

# Kongreß für Laboratoriumsmedizin

## 32. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin

10. bis 12. Mai 1993 in Stuttgart

### Die Bedeutung kreuzreagierender Antikörper für die Serodiagnostik der Lyme-Borreliose und der Syphilis

Isolde Affen und Hans-J. Wellensiek  
Institut für Medizinische Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, Schubertstraße 1, W-6300 Gießen

In Syphilitikseren treten häufig kreuzreagierende Antikörper gegen Partial-Antigene von *Borrelia burgdorferi* mit folgendem Molekulargewicht auf: 80 KD, 66 KD, 41 KD, 39 KD und 12 KD. Von diesen sechs Antigenen sind das 80 KD-, das 39 KD- und das 12-KD-Antigen Oberflächenantigene. Sie sind wahrscheinlich Ursache dafür, daß native Syphilitikseren im Immunfluoreszenztest mit *Borrelia burgdorferi* hohe Titer ergeben. Diese kreuzreagierende Antikörper können aus den Seren durch Absorption mit *Treponema phagedenis*-Ultrasonikat und mit intakten *Borrelien* komplett eliminiert werden.

Es werden Hinweise gegeben, wie Immunoblots zuverlässig interpretiert werden können. Immunofluoreszenzteste mit *Borrelia burgdorferi* bzw. *Treponema pallidum* als Antigen sollten zur Vermeidung falsch positiver Ergebnisse nur nach Absorption der Seren mit *Treponema phagedenis*-Ultrasonikat bewertet werden.

### Innovationen im Bereich Calcium Stoffwechsel und Tumormarker

F. P. Armbruster, Martina Klöppinger, Uwe Schäfer, Pia Broszio  
Immundiagnostik Gesellschaft für Produktion und Vertrieb von Labordiagnostika mbH, Wilhelmstr. 7, W-6140 Bensheim

Die Firma IMMUNDIAGNOSTIK zeigt ihre wissenschaftlichen Schwerpunkte im Bereich des Calcium Metabolismus und auf dem Gebiet der Entwicklung von Testsystemen zum Nachweis neuer Tumormarker.

Für die Routinediagnostik wird ein 1,25 Dihydroxy Vitamin D Radiorezeptorassay auf der Basis von Kalbthymusrezeptoren vorgestellt. Der Assay entspricht den klinischen Anforderungen mit einer Gesamtinkubationszeit von weniger als zwei Stunden, ohne Probenvorbereitung mit HPLC und Kreuzreaktion von 0,0038% zu 25 Hydroxy Vitamin D.

Für die Fragestellung „exogenes PTH als in vivo Therapeutikum“ entwickelte IMMUNDIAGNOSTIK für Tiermodellstudien einen homologen N-terminalen Ratten PTH Radioimmunoassay, als Ergänzung zu den humanen (N-, Mid- und C-terminal, sowie intakt PTH) Testsystemen. Erste Untersuchungen zeigen die Übertragbarkeit der Erkenntnisse des PTH-Stoffwechsels vom Mensch auf Ratte.

Im Rahmen der Tumorforschung wurde ein Testsystem zum Nachweis der Glutathion-S-Transferase Pi zur Untersuchung von „Multi Drug Resistance“ Phänomenen entwickelt. Der mögliche Einsatz als Tumormarker wird diskutiert. Als weitere neue Testsys-

teme zur Quantifizierung von Tumormarkern werden ein C-terminaler PTHrP RIA (Tumorphypercalcämie) und ein EGF-Rezeptor ELISA (Prognostik von Mammakarzinomen) vorgestellt.

Als neues wissenschaftliches Tätigkeitsfeld wird, mit der Entwicklung von einem TNF alpha ELISA und von Thymuspeptid Assays und der Planung von TNF Rezeptor Assay, in den Bereich Immunologie eingestiegen.

### Schnelle und zuverlässige nephelometrische Bestimmung von Serum Amyloid A (SAA)

Johannes Aufenanger<sup>1</sup>, Gerhard Münscher<sup>2</sup>, Regina Ensenauer<sup>1</sup>, Reinhard Kattermann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg, Institut für Klinische Chemie am Klinikum Mannheim, Postfach 100023, D-6800 Mannheim

<sup>2</sup> Behringwerke AG, Postfach 1140, D-3550 Marburg

Serum Amyloid A (SAA) ist ein zuverlässiger Marker zur Kontrolle von Akute-Phase-Patienten, besonders bei Sepsis und Polytrauma (1), ebenso zur frühzeitigen Erkennung von Transplantatabstoßungen (2, 3). Das Fehlen einer schnellen und komfortablen Methode, die auch unter Notfallbedingungen einzusetzen ist, verhinderte eine weit verbreitete Anwendung.

**Methodik:** Die Methode wurde auf dem Behring Nephelometer BN 100 adaptiert mit folgender Parametrisierung: „Fixed-time“ Kinetik über 18 min, 5 Punkte-Kalibrierung, autom. Vorverdünnung: 1 : 5, Antiserum: 20 µl (Behring, Marburg), Probe: 100 µl, Detergents: 10 µl. Als Kalibrator wurde SAA-haltiges HDL<sub>3</sub> verwendet (Calbiochem, San Diego, Californien).

#### Ergebnisse:

**Methodik:** Linearität: 2–40 mg/l, Detektionsgrenze 2 mg/l, Zuverlässigkeit (abhängig von der Konzentration): Impräzision von Tag-zu-Tag: > 8% (VK); – in der Serie: < 5% (VK). Kreuzreaktivität mit anderen Proteinen wurde nicht beobachtet. Normbereich: 2–13 mg/l.

**Klinik:** Es wurden 27 Patienten mit Polytrauma und Sepsis unmittelbar nach dem Unfall in ihrem weiteren Verlauf untersucht: Die Anstiegskinetik von SAA stimmte gut mit der der Serum-Phospholipase A<sub>2</sub> und der des C-reaktiven Protein (CRP) überein. Jedoch erwies sich das SAA als ca. 2–2,5fach empfindlicher. Ein Anstieg über den Normbereich konnte ca. 8 Std. früher registriert werden als beim CRP. In Einzelfällen konnte eine raschere Elimination von SAA beobachtet werden. Möglicherweise wird es aufgrund der niedrigeren Molekularmasse schneller renal ausgeschieden. Somit kann eine positive Änderung im Verlauf der Therapie frühzeitiger erfaßt werden.

**Schlußfolgerung:** Serum Amyloid A kann mit der automatischen Nephelometrie schnell und zuverlässig bestimmt werden. Dieses

Verfahren eignet sich für die Akut-Diagnostik im Notfall-Labor im Gegensatz zu den noch mehr verbreiteten ELISA-Techniken.

Schrifttum:

1. A. S. Dofferhoff, V. J. Bom, H. G. de-Vries-Hospers, J. van-Ingen, J. d. Meer, B. P. Hazenberg, P. O. Mulder, J. Weits, *Crit. Care Med.* 1992, 20, 185-192.
2. E. Lalli, R. Meliconi, R. Conte, A. Mancini, M. Ugucioni, G. F. Stefanini, G. Gasbarrini, *Dig Dis Sci*, 1992, 37, 1116-1120.
3. T. Müller, S. Schneider, H. Sprenger, A. Steinmetz, G. Hocke, H. Ebel, D. Gemsa, H. Lange, *Transplant Proc* 1992, 24, 2731-2734.

## Aktive und inaktive Phospholipase A<sub>2</sub> im Serum bei Patienten mit akuter Pankreatitis

Johannes Aufenanger, Michael Plüttmann, Michael Samman, Wilma Zimmer, Reinhard Kattermann  
Klinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg,  
Institut für Klinische Chemie am Klinikum Mannheim,  
Postfach 10 00 23, D-6800 Mannheim

Der Stellenwert der Serum-Phospholipase A<sub>2</sub>-Aktivität (PLA<sub>2</sub>) bei der akuten Pankreatitis als prognostischer und diagnostischer Marker wird in der Literatur kontrovers diskutiert (1). Wir haben eine empfindliche Methode entwickelt, die den katalytisch aktiven Anteil der pankreasabhängigen PLA<sub>2</sub> erfaßt (2).

Der Hauptteil der bei der akuten Pankreatitis im Serum auftretenden katalytisch aktiven PLA<sub>2</sub> ist hitzelabil und kann der inflammatorischen Typ II-PLA<sub>2</sub> zugeordnet werden. Durch Erhitzen des Serums (60° C) wird der Anteil der Typ II-PLA<sub>2</sub> komplett inaktiviert. Die Pankreas-abhängige PLA<sub>2</sub> (Typ I) erweist sich als sehr hitzeresistent (> 70° C für mehrere Stunden). Die im Serum verbleibende Restaktivität kann somit direkt der katalytisch aktiven Pankreas-PLA<sub>2</sub> zugeordnet werden. Die katalytisch inaktive pankreatische Pro-Phospholipase A<sub>2</sub> im Serum kann durch tryptische Spaltung aktiviert werden. Ihr Anteil ist gut korreliert mit der Serum-Amylase und -Lipase.

Das Serum wurde am 2. und 3. Tage post eventum auf das Vorhandensein von aktiver Pankreas-PLA<sub>2</sub> untersucht. Bei 10 von 30 Patienten konnte ohne zusätzliche Aktivierung katalytisch aktive hitzeresistente Pankreas-PLA<sub>2</sub> (4-31 U/l) im Serum nachgewiesen werden. Diese Patienten zeichnen sich durch komplizierte Krankheitsverläufe (Schock, Sepsis, pulmonale Komplikationen) aus, von denen 3 tödlich endeten. Patienten ohne nachweisbare aktive hitzeresistente PLA<sub>2</sub> hatten einen blanden Verlauf.

Der Nachweis von katalytisch aktiver Pankreas-PLA<sub>2</sub> im Serum scheint nach vorläufigen Untersuchungen mit einem komplizierten Krankheitsverlauf assoziiert zu sein und kann im Gegensatz zur Gesamt-Serum-PLA<sub>2</sub> wahrscheinlich als prognostischer Marker gewertet werden.

Schrifttum:

1. S. C. Kazmierczak, F. van Lente, E. D. Hodges, *Clin. Chem.* 37 (1991), 356-60
2. M. Plüttmann, J. Aufenanger, M. Samman, R. Kattermann, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem* (1993) (in press)

## CYFRA 21-1, Ein Serumtest für das monitoring von Lungentumor-Patienten: Biochemische Grundlagen und technische Erprobung

D. Banauch, H. Bodenmüller, B. Ofenloch-Hähnlle, D. Jaworek, A. Dessauer  
Boehringer Mannheim GmbH, Forschungszentrum Tutzing,  
D-8132 Tutzing

Der Serumtest auf CYFRA 21-1 enthält zwei monoklonale Antikörper, die spezifisch Cytokeratin 19 erfassen und keine Kreuzreakti-

vität mit anderen Cytokeratinen oder sonstigen Serumproteinen zeigen. Diese beiden Antikörper wurden aus einer Vielzahl von Cytokeratin-Antikörpern aufgrund ihrer hohen klinischen Sensitivität gegenüber Lungentumoren und Spezifität gegenüber benignen Lungenerkrankungen ausgewählt. Obwohl mit anderen Antikörpern ähnliche Standardkurven erhalten wurden, fielen sie hinsichtlich Sensitivität und Spezifität deutlich ab. Dies unterstreicht, wie wichtig die Auswahl geeigneter Epitope für einen diagnostischen Test ist.

Während im Serum von Normalpersonen nur geringe Immunreaktivität gefunden werden, treten bei Lungen-Carcinom-Patienten z. T. sehr hohe Serumwerte auf. Die Westernblot-Analyse der Serum-Analyte zeigte, daß die im Test erfaßten Komplexe z. T. höhere Molekulargewichte als Cytokeratin 19 aufwiesen. Die Cytokeratin 19-Fragmente liegen offenbar als Oligomere im Serum vor, wahrscheinlich mit Typ II Cytokeratinen komplexiert. Bei Dissoziation dieser Komplexe durch SDS-PAGE konnte als wesentliches Bruchstück ein 30 kD Protein charakterisiert werden.

In der technischen Erprobung wurden im unteren Konzentrationsbereich von 1-20 ng/ml Reaktions-Koeffizienten von weniger als 6% in der Serie bzw. weniger als 10% von Serie zu Serie gemessen. Die entsprechenden Variationskoeffizienten für den höheren Konzentrationsbereich (21-45 ng/ml) betragen weniger als 3% bzw. weniger als 5%. Der Test zeigt Linearität bis 55 ng/ml, die Standardkurven sind gut reproduzierbar. Interferenzen durch ikterische, hämolytische oder lipämische Seren konnten nicht beobachtet werden.

## Methodische und klinische Evaluierung zweier IgG-Subklassenbestimmungen

K. Berghoff\*, O. Schofer\*\*, W. Ehrenthal\*, G. Hafner\*, W. Prellwitz\*

\* Institut für Klinische Chemie und Labormedizin, Mainz  
\*\* Kinderklinik, Johannes Gutenberg Universität Mainz

IgG-Subklassenimbilanzen gehören zu den häufigsten Störungen des Immunsystems. Bei rezidivierenden Infektionen gehört die Subklassenanalyse zur Routinediagnostik. Eine nephelometrische Bestimmung sowie eine kombinierte Methode aus Mikroaffinitätschromatographie und Immunanalytik (ABICAP-System) wurden evaluiert und mit der RID verglichen. Bei der Nephelometrie liegt die Präzision intraassay und interassay zwischen 1,34 und 12,92%, beim ABICAP-System zwischen 7,18 und 22,21%. Die minimalen Nachweisgrenzen beider Methoden liegen für IgG1 und IgG2 bei 0,1 g/l, für IgG3 und IgG4 bei 0,02 g/l. Der Vergleich mit der RID ergab für IgG1 und IgG2 Korrelationskoeffizienten zwischen  $r = 0,854$  und  $r = 0,934$ , für IgG3 und IgG4 zwischen  $r = 0,732$  und  $r = 0,943$ .

Es wurden 400 Subklassenanalysen bei Kindern und 51 bei Erwachsenen durchgeführt, 50% waren pathologisch. Die Imbalanzen zeigten sich bei Kindern am häufigsten als IgG1 (18%) und IgG2 (21%) Erniedrigung sowie als IgG1 Erhöhung (19%). Klinisch sind pathologisch niedrige IgG1 und IgG2 Werte assoziiert mit passageren Hypogammaglobulinämien, M. Bruton und kombinierten Immundefekten. Erhöhte IgG1 Spiegel haben Kinder mit juveniler rheumatoider Arthritis, chronischen Infekten, Autoimmunerkrankungen und Granulozytenfunktionsdefekten. Erwachsenen hatten in 42% ein erniedrigtes IgG3. Klinisch imponierte dieser Defekt als rezidivierende bronchopulmonale Infektion.

