

Zehnjährige Erfahrungen mit einer mikroskopisch-mikrochemischen Harnsteinkomponenten-Analyse

Ten Year's Experiences with a Microscopic-Microchemical Method for Analysis of Components of Urinary Calculi

A. Bruckner, M. Moreth, Chr. Trendelenburg

Institut für Laboratoriumsmedizin, Städt. Kliniken Frankfurt am Main-Höchst

Zusammenfassung:

Um eine gezielte Prophylaxe und Therapie der Urolithiasis zu ermöglichen und um die Rezidivrate zu senken, ist die genaue Kenntnis der Steinzusammensetzung erforderlich. Wegen des hohen Beschaffungspreises sind Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie nur wenigen Laboratorien vorbehalten, andererseits sollten unspezifisch-chemische Steinanalysenmethoden wegen deren geringeren Sensitivität und Spezifität heute nicht mehr angewendet werden.

In dieser Arbeit wird eine unter dem Mikroskop durchführbare Harnsteinkomponentenanalyse (Harzalith) beschrieben. Es handelt sich um eine mikroskopisch-mikrochemische Harnsteinanalyse. Sie basiert auf der Auswertung mikroskopisch typischer, leicht einprägsamer Farbmuster, die sich je nach Steinzusammensetzung in charakteristischer Weise nach Zugabe des Steinmaterials zum Reagenz innerhalb von Sekunden entwickeln.

Eine Bewertung der mikroskopisch-mikrochemischen Harnsteinkomponentenanalyse gegenüber Röntgendiffraktion, Infrarotspektroskopie und unspezifisch-chemischen Methoden erfolgt anhand von Ergebnissen aus über 10jähriger eigener Anwendungserfahrung.

Folgende Vorteile werden kurz dargestellt:

- 1. Es werden Steinkomponenten und nicht nur Ionen erfaßt.*
- 2. Es können geringste Steinprobenmengen analysiert werden.*
- 3. Die Ergebnisse der Methode hinsichtlich Richtigkeit, Sensitivität und Spezifität sind in gleicher Größenordnung wie die von Infrarotspektroskopie und Röntgendiffraktion.*
- 4. Die Methode ist einfach zu erlernen, schnell, genau und von leichter Handhabung. Sie ist damit eine echte Alternative gegenüber den anderen apparativ-aufwendigen Harnsteinanalyseverfahren.*

Schlüsselwörter:

Harnsteinanalyse – Röntgendiffraktion – Infrarotspektroskopie – chemisches Harnsteinanalyseverfahren – Harnsteinkomponenten – mikroskopisch-mikrochemisches Harnsteinanalyseverfahren – Farbmuster

Summary:

Accurate knowledge of the composition of urinary calculi is necessary for purposeful prophylaxis and therapy of urolithiasis, and in order to reduce the rate of relapses. On account of the high acquisition price of X-ray diffraction and infrared spectroscopy, only few laboratories can use these techniques. On the other hand, unspecific chemical procedures for the analysis of urinary calculi are obsolete and should no longer be used because of their low sensitivity and specificity.

In this publication we refer once more to a method of analysis urinary calculi under a microscope. The procedure is a microscopical one. It is based on the evaluation of microscopically typical, easily remembered colour patterns which – depending on the composition of the calculi – result within one minute after the addition of parts of the calculi to the reagent.

A comparison of the microscopical microchemical analysis of urinary calculi versus X-ray diffraction, infrared spectroscopy and unspecific chemical methods is made by means of the results obtained from over 10 years of our own application experience and by contrasting the results of precision tests (i. e. 'Ringversuche') from the past ten years.

The following advantages are particularly indicated:

- 1. Calculi constituents and not just ions are registered.*
- 2. Minute quantities of calculi samples can be used.*
- 3. The results of the method show the same degree of correctness, sensitivity and specificity as those of infrared spectroscopy and X-ray diffraction.*
- 4. The method is simple to learn, rapid, accurate and easily managed. It thus represents a genuine alternative to the methods of analysing urinary calculi which require more apparatus.*

Keywords:

Analysis of urinary calculi – X-ray diffraction – infrared spectroscopy – analysis of urinary calculi by chemical procedures – analysis of urinary calculi by a microscopic microchemical procedure – colour pattern

Einleitung

Die Urolithiasis mit ihrer durchschnittlichen Prävalenz von 4% in der Bevölkerung ist eine der wichtigsten Volkskrankheiten (1, 2, 3). Um eine gezielte Prophylaxe und Therapie zu ermöglichen und die Rezidivrate zu senken, ist die genaue Kenntnis der Steinzusammensetzung erforderlich (4, 5). Wegen des hohen Kostenaufwandes an analytischen Geräten sind die Röntgendiffraktion, die Infrarotspektroskopie, die Raster-Elektronenmikroskopie und die Polarisationsmikroskopie nur wenigen Laboratorien vorbehalten. Als kostengünstigere (und leider sehr verbreitete) Alternative bleibt die unspezifische chemische Steinanalyse, die allerdings eine deutlich geringere Sensitivität und Spezifität aufweist als die oben genannten Untersuchungsarten, und die deshalb heute nicht mehr verwendet werden sollte (4, 6).

Im folgenden wird eine unter dem Mikroskop durchführbare Harnsteinanalysemethode vorgestellt, die gegenüber allen anderen Harnsteinanalyseverfahren Vorteile aufweist:

- Es können geringste Steinproben analysiert werden, wobei nicht Ionen, sondern Steinkomponenten erfaßt werden.
- Die beschriebene Methode ist für Harnsteinkomponenten spezifisch, einfach und schnell durchführbar.
- Die Methode ist daher für alle Laboratorien eine echte Alternative gegenüber anderen aufwendigeren, teureren oder chemischen Harnsteinanalyseverfahren. Für Laboratorien mit den oben erwähnten Geräten ist die Methode als Bestätigungsanalyse sehr gut geeignet.

