibt eine höhere Spezifität im Auffinden von Ro/SS-A Antikörpern und stellt dadurch eine diagnostische Ergänzung in der Typisierung von Autoantikörpern dar. Im ANA-Suchtest werden Unterschiede in der Sensitivität eher durch die unterschiedlichen Präparationen der HEp-2 Zellen erreicht als durch die Verwendung einer transfizierten Zelle.

### **Literatur:**

Keech CL, Mc Cluskey J, Gordon TP. Transfection and overexpression of the human 60-kDa Ro/SS-a autoantigen in HEp-2 cells. Clin Immunol Immunopathol 1994;73:46-151.

## **Determination of lipoprotein(a) by a new latex-enhanced assay on Hitachi 911 and BNA 100 analyser**

M. R. Hubmann<sup>1</sup>, U. Stekler<sup>1</sup>, W. Moll<sup>1</sup>  
and E. Molinari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medizinisches Zentrallaboratorium, Feldkirch, Austria

<sup>2</sup> Immuno AG, Wien, Austria

Determination of serum lipoprotein(a) (Lp(a)) has reached importance as an independent risk factor of

atherosclerosis. Despite different approved immunological methods, the use of latex-enhanced turbidimetric assays on random access analyzers offers the advantages of using barcode-labelled primary tubes and running related parameters without sample splitting on the same instrument, e.g. cholesterol and triglycerides.

Therefore, the aim of this study was

- i. to define an assay procedure of the new IMMUNOLEIA Lp(a) (Immuno AG) for Hitachi 911 and for BNA 100;
- ii. to evaluate these procedures in accordance to NCCLS EP10-T2; and
- iii. to compare 100 patient data to IMMUNOZYM Lp(a) ELISA assay (Immuno AG), and to Behring N Latex Lp(a) assay (Behring AG).

The calibration of IMMUNOLEIA ranged from 10–150 mg/d on Hitachi 911 and from 10–170 mg/dl on BNA 100, respectively. The calibration curve is stable at least for 4 weeks. The total imprecision (CV%) of all turbidimetric and nephelometric assays measured at three concentration levels (15, 35 and 55 mg/dl) ranged from 1.6 to 8.5 CV%. No interferences could be noticed from cholesterol up to 400 mg/dl and from triglycerides up to 1100 mg/dl. Freezing and thawing of sera had no influence on the results.

Method comparison of Hitachi 911 vs. ELISA according to Passing and Bablock showed  $r = 0.965$ ,  $y = 0.88x + 5.9$  ( $n = 100$ ). In conclusion, we found no limitations for routine diagnostic use of IMMUNOLEIA Lp(a) on selective analysers.

# Wertsicherheit durch vermietete Wohnimmobilie

**Modernisierungsvorhaben  
Schillerstraße 68  
Top-Citylage in Berlin-Charlottenburg  
5 Minuten zum Kurfürstendamm  
1 Minute zur Wilmersdorfer Straße**

## Ihr Vorteil:

Sonderabschreibung von 40 %  
nach Fördergebietsgesetz noch bis 31.12.1998 sowie

100 %ige Abschreibung der  
nachträglichen Herstellungskosten innerhalb von 10 Jahren

Verlustzuweisung von 140,54 %  
bezogen auf das Eigenkapital

Hohe Einkommensteuerersparnis  
Finanzieren Sie 83 % Ihres Eigenkapitals  
aus Steuerersparnissen!

Minderung des Solidaritätszuschlages

Direkte notarielle Wohnungszuordnung

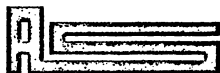
5jährige Mietgarantie

Top-Wohnlage in der West-Berliner Innenstadt

Der Initiator: Ein alteingesessenes  
mittelständisches Bauunternehmen

## Erfahrene Partner:

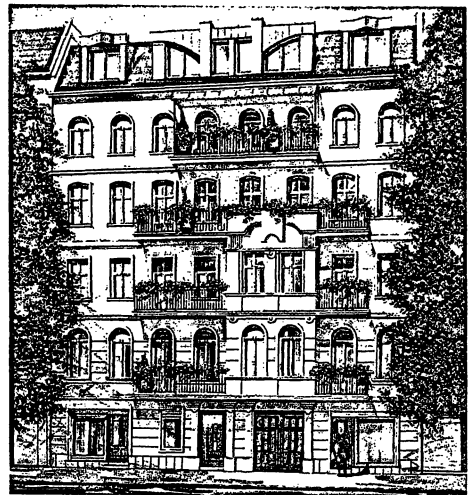
Initiator, unabhängiger Treuhänder, Steuerberater, Architekt, Vertriebspartner und Generalunternehmer sind leistungsfähige Partner und seit 1983 erfolgreich im Altbaumodernisierungsbereich tätig.



**ANTON SCHMITTLEIN**  
CONSTRUCTION GMBH



Telefon Büro Bonn: 0228 / 604 62 0  
Telefon Büro Berlin: 030 / 349 012 25



Modernisierungsvorhaben Nr. 79  
Schillerstraße 68, Berlin-Charlottenburg  
Charme des Altbaus - Technik von heute



Ein Beispiel: Suarezstraße 53 vor und nach der Modernisierung

Insgesamt wurden bisher 75 Modernisierungsvorhaben mit einem Gesamtvolumen von über 700 Mio. DM durchgeführt.

Umfangreiche und durchgreifende Instandsetzungs- und Modernisierungsmaßnahmen steigern den Wert der Immobilie langfristig.

Wir informieren Sie gern ausführlich.  
Sprechen Sie mit uns:

## Informations-Coupon

- ☐ Schicken Sie mir ausführliches Prospektmaterial.  
☐ Beraten Sie mich telefonisch.  
☐ Beraten Sie mich gleich persönlich. Rufen Sie vorher an, um einen Termin zu vereinbaren.

**Absender:**

Name, Vorname

Straße/Postfach

PLZ/Ort

Telefon

**MAVE Beteiligungsgesellschaft mbH**

Per Fax: 0228 / 69 80 24

oder per Post:

MAVE Beteiligungsgesellschaft mbH

Thomas-Mann-Straße 32

53111 Bonn