Bei vergleichbaren Analysenergebnissen ist die vollautomatisierte Nephelometrie diagnostisch zu bevorzugen.

## ICP-AES und flammenlose AAS: Zwei analytische Alternativen für den diagnostischen Einsatz

H. P. Bertram

Lehrstuhl für Pharmakologie und Toxikologie  
der Universität Witten-Herdecke

Die in der anorganischen Analytik derzeit am häufigsten eingesetzten Verfahren sind die Plasma-Atomemission und die verschiedenen Varianten der flammenlosen Atomabsorption. Die Methoden können sich bei sachgerechter Anwendung sinnvoll ergänzen. Mit der ICP-AES als Multielement-Methode lassen sich bei einem Minimum an Probenvorbereitung rasche qualitative Aussagen machen. Ein Verdacht auf Intoxikation mit akzidentellen Spurenelementen läßt sich z. B. im Nativ-Urin in 10 Minuten verifizieren.

Marginale Unterversorgungen oder Überexpositionen an essentiellen Spurenelementen erfordern dagegen den Einsatz der nachweisstarken flammenlosen Atomabsorption. Für Quecksilber, Selen oder Arsen stehen die Kaltdampf- bzw. Hydrid-Variante der AAS zur Verfügung. Die übrigen metallischen Elemente lassen sich mit der elektrothermalen Variante der AAS ausreichend genau erfassen.

Präzision und Richtigkeit der Ergebnisse sind im spurenanalytischen Bereich in besonderem Maße abhängig von der „Probenvorgeschichte“. Probenahme und Probenvorbereitung sollten daher integraler Teil einer standardisierten Analysenvorschrift sein.

## Computerunterstützte Urinprotein Analyse – CUPA

Fritz Boege<sup>1</sup> und Manfred Lammers<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Poliklinik, Universität Würzburg

<sup>2</sup> Behringwerke AG, Marburg

Die immunchemische Bestimmung der renalen Leitproteine Albumin,  $\alpha_2$ -Mikroglobulin und IgG im Urin erlaubt die Zuordnung einer Proteinurie zu definierten Typen der renalen Läsion. Bei von Immun-Nephelometrie läßt sich diese quantitative Diagnostik mechanisieren. Sie ist für die Routineanforderung eine attraktive Ergänzung/Alternative zu elektro-phoretischen Verfahren<sup>1</sup>. Die Harnkonzentration von Proteinen hat eine große Variationsbreite. Antigenüberschuß kann zu falsch-niedrigen Meßwerten führen. Der zu erwartende Konzentrationsbereich und eine geeignete Probenverdünnung sollten daher vorher anhand der Gesamt-Proteinkonzentration ermittelt werden. Hier hat sich die nephelometrische Auswertung der Proteinfällung durch Trichloressigsäure als geeignetes und zuverlässiges Verfahren erwiesen<sup>2</sup>. Der Vergleich der Gesamtproteinkonzentration mit der kumulativen Konzentration der Einzelproteine erlaubt eine Plausibilitätskontrolle hinsichtlich Antigenüberschuß und prärenalen Proteinurien<sup>3</sup>. Letztere können gegebenenfalls durch direkte Messung der Immunglobulinleichtketten und die Berechnung der  $\kappa/\lambda$ -Leichtkettenquotienten überprüft werden. Das Behring Urinprotein-Analyseprogramm CUPA unterstützt den Untersucher bei der Durchführung der beschriebenen Urinanalytik mit den Behring-Nephelometersystemen (BNA, BN 100) in interaktiver Weise: 1. bei der Auswahl geeigneter Vorverdünnungen, 2. bei der Kontrolle der Plausibilität, 3. bei der Zuordnung der erhaltenen Meßwertkonstellationen zu entsprechenden Proteinurietypen. Das Programm hat vor allem die Aufgabe, dem Untersucher eine technische Hilfestellung zu geben und ist in zweiter Linie ein Befundungsprogramm.

Schrifttum:

1. F. Boege, F. Liebermann, A. Luther, U. Gilge & A. Heidland (1990) Lab. Med. 14: 243-249.
2. F. Boege & A. Luther (1989) Lab.med. 13: 14-19.
3. F. Boege, B. Koehler & F. Liebermann (1990) J. Clinical Chemistry Clinical Biochemistry 28: 37-42.

## Strukturmerkmale für die Nephropathogenität von Bence Jones-Proteinen: pI, Dimerisierungsgrad und pH-abhängige Ladungsverteilung

Fritz Boege, Frank Gieseler, Monika Merkle und Heide Rückle  
Medizinische Poliklinik, Universität Würzburg, Hauptlabor

**Hintergrund:** Bence Jones-Proteine (BJP) sind aufgrund unbekannter Struktureigenschaften potentiell nephropathogen. Nephroprotektive Therapiekomponenten erfordern eine diagnostische Vorhersage dieser Nephropathogenität.

**Vorgehen:** Wir haben in 31 Fällen isoelektrischen Punkt (pI), Molekulargewicht und pH-abhängige Ladungsverteilung (TC) von BJP mit dem renalen Verlauf der Erkrankung (definiert durch Retention und renale Proteinurie) verglichen.

**Resultate:** Klinisch imponiert die renale Antwort auf BJPurie jeweils durch eine der folgenden Konstellationen<sup>1</sup>: (1) keine Nephropathie; (2) schwere Retention ohne Proteinurie; (3) glomeruläre u/o tubuläre Proteinurie ohne/mit geringer Retention. Die zugehörigen BJP konnten diesen Verläufen am besten aufgrund der TC-Typen zugeordnet werden: (1) Niedriger pI und starker Negativladung bei pH > pI kamen bei schwerer Retention (5/9) oder fehlender Nephropathie (4/9) vor. (2) Neutraler pI, schwach-positive Ladung bei pH < pI, und schwachnegative Ladung bei pH > pI herrschten bei Glomerulopathie vor (9/12). (3) Alkalischer pI und schwach positive Ladung bei pH < pI waren typisch (9/10) für Tubulopathie. pI-Analyse alleine reichte nicht zur Beurteilung. Darüber hinaus wurde ein geringer Dimerisierungsgrad (< 20%) signifikant häufiger (p < 0,05) bei schwerer Retention beobachtet.

**Folgerungen:** Unsere Daten stützen eine ladungsbezogene Hypothese der BJP-Nephropathie. TC-Analyse ist hierbei aussagekräftiger als pI-Bestimmung. Zusätzlich spielen Sulfhydrylaustauschreaktionen eine Rolle.

**Therapeutische Konsequenzen:** (1) Beeinflussung des Urin-pH. (2) Sulfhydrylreduktion durch Natriumthiosulfat.

Schrifttum:

1. F. Boege, M. Merkle, R. Homeyer, F. Gieseler, Lab. Med. in press

## BODIPY-CGP 12177, ein fluoreszierender Ligand für die subzelluläre Analyse von $\beta$ -adrenergen Rezeptoren

Fritz Boege<sup>1</sup>, Helmut Reiländer<sup>2</sup>, Dieter Hallmann<sup>3</sup>,  
Ernst J. M. Helmreich<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Poliklinik, Univ. Würzburg

<sup>2</sup> MPI f. Biophysik, Frankfurt/Main

<sup>3</sup> MPI f. Biophysikalische Chemie, Göttingen

<sup>4</sup> Medizinische Klinik, Univ. Würzburg

Die Expressionsdichte und Verteilung  $\beta$ -adrenerger Hormonrezeptoren ( $\beta$ AR) in peripheren Lymphozyten und Myokardiobiopsaten sind ein wichtiges prognostisches Kriterium bei der Beurteilung der Herzinsuffizienz.  $\beta$ AR sind schlechte Antigene. Es ist weltweit nicht gelungen, Antikörper herzustellen, die sich für immunhistochemische Zwecke oder FACS-Analysen eignen würden. Diese Untersuchung sind daher auf den Einsatz von Radioliganden angewiesen und können bislang nicht einzellorientiert durchgeführt werden. Wir haben den alternativen Weg fluoreszierender Hormonanaloga eingeschlagen und ein Boron-Dipyrromethan (BODIPY) Derivat des hydrophilen  $\beta$ -adrenergen Antagonisten CGP-12177 synthetisiert. Durch diese Kombination eines hochaffinen- und hochspezifischen  $\beta$ -adrenergen Liganden mit einem Fluorophor, das höchste Quantenausbeuten im wässrigen Milieu

gewährt, erhielten wir eine Probe mit der sich  $\beta$ AR in einzelnen Zellen hochsensitiv und -spezifisch anfärben und messen lassen. Diese Messung kann wahlweise durch Fluoreszenzmikroskopie und Photonen-zählung (Gewebeschnitte) oder durch FACS-Analyse (Blutzellen) geschehen. Schließlich haben wir BODY-CGP 12177 auch eingesetzt um die Verteilung der  $\beta$ AR in der Membran lebender Zellen durch Scanning-Laser-Fluoreszenz-Mikroskopie darzustellen. Als Modellsystem dienten uns hierbei Sf9 Insektenzellen, die mit dem menschlichen  $\beta_2$ AR stabil transkribiert wurden und  $2-3 \times 10^5$  Rezeptoren/Zelle exprimieren. Wir glauben, daß BODIPY-CGP 12177 in der Zukunft ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel sein könnte.

## Die Analyse der Zytostatika-Empfindlichkeit nukleärer Topoisomerasen als Kontrollwerkzeug in der Chemotherapie maligner Erkrankungen

Fritz Boege und Frank Gieseler  
Medizinische Poliklinik, Hauptlabor, Universität Würzburg

Topoisomerasen sind DNS-modifizierende Enzyme die bei Zellproliferation und -Differenzierung eine entscheidende Rolle spielen. Viele klinisch relevante Zytostatika (z. B. Anthrazykline, Podophyltoxine, Camptothecine) wirken als spezifische Topoisomerasehemmstoffe. Sie stabilisieren kovalente Enzym-DNS-Komplexe und verwandeln so Topoisomerasen in proliferationsassoziierte Zellgifte. Zytostatikaresistenz kann entstehen, indem maligne Zellen resistente Topoisomerasesubformen exprimieren<sup>1</sup>. Nach Extraktion und chromatographischer Fraktionierung können wir die Zytostatikaempfindlichkeit solcher Subformen einzeln analysieren<sup>2</sup>. Wir konnten hierbei eine strukturelle Enzymvariante identifizieren, die primär resistent ist. Diese zytostatikaresistente Form der Topoisomerase zeichnet sich durch eine erhöhte Proteinnettoladung, ein verändertes katalytisches pH-Optimum, eine erhöhte DNA-Affinität und ein verändertes nukleäres Verteilungsmuster aus. Sie bildet in sensitiven Leukämiezellen nur einen sehr geringen Anteil (10–20%) der gesamten Enzymaktivität, herrscht jedoch in resistenten Zellen vor (80–90%). Wir glauben aufgrund dieser Daten, daß die Expression zytostatikaresistenter Topoisomeraseformen bzw. die Fähigkeit zur Modulation der Sensitivität eine konstitutionelle Eigenschaft vieler maligner Zellen ist, die einen Teil der klinisch zu beobachtenden Therapieresistenzen erklären könnte. Es erscheint uns daher sinnvoll bei Einsatz von Topoisomerasegiften in der zytostatischen Chemotherapie, die Empfindlichkeit des Zielproteins prä/peritherapeutisch in der von uns vorgeschlagenen<sup>3</sup> Weise auf molekularer Ebene zu überprüfen, um gegebenenfalls einen Wechsel des Therapieprotokolls zugunsten von Substanzen mit anderem Wirkmechanismus vorzunehmen.

### Schrifttum:

1. F. Gieseler, F. Boege & M. Clark (1990) *Env. Health Perspect.* 88: 183–185.
2. F. Boege, F. Gieseler, H. Biersack & M. Clark (1991) *J. Chromatogr.* 587, 3–9.
3. F. Boege, F. Gieseler, H. Biersack & P. Meyer (1992) *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 30, 63–68.

## Troponin T: A new era in the diagnosis of ischaemic heart disease

G. Bölz, D. Banauch, K. Hallermayer, U.-M. Juhl, H. Katus\*, P. Kerth, H. Lill, S. Looser and W. Melchior  
Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31, Germany  
University of Heidelberg, Innere Medizin III, D-6900 Heidelberg, Germany

Troponin T as part of the contractile apparatus is present in a variety of muscle cells. The cardiac specific isoform is expressed

intracellularly in high concentrations. Release of the antigen into the circulation results from cardiac cell damage during ischaemic attacks.

Troponin T is isolated from human cardiac tissue. Monoclonal antibodies are obtained by conventional hybridoma technology. A one-step sandwich assay is developed for the Enzymun-Test® systems ES 22/ES 33/ES 300/ES 600/ES 700 which are based on streptavidin precoated tubes. In the serum sample troponin T antigen is recognized by biotinylated and peroxidase-labelled antibodies binding to different epitopes on the troponin T molecule.

The identity of the antigen bound is confirmed by partial N-terminal analysis and determination of amino acid composition. Specificity of the biotinylated antibody versus cardiac troponin T is proven by immunoblot analysis.

The assay incubation time is 1 hour, followed by a peroxidase/ABTS® substrate reaction of 30 minutes. Test results are calculated using a standard curve comprised of 6 standards (concentration range 0–15 ng/ml). Standard material is bovine troponin T within a human serum matrix.

The method is precise, intra assay CV, ranging from 2.2 to 5.9% (ES 22) or 0.7 to 1.3% (ES 600). Inter assay (lab to lab) are 3.3 to 4.9% within the measuring range. Sensitivity (lower detection limit), defined as X (mean) + 3 SD of the zero standard, is 0.04 ng/ml. Overall assay specificity is > 98%. No cross reactivity is found with other myofibrillar proteins like tropomyosin, actin or myosin light chain.

Troponin T is not found in normals. Troponin T serum levels correlate with the severity of ischaemic myocardial cell damage. These characteristics may contribute to a significant improvement in the diagnosis of ischaemic heart disease.