Die mikroskopisch-mikrochemische Harnsteinanalysemethode weist jedoch auch einige Einschränkungen auf. So können folgende Harnsteinsubstanzen nicht identifiziert werden: Harnsäure-Dihydrat (wird als Harnsäure erfaßt), Magnesiumhydrogenphosphat-Trihydrat, Magnesium-Ammoniumphosphat-Monohydrat. Auch Substanzen, die in Hinblick auf eine Harnsteinanalyse als Artefakte bezeichnet werden müssen, können ebenfalls nicht identifiziert werden: Kalziumkarbonat, Kalziumsulfat-Dihydrat, Siliziumdioxid sowie Medikamente.

Die im folgenden beschriebene Analysenmethode basiert auf zwei Arbeiten von J. Vízkelety (7) und M. Berényi (8). Unsere Arbeitsgruppe hat erstmals 1978 (9) und später 1989 auf die unten erläuterte Analysenmethode hingewiesen (10).

Material und Methoden

Seit über 10 Jahren wird die mikroskopisch-mikrochemische Harnsteinkomponentenanalysemethode (MMHKA) in unserem Labor in der in den o. g. Arbeiten beschriebenen Form durchgeführt. Zwischenzeitlich wurde die Reagenzienzusammensetzung geändert, zwei neue Reagenzien hinzugefügt und damit die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit der Methode weiter erhöht. Sie wurde unter dem Namen „Harzolith“ in Ungarn patentiert und ist inzwischen auch in Deutschland im Handel erhältlich.

Unsere 10jährigen Untersuchungsergebnisse wurden mit den von uns selbst hergestellten Reagenzien ermittelt.

Die detaillierten Durchführungs- und Auswertungsvorschriften für die selbst erstellten Reagenzien finden sich in unserer 1978 erschienenen Veröffentlichung (9).

Wir werden uns im folgenden auf die Beschreibung und Durchführung mit dem nunmehr kommerziell erhältlichen Harzolith-Reagenziensatz beschränken. Unsere vergleichende Erprobung des Harzolith-Reagenziensatzes mit unserer bisherigen Methode hat gezeigt, daß sich Durchführung und Art der Auswertung nur unwesentlich geändert haben. Mit dem Harzolith-Reagenziensatz konnte aber, wie bereits oben erwähnt, die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit der MMHKA weiter gesteigert werden.

Geräte

Lichtmikroskop
Porzellantiegel und Mörser

Chemikalien

Reagenziensatz Harzolith (Fa. Mecconti) mit allen gebrauchsfertigen Reagenzien und notwendigen Hilfsmitteln. (Der Inhalt der zur Analyse verwendeten Reagenzien ist im Anhang angegeben.)

Vorbereitung zur Analyse

Zur Analyse werden die Basislösungen A1 und A2 des sauren Reagenzes im Verhältnis 1:1 sowie die Basislösungen B1 und B2 des alkalischen Reagenzes ebenfalls im Verhältnis 1:1 in zwei getrennten Reagenzgläsern (z. B.: Eppendorfgläser) zusammengemischt, die Reagenzgläser anschließend zentrifugiert und der jeweilige Überstand als Gebrauchslösung für die Analyse eingesetzt (Reagenz A und Reagenz B). Es ist streng darauf zu achten, daß das saure Reagenz nicht mit Anteilen des basischen Reagenzes vermischt wird (und umgekehrt).

Die beiden fertigen Gebrauchslösungen sind im fertigen Zustand nur wenige Tage haltbar. Sie sollten – wie bei Qualitätskontrolle in der Klinischen Chemie üblich – vor jedem Gebrauch mittels eines Steinpulvers mit bekannter Zusammensetzung auf ihre Gebrauchsfähigkeit überprüft werden. Besonders geeignet hat sich Struvit als Kontrollmaterial erwiesen. Ist die Reagenzienqualität regelrecht, zeigt Struvit im Auflicht eine rote Farbe.

Durchführung der Steinanalyse

Der zu untersuchende Stein wird zuerst makroskopisch betrachtet. Durch vorsichtiges Mörsern werden Fraktionen gewonnen, an deren Bruchflächen Farbe, Kristallform und Schichtung beurteilt werden. Der zentrale Teil des Steins verdient besondere Beachtung. Mit entsprechender Erfahrung ist bereits makroskopisch eine erste Verdachtsdiagnose bezüglich der Steinkomponenten möglich.

Aus zermörsertem Steinpulver (oder aus den makroskopisch interessanten Bruchlinien) entnimmt man mit Hilfe einer auf einen Holzstab aufgesteckten Kanüle eine geringe Menge der zu untersuchenden Substanz (1–10 Mikrogramm). Auf einen unter dem Mikroskop liegenden

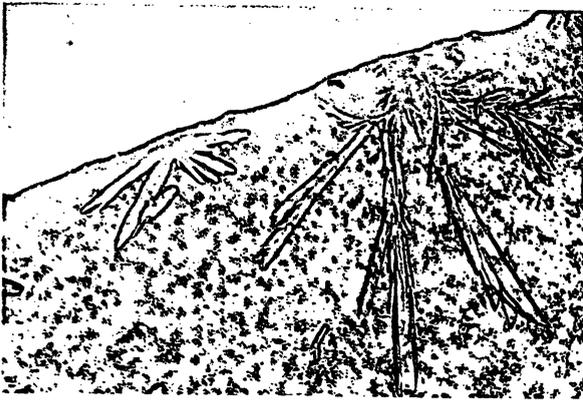


Abb. 1: Calciumoxalat; Reagenz A: Schwalbenschwanzförmige Gipskristalle am Tropfenrand.



Abb. 2: Calciumoxalat-1-Hydrat (Whewellit); Reagenz A: Whewellit ist durch eine strahlenartig geschichtete Struktur gekennzeichnet (400fache Vergrößerung).



Abb. 3: Calciumoxalat-2-Hydrat (Weddellit); Reagenz B: Die violette Farbe des Reagenz wird in 10 Sekunden um den Stein herum blau. Weddellit ähnelt zerbrochenem Fensterglas.

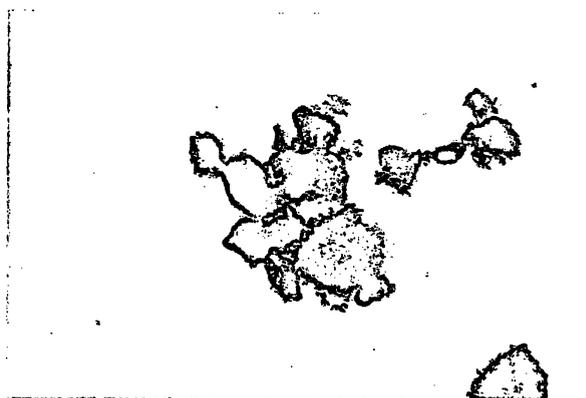


Abb. 4: Magnesiumammoniumphosphat-6-Hydrat (Struvit); Reagenz B1: In Reagenz B1 verfärbt sich der Stein blau. Bei der Aufnahme handelt es sich um einen Mischstein, der ca. 70% Struvit enthält.

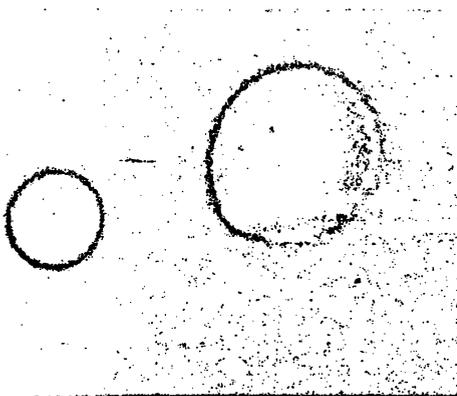


Abb. 5: Harnsäure; Reagenz B: An der Stelle des sich in einigen Sekunden lösenden Steines und um ihn herum erscheint ein brauner Präzipitationsfleck. Der Stein löst sich nicht immer vollständig auf.

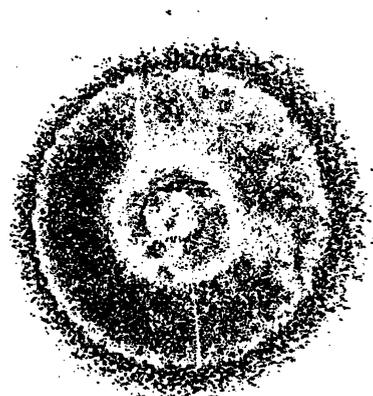


Abb. 6: Natriumhydrogenurat; Reagenz B: Die Probe löst sich langsam, und es bildet sich ein kompakter, braun bis schwarz gefärbter Präzipitationsfleck.

vorbereiteten Objektträger gibt man zuerst einen Tropfen des Reagenzes A, anschließend die oben erwähnte kleine Menge der zu untersuchenden Substanz.

Man beobachtet beim Blick durch das Mikroskop die auf dem Objektträger ablaufenden charakteristischen Farbveränderungen in unmittelbarer Umgebung des Steinmaterials, welche typischerweise innerhalb von ca. 5 sec nach Zugabe des Steinmaterials beginnen und sich inner-

halb einer Minute entwickeln. Das gleiche wiederholt man nacheinander mit einem weiteren Aliquot des zu untersuchenden Steinmaterials mit einem Tropfen des Reagenzes B und – sofern notwendig (siehe Tab. 1) – auch mit einem Tropfen des Reagenzes C und D. Die Beobachtung und Beurteilung von Farbveränderungen und chemischen Reaktionen erfolgt unter dem Mikroskop bei ca. 50- bis 150facher Vergrößerung, bevorzugt bei durchfallendem Licht, gegebenenfalls auch bei Auflicht.

Um die Methode zu erlernen, empfehlen wir, die Reaktion zunächst mit monomineralischen Steinen auszuprobieren, und zwar in der folgenden Reihenfolge: Harnsäure, Cystin, Xanthin und erst danach mit komplexeren Zusammensetzungen.

Für letztere ist folgendes Vorgehen sinnvoll: Oxalat, Apatit, Struvit, Ammonium-Hydrogen-Urat, Natriumhydrogenurat und erst dann die Analyse von Mischsteinen.

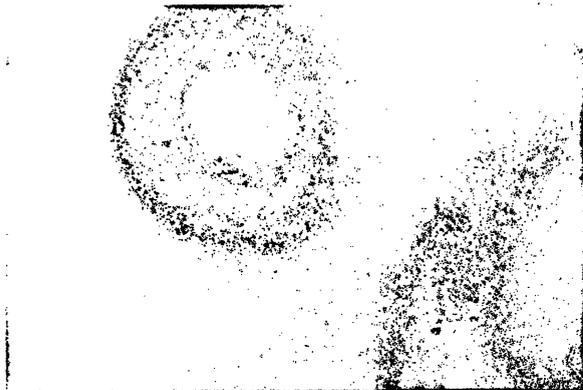


Abb. 7: Xanthin; Reagenz B: Die Probe löst sich in wenigen Sekunden. Es bildet sich ein hellbrauner Präzipitationskreis (braune Ringe).

Ergebnisse

Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse beziehen sich auf den Zeitraum 1977 bis 1988. Während dieser Zeitspanne wurden 1772 in unser Laboratorium eingesandte Harnsteine analysiert. Davon waren 14 (0,8%) Artefakte, wie z. B. Wachs, Kieselsteine, Textilien u. ä., so daß insgesamt 1758 Steine ausgewertet werden konnten. Nur zwei Steine konnten wegen zu geringer Materialmenge nicht untersucht werden (0,001%).