## Molekularbiologische Mykobakterien-Diagnostik

Erik C. Böttger  
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Med. Hochschule Hannover, 3000 Hannover 61

Die Strukturbesonderheiten ribosomaler rNS erlauben über vergleichende 16S rNS Sequenzanalyse die Charakterisierung und Identifizierung von Organismen auf molekularer Ebene sowie die Entwicklung von hochspezifischen DNS-Sonden. Prinzipiell können derartige ribosomale Genensonden zum einen für die in-situ Hybridisierung intakter Bakterienzellen (1) und zum anderen in der Polymerase-Kettenreaktion zum sensitiven Nachweis von Mykobakterien (2) eingesetzt werden. Diese Verfahren bedürfen jedoch weiterer Entwicklungsarbeit und klinischer Erprobung, bevor sie routinemäßig zum Einsatz kommen können. Traditionelle Verfahren zur Identifizierung von Mykobakterien benötigen mehrere Wochen bis Monate und liefern häufig genug zweifelhafte Ergebnisse. Demgegenüber erlaubt die Bestimmung der 16S rNS Sequenz schon heute die absolut sichere Artenbestimmung sämtlicher kultivierter Mykobakterien innerhalb von weniger als zwei Tagen (3, 4). Darüber hinaus ermöglicht diese Strategie die rasche Erkennung neuer, noch nicht beschriebener Arten von Mykobakterien (5). Die routinemäßige Identifizierung von Mykobakterien über 16S rNS Sequenzermittlung zeigt, daß das Genus Mykobakterium wesentlich komplexer ist als bisher angenommen, was auf die teilweise nur unvollständige Diskriminierungsmöglichkeit traditioneller Identifizierungsverfahren zurückzuführen ist (4). Klassischerweise erfolgt der Nachweis der bakteriellen Genese einer Infektionskrankheit über kulturelle Isolierung und anschließende Identifizierung des Erregers, ein Zugang, der unser Verständnis pathogener Bakterien im wesentlichen auf kultivierbare Mikroorganismen beschränkt. Der Einsatz von synthetischen Oligonukleotiden, die homolog zu hochkonservierten Regionen innerhalb der 16S rNS sind, erlaubt die Amplifikation von 16S

rDNS Genfragmenten mittels der Polymerase-Kettenreaktion für praktisch jeden beliebigen bakteriellen Organismus und eröffnet einen neuen Zugang zur Klärung der Ätiologie von Infektionskrankheiten, die durch nichtkultivierbare Mikroorganismen ausgelöst werden (6, 7, 8).

Schrifttum: --

1. Arnoldi et al., Lab. Invest. (1992) 66: 618-623
2. Böddinghaus et al. J. Clin. Microbiol. (1990) 28: 1751-1759
3. Rogall et al. J. Gen. Microbiol. (1990) 136: 1915-1920
4. Kirschner et al. Diagnostic Molecular Microbiology, in press
5. Haas et al. J. Infect Dis. (1993) 167: 237-240
6. Böttger et al. Lancet (1992) 340: 76-80
7. Hofer et al. N. Engl. J. Med., in press
8. Meier et al. J. Clin. Microbiol. (1993) 31: 646-652

## Standardization of allergens for immunoassay

Å. Borgå, T. Karlsson, H. Perborn, I. Holmquist, A. Lindqvist, L. Yman

Kabi Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden

The efficiency of an assay for measurement of specific IgE antibodies is dependent on the quality and reproducibility of the allergen source material. The capacity of the solid phase to separate bound and unbound IgE is determined by the presence and accessibility of relevant allergenic components.

Carefully selected peanut, timothy and *Aspergillus fumigatus* extracts were incubated with the activated ImmunoCAP solid phase. All allergenic components detectable by multispecific IgE-sera were essentially removed as judged by SDS-gPAGE and immunoblotting. It was shown that all IgE antibodies specific for the allergenic components of the native extracts were bound to the relevant ImmunoCAP. Consequently, it was demonstrated that these allergens were present on the ImmunoCAP and accessible to serum IgE-antibodies.

An allergen excess of approx. 25 times could be demonstrated for timothy pollen ImmunoCAP's indicating a true allergen excess.

The ImmunoCAP was able to retain 80-90% of the antibodies in 50 µl serum samples containing 5-87 kU<sub>A</sub>/L.

The basic requirements for quantitative measurements of specific IgE-antibodies are consequently met.

## Neue Programmiersoftware zur Adaption fotometrischer Testmethoden auf dem Du Pont Analysensystem Dimension AR®

Rolf Bosse, Martin Fuhrer, B. Volker Kraft, Gerrit Salemink  
Du Pont de Nemours (Deutschland) GmbH, Abt. Diagnostika  
und Biotechnologische Systeme, Du Pont Straße 1,  
W-6380 Bad Homburg v. d. Höhe

Wir zeigen die umfangreiche, sehr elegante Möglichkeit, der Programmierung von Spezial-Tests und Sonder-Methoden auf dem Du Pont Klinischen Chemischen Analysensystem Dimension AR® mittels der neuen Software - Offene Kanäle.

Die Möglichkeiten der Programmierung umfaßt ein weites Spektrum der Klinischen Chemie, wie z. B.: Cyclosporin A, GLDH, Zink, Phospholipase A. Programmierbar sind auch verschiedene Gerinnungsfaktoren, wie AT III, F XIII, F Xa, Fibrin-Monomere, Protein C, Plasminogen, und viele andere Methoden.

Für jede Methode können bis zu sechs verschiedene Reagenzien, deren Haltbarkeit sowie Kalibrations-Stabilität programmiert werden.

Die Ergebnisberechnung ist sehr flexibel, umfaßt lineare und nicht lineare Reaktionsabläufe und kann für verschiedene Meßpunkte programmiert werden.

Es wird gezeigt, wie durch Programmieroptionen kritische Reaktionsparameter, wie Linearität, vorzeitiger Substratverbrauch, Meßbereiche, Präzision und Richtigkeit überwacht werden.

Die Anwendung und Programmierung ist sehr einfach und „software guided“.

## Zur Leistungsfähigkeit der Neutronenaktivierungsanalyse bei der Qualitätssicherung von Spurenelementbestimmungen in Humanproben

P. Brätter, D. Gawlik und U. Rösick

Hahn-Meitner Institut Berlin, Abt. Spurenelemente in Gesundheit und Ernährung

Bei der Feststellung von Spurenelementdefiziten ist es oft notwendig in Humanproben Konzentrationen zu bestimmen, die sehr viel niedriger liegen als die zertifizierten Referenzbereiche von Standards. Bei Fehlen von matrix- und meßbereichanalogen Referenzmaterialien kann eine Qualitätssicherung nur noch durch den Vergleich der Ergebnisse erfolgen, die mit Hilfe voneinander unabhängiger Analysemethoden erhalten wurden.

Die Neutronenaktivierungsanalyse (NAA) ist eine Methode der nuklearen Chemie, die sich besonders wegen ihrer Blindwertfreiheit, Unabhängigkeit vom Bindungszustand der Elemente und Nachweisstärke als Vergleichsmethode zu den im Labor häufiger eingesetzten Techniken der Atomabsorptions- und Atomemissionsspektrometrie eignet. Ein Minimum an Probenvorbehandlung (nur Trocknung) ermöglicht die Kontrolle der aufwendigeren voranalytischen Maßnahmen, die bei anderen spurenanalytischen Methoden notwendig sind, hinsichtlich der Elementverluste und Kontamination. Bei Einbeziehung radiochemischer Trennverfahren lassen sich mittels NAA z. B. in einer Serumprobe von 200 µl bis zu 24 Elemente gleichzeitig bestimmen, wenn die Bestrahlung der Probe im Neutronenfeld eines Forschungsreaktors durchgeführt werden kann.

Prinzip, Möglichkeiten und Grenzen der NAA werden dargestellt. Der Methodenvergleich mit der NAA wird anhand der Ergebnisse aus AAS-Analysen für die Selenbestimmung in Seren von TPN-Patienten (Gehalte zwischen < 3 µg/L und 90 µg/L) gezeigt.

## „High-Risk“-Mammakarzinome mit Amplifikationen der Onkogene erb B-2 und c-myc

B. Brandt<sup>1</sup>, U. Vogt<sup>1,4</sup>, F. Harms<sup>1,4</sup>, C. Jacksich<sup>2</sup>, K. S. Zänker<sup>3</sup>, H. P. G. Schneider<sup>3</sup>, G. Assmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Klinische Chemie<sup>1</sup>, <sup>2</sup>Zentrum für Frauenheilkunde<sup>2</sup> der Westf. Wilhelms-Univ. Münster, Univ. Witten Herdecke<sup>3</sup>

Parameter der Tumorbiologie haben als Kriterien für die Prognose des primären Mammakarzinoms und für die Therapieentscheidung Eingang in die Klinik gefunden. Die St. Galler Consensus-Konferenz 1992 empfiehlt den Lymphknotenstatus, die Tumorgroße, den Hormonrezeptorstatus und den Menopausenstatus als Klassifikationsparameter für die adjuvante Therapie. Mit der Kenntnis von Onkogenen und ihrer Mutationen eröffnet neue Möglichkeiten spezifische Informationen für eine Individualisierung von Prognose und konventioneller Therapie zu ermitteln. An 130 primären Mammakarzinomen der Universitätsfrauenklinik

Münster ermittelten wir die Amplifikation der Onkogene erb B-2 und c-myc mit einer von uns entwickelten Methode der differentiellen Polymerasekettenreaktion (PCR) (1). 29% der Tumoren waren T1, 43% Östrogenrezeptor positiv und 48% der Patienten N-, 41% prämenopausal. Die Länge des metastatenfreien Intervalls war negativ korreliert mit einer erb B-2 Amplifikation ( $> 3$ ,  $p > 0,05$ ) im gesamten Patientengut, bei Patienten, die adjuvant eine Chemotherapie (CMF) erhielten und bei postmenopausalen Patienten. Patienten mit Tumoren mit einer c-myc-Amplifikation ( $> 3$ ) hatten ein verkürztes Gesamtüberleben ( $p < 0,05$ ) und verstarben früher nach einer adjuvanten Chemotherapie ( $p < 0,05$ ). Keine Korrelationen bestanden für beide Onkogene zur Tumorgröße, zum Lymphknotenstatus, zum Hormonrezeptorstatus und zum histologischen Typ. Die Studie zeigt, daß Amplifikationen der Onkogene erbB-2 und c-myc in primären Mammakarzinomen die Identifikation von „high-risk“ Patientinnen ermöglicht und innerhalb dieses Kollektivs neue Therapieentscheidungen erforderlich macht.

#### Schrifttum:

1. B. Brandt, U. Vogt, F. Harms, C. Jackisch, K. S. Zänker, G. Assmann: Detection of Erb B-2, Erb B-3 and C-Myc-Amplification in Breast Cancer Tissue. *Breast Cancer Res. Treatm.* 23: 176, 1992.

## Überprüfung und Optimierung der Labororganisation mit Methoden der Systemforschung

S. L. Braun<sup>1</sup>, W. Vogt<sup>1</sup>, G. Berchtold<sup>2</sup>, H. Blaschke<sup>2</sup>, F. Liebl<sup>2</sup>, F. Hanssmann<sup>2</sup>, M. Eckert<sup>2</sup>, G. Hoffmann<sup>3</sup>, S. Klose<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie u. Laboratoriumsmedizin, Deutsches Herzzentrum München

<sup>2</sup> Seminar für Systemforschung, Universität München

<sup>3</sup> Boehringer Mannheim GmbH

Eine wichtige Managementaufgabe ist die Anpassung der Leistungsfähigkeit des Laboratoriums an die medizinischen und wirtschaftlichen Bedürfnisse. Daraus können sich Änderungen in der Labororganisation, der Geräteausstattung und/oder der Personalplanung ergeben, die bisher ausschließlich auf der Grundlage der persönlichen Erfahrung entschieden werden müssen. Die Betriebswirtschaft verfügt jedoch über moderne Management-Methoden, die solche Entscheidungen auf eine rationale Basis stellen. Kostenrechnung und Controlling haben bereits teilweise Eingang in die Laboratoriumsmedizin gefunden, dagegen sind Methoden der Systemforschung (operation research) noch weitgehend neu auf diesem Gebiet.

Ziel unserer Arbeit war in einer ersten Stufe die Modellierung der Labororganisation auf Computern, die die Möglichkeit bietet, Zustandsänderungen des Labors in der Zeit abzubilden und zu simulieren. Dazu war zunächst eine äußerst detaillierte Erfassung des Systemdesigns und des Auftragsstroms erforderlich. Anschließend wurde mit der Simulationssprache „SIMSCRIPT II.5“ ein Computermodell des Labors erstellt, das den Auftragsstrom mit dem Systemdesign verknüpft und daraus die Leistungsdaten ermittelt. In einem dritten Schritt erfolgte die Validierung des Modells durch Vergleich der vom Simulationsmodell ermittelten Leistungsdaten mit den tatsächlich registrierten Durchlaufzeiten. Iterative Korrekturen und Verbesserungen des Modells führten schließlich zu einer Version mit guter Übereinstimmung mit der Realität. Damit ist es möglich, den Durchlauf eines Untersuchungsauftrags detailliert zu verfolgen, die Auslastung von Personal und Geräten darzustellen und in Planungsexperimenten die Auswirkungen von Veränderungen im Auftragseingang, dem Personalstand und der Geräteausstattung auf Durchlaufzeiten, Warteschlangen und Auslastung zu untersuchen.

## Etablierung der Naturwissenschaftler in der europäischen Labormedizin

Josef Breuer

Marienhospital Gelsenkirchen, Zentrallabor, 4650 Gelsenkirchen

In medizinischen Laboratorien in Europa arbeiten viele Naturwissenschaftler. Das Zahlenverhältnis zu den Akademikern, die medizinisch ausgebildet sind, ist in den einzelnen Ländern sehr unterschiedlich. Einheitlich ist, daß die Mediziner bessere Positionen bekleiden als die Naturwissenschaftler. An den Beispielen Frankreich und Deutschland wird gezeigt, wie groß die Bandbreite der Stellung der Naturwissenschaftler in medizinischen Laboratorien ist. Es ist daher dringend geboten, die Etablierung der Naturwissenschaftler zu vereinheitlichen und zu verbessern. Eine Möglichkeit wäre die Aufstellung eines europäischen Registers für anerkannte Klinische Chemiker.