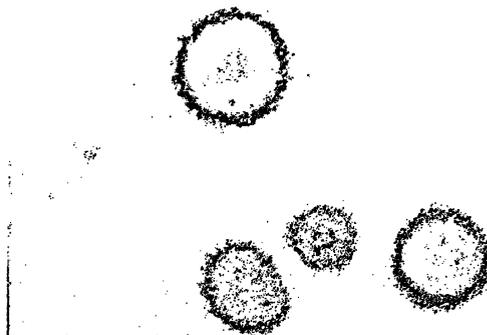


Abb. 8: 2,8-Dihydroxyadenin; Reagenz B: Die Probe löst sich in 10 Sekunden auf. Es bildet sich ein doppelter brauner Fleck.

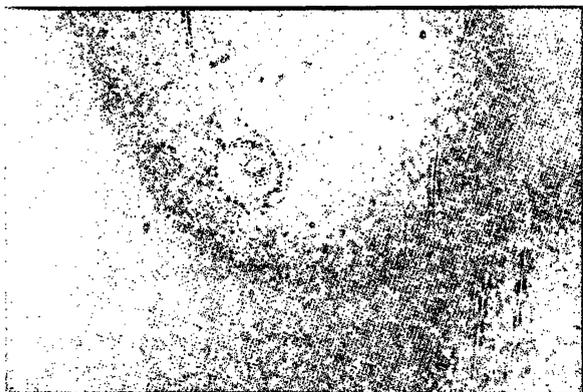


Abb. 9: Cystin; Reagenz A: In 5 Sekunden erscheint ein brauner kreisförmiger Präzipitationsfleck. Häufig erkennt man sechseckige Cystinkristalle.

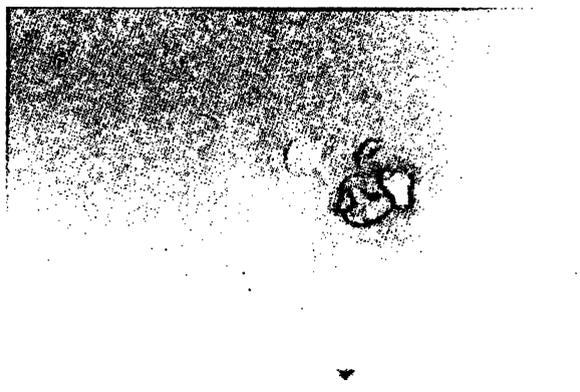


Abb. 10: Cystin; Reagenz B: Die Probe löst sich sofort mit Gelb- oder Rosafärbung.

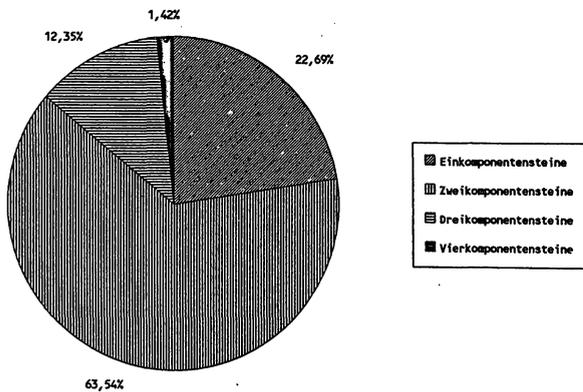


Abb. 11: Komponentenverteilung (n = 1758).

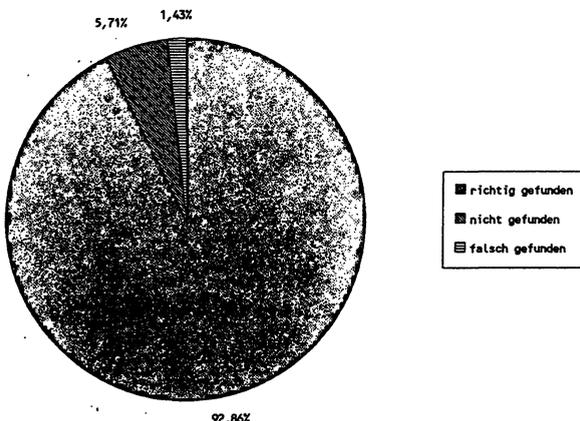


Abb. 12: Richtig gefundene, nicht gefundene und falsch gefundene Hauptbestandteile: Ringversuchsergebnisse aus den Jahren 1980 bis 1990 (n = 70).

Tab. 1: Reaktionen der Steinkomponenten in den vier verschiedenen Reagenzien der Harzalith-Methode (nach Berényi [8] und Bruckner et al. [9], zusammengefaßt für die Arbeitsvorschrift von Harzalith [Fa. Mecconti])

| Konkrement | Reagenz A | Reagenz B | Reagenz C | Reagenz D |
|--|---|---|---|---|
| Calciumoxalat-Monohydrat (Whewellit) | Erst keine Veränderung, nach 1–10 min erscheinen am Rande des Tropfens rhombus-rhomboid- und Schwalbenschwanzförmige Gipskristalle. Whewellit ist durch eine strahlenartig geschichtete Struktur gekennzeichnet. | Die lila Farbe des Reagenz wird in 10 sec um den Stein herum blau. Im Auflicht ist der Stein hellblau. | Keine Veränderung. | Nach ca. 20 sec wachsen aus der Probe dicke, nadelförmige Kristalle aus. Nach 2–3 min wandelt sich die ganze Probe in solche Kristalle um. |
| Calciumoxalat-Dihydrat (Weddellit) | Weddellit ähnelt Glasscheibchen mit abgesprungenen Oberflächen. Sonst wie oben. | Wie oben. | Keine Veränderung. | Wie oben. |
| Tertiäre Ca-Phosphate: (z. B. Whitlockit) | Die Probe wird sofort von nadelförmigen Sulfatkristallen bedeckt und umrandet. Es bildet sich ein kreisförmiger fleischfarbener Präzipitationsfleck mit ständig zunehmendem Durchmesser. Zur Unterscheidung zwischen Dahllit, Hydroxylapatit und Whitlockit sowie Brushit siehe noch Tab. 2. | Keine Veränderung. Im Auflicht ist der Stein lila bis blau. | Keine Veränderung. | Nach ca. 20 sec wachsen feine, dünne, bräunlich nadelförmige Kristalle aus der Probe aus. |
| Calciumhydrogenphosphat-2-hydrat (Brushit) | Die Probe wird sofort von fleischfarbenen kreisförmigen Präzipitationen umrandet. Keine Nadel- und Blasenbildung. In Reagenz A2: nach 20 sec rot-violette Präzipitation. | Gleiche Veränderung wie bei Oxalaten. | Nach 30–40 sec wachsen viele lange, braune nadelförmige Kristalle aus der Probe heraus. | Keine Veränderung. |
| Magnesiumammoniumphosphat-6-hydrat (Struvit) | In 10 sec vollständige Lösung, dann erscheint ein fleischfarbener, kreisförmiger Präzipitationsfleck. | Um den Stein bildet sich ein brauner, mit der Zeit dunkel werdender Präzipitationsring, der von losen hellen Präzipitationen umrandet wird. Im Auflicht ist das ursprüngliche Muster rotbraun. Im Reagenz B1: verfärbt sich der Stein blau. | Nach ca. 30 sec wachsen aus der Probe große gelbe lanzettenförmige Kristalle aus. Die gelbe Farbe des Reagenz wird um die Probe herum rosa. | In 5–10 sec vollständige Lösung. |
| Harnsäure, Harnsäuredihydrat | Keine Veränderung. | An der Stelle des sich in einigen Sekunden lösenden Steines und um ihn herum erscheint ein intensiver, dunkelbrauner Präzipitationsfleck. | Keine Veränderung | Keine Veränderung |
| Natriumhydrogenurat-1-hydrat | Die Probe ist schwarz, von einem ganz schmalen Saum eines braunen Präzipitats umgeben. | Die Probe löst sich langsam und es bildet sich ein kompakter, braun bis schwarz gefärbter Präzipitationsfleck. Im Auflicht ist der Rest der Probe blau oder weiß, umgeben von einem bläulichen Kreis. | Keine Veränderung. | Keine Veränderung. |
| Ammoniumhydrogenurat-1-hydrat | Die Probe ist schwarz, von einem ganz schmalen Saum eines braunen Präzipitats umgeben. | Es bildet sich sofort ein umfangreicher, sich verdunkelnder orangefarbener Fleck. Im Auflicht ist der Rest der Probe blau oder weiß, umrundet von einem blau-lila Ring und ganz außen von einem losen, silberfarbenen Präzipitat umgeben. | Keine Veränderung. | Keine Veränderung. |
| Xanthin | Keine Veränderung. | Lösung in einigen Sekunden. Es bildet sich ein hellbrauner Präzipitationskreis (braune Ringe). | Keine Veränderung. | Keine Veränderung. Bei zu großen Xanthinmengen (mehr als 20 µg) können binnen weniger Minuten schwarze Körner entstehen. |
| 2,8-Dihydroxyadenin | Keine Veränderung. | Die Probe löst sich in 10 sec auf. Es bildet sich ein doppelter brauner Fleck. | Keine Veränderung. | Der Rand der Probe beginnt sich zu lösen, und nach ca. 5 sec entsteht ein dunkelbrauner, massiver Fleck, der auch nach vollständiger Lösung des Materials zurückbleibt. |
| Cystin | In 5 sec erscheint ein brauner kreisförmiger Präzipitationsfleck. Kristallform beachten! | Die Probe löst sich sofort mit Gelb- oder Rosafärbung. Nach 10 sec erscheint ein bleicher hellbrauner Präzipitationsfleck. | Keine Veränderung. | Die Probe löst sich unter Blasenbildung. Innerhalb 5–10 sec erscheint ein hellbrauner grobkörniger großer, runder Fleck, der später grau wird. |

Tab. 2: Reaktionen der tertiären Ca-Phosphate im Reagenz A: Zur Unterscheidung von verschiedenen, tertiären Ca-Phosphaten kann man ihre Reaktionen im sauren Reagenz A heranziehen.

Diese Reaktionen sind: Eine sofortige Blasenbildung, die Entstehung nadelförmiger Kristalle (nach 1-3 sec) sowie die Bildung eines fleischfarbenen Präzipitats (nach 3-6 sec).

| | Blasenbildung | nadelförmige Kristalle | fleischfarbenedes Präzipitat |
|-------------------------------|---------------|------------------------|------------------------------|
| Dahlit | + | + | + |
| Hydroxylapatit und Whitlockit | - | + | + |
| Brushit | - | - | + |

Die Komponentenvielfalt in unserem Untersuchungsmaterial zeigt Abbildung 11.

Die Häufigkeitsverteilung der chemischen Hauptgruppen Calciumoxalat, Harnsäure, Phosphat und Cystin in den Ein-, Zwei-, Drei- und Vierkomponentensteinen ist der Tabelle 3 zu entnehmen.

Ab März 1980 bis Oktober 1980 nahmen wir an Ringversuchen, organisiert von Prof. Maurer aus Heilbronn und ab Anfang 1981 an den Ringversuchen, organisiert von der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie, teil. Die richtig, nicht oder falsch gefundenen Hauptbestandteile mit MMHKA bei Ringversuchen zeigt die Abbildung 12.

Diskussion

Welche Anforderungen an Spezifität und Sensitivität müssen an eine Harnsteinanalysemethode gestellt werden?