## New, highly sensitive, and specific differentiation method between hepatocellular carcinoma and benign liver diseases by using a lectin-affinity electrophoresis of $\alpha$ -fetoprotein

P. Bronner-Kanellakopoulos<sup>1</sup>, K. Shimizu<sup>2</sup>, S. Satomura<sup>2</sup>, S. Matsuura<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wako Chemicals GmbH, W-4040 Neuss 1

<sup>2</sup> Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka Research Laboratory, 6-1, Takada-cho, Amagasaki, 661, Japan

Since the interest in the early detection of liver diseases is growing, Wako has developed a new product „ATP Differentiation Kit L“ for the determination of microheterogeneity of  $\alpha$ -fetoprotein (AFP). AFP is commonly used as a liver-tumor marker in the clinical diagnosis. In this new procedure, serum AFP is first fractionated by a lectin-affinity electrophoresis followed by antibody-affinity blotting. Separated AFP bands are visualized by immunoenzymatic reaction with a peroxidase conjugate. Lens culinaris agglutinin A-reactive AFP (L3) in sera of patients with chronic hepatitis (CH) and cirrhosis (LC) are determined and compared with this in sera of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) of varying stages. The proportion of L3 is measured by densitometry and expressed as percentage of total AFP. Investigations on 424 patients give the following results:

L3 proportions averaged are  $5.7 \pm 4.9\%$ ,  $6.7 \pm 5.8\%$ , and  $24.9 \pm 22.0\%$  for patients having CH, LC, and HCC, respectively. The sensitivity is 3 ng/mL in one band with 4  $\mu$ L serum. Detection is linear up to about 200 ng/mL of total AFP values. Maximum diagnostic efficiencies of L3 are obtained when the cut-off values are set at 15% for L3. With this cut-off value, the specificities of L3 determined on cases with the benign liver diseases are 93.9% and the sensitivities of L3 for HCC are 55.3%. The C.V. of L3 proportion is below 4% and 8% in a within and a between-run, respectively.

The results indicate that the fractionation of AFP with this new kit provides more specificity and sensitivity for the discrimination between HCC and benign liver diseases as compared with the usual method.

## Standardization and performance of the KODAK EKTACHEM clinical chemistry slide (ALC) for ethanol analysis

G. Brotéa

Eastman Kodak Company, Clinical Diagnostics Division, Rochester, NY 14650, USA

The KODAK EKTACHEM Clinical Chemistry Slide (ALC) for ethanol analysis is based on the oxidation of ethanol to acetaldehyde cat-

# Perfektion in Vollendung



## Das vollkommene Analysenteam von Behring! Hepatitis-B-Reagenzien und ELISA-Prozessoren.

Das Analysenteam bietet:

- Die vollständige Hepatitis-B-Palette, Enzygnost® HB<sub>s</sub> Ag monoclonal, Anti-HB<sub>s</sub> micro, Anti-HBc monoclonal, Anti-HBc IgM, HBe, Anti-HBe in bewährter Behring Qualität und höchster Präzision.
- Flexibilität in der Anpassung an das Labor durch unterschiedliche Analyser für alle Serienlängen.
- Enorme Sicherheitsvorteile durch Barcode-Identifizierung von Mikrotitrationsplatten, Einzelriegeln und Reagenzien.
- Vereinfachtes Handling durch weitgehende Automatisierung und geringe Zahl an Arbeitsschritten.

Behringwerke AG  
Postfach 11 40, 3550 Marburg/Lahn

Behringwerke AG  
Med. Information und Verkauf  
Postfach 1212  
6237 Liederbach 1



**L. Thomas:  
»Labor & Diagnose«**

**Das Standardwerk  
der Labordiagnostik**

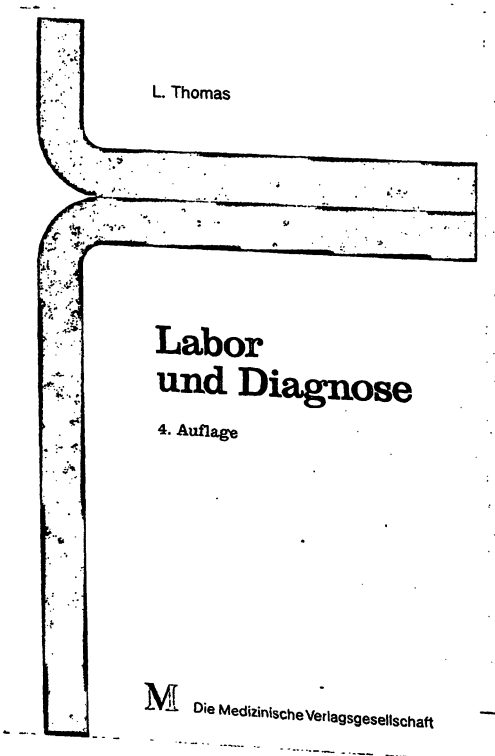
**NEU:**

**4. überarbeitete  
und erweiterte Auflage**

**1936 Seiten**

**Über 500 Laborparamete**

Enzyme – Stoffwechsel – Wasser- und Elektrolythaushalt – Säure-Basen-Gleichgewicht und Blutgase – Mineralhaushalt, Nebenschilddrüse, Harnsteine – Eisenstoffwechsel, Spurenelemente, toxische Metalle – Niere und Harnwege – Gastroenterologie – Porphyrie – Blutbild – Blutstillung und Fibrinolyse – Plasmaproteine und »passenger« proteins – Immunsystem – Blutgruppen, Haupthistokompatibilitätsantigene und Krankheitsrisiken – Tumormarker – Endokrinologie – Schwangerschaftsüberwachung, Neugeborenen-Screening – Pharmaka und exogene Gifte – Serologische Diagnostik infektiöser Erkrankungen – Liquor, Synovialflüssigkeit, Bronchoalveoläre Lavage und andere Körperflüssigkeiten – Ausgewählte Aspekte der Laboratoriumsmedizin





alyzed by yeast alcohol dehydrogenase (ADH; EC 1.1.1.1), with monitoring of NADH formation at 340 nm by reflectance spectroscopy. Values are assigned to calibrators using patient specimens as reference material in a split-sample comparison between the reference method and the slide. Patient sample results are obtained using a headspace gas chromatography reference method calibrated with an aqueous standard obtained from the National Institute of Standards and Technology (NIST, Gaithersburg, MD, USA, SRM 1828). The reference method is accurate and precise. Results are within 1 SD of the target values for College of American Pathologists survey samples, and the CVs are between 1.47% and 2.39% across the dynamic range. Recoveries are within 5% of expected results, and the method is linear up to 600 mg/dL. Operator and matrix sensitivities are minimal.

The KODAK EKTACHEM Clinical Chemistry Slide (ALC) yields precision of approximately 2% CV at ethanol levels of 90 and 190 mg/dL, and linearity up to 300 mg/dL. Results obtained for patient specimens demonstrate excellent accuracy (regression statistics: Slope = 1.007, Intercept = 0.45,  $r^2 = 0.990$ ,  $S_{y,x} = 7.8$ ,  $y = \text{EKTA-CHEM Analyzer}$ ). Over 100 endogenous and exogenous substances were evaluated to identify interferences, and only isopropanol, ethylene glycol, and primary alcohols from C3 to C6 were found to cause significant bias. Patient specimens containing these alcohols are routinely identified and excluded from the samples used in the standardization process.

We conclude that the KODAK EKTACHEM Clinical Chemistry Slide (ALC) provides precise and accurate results, with accuracy traceable to NIST SRM 1828.

## Erprobung des RA-2000 von Bayer Diagnostic mit Spezialmethoden

A. Bruckner<sup>1</sup>, R. Weber<sup>2</sup> und Chr. Trendelenburg<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Institut für Laboratoriumsmedizin, Städtische Kliniken Frankfurt a. M.-Höchst, Gotenstr. 6-8, 6230 Frankfurt a. M. 80  
<sup>2</sup> Bayer Diagnostic GmbH, Med. Wiss. Abteilung, Weißenseestr. 101, 8000 München 90

Unter Verwendung der leistungsfähigen Auswertalgorithmen des RA-2000 prüften wir die Einsetzbarkeit dieses Analysensystems für verschiedene Methoden, die nicht zur klassischen Routine gehören, in einem großen Zentrallabor aber zum Teil täglich, automatisiert und möglichst kostengünstig aus unterschiedlichen Materialien bestimmt werden müssen.

Die folgenden Methoden wurden appliziert:  
Urin: Drogenscreening, Gesamtprotein, Kreatinin, N-Azetyl- $\beta$ -D-Glukosaminidase, Mikroalbumin, IgG,  $\alpha$ -1-Mikroglobulin,  $\alpha$ -2-Makroglobulin. Plasma: Antithrombin III, Faktor XIII. Liquor: Liquorprotein. Serum: Alkohol, N-Azetyl-Neuraminsäure.

Die adaptierten Methoden werden mit ihren Auswertverfahren tabellarisch dargestellt. Weiterhin wird gezeigt, daß bei speziellen Applikationen mit Simulationsrechnungen (1) die generelle Applizierbarkeit einer Methode vorgeprüft werden kann.

Schrifttum:

1. Hämmerlin-Hoffmann: Numerische Mathematik, Springer Verlag, 1992

## Analytik der glykierten Hämoglobine mittels HPLC – Automatisierung und analytische Sicherheit

P. Brüggmann, Dr. H. Ziervogel  
DIGITANA AG, Weidestraße 118 b, 2000 Hamburg 76

Vorgestellt wird ein Gerätekonzept zur Automatisierung der HPLC-Analytik glykierter Hämoglobine.

Der japanische Hersteller JOKOH, in Deutschland und der Schweiz vertreten durch die DIGITANA AG, offeriert mit dem HPLC-Vollautomat HS-8 eine Systemlösung, die sich durch Schnelligkeit und analytische Sicherheit auszeichnet. Das Verfahren setzt sich von herkömmlichen chromatographischen Techniken dadurch ab, daß die Probe (EDTA-Blut) direkt verarbeitet wird und nach 3,5 Minuten bereits das Resultat vorliegt.

Ältere Verfahren können die bei der Glykierung des Hämoglobins auftretende labile Aldiminform nicht separat bestimmen und müssen sie in einer zeitaufwendigen Prozedur vor der eigentlichen chromatographischen Trennung entfernen. Automatisierungsbestrebungen sind dadurch stets limitiert.

Die optimierte Säulentchnik und eine automatische Prozeßkontrolle bieten die Gewähr, daß der HS-8 eine deutliche Verbesserung der analytischen Qualität ermöglicht.

Es wird über Messungen zur Präzision, Linearität sowie zur Probenstabilität berichtet.

## Measurement of reticulocyte cellular indices and iron-deficient erythropoiesis in normal subjects during r-HuEPO administration

Carlo Brugnara, M. D., Gregory M. Colella, B. S., John Cremisn, B. S., Robert C. Langley, Jr. Ph. D., Thomas J. Schneider, B. S., Cynthia J. Rutherford, M. D. and Mark A. Goldberg, M. D.  
Department of Pathology and Clinical Laboratories, The Children's Hospital, Hematology/Oncology Division, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115 and Miles Inc., Tarrytown, NY 10591

The evaluation of cellular indices (MCV, MCH, MCHC) of mature cells has become a standard component in the differential cellular diagnosis of anemias. Up to now, no data were available on the diagnostic value of measuring these parameters in reticulocytes.

We have used a prototype Miles H\*3 Hematology Analyzer to evaluate these indices in 24 subjects randomly assigned to one of three different subcutaneous (SC) r-HuEPO (Procrit®, Ortho Biotech) administration protocols (I: 300 U/kg on days 1, 4, 7, 10; II: 400 U/kg on days 1, 5, 9; III: 600 U/kg on days 1/10) with oral iron supplementation (Niferex® 150 mg, BID). SC-r-HuEPO administration was associated with the appearance of reticulocytes with low hemoglobin content (defined as with cell hemoglobin content, CHr, less than 23 pg). At baseline, 5.6%  $\pm$  2.7, 6.9%  $\pm$  3.4 and 8.3%  $\pm$  3.8 of reticulocytes had less than 23 pg of Hb in groups I, II, and III, respectively. In groups I and II, 39%  $\pm$  15 and 40%  $\pm$  21, respectively, of reticulocytes had CHr values lower than 23 pg at day 10, versus 15%  $\pm$  11.5 in group III ( $p < 0.001$ ).

Production of reticulocytes with reduced Hb content was inversely correlated with the log value of baseline serum ferritin ( $r = 0.82$ ,  $p < 0.001$ ). By chance, mean baseline ferritin was higher in Group III as compared with Group I. The increase in Hct obtained after r-HuEPO administration was lower in subjects with the higher production of reticulocytes with low CHr ( $r = 0.65$ ;  $p < 0.001$ ). Thus, r-HuEPO-induced accelerated erythropoiesis may lead to the production of iron-deficient reticulocytes even in subjects with normal iron stores. Measurement of reticulocyte cell hemoglobin content can be a useful indicator of iron-deficient erythropoiesis and may have a predictive value for the erythropoietic response to r-HuEPO.

## AMPLICOR TM Chlamydia Trachomatis und HIV-1-PCR Tests von Roche für die Routine-Diagnostik

H. Burkardt und J. W. Zolg

Roche Diagnostic Systems, Business Unit PCR Europe  
F. Hoffmann-La Roche Ltd., Postfach, 4002 Basel, Schweiz

Die PCR (Polymerase-Kettenreaktion) erlaubt die Detektion von Infektionserregern mit höchster Sensitivität, Spezifität und Geschwindigkeit. Durch Einführung der AMPLICOR TM Testkits von Roche wurde die PCR-Methode so vereinfacht, dass sie nunmehr routinemäßig in diagnostischen Labors ohne große Apparaturen und räumlichen Aufwand durchgeführt werden kann. Ein AMPLICOR TM Testkit besteht aus 3 Komponenten: einer für die Probenvorbereitung, einer für die eigentliche Amplifikation und einer für die Detektion der Amplifikate. Für den AMPLICOR TM Chlamydia trachomatis Kit sind als Proben vorgesehen: cervikale Abstriche bei Frauen, urethrale Abstriche und Urin bei Männern. Im Falle von HIV-1 dient Vollblut als Ausgangsmaterial. Die provirale DNS wird in Lymphozyten nachgewiesen. Eine Innovation bei der Amplifikation stellt die in jedem AMPLICOR TM Kit eingebaute Antikontaminationskontrolle mit AmpErase TM (UNG-Enzym) dar. Für die Detektion der Amplifikate wurde ein anwenderfreundliches Sondenverfahren auf Mikrotiterplattenbasis entwickelt. Erste klinische Studien zeigen, daß mit dem AMPLICOR TM Chlamydia trachomatis Kit die Labordiagnose einer Infektion mit Chlamydia trachomatis im Urogenitalbereich verbessert werden kann. Der HIV-1 AMPLICOR TM Kit ist u. a. vorgesehen für die Diagnose von Neugeborenen HIV-positiver Mütter und zur Abklärung serologisch positiver Personen.