Die dem Kliniker bekannten Unterschiede hinsichtlich der Therapie machen es erforderlich, daß zumindest folgende Steinkomponenten bzw. Steinkomponentengruppen von einer Harnsteinanalysemethode erkannt werden müssen:

1. Calciumoxalat als Monohydrat (Whewellit) und Dihydrat (Weddellit)
2. Harnsäure (evtl. Harnsäure-Dihydrat)

Tab. 3: Prozentuale Verteilung der Komponenten in Ein-, Zwei-, Drei- und Vierkomponentensteinen. N = 1758

| Steinart | Reihenfolge der Komponenten | Oxalate | Purine | Phosphate | Aminosäuren | Artefakte |
|-----------------------------------|-----------------------------|---------|--------|-----------|-------------|-----------|
| Einkomponentensteine N = 399 | 1 | 60,2 | 28,8 | 8,8 | 1,0 | 1,3 |
| Zweikomponentensteine N = 1117 | 1 | 45,8 | 9,6 | 44,5 | 0,0 | 0,2 |
| | 2 | 41,3 | 5,9 | 52,8 | 0,0 | 0,0 |
| Dreikomponentensteine N = 217 | 1 | 17,9 | 20,3 | 61,8 | 0,0 | 0,0 |
| | 2 | 29,0 | 11,5 | 59,5 | 0,0 | 0,0 |
| | 3 | 17,1 | 43,3 | 39,6 | 0,0 | 0,0 |
| Vierkomponentensteine N = 25 | 1 | 0,0 | 12,0 | 88,0 | 0,0 | 0,0 |
| | 2 | 24,0 | 36,0 | 40,0 | 0,0 | 0,0 |
| | 3 | 40,0 | 28,0 | 28,0 | 4,0 | 0,0 |
| | 4 | 20,0 | 36,0 | 44,0 | 0,0 | 0,0 |

3. Mono-natriumurat-monohydrat und Mono-ammoniumurat
4. β -Tricalciumphosphat (Whitlockit), Calciumhydrogenphosphat-Dihydrat (Brushit)
5. Carbonat-Apatit, Hydroxy-Apatit und Magnesiumammoniumphosphathexahydrat (Struvit)
6. Xanthin
7. L-Cystin
8. 2,8-Dihydroxyadenin

Nach Asper (11) wird eine Harnsteinanalyse dann als korrekt beurteilt, wenn als Hauptkomponente eine Verbindung ausgegeben wird, die zur selben chemischen Gruppe von Harnsteinsubstanzen gehört bzw. wenn es sich um eine ähnliche Kategorie von Harnsteinen handelt, die mit gleicher Therapie angegangen wird. Die MMHKA erkennt obige Komponenten ohne Schwierigkeit. Es werden sogar jene Steinkomponenten erfaßt, die gelegentlich mit Röntgendiffraktion (RÖ) oder Infrarotspektroskopie (IR) Schwierigkeiten bereiten können, wie z. B. Ammoniumhydrogenurat, Natriumhydrogenurat, Apatit oder Dihydroxy-Adenin. Selbst die Nicht-Harnsteinsubstanz Cholesterin kann erkannt werden. Whewellit und Weddellit können ohne weiteres voneinander unterschieden werden, dagegen ist eine Separation zwischen Harnsäure und Harnsäure-Dihydrat nicht möglich. Letzteres ist allerdings von untergeordneter Bedeutung, da die Unterscheidung zwischen diesen Harnsteinsubstanzen zu keinen therapeutischen Konsequenzen führt.

Inwieweit eine quantitative Ergebnisangabe von Mischsteinen zu einer therapeutischen Konsequenz führt, ist umstritten, da der Kliniker seine Therapie bzw. seine Empfehlungen für eine Prophylaxe in erster Linie an der im Mischstein vorkommenden Hauptsubstanz ausrichten wird. Eine zweite, dritte oder gar vierte Substanz im Mischstein wird – wenn überhaupt – nur dann zur Variation der Therapie oder Prophylaxe führen, wenn diese Substanzen in einem nennenswerten Verhältnis vorkommen. Wir erachten daher eine Sensitivität für das Erkennen von Harnsteinsubstanzen, wenn diese weniger als 20% des Gesamtharnsteinvolumens ausmachen, für praktisch nicht sinnvoll. In weniger als 13% aller von uns untersuchten Steine fanden sich Polymineralsteine mit drei Komponenten und in weniger als 1,5% der Steine fanden sich vier Komponenten.

Andererseits darf eine Harnstein-Analysen-Methode eine nicht vorhandene Substanz keinesfalls als im Harnstein existent oder gar als Hauptkomponente angeben, wie das bei unspezifisch-chemischen Methoden in ca. 20%, bei Infrarotspektroskopie in 3% und bei der Röntgendiffraktion in bis zu 2% der Fälle möglich ist (4, 5). Die Ringversuchsergebnisse bestätigen diese Forderung.

Bei der Auswertung von Harnsteinen nach den Hauptbestandteilen (s. Tab. 3) fanden wir bei 399 monomineralischen Steinen eine Häufigkeitsverteilung, wie sie allgemein in der Literatur beschrieben wird (Calciumoxalate 74%–48%, Phosphate 28%–11%, Harnsäure 20%–8% und Cystin 3%–1%) (12–18). Es ist allerdings als wahrscheinlich anzunehmen, daß die gefundene Häufigkeitsverteilung der Harnsteinbestandteile nicht nur von den lokalen und epidemiologischen Besonderheiten im untersuchten Land, sondern auch von der zur Untersuchung verwendeten Methode abhängt. So fand Gebhardt mittels Röntgendiffraktion als Hauptbestandteil bei 4000 Harnsteinen im Gebiet der Bundesrepublik zu 65% Calciumoxalate, zu 21% Phosphate, zu 13% Harnsäure und zu 1% Cystin (13). Berényi (19) fand als Haupterprober der MMHKA in Ungarn bei 2300 Harnsteinen zu 59% Cal-

ciumoxalate, zu 14% Phosphate, zu 20% Harnsäure und ebenfalls zu 1% Cystin. Wie ersichtlich, liegen wir mit unseren Ergebnissen in der Mitte zwischen den beiden letztgenannten Untersuchern, was damit erklärt werden könnte, daß wir die Harnsteine von Patienten aus der Bundesrepublik mittels MMHKA-Methode untersucht haben. (Eine Gewichtung der Einzelergebnisse, ermittelt nach den verschiedenen Harnsteinuntersuchungsverfahren, erfolgt in unserer in Vorbereitung befindlichen Veröffentlichung (20).)