## A multicentre clinical and technical evaluation of an „enhanced chemiluminescence, labelled antibody“ immunoassay (Amerlite MAB) for free thyroxine

N. D. Christofides, C. P. Sheehan

Kodak Clinical Diagnostics Limited, Research and Development,  
Cardiff Laboratories, UK

Data from 6 centres (3 UK, 2 Germany, 1 Sweden) were amalgamated with data from KCDL laboratories. The Intra-assay precision at 5 and 50 pmol FT4/L was found to be 6.3% and 2.7% respectively and inter-assay precision being 7.4% and 3.6% respectively. The mean sensitivity was found to be 0.73 pmol FT4/L. The overall reference interval from 1393 euthyroid samples was 11.5–27.7 pmol FT4/L (median –16.6 pmol FT4/L). FT4 concentrations showed a significant ( $p < 0.001$ ) correlation with age. The diagnostic efficiency of the assay was 98.2% (220/224) for hyperthyroidism and 96.4% (212/220) for hypothyroidism. Patients with non thyroidal illness (38 with cardiac, 54 with liver and 111 with renal disease) had mean FT4 concentrations of 20, 18.6 and 16.1 pmol/FT4/L respectively with 3.5% (10/288) below and 5.9% (17/288) above the reference interval.

Free hormone „validity“ experiments (including serum dilution, spiking with oleic acid and serum thyroid hormone binding proteins etc.) demonstrated that the assay fulfills all the theoretical criteria proposed by the American Thyroid Association.

## Neuer indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis rötelnspezifischer IgM- und IgG-Antikörper im Serum

W. Dangel<sup>1</sup>, I. Rapp<sup>1</sup>, G. Döller<sup>2</sup>, C. Merk<sup>1</sup>, W. Merk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Labor Dr. Koch – Dr. Merk, Schloßstr. 9, 7955 Ochsenhausen

<sup>2</sup> Hygiene-Institut, Universität, 7400 Tübingen

In dem neu entwickelten Röteln-Immunfluoreszenztest werden rötelnspezifische Serum-Antikörper an Antigen-beschichtete Erythrozyten gebunden und mit FITC markierten Antikörpern nachgewiesen. Die Testdauer beträgt etwa 2 1/2 Stunden.

Insgesamt wurden 418 Seren vergleichend mit den Routinetests: HAH, HiG, ELISA im Röteln-IFT untersucht:

- 75 Seren von Patienten mit akuter oder kürzlich zurückliegender Rötelninfektion
- 137 Seren von Patienten mit negativen Röteln-IgM-Antikörpertitern
- 160 Seren von Patienten mit positivem oder grenzwertig positivem IgG-Antikörperbefund
- 46 Seren von Patienten mit negativen Röteln-Antikörpertitern (IgG + IgM).

In dem Serumpannel waren auch 48 Seren mit pathologischen Serumveränderungen enthalten.

Der Röteln-IgM-IFT zeigte bei den Kontroll- und Patientenseren, nach Entfernung störender Rheumafaktoren, eine sehr gute Spezifität (100%) und Vorhersagewert (100%) bei ausreichend hoher Sensitivität (90,9%). Dieser IgM-Test ist für qualitative Testaussagen konzipiert, da die Seren nur in 1 Verdünnung getestet wurden. Eine Titrierung ist möglich. Pathologische Veränderungen im Serum störten im Röteln-IgM-IFT nicht.

Im Röteln-IgG-IFT wurden zur Überprüfung des Immunstatus Kontroll- und Patientenseren in 3 Verdünnungen eingesetzt. Es konnte in 97,5% der Fälle eine mit den Routinetests übereinstimmende Aussage zum Immunstatus getroffen werden. Mit der gefundenen Spezifität von 97,5% der Sensitivität von 98,8% und einem Vorhersagewert von 99,4% ist der Röteln-IgG-IFT den Routinetests gleichwertig.

## Serumwerte der Skelett Alkalischen Phosphatase, bestimmt mit einem monoklonalen IRMA (Tandem®-R Ostase™) bei metastasiertem Brust- und Prostatakrebs

C. Darte, M. Meyer und E. H. Cooper

Hybritech Europe SA, Liege, Belgium  
University of Leeds, UK

Tandem®-R Ostase™, ein doppelt monoklonaler IRMA zur Bestimmung der Skelett Alkalischen Phosphatase (SAP) wurde von Hybritech Inc., San Diego, Californien (Clin. Chem. 186, 315, 1990), entwickelt. Der Test hat einen Normalbereich (Erwachsene) von  $8,3 \pm 3,6 \mu\text{g/L}$  und zeigt eine Kreuzreaktion mit Leber Alkalischer Phosphatase von ca. 15%. Bei 40 Frauen mit Brustkrebs ohne Knochenmetastasen (20 Stadium III, 20 tumorfrei) lag der Median der SAP bei  $7,3 \mu\text{g/L}$ . 16 Frauen mit begrenzten Knochenmetastasen zeigten einen Median von  $11,1 \mu\text{g/L}$ , 33 mit multiplen Knochenmetastasen einen Median von  $18,8 \mu\text{g/L}$ . Nur 2/25 Patientinnen mit Metastasen in Lunge und Leber ohne Knochenbeteiligung zeigten erhöhte Werte. Die SAP-Werte sind unabhängig von denen des Mucin-Brustkrebsmarkers (CA 549).

Eine Studie an 104 Seren von Patienten mit metastasiertem Prostatakrebs zeigt, daß die SAP-Werte die Osteoblasten-Aktivität wiedergeben, und sich SAP und PSA in den verschiedenen Phasen der Erkrankung und des Ansprechens auf die Behandlung un-

abhängig voneinander verhalten. Langzeitstudien zeigen den zeitlichen Unterschied in den Änderungen von PSA und SAP während des Ansprechens auf die Therapie und späterem Rückfall.

Die Aussage der SAP ist abhängig von Typ und Ausmaß der Krebserkrankung. Die Kombination mit einem Tumormarker kann zur Bestimmung der Aktivität des Knochens bei multiplen metastatischen Erkrankungen nützlich sein.

## Standardisierung von Proteinimmunoassays und Bereitstellung von Referenzmaterialien für spezifische Proteine

*Francesco Dati, Siegfried Baudner und Manfred Lammers  
Behringwerke AG, Diagnostics Division, Postfach 1140,  
W-3550 Marburg*

Proteine in Serum, Plasma und anderen Körperflüssigkeiten (z. B. Urin, Liquor) lassen sich heute einfach und mit guter Präzision mit Hilfe immunchemischer Methoden bestimmen. Durch die Entwicklung verschiedener Immunoassay-Techniken und -Systeme hat die Abhängigkeit der Analyseergebnisse von der eingesetzten Methode zugenommen. Der Hauptgrund für diese Problematik liegt darin, daß die verschiedenen kommerziell erhältlichen Immunoassays und die verwendeten Referenzmaterialien nicht hinreichend aufeinander abgestimmt sind und in einigen Fällen die Patientenproben im Test anders als die Standard- und Kontrollpräparate reagieren. Hinzu kommt, daß bisher zur Bestimmung der hochmolekularen Proteine keine Referenzmethoden etabliert werden konnten.

Die durch die WHO bereitgestellten Referenzmaterialien weisen z. T. erhebliche Mängel auf, u. a. Trübungen, Instabilitäten, nicht intakte Form der Proteine, Matrixprobleme usw. Außerdem stehen sie den Diagnostika-Firmen nicht in ausreichender Menge zur Verfügung, um eine optimale Kalibrierung der kommerziellen Standardpräparate und deren Kontinuität zu gewährleisten.

Zur Zeit arbeiten internationale Organisationen wie WHO, International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), European Community Reference Bureau (BCR), US National Committee on Clinical and Laboratory Standards (NCCLS), College of American Pathologists (CAP), Centers of Disease Control (CDC), International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) zusammen mit nationalen Referenzinstitutionen und mehreren Diagnostika-Firmen an der Standardisierung von Immunoassays und an der Herstellung und Etablierung verschiedener sekundärer Referenzmaterialien.

Die Behringwerke AG ist insbesondere an den Standardisierungsprogrammen der IFCC auf dem Gebiet der Plasmaproteine (Referenz-Präparation für Human-Plasmaproteine), der Apolipoproteine (Referenz-Präparationen für Apo A-I und Apo B), für Urinproteine (Standardisierung von Immunoassays für die Bestimmung von IgG, Albumin,  $\alpha_1$ -Mikroglobulin und Ig Leichtketten im Urin) und für Gerinnungsproteine (Standardisierung von Prothrombinfragment F1+2 und von Fibrinogen) sehr aktiv beteiligt.

## ELISAs zum Direktnachweis von Erregern des Respirationstrakts aus Nasen-Rachensekreten der infizierten Zellkulturen

*G. Döller, H.-J. Gerth, W. Schuy\*, H. Schneider\*  
Abt. Med. Virologie, Hygiene-Institut, 7400 Tübingen  
\* Behringwerke AG, 3550 Marburg*

Es werden Enzymimmuntests [EIA; Enzygnost® Influenza A (Ag), Enzygnost® Influenza B (Ag), Enzygnost® RSV (Ag)] zum Direkt-

nachweis von Influenza A-, Influenza B- und Respiratory Syncytial(RS)-Virusantigenen aus Nasen-Rachensekreten oder infizierten Zellen vorgestellt. Bei der Testentwicklung wurde besonderer Wert auf die Vereinfachung und Vereinheitlichung der Methodik für den Direktnachweis der verschiedenen Virusantigene gelegt. Entfallen sollten: 1. eine Über-Nacht-Inkubation, so daß die Ergebnisse innerhalb eines Arbeitstages zur Verfügung stehen, 2. Störung der Tests durch Schleim in den Sekreten, 3. eine Ultraschallbehandlung und 4. die Notwendigkeit des gekühlten Versands der Proben. Die Infektionen können mit der vorgestellten Methode innerhalb von vier Stunden aus Nasen-Rachensekreten diagnostiziert werden. Die Sensitivität für den Influenza A-Antigennachweis betrug 89,7% (n = 79), für den Influenza B-Antigennachweis 87,9% (n = 29) und für den RS-Antigennachweis 95% (n = 41); die Spezifitäten betragen 99,3% (n = 131) resp. 100% (n = 181) resp. 99,3% (n = 140). Die Ergebnisse waren von einer guten Probenabnahme abhängig, wozu eine handbetriebene Vakuumpumpe, die an Sekretfallen angeschlossen ist, empfohlen wird. Die EIAs eignen sich auch als „Zellkulturbestätigungstests“, da die Infektionen vor Auftreten eines CPEs diagnostiziert werden können.

Schrifttum:

1. Döller, G., W. Schuy, K. Y. Tjhen, B. Stekeler, H.-J. Gerth: J. Clin. Microbiol. 30: 866 (1992)
2. Döller, G., W. Schuy: J. Clin. Lab Analysis 7: 5 (1993)

## Europäische Harmonisierung für IVD

*Volker Dörr, Dierk Meyer-Lüerßen  
VDGH, Münchener Straße 49, 6000 Frankfurt am Main*

Für In-vitro-Diagnostika (IVD) wird gegenwärtig von der EG-Kommission eine Harmonisierungsrichtlinie erarbeitet, die voraussichtlich in der Mitte dieses Jahrzehnts in Kraft treten wird. Sie basiert auf dem neuen Harmonisierungskonzept der EG, nach dem nicht mehr wie früher sämtliche Details festzulegen sind, sondern nur noch die Grundzüge (Essential Requirements, ER). Deren Erfüllung wird durch die Übereinstimmung mit harmonisierten europäischen Normen dokumentiert.

Erfüllt ein Produkt die ER, kann das CE-Zeichen auf ihm angebracht und es ohne weitere Zulassung überall in der EG ungehindert in Verkehr gebracht werden. Mit diesem Konzept wird sowohl ein hohes Sicherheitsniveau europaweit gewährleistet als auch die notwendige Flexibilität sichergestellt, der gemeinsame Markt für IVD also zum Nutzen aller Beteiligten realisiert.

Diese Harmonisierung betrifft allerdings nur die Herstellung von IVD. Nicht harmonisiert wird durch die IVD-Richtlinie die Qualitätssicherung im Laboratorium, eine sicherlich wünschenswerte Aufgabe, da auch die Qualität der Laborbefunde wie die der IVD, mit denen sie erstellt werden, europaweit einheitlich sein sollte. Auch eine Methodenstandardisierung wird durch sie nicht herbeigeführt. Auch dies wäre für Enzymaktivitätsbestimmungen wünschenswert und die internationalen Fachgesellschaften sollten hier zusammen mit der Industrie aktiv werden. Es spricht dem Gedanken der europäischen Einheit Hohn, wenn jede nationale Fachgesellschaft für ihr Land eigene, oft nur geringfügig abweichende Standardmethoden für Enzymaktivitätsbestimmungen empfiehlt und die Industrie für jedes Land eigene Methoden produzieren muß, dazu noch für unterschiedliche Meßtemperaturen.

## ALPHA-Methode: Bestimmung von Antikörperaktivitäten mit dem Enzym-Immunoassay

*H. D. Dopatka und B. Giesendorf  
Behringwerke AG, Postfach 1140, 3550 Marburg*

Es wird ein neues Verfahren für die Bestimmung von Antikörperaktivitäten mit dem Enzymimmunoassay beschrieben. Die Me-

thode ersetzt die Bestimmungen durch Endpunkt-Verdünnung bzw. mit Hilfe einer Standardkurve. Die zu bewertende Probe wird in einer Verdünnung getestet. Aus dem gemessenen Signal (optische Dichte, OD) wird die Antikörperaktivität nach folgender Gleichung berechnet:

$$\log_{10} \text{Antikörperaktivität} = \alpha \cdot \text{OD}^{\beta}$$

$\alpha$  und  $\beta$  sind Rechengrößen, die vom Diagnostik-Hersteller für jede Charge neu angegeben werden. Abhängig von der Verfügbarkeit nationaler und internationaler Standardpräparationen kann die Antikörperaktivität in den Dimensionen „Titer oder IU/ml“ angegeben werden. Die Anwendung der ALPHA-Methode spart Zeit sowie Reagenzien und erlaubt die Durchführung von Bestimmungen mit erhöhter Reproduzierbarkeit.

## Performance of the Kokak Ektachem slide (Li) in clinical laboratories: comparison with flame and atomic absorption spectrometry

Basil T. Doumas  
Medical College of Wisconsin  
and Milwaukee Medical Complex, Milwaukee, WI, USA

We evaluated the performance of the Kokad Ektachem clinical chemistry slide (Li) for lithium in serum, and compared it with flame photometry (FP) and atomic absorption spectrometry (AAS).

*Ektachem vs. FP.* Serum specimens (n = 265) with Li conc. from 0.12 to 1.9 mmol/L were analyzed.

*Accuracy.* Mean x (FP) and y (Ektachem) values were 0.80 and 0.78 mmol/L, respectively. Regression equation:  $y = 0.977 x - 0.001$ ;  $Sy.x, 0.04$ ;  $r, 0.99$ .

*Precision.* Four control sera were analyzed for 20 days with the Ektachem analyzer. Mean values and SDs (parentheses) were: 0.95 (0.04), 2.06 (0.05), 0.50 (0.03) and 1.15 (0.04) respectively.

*Ektachem vs. AAS.* Serum specimens (n = 254) with Li conc. from 0.2 to 3.06 mmol/L were analyzed.

*Accuracy.* Mean x (AAS), 0.69 mmol/L; mean y (Ektachem), 0.71 mmol/L. Regression equation:  $y = 0.96 x + 0.05$ ;  $Sy.x, 0.04$ ;  $r, 0.99$ .

*Precision.* For 4 control sera analyzed with the Ektachem analyzer for 20 days, means and SDs were 0.90 (0.03), 2.04 (0.05), 0.64 (0.03) and 1.54 (0.05).

We conclude that the excellent accuracy, precision and linearity (from 0.1 to 4.0 mmol/L<sub>9</sub> of the Ektachem slide (Li) meets clinical requirements.

## Automated chemiluminescence immunoassay for prostate specific antigen (PSA)

M. Drahovsky, U. Fritsch, R. Schlett, M. Mack, L. Reum  
Byk-Sangtec Diagnostica GmbH & Co. KG, D-6057 Dietzenbach 2, Germany

Prostate specific antigen (PSA) is a single chain 33-kD glycoprotein antigen associated with prostatic diseases. Early diagnosis of prostate cancer and the resulting radical treatment are essential to improve prostate cancer prognosis.

The LIA-mat<sup>®</sup> PSA is a two-site immunoluminometric assay (sandwich principle) in a coated tube format. Highly specific polyclonal and monoclonal antibodies are used for coating the solid phase and for the tracer. The combination of these antibodies

used in the LIA-mat PSA assay allow to recognize free PSA and the PSA  $\alpha_1$ -antichymotrypsin complex.

The application of the non-isotopic label does not interfere with the antigen antibody reaction. The assay provides quantitative results in less than 3 hours. The PSA assay has been designed to run on the LIA-mat S 300 system which is a fully automated analyzer. The assay has a dynamic range from 0–150 ng/ml. The calculated sensitivity was  $\leq 0.05$  ng/ml (BSD). Results obtained by LIA-mat PSA correlate very good with IRMA-mat PSA and the Hybritech PSA assays.

## Calibration and evaluation of a System Multi-Test for the immunoturbidimetric assay of C-reactive protein

B. Dremel, A. Dietrich, U. Stadelmaier, H. Hirsch  
E. Merck, R & D Diagnostics Division, Frankfurter Straße 250,  
D-6100 Darmstadt, Germany

C-reactive protein (CRP) is well known as one of the most sensitive acute phase proteins and is primarily used to assess rapidly the inflammatory phase and early tissue damage. The level of CRP rises dramatically in response to any of the following diseases: Myocardial Infarction, Stress, Trauma, Infection, Inflammation, Surgery, Malignant Diseases, Rheumatoid Arthritis and Bacterial Meningitis. To a lesser extend, CRP is used to screen the health status of blood donors, as well as to monitor drug therapy. Since the half life of CRP is only approximately one day, the CRP determination can be used to monitor the course of a very wide spectrum of diseases.

Here, E. Merck Diagnostics presents an improved System Multi-Test (SMT) for the immunoturbidimetric determination of CRP. The analytical performance of the SMT-CRP test has been evaluated on many common clin. chem. analysers. The test is based on a one-point calibration and has been calibrated by the WHO international reference preparation for CRP # 1985.

Precision of the test, dilution and prozone limits, interferences as well as comparisons with other tests on different analysers will be presented.

## Calibration and evaluation of a System Multi-Test for the immunoturbidimetric assay of IgA, IgG and IgM

B. Dremel, A. Dietrich, U. Stadelmaier, H. Hirsch  
E. Merck, R & D Diagnostic Division, Frankfurter Straße 250,  
D-6100 Darmstadt, Germany

The uniformity of immunoglobulin measurements between laboratories has been poor in the past. Different standard preparations of plasma proteins and antiserum of differing specificity and affinity, and the use of several different methods resulted in vast differences in the determination of immunoglobulins. The factors causing variability are so diverse that agreement between results is difficult to achieve. The ideal goal of an immunoassay is to obtain stable measured values reflecting biological activity of the analytes, but the practical goal is to obtain reproducible and exchangeable results in terms of true mass or immunological activity of the analytes.

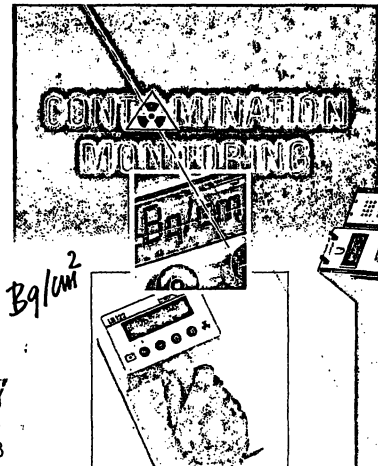
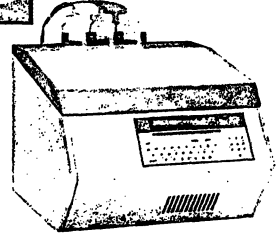
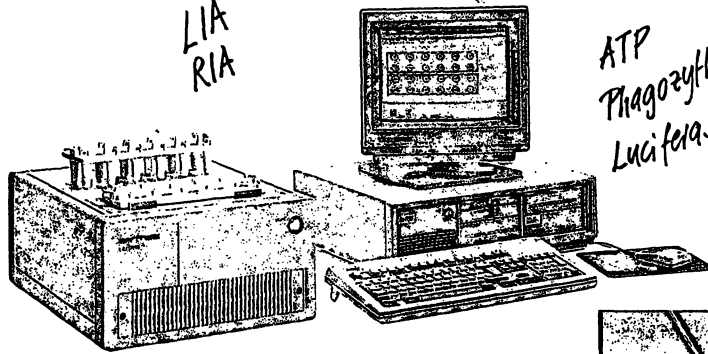
A practical approach is the use of international reference preparations (IRP's) which allow better comparison of the results between different laboratories. The values should be expressed in terms of international units per millilitre (IU/ml).

The System Multi-Tests (SMT) for the immunoturbidimetric determinations of IgA, IgG and IgM were calibrated by the WHO IRP

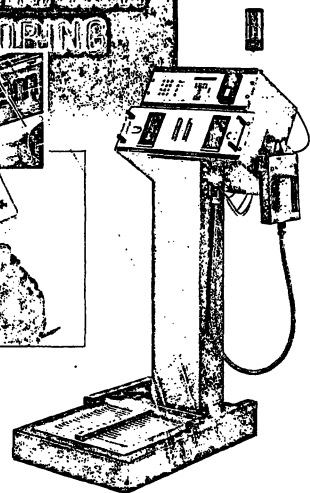


LIA  
RIA

ATP  
Phagozythose  
Luciferase-Assay



Bq/cm<sup>2</sup>



Microvolume counting  
Filter counting

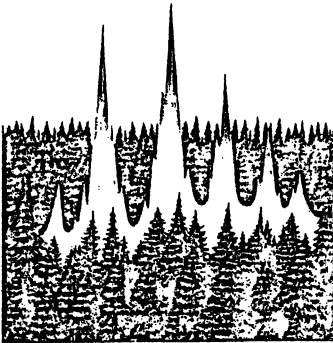
Seit über 40 Jahren steht der Name Berthold für präzise und zuverlässige Messungen im Routine-Labor und in der Forschung. Unsere technischen Büros informieren Sie gerne.



Stammwerk: Laboratorium Prof. Dr. Berthold GmbH & Co. KG · D-7547 Bad Wildbad 1 · Postf. 10 01 63 · Tel. (0 70 81) 177-0 · Fax (0 70 81) 177-100

Berlin (0 30) 7 41 14 83    Hannover (05 11) 6 17 51    Köln (0 22 04) 7 40 61-66    München (0 89) 1 49 40 34 / 5

## Tumor-Diagnostik mit HPLC



Spezifische Bestimmung von  
**Tumormarkern**  
aus Plasma und Urin

- **Komplette Testkits** für
  - Katecholamine
  - Metanephrine
  - Vanillinmandelsäure
  - Homovanillinsäure
  - 5-Hydroxyindol-Essigsäure
- Isokratische HPLC-Analyse
- Elektrochemische Detektion
- Kurze Analysenzeit
- Einfache Probenvorbereitung
- Überwachung der Analytik durch LYPHOCHEK Kontrollen



**BIO-RAD**  
Laboratories GmbH  
Abt. Diagnostica  
Heidemannstr. 164  
D-8000 München 45  
Tel.: (0 89) 31 88 41 20  
Fax: (0 89) 31 88 41 00

Neuaufgabe

**M**it diesem Buch können Sie Ihr Wissen über Bluthochdruck auf den neuesten Stand bringen. Es vermittelt in sehr verständlicher und übersichtlicher Weise den aktuellen Wissensstand über Definition, Ursachen, Verlauf, Komplikationen und Behandlungsmöglichkeiten der Hypertonie. Eine bebilderte Darstellung der derzeit empfohlenen Ernährung bei Hypertonie bildet einen wichtigen Teil des

Buches. Das Besondere an diesem Buch für Patienten ist jedoch die um-

## Wie behandle ich meinen Bluthochdruck

Von Ingrid Mühlhauser,  
Ulrike Didjurgel und Peter T. Sawicki

fassende Beschreibung der modernen medikamentösen Behandlung des Bluthochdrucks, die dem Patienten eine verständliche Übersicht vermittelt. Kapitel über Sport und Streß bei Bluthochdruck, Schwangerschaft und Bluthochdruck und Bluthochdruck bei älteren Menschen vervollständigen das Buch. Wie behandle ich meinen Bluthochdruck ist in höchstem Maße auch

informativ für Arzhelferinnen,  
Krankenschwestern/Pfleger,  
Studenten und Ärzte.

**Bestellcoupon:**

**Verlag Kirchheim**  
**Postfach 25 24**  
**6500 Mainz 1**

Bitte senden Sie mir ... Expt. Wie behandle ich meinen Bluthochdruck, 2. Auflage 1992, 110 Seiten, 24,80 DM, ISBN 3-87409-052-3.

Name:

Straße:

PLZ/Ort:

Datum/Unterschrift:

Wie behandle ich meinen Bluthochdruck  
Blutdruckmessung, Ernährung, Medikamente



Von Ingrid Mühlhauser, Ulrike Didjurgel  
und Peter T. Sawicki  
HENRICH-HEINE-UNIVERSITÄT, DÜSSELDORF  
Abteilung für Stoffwechsel und Ernährung  
(Prof. Dr. Michael Berger)  
2. Auflage  
Verlag Kirchheim, Mainz

Medizin-Publikum-Preis 1992

for Human-Serum immunoglobulins (Lot 67/86). To compare the results between different laboratories they should be expressed in international units (IU). By this means the reliability of the interpretation of laboratory data will increase.

In addition, regular participation in the survey for specific plasma proteins of the „Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie“ (DGKC) increases the reliability of the interpretation of the laboratory data.

The analytical performance of the SMT-Immunoglobulin tests has been evaluated on many common clin. chem. analysers using one-point calibrations.

Precision of the test, dilution and prozone limits, interferences as well as comparison with other tests will be presented.

## Calibration and evaluation of Merck Immunoassay T for the immunoturbidimetric assay of apolipoproteins A-I and B

B. Dremel, U. Stadelmaier, A. Dietrich  
E. Merck, R & D Diagnostics Division, Frankfurter Straße 250,  
D- 6100 Darmstadt, Germany

Clinical interest in measuring apolipoproteins has grown after the recognition of their physiological importance and utility in assessing an individual's atherosclerotic risk. Some studies suggest that apolipoprotein (apo) A-I and apo B, the major proteins of high-density lipoproteins (HDL) and low-density lipoproteins (LDL), respectively, are better blood markers for coronary heart disease than are the traditional lipid markers, e. g. total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and triglycerides. The apo A-I/apo B ratio is considered to be an even more effective indicator than the individual lipoproteins.

Here, E. Merck Diagnostics presents a new test (Merck Immunoassay T) for the immunoturbidimetric determination of apo A-I and apo B. The analytical performances of the Merck Immunoassay T apo A-I and apo B tests have been evaluated on many common clin. chem. analysers. The tests are based on one-point calibrations and have been calibrated by the latest WHO international reference preparations for apo A-I and apo B. Precision of the test, dilution and prozone limits, interferences as well as comparisons with other tests on different analysers will be presented.

## Multicenter evaluation of the Tina-quant® a Transferrin assay

H. Dubois<sup>1</sup>, L. Borque<sup>2</sup>, D. Cottenceau<sup>3</sup>, L. Bassi<sup>4</sup>, B. Kågedal<sup>5</sup>, M. Lievens<sup>6</sup>, A. M. Marx<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim (FRG)

<sup>2</sup> Hospital San Millán, Logroño (E)

<sup>3</sup> Laboratoire de Biochimie, La Roche sur Yon (F)

<sup>4</sup> Ospedale Civile, Cremona (I)

<sup>5</sup> University Hospital, Linköping (S)

<sup>6</sup> University St. Luc, Bruxelles (B)

<sup>7</sup> Medizinische Universität, Lübeck (FRG)

The new immunoturbidimetric Tina-quant® a Transferrin assay without manual sample predilution has been evaluated with regard to its performance in seven European centers on various Boehringer Mannheim/Hitachi systems. The transferrin concentration is determined by measuring the turbidity caused by the antigen-antibody complex. The linear relationship between absorbance and concentration permits a one-point calibration, with exception of the Boehringer Mannheim/Hitachi 911 analyzer, where a multipoint calibration is performed. The limit of detection was calculated as < 5 mg/dl transferrin. The analytical range of the Tina-quant® a Transferrin assay is 80–500 mg/dl. Within-run

and between-day imprecision studies yielded good results at all transferrin levels. Median CV values were < 2.2% within-run and < 3.4% between-day. The reagents are ready-to-use, working reagents were found to be stable for at least 30 days at 4–8° C. Fix-factor calibration can be applied for 30 days without daily blank update. No major interferences by endogenous substances were observed. Excellent recovery was yielded in the Precinorm® Protein and Precipath® Protein control materials at all centers. All laboratories participated in an interlaboratory survey using 50 human pool sera. Comparing the results of the Tina-quant® a Transferrin assay performed on different Boehringer Mannheim/Hitachi instruments of the median of all laboratories gave a good agreement with slopes ranging from 0.98–1.04 and intercept deviations between ± 4 mg/dl transferrin, thus demonstrating a good interlaboratory transferability. Method comparisons to various routine tests (nephelometry, turbidimetry, radial immunodiffusion) yielded good correlation coefficients ( $r > 0.99$ ) as well as slopes ranging from 0.91–1.09 and intercepts from –10 to 20 mg/dl.

We conclude that the new Tina-quant® a Transferrin assay is convenient, has a good analytical performance and is well suited for routine analysis, especially if a high sample throughput is needed.

## Verlaufskontrolle von Patienten mit HIV-Infektionen durch den COULTER® p24-Antigen-Assay

Rolf Eckhardt  
Coulter Electronics GmbH, Europark Fichtenhain B 13,  
4150 Krefeld 1

Der COULTER® HIV-p24-Antigen-Test ist ein quantitativer Enzym-Immun-Assay (EIA) und dient zum direkten Nachweis des HIV-p24-Antigens in humanem Blutplasma, -serum oder Zellkultur-Überstand.

Das p24-HIV-Antigen ist ein wichtiger Parameter bei der Verlaufskontrolle von Patienten mit bekannter Infektion durch das HI-Virus, denn es weist direkt Antigen viralen Ursprungs nach.

p24 ist ein Protein, das sich in der inneren Virushülle befindet, sehr konservativ ist und erkennt somit alle bis heute bekannten HIV-1-Virusstämme.

Nach einer Infektion mit dem HI-Virus ist der p24-Antigen-Test der erste Nachweis einer Infektion, noch bevor Antikörper gegen das Virus im Serum aufzufinden sind. Bis zu 6 Wochen nach einer Infektion ist das Virusantigen im Blut zu finden, um dann für lange Zeit nicht mehr nachweisbar zu sein.

Mit Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Infizierten erscheint das p24-Antigen wieder im Blut. Mit den COULTER® p24-Antigen-Tests lassen sich sowohl qualitative als auch quantitative Bestimmungen durchführen. Um falschpositive Ergebnisse auszuschließen, besteht der Test aus 2 Teilen. Bei einem wiederholt positiven Testergebnis wird das p24-Antigen durch HIV-Antikörper neutralisiert und der anfangs positive Test muß nun negativ reagieren.

Ergebnisse des p24-Antigen-Assays und des Neutralisationstests an Proben von verschiedenen Patienten werden vorgestellt.

## Therapieüberwachung bei einem Neugeborenen mit homozygotem Protein C-Mangel

W. Ehrenthal, F.-H. Müller\*, G. Hafner, J. Lotz, D. Schranz\* und W. Prellwitz

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin und Kinderklinik\* der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

Wir berichten über einen Säugling, der im Alter von 14 Tagen mit multiplen Hämatomen, Mikrothrombosierungen, Nekrosen an

beiden Beinen sowie Glaskörper- und Retinablutungen im linken Auge aufgenommen wurde. Die Initialtherapie bestand aus Gabe von FFP, Heparin, AT III, t-PA und Prostacyclin und Anlage eines Okklusiv-Hydrokolloid-Verbands. Am 17. Tag wurde mit der Protein C-Substitution begonnen, die in einem Zeitraum von 8 Monaten mit Hilfe von 51 Gerinnungsanalysen überwacht wurde. Von diesen konnten 6 nicht bewertet werden, da bei der Blutabnahme Gerinnungsaktivierungen (TAT > 60) auftraten. Nach den unterschiedlichen Protein C-Bereichen geordnet, wurden folgende Ergebnisse (Mittelwert, Standardabweichung, n) erhalten.

Protein C (%)	F 1+2 [ng/ml]	TAT [ng/ml]	D-Dimer [ng/ml]	FM [µg/ml]	(n)
6,5 ± 1,5	1,22 ± 0,28	8,28 ± 1,21	1629 ± 521	> 42	(5)
15,3 ± 2,4	1,18 ± 0,53	9,02 ± 2,29	1193 ± 854	> 42	(6)
31,1 ± 5,0	0,88 ± 0,20	5,11 ± 2,29	774 ± 774	21,3 ± 11	(8)
47,8 ± 3,7	0,56 ± 0,12	3,45 ± 1,23	717 ± 717	15,5 ± 7,1	(6)
83,8 ± 8,9	0,64 ± 0,21	3,96 ± 0,98	440 ± 165	13,7 ± 5,6	(5)
117 ± 16	0,77 ± 0,35	4,44 ± 2,53	544 ± 203	13,5 ± 4,3	(11)

Die hohen Protein C-Konzentrationen stellen Gipfelspiegel eine Stunde nach Infusion dar. Wegen der größeren Halbwertszeit für D-Dimer und Fibrinmonomere (FM) normalisieren sich diese Marker bei einer Erhöhung des Protein C-Spiegels nicht so schnell. Aus der Untersuchung geht hervor, daß die Beurteilung der Protein C-Substitution in Hinblick auf eine Unterdrückung der Gerinnungsaktivierung mit allen vier molekularen Markern möglich ist.

## Abhängigkeit der Thrombozytenaggregation von der Konzentration des von-Willebrand-Faktors (vWF) in einem in vitro Modellsystem

Th. Eller, M. Bomhard, B. Pohl, J. Albert, F. Keller  
Zentrallabor der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Da die großen Multimere des vWF bei der Aggregation der Thrombozyten und dadurch in der primären Hämostase eine entscheidende Rolle spielen, stellt sich die Frage, inwieweit die Konzentration des vWF eine Auswirkung auf das Aggregationsverhalten der Thrombozyten hat.

Für diese Untersuchungen wurden die Thrombozyten nach einer Vorschrift von A. Greinacher (persönliche Mitteilung) aus plättchenreichem Plasma präpariert und in einem gepufferten, isotoni-schen Testsystem mit konstanter Thrombozytenzahl aber variierender vWF-Konzentration (560–35% d. N.) eingesetzt. Die Aggregationen wurden durch Adrenalin, Collagen, ADP und Ristocetin ausgelöst und an einem Gerät der Fa. Apact gemessen. Die Untersuchungen wurden an Thrombozyten von 10 gesunden Probanden durchgeführt.

Sowohl die maximale Aggregation als auch die Aggregationsgeschwindigkeit zeigten bei Stimulation der Thrombozyten mit Ristocetin, Collagen und ADP bei steigender vWF-Konzentration zunehmende Werte. Es war also ein signifikanter Zusammenhang zwischen der vWF-Konzentration und dem Aggregationsverhalten der Thrombozyten in diesem Testsystem nachweisbar. Bei den Aggregationen mit Adrenalin fanden wir mit sinkender vWF-Konzentration einen späteren Beginn der Aggregation.

Diese Ergebnisse zeigen, daß ein deutlicher Zusammenhang zwischen der vWF-Konzentration und dem Aggregationsverhalten der Thrombozyten besteht. Es ist bekannt, daß während einer Akutphasenreaktion und Patienten mit Herzinfarkt die Plasmakonzentration des vWF bis auf das 2–3fache des Referenzbereiches ansteigen kann (B. E. Pottinger et al. *Thromb. Res.* 53 (1987) 387; T. Margulis et al. *Thromb. Haemost.* 55 (1986) 366). Diese Tatsachen und eigene Beobachtungen an Thrombosepatienten weisen auf die pathologische Bedeutung einer erhöhten vWF-Konzentration im Plasma hin.

## Interferenz durch Fibrinmonomere bei Globaltesten der Hämostase

Th. Eller, R. S. Roß, L. Volbracht, D. Paar  
Abteilung für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik des Zentrums für Innere Medizin, Universitätsklinikum Essen

Das Auftreten von Fibrinmonomeren in der Zirkulation deutet auf eine Aktivierung im Hämostasesystem hin. Anlaß für die vorliegenden Untersuchungen waren die Beobachtungen bei zwei Patienten mit akuten Leukämien, die bei deutlich erniedrigten Fibrinogenkonzentrationen (< 80 mg/dl) und gleichzeitigem Nachweis von Fibrinmonomeren eine normale Globalgerinnung aufwiesen. Diese Befundkonstellation ließ eine Interferenz der Fibrinmonomere bei den plasmatischen Globaltesten vermuten.

Deshalb wurde zu einem verdünnten Plasmapool, dessen Konzentration an Fibrinmonomer im Referenzbereich lag, gereinigtes Fibrinmonomer in Konzentrationen zwischen 10 µg/ml und 120 µg/ml zugesetzt. In diesen mit Fibrinmonomer angereicherten Proben wurden dann die Thromboplastinzeit, die aPTT, die Thrombinzeit, die Reptilasezeit und die Fibrinogenkonzentration bestimmt. Die Konzentration der Fibrinmonomere wurde durch einen in der Erprobung befindlichen quantitativen Test der Behringwerke AG, Marburg, ermittelt.

Bei allen Globaltesten wurde in diesen Ansätzen eine Verkürzung der Gerinnungszeiten mit steigender Konzentration an Fibrinmonomer gefunden. Die Verkürzung war bei der aPTT, der Thrombinzeit und der Reptilasezeit deutlich ausgeprägt, während sich die Thromboplastinzeit nur leicht verkürzte.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß Fibrinmonomere eine Verkürzung der Gerinnungszeiten bewirken und dadurch bei den Globaltesten der plasmatischen Hämostase interferieren können. Deshalb muß bei Patientenproben mit einer erhöhten Konzentration an Fibrinmonomeren mit falsch kurzen Gerinnungszeiten gerechnet werden.

## Stellenwert der molekularbiologischen Diagnostik pränataler Infektionen

Gisela Enders  
Institut f. Virologie, Infektiologie und Epidemiologie e.V.

Aus der Vielzahl der Infektionen mit Bedeutung für die Schwangerschaft und das Neugeborene wird die pränatale Diagnostik für Röteln, Zytomegalie, Parvovirus B19, Toxoplasmose, seltener für Varizellen und ausnahmsweise für HIV durchgeführt. Sie wird dann empfohlen, wenn bei der schwangeren Frau auffällige, nicht abklärbare serologische Befunde vorliegen. Die pränatale Diagnostik wird in der Frühschwangerschaft durch den Erregernachweis z. B. mittels der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) in der Chorionzottenbiopsie und in der Amnionflüssigkeit durchgeführt. In der 22./23. Schwangerschaftswoche wird die IgM-Antikörperbestimmung im fetalen Blut und zusätzlich der Erregernachweis z. B. mit der PCR im fetalen Blut, im Fruchtwasser, Aszites und auch Zottengewebe eingesetzt. Der Erregernachweis mittels PCR wird, wo immer möglich, parallel zur konventionellen Methode durchgeführt. Für den Antikörpernachweis werden sowohl die konventionellen Tests mit Vollantigen wie auch Tests mit rekombinant hergestellten Antigenen verwendet.

Der Stellenwert des Erregernachweises für die einzelnen Infektionen z. B. mit der PCR, soweit bis heute beurteilbar, wird unter Einbeziehung der Vorhersagebeurteilung aus langjähriger Erfahrung, des Ultraschallbefundes und des Schwangerschaftsausgangs bzw. der Befunde beim Neugeborenen beurteilt. In der pränatalen Diagnostik können Fehlbefunde bzw. die Fehlinterpretation von Befunden forensische Folgen haben.



## Quantitative Bestimmung von Hepatitis-A-Antikörpern mit einem neuen Enzym-Immunoassay

H. R. Feldmann<sup>1</sup>, J. Bartel<sup>1</sup>, R. Koberstein<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laborärztliche Gemeinschaftspraxis Heidelberg

<sup>2</sup> Fakultät für Biologie, Universität Konstanz

Durch die Einführung eines aktiven HAV-Impfstoffes (1, 2) gewinnt die Bestimmung der Anti-HAV-Antikörper eine neue Bedeutung in der Labordiagnose. Einerseits vor der Impfung zur Bestimmung des Immunstatus, andererseits nach der Impfung zur Kontrolle des Impferfolgs. Ein neuer Enzym-Immunoassay (Enzymun-Test, Anti-HAV, Boehringer Mannheim GmbH) wurde dazu anhand von 700 Patientenseren mit einer qualitativen Vergleichsmethode (HAVAB EIA, Abbott GmbH, Wiesbaden) auf Konkordanz geprüft. Bei 200 in der Routine mit der Vergleichsmethode positiv bestimmten Seren wurden übereinstimmende Ergebnisse erzielt, unter den 500 negativen traten dagegen 15 diskordante Bewertungen auf (HAVAB EIA negativ, Enzymun-Test Anti-HAV positiv). Drei dieser Proben wurden von einer weiteren Methode (HAVAB IMx, Abbott GmbH, Wiesbaden) ebenfalls positiv bewertet, alle zeigten in der quantitativen Bestimmung mit Enzymun-Test Anti-HAV ein lineares Verdünnungsverhalten bis zu  $< 10$  U/I (WHO angegliche Standards). Ursache der diskordanten Resultate ist daher wahrscheinlich eine sensitivere Messung niedriger Anti-HAV-Titer durch Enzymun-Test Anti-HAV. Die Automatisierung der Methode sichert darüber hinaus eine hohe Präzision bei der Quantifizierung der Anti-HAV-Antikörper in internationalen Einheiten im Rahmen einer Impfkontrolle.

### Schrifttum:

1. Kallinowski B, Thielmann L, Gmelin K et al. Immunogenität, Verträglichkeit und Konsistenz eines inaktivierten Hepatitis-A-Impfstoffes: eine randomisierte kontrollierte Multicenterstudie mit drei konsekutiven Impfchargen. *Innere Medizin* 1992; 89: 41-44
2. Jilg W. Hepatitis-A-Impfung – Anmerkung zur Diagnostik. *Klin Lab* 1992; 38: 697-700

## Sepsis: Bedeutung von Lipopolysaccharid (LPS)-Antikörpern sowie von Tumor-Nekrose-Faktor, Interleukin-6, Elastase und C-reaktiven Protein

P. C. Fink, D. Neuman, A. Gaitzsch

Zentrallabor, Zentralkrankenhaus St.-Jürgen-Straße, D-2800 Bremen 1

Das Auftreten von LPS-Antikörpern wurde bei 28 Gesunden und bei 21 Sepsis-Patienten mittels Immunoblotting untersucht. Parallel wurden TNF, IL-6, Elastase und CRP bestimmt. Bei 5/28 (18%) Gesunden wurden LPS-Antikörper gegen zwei (LPS von: E. coli 0111:B4, Pseudomonas aeruginosa) der im LPS-Antigenpanel verwendeten LPS-Chemotypen (LPS von: E. coli 0111:B4, E. coli 0128:B12, E. coli J5, Pseud. aeruginosa, Klebsiella pneumoniae; Lipid A von Salmonella. minnesota Re 595) nachgewiesen. Bei 5/10 Patienten, welche die Sepsis überlebten, wurde eine Neubildung bzw. Zunahme bereits prä-Op nachweisbarer LPS-Antikörper gefunden. Parallel war ein deutlicher IgG-, IgA- und IgM-Anstieg nachweisbar. Im Gegensatz dazu war bei 5/11 Patienten, welche an den Folgen einer Sepsis verstarben, im Sepsisverlauf ein Verschwinden prä-Op nachweisbarer LPS-Antikörper feststellbar. Auffällig war der alleinige, deutliche IgM-Abfall. Die Konzentrationsprofile von TNF, IL-6, Elastase und CRP waren abhängig vom Sepsisverlauf. Bei 10 Patienten, welche die Sepsis überlebten, war ein TNF-, IL-6- und Elastase-Konzentrationsabfall bereits ab 7. Tag post-Op im Vergleich zum CRP nachweisbar. Bei 11 Patienten, welche an den Folgen der Sepsis verstarben, blieben TNF, IL-6, Elastase und CRP bis zum Tod auf einem permanent erhöhten Konzentrationsplateau. Die Immunoblot-Ergebnisse legen die

Vermutung nahe, daß LPS-Antikörper den Krankheitsverlauf und die Prognose einer Sepsis beeinflussen. Hinsichtlich der Mediatoren wird gefolgert, daß TNF und IL-6 neben den bekannten Sepsis-Markern Elastase und CRP zur longitudinalen Beurteilung einer Sepsis verwendbar sind.

## Behring-Gerinungsmanagementsystem

G. Flohr, Behringwerke AG; J. Knipps, COMED GmbH Gehringerwerke AG, Med. Information und Verkauf, Hoechster Str. 70, 6237 Liederbach

Vorgestellt wird ein PC-Subsystem (COAB-Com) zum Management des Gerinnungsarbeitsplatzes in Verbindung mit dem Einsatz von einem oder mehreren Behring Fibrintimer A.

Das Managementsystem erlaubt eine optimale Unterstützung der MTA am Arbeitsplatz durch den Einsatz von Optimierungsroutinen bei der Rotor-Bestückung. Die Optimierungsroutinen führen zusätzlich zu einer Reduzierung des Verbrauchs an Diagnostika und Kontrollmaterialien. Durch Multitasking ist es möglich, gleichzeitig an mehreren Fibrintimern zu messen und während dessen weitere Rotoren zu bestücken.

Das COAB-COM-System kann dabei gleichzeitig als Intelligente Schnittstelle zum Labor-EDV-System eingesetzt werden und bietet damit eine preiswerte Alternative für den Anschluß mehrerer Fibrintimer A. Es wird hier die Leistungsfähigkeit der PC-Welt eingesetzt um den Online-Anschluß eines Arbeitsplatzes und nicht eines Gerätes zu realisieren. Hierdurch werden arbeitsplatzbezogene Funktionen eines Labor-EDV-Systems auf ein Subsystem ausgelagert und die erstellten Ergebnisse dem Labor-EDV-System wieder zur Verfügung gestellt. Die gesamte Organisation am Arbeitsplatz (Barcodelesung, Rotorbestückung, technische Validation, On-Line-Qualitätskontrolle, CLOT-TUTOR, etc.) werden ohne Belastung des Labor-EDV-Systems am Subsystem durchgeführt, das zusätzlich als „back-up“ genutzt werden kann.

## Immunologische Kontrolle von Trennungs- und Kulturbedingungen sind Voraussetzungen für die Bestimmung der LDL-Rezeptor-Aktivität an Monozyten

P. B. Foster<sup>1</sup>, Y. Schmitt<sup>1</sup>, P. Fürst<sup>2</sup>, J. D. Kruse-Jarres<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie und Labormedizin,

Katharinenhospital, Stuttgart, FRG

<sup>2</sup> Universität Hohenheim, FRG

Die Aussagekraft von LDL-Rezeptoruntersuchungen an Monozytenkulturen wird wegen der unterschiedlichen Regulation der Cholesterin-Homöostase von Monozyten/Makrophagen stark beeinträchtigt. Um eine Standardisierung des Verfahrens zu erreichen, bestimmten wir das Verteilungsverhältnis und den Differenzierungsgrad von Monozyten/Makrophagen freiwilliger Spender (n = 10) mit monoklonalen Antikörpern (CD 14, CD 33, CD 68, CD 71 sowie CD 11b und 11c, CD 16 und HLA-DR) bei unterschiedlichen Kulturbedingungen in Zeitintervallen von 12 Stunden. Das CD 14/CD 16 Verhältnis, die Expression des Makrophagenmarkers CD 68 und der Transferrin-Rezeptor CD 71 stiegen mit zunehmender Kulturdauer an, während die Adhäsionsmarker CD 11b und c, das myeloische Antigen CD 33 sowie die Expression von CD 13, CD 14 und HLA-DR rückläufig war. Überraschend war die große interindividuelle Ausprägung von CD 16, CD 11b, CD 33 und CD 71 Markern, während für den Aktivierungsmarker HLA-DR und das Makrophagenantigen CD 68 bei allen Probanden ein paralleler Kurvenverlauf beobachtet werden konnte. Schwankungen in der CD 16 und CD 11b Expression wurden beim Vergleich verschiedener Altersgruppen festgestellt; für unterschiedliche CD 71

Ausprägung konnte keine eindeutige Erklärung gefunden werden. Nach unseren Beobachtungen ist es daher nur dann sinnvoll, Monozyten für die LDL-Rezeptor-Untersuchung zu verwenden, wenn die Qualität der Trennung mit CD 33 und CD 11b Markern überprüft wird und die Zellkulturbedingungen und Monozytenproliferation anhand der CD 68 und HLA-DR-Expression kontrolliert wird. Die nachfolgende LDL-Rezeptor-Aktivitätsbestimmung sollte dann nur an einer homogenen Makrophagenpopulation durchgeführt werden, die durch hohe CD 68 plus CD 16 Expression gekennzeichnet ist.

## Bestimmung von Hepatitis-C-Virus-amplifizierten DNA-Sequenzen auf einer Festphase

*Brigitte Fouqué, Frédéric Beaumont, Michèle Gabriel, Camille Chypre und Joseph Marchand  
Laboratoire des Sondes Moléculaires, CIS bio international,  
B. P. 32, F-91192 Gif-sur-Yvette Cedex*

Das Hepatitis-C-Virus wurde unlängst als das Hauptvirus in Zusammenhang mit Non-A-Non-B-Hepatitis identifiziert (Science 1989, 244, 359–362). Es ist ein 9,5 kb RNA-Virus, welches eine signifikante Gen-Heterogenität aufweist. Die Analyse von verschiedenen HCV-Genomen hat gezeigt, daß die 5' Non Coding-Region gut konserviert wurde, im Gegensatz zu strukturellen und nicht-strukturellen Genen (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1992, 89, 187–191).

Die Bestimmung von HCV-RNA durch cDNA, das in Gegenwart von Revers-Transcriptase synthetisiert und in vitro amplifiziert wurde, ist der einzig mögliche Weg, dieses Virus in biologischen Proben zu identifizieren. Unter diesem Gesichtspunkt wurde eine effiziente Methode entwickelt (AMPLICIS II-HCV), basierend auf DNA-Amplifikation und Festphasen-Bestimmung (radiometrisch und photometrisch).

Die in der 5' Non Coding-Region selektierten Primer zeigen eine sehr gute Effektivität bei einem vorgeprüften Panel von HCV-RNA-positiven und -negativen Seren.

Die Bestimmung von DNA-amplifizierten Sequenzen auf Festphase ist eine interessante Alternative zur Gelanalyse.

## CD 4/CD 8-Quantifizierung – Ein Vergleich von Zytfluorometrie und Zell-ELISA

*L. Franke, E. Nügel, W.-D. Döcke, H.-D. Volk und T. Porstmann  
Institut für Medizinische Immunologie, Medizinische Fakultät  
(Charité) der Humboldt-Universität zu Berlin*

Die Quantifizierung von CD 4 und CD 8 positiven Lymphozyten von Patienten mit HIV-Infektion wird heute in der Regel mittels Zytfluorometrie durchgeführt. Wegen der sich weiter ausbreitenden HIV-Infektion und durch das immer bessere Verständnis der Funktion von Zelloberflächenmarkern bei verschiedenen Zuständen (u. a. Sepsis, Verbrennungen, Autoimmunopathien, nach Transplantationen) wird die Quantifizierung von Zellmarkern bzw. die Charakterisierung von Zellpopulationen in Zukunft einen breiteren Raum in Diagnostik, Prognoseeinschätzung und Therapieüberwachung spielen und sich daher nicht auf einige Speziallabore beschränken lassen.

Ein Zell-ELISA („Capcellia™ CD 4/CD 8“; Sanofi-Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, Frankreich) wurde zur CD 4/CD 8 Quantifizierung bei Gesunden und ausgewählten Patientenkollektiven (HIV-infizierte, Sepsis-Patienten, Organtransplantierte) eingesetzt und die Ergebnisse mit FACS-Untersuchungen und klinischen Daten korreliert. Es sollte untersucht werden, ob ein Zell-ELISA als Prinziplösung geeignet ist, mit verbesserter Reproduzierbarkeit Zellmembranmarker zu quantifizieren und damit einen berechtigten Platz in der modernen Labordiagnostik hätte.

Es konnte gezeigt werden, daß mit dem Zell-ELISA ähnliche Aussagen wie mit der FACS-Diagnostik zu den beiden Parametern getroffen werden konnten. In einigen Situationen scheint der Zell-ELISA Veränderungen innerhalb der CD 4/CD 8 Subpopulationen früher als die FACS-Analyse anzuzeigen. Das geringe Probenvolumen, der interne Standard und die relativ einfache und schnelle Durchführbarkeit des ELISA sind weitere Vorteile.

Für eine Reihe von diagnostischen Fragestellungen könnten Zell-ELISA eine sinnvolle Alternative zur FACS-Analyse sein, ohne diese jedoch bei komplexen Untersuchungen oder in der Forschung ersetzen zu können.

## Bedeutung der Molekularbiologie in der Parasitologie

*Matthias Frosch  
Institut für Medizinische Mikrobiologie,  
Medizinische Hochschule Hannover,  
Konstanty Gutschow Straße 8, 3000 Hannover 61*

Bedingt durch die Zunahme immunsupprimierender Erkrankungen, wie HIV-Infektionen oder Organtransplantationen mit anschließender medikamentöser Immunsuppression, sowie eine zunehmende Reisetätigkeit in südliche Länder, haben Parasitosen in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Auch wenn für die Diagnostik der Parasitose ein direkter mikroskopischer Nachweis des Parasiten im Blut, Stuhl, Urin oder Biopsien wünschenswert wäre, lassen sich einige Parasiten nur indirekt durch Antikörper-Nachweisverfahren diagnostizieren. Dies trifft insbesondere für solche Parasiten zu, die beim Menschen im Gewebe persistieren und von denen keine Entwicklungsstadien ausgeschieden werden. Die serologischen Untersuchungsverfahren weisen jedoch oftmals eine nur eingeschränkte Standardisierbarkeit auf, bedingt z. B. durch die Verwendung unterschiedlicher Parasitenstämme zur Antigengewinnung, die die nicht selten beobachteten diskrepanten Ergebnisse in unterschiedlichen Laboratorien erklären könnte. Zudem weisen serologische Untersuchungsverfahren, die auf Gesamtantigenpräparationen eines Parasiten beruhen, durch spezie- und gattungsübergreifende Antigene oftmals eine nur geringe Spezifität auf. Die Problematik der Standardisierbarkeit und Spezifität serologischer Testverfahren wird zukünftig durch die Verwendung gentechnisch hergestellter, Spezies-spezifischer Antigene überwunden werden können. Der Einsatz der Polymerase-Kettenreaktion für den Nachweis von DNA oder mRNA eines Parasiten bietet darüber hinaus eine weitere Möglichkeit mit molekulargenetischen Methoden eine Parasitose zu erkennen. Am Beispiel der Toxoplasmose und der Echinokokkose werden neue Möglichkeiten zur serologischen Diagnostik mit rekombinanten Antigenen und mittels Polymerase-Kettenreaktion aufgezeigt.

## Intraportale Transplantation von Pankreas-Inseln in Lebern diabetischer Ratten: Reinnervation der Inseln und Regulation der Insulin-Sekretion durch hepatische Nerven

*Andreas Gardemann<sup>1</sup>, Kurt Jungermann<sup>2</sup>, Volker Große<sup>2\*</sup>,  
Lothar Cossel<sup>3</sup>, Frank Wohlrab<sup>3</sup>, Hans Jürgen Hahn<sup>4</sup>,  
Wolfgang Blech<sup>5</sup> und Wolfgang Hildebrandt<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie,  
W-6300 Gießen

<sup>2</sup> Institut für Biochemie und Molekulare Zellbiologie,  
W-3400 Göttingen