Mit der MMHKA haben wir bei allen in der Zeit zwischen 1980 und 1990 durchgeführten Ringversuchen die Hauptbestandteile bei natürlichen Harnsteinsubstanzen richtig gefunden. Bei den 5,7% nicht gefundenen Substanzen (s. Abb. 12) handelte es sich um in natürlichem Steinmaterial nicht vorkommende chemische Substanzen wie Gips oder Calcit, bei der falsch gefundenen Substanz (1,4%) um 2,8-Dihydroxyadenin (mit dem neuen und verbesserten Harzolith-Reagenziensatz wird auch 2,8-Dihydroxyadenin problemlos erkannt). Aber selbst mittels Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie wurden von den Ringversuchsteilnehmern Gips und Calcit nur in 63,6% bzw. in 91,4% der Fälle richtig ermittelt.

Die MMHKA ist eine Methode, die auf die Analyse von natürlich in Harnsteinen vorkommenden Substanzen ausgelegt ist und daher artifizielle Substanzen nicht erkennen kann. Auch können als homogenisierte Pulver vorliegende Substanzgemische bei der Beurteilung der Farbreaktion wegen des gleichzeitigen Ablaufens aller chemischen Reaktionen und der dadurch überdeckenden Farbtöne Schwierigkeiten bereiten. Dagegen können natürlich vorkommende Steine (welche schalen- und stückchenweise untersucht werden) und Steinkrümel wegen der nebeneinander ablaufenden chemischen Farbreaktionen sicher beurteilt werden.

Der in den Ringversuchen indirekt durchgeführte Vergleich zwischen MMHKA, Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie zeigt, daß das analytische Ergebnis gleichwertig mit der Röntgendiffraktion konkurrieren kann, aber teilweise besser als das der Infrarotspektroskopie ist (10). Eine Arbeit mit direktem Vergleich zwischen MMHKA, RÖ und IR anhand simultan analysierter natürlicher Harnsteine ist in Vorbereitung (20).

Die MMHKA ist eine „preiswerte“ und „schnelle“ Methode. Es gibt praktisch keine Gerätekosten. Die Reagenzienkosten liegen – bei sparsamem Gebrauch durch den geübten Benutzer – bei ca. 1,50 DM pro Harnsteinanalyse. Eine komplette Analyse dauert für eine geübte MTA maximal 5 Minuten.

Zusammenfassend können für die MMHKA folgende prinzipielle Vorteile aufgeführt werden:

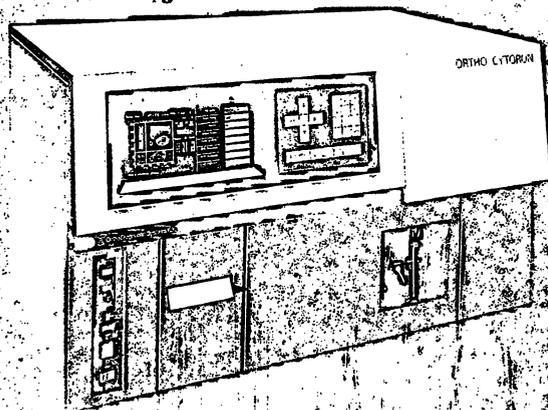
1. Die Substanz wird unverändert untersucht.
2. Es können geringste Steinproben (1–10 Mikrogramm) analysiert werden.
3. Die Methode erfaßt halbquantitativ Steinkomponenten und nicht nur Ionen.
4. Die Methode ist schnell, genau, preiswert, leicht zu erlernen und einfach durchzuführen.
5. Sensitivität und Spezifität liegen im Bereich von Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie.

Die MMHKA stellt daher eine echte Alternative bzw. Ergänzung gegenüber den anderen aufwendigeren, teureren oder gar unspez.-chemischen Harnsteinanalysenverfahren dar und ist insbesondere für das „kleine“ Labor

Automatisierte Typisierung immunologisch aktiver Zellen für Hämatologie, Onkologie, Immunologie

ORTHO CYTORON Laser-Durchflußzytometer

- Gleichzeitige Analyse mehrerer Zellparameter
- Anwenderfreundliche Gerätebedienung auf einfacher Dialogbasis
- Hohe Speicherkapazität und Analysengeschwindigkeit



© ODS 9188

Ortho-mune® Monoklonale Antikörper

- Bestimmung des Immunstatus
- Leukämie- und Lymphom-Diagnostik
- Hohe prognostische Relevanz



 Ortho Diagnostic Systems GmbH

DR. MOLTER GMBH
D-6903 Neckargemünd · ☎ (0 62 23) 77-0

geeignet. Aber auch für Laboratorien mit aufwendigerer apparativer Ausstattung wie RÖ und IR ist die MMHKA als Bestätigungsanalyse bestens geeignet, da die Analysen von Apatit, Ammonium- und Natriumhydrogenurat oder Dihydroxy-Adenin bei letzteren Verfahren Schwierigkeiten bereiten können, nicht jedoch mittels einer Analyse durch die MMHKA. Auch Harnsäurebeimischungen von weniger als 5 bis 10% bei Calciumoxalat-Steinen können leicht erkannt werden (6, 21).

Da mittlerweile aufgrund der besseren Verfügbarkeit eine zunehmende Verbreitung der Methode zu verzeichnen ist, erscheint ein gesonderter Methodenschlüssel bei der Durchführung der Ringversuche wünschenswert.

Nachtrag

Da in größeren zeitlichen Abständen bei Ringversuchen Gips als Probe verwendet wird, haben wir eine orientierende Prüfung der Farbreaktion von Gips bei Anwendung der MMHKA-Methode durchgeführt.

Gips zeigt in den Reagenzien A und D keine, demgegenüber in A2, B und C die für Brushit charakteristischen Reaktionen.

Der Unterschied zu Brushit besteht also darin, daß Gips in A keine Reaktion zeigt.

Anschrift der Verfasser:

Dipl.-Ing. med. Biochem. A. Bruckner
Dr. M. Moreth
Prof. Dr. Chr. Trendelenburg
Städt. Kliniken Frankfurt am Main-Höchst
Institut für Laboratoriumsmedizin
Gotenstraße 6-8
W-6230 Frankfurt a. M. 80

Schrifttum:

1. WÜST, H., HESSE, A., WEINSTOCK, N., SCHWAB, W.: Urolithiasis. Lab.med. 11, 156 (1987).
2. HESSE, A.: Labordiagnostik beim Harnsteinleiden und Überwachung der Therapie mit Hilfe der Harnsteinanalyse. Ärztl. Lab. 30, 273-278 (1984).
3. ASPER, R.: Vortrag im Städt. Krankenhaus Frankfurt/M.-Höchst, gehalten am 13.6.1989.
4. RÖHLE, G., VOIGT, U., HESSE, A., BREUER, H.: Ergebnisse aus Ringversuchen für Harnsteinanalysen. J. Clin. Chem. Biochem. 20, 851-859 (1982).
5. SCHNEIDER, H. J.: Vortrag im Städt. Krankenhaus Frankfurt/M.-Höchst, gehalten am 15.2.1989.
6. BRUCKNER, A., BERNHEIM, M.: Erfahrungen mit einer halbquantitativen Harnsteinanalyse. Ärztl. Lab. 25, 203-208 (1979).
7. VIZKELETY, J.: Harnsteinanalyse durch Mikroschnellverfahren. Zschr. Urol. 58, 345 (1965).
8. BERÉNYI, M.: Vesekőanalízis ultramikro-kémiai módszerrel. Orvosi Hetilap 114, 2852-2853 (1973).
9. BRUCKNER, A., BERNHEIM, M.: Eine mikrochemische mikroskopische Harnsteinanalyse. Ärztl. Lab. 24, 72-78 (1978).
10. BRUCKNER, A., MORETH, M., TRENDLENBURG, CHR.: Mikroskopisch-mikrochemische Harnsteinanalyse: Vergleich mit Infrarotspektroskopie und Röntgendiffraktion. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 27, 730 (1989).
11. ASPER, R.: Harnstein-Analyse, Bulletin S.S.C.C./S.C.K.C.-Vol. 29/2-V. (1988).
12. HESSE, A., BACH, D.: Harnsteine. In: BREUER, H., BÜTTNER, H., STAMM, D. (Hrsg.): Klinische Chemie in Einzeldarstellungen. Band 5. Georg Thieme, Stuttgart-New York (1982).
13. GEBHARDT, M.: Harnsteinanalyse mittels Röntgendiffraktion. In: VAHLENSIECK, W. (Hrsg.): Urolithiasis. Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1979).
14. SCHNEIDER, H.-J., BERG, CHR.: Epidemiologische Aussagen zum Harnsteinleiden auf der Grundlage von 100 000 Harnsteinanalysen unter besonderer Berücksichtigung der Rezidive. Fortschr. Urol. Nephrol. 17, 33-39 (1981).
15. ATANASOVA, S., BUDEVSKI, G., TABANSKA, T.: Ergebnisse der quantitativen thermischen Analyse von 1150 operativ entfernten Ureter- und Nierensteinen. Wissenschaftl. Beiträge der Friedrich-Schiller-Universität, 109-111, Jena (1980).
16. WESTBURY, E. J.: Some observations on the quantitative analysis of over 1000 urinary calculi. Brit. J. Urol. 46, 215-227 (1974).
17. KOSLOWSKI, Y. G.: Mineralogic classification of urinary stones. Urol. Nephrol. (Moskau) 2, 24-26 (1973).
18. HERRING, L. C.: Observations on the analysis of tenthousand urinary calculi. J. Urol. 88, 545-562 (1962).
19. BERÉNYI, M.: Über die Zusammensetzung der Nierensteine in Ungarn. Acta Chir. Sci. Hung. 16, 73-85 (1975).
20. BRUCKNER, A., MORETH, M., TRENDLENBURG, CHR.: Mikroskopisch-mikrochemische Harnsteinkomponentenanalyse: Vergleich der Methode mit Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie (in Vorbereitung).
21. VAHLENSIECK, W.: Präzise Harnsteinanalyse nötig oder nicht? Diagnostik 17, 8 (1984).

Anhang

Reagenzienzusammensetzung laut Firmenangabe:

Reagenz A1: Quecksilber-II-acetat
Schwefelsäure
H₂O

Reagenz A2: Ammoniummolybdenat
Tris
Alizarinrot-S-Indikator
Xylenorange-Indikator
H₂O

Reagenz B1: Zinksulfat
Natriumhydroxyd
2,4-Dihydroxy-4-nitroazobenzol
H₂O

Reagenz B2: Kaliumbromid
Quecksilber-II-jodid
Methyltimolblau-Indikator
H₂O

Reagenz C: Diotilbarbitursäure
Alizarinrot-R
Kresolrot-Indikator
Methanol
H₂O

Reagenz D: Kresolrot-Indikator
Quecksilber-II-acetat
Natriumlaurylsulfat
Schwefelsäure
Dimethylsulfoxid
H₂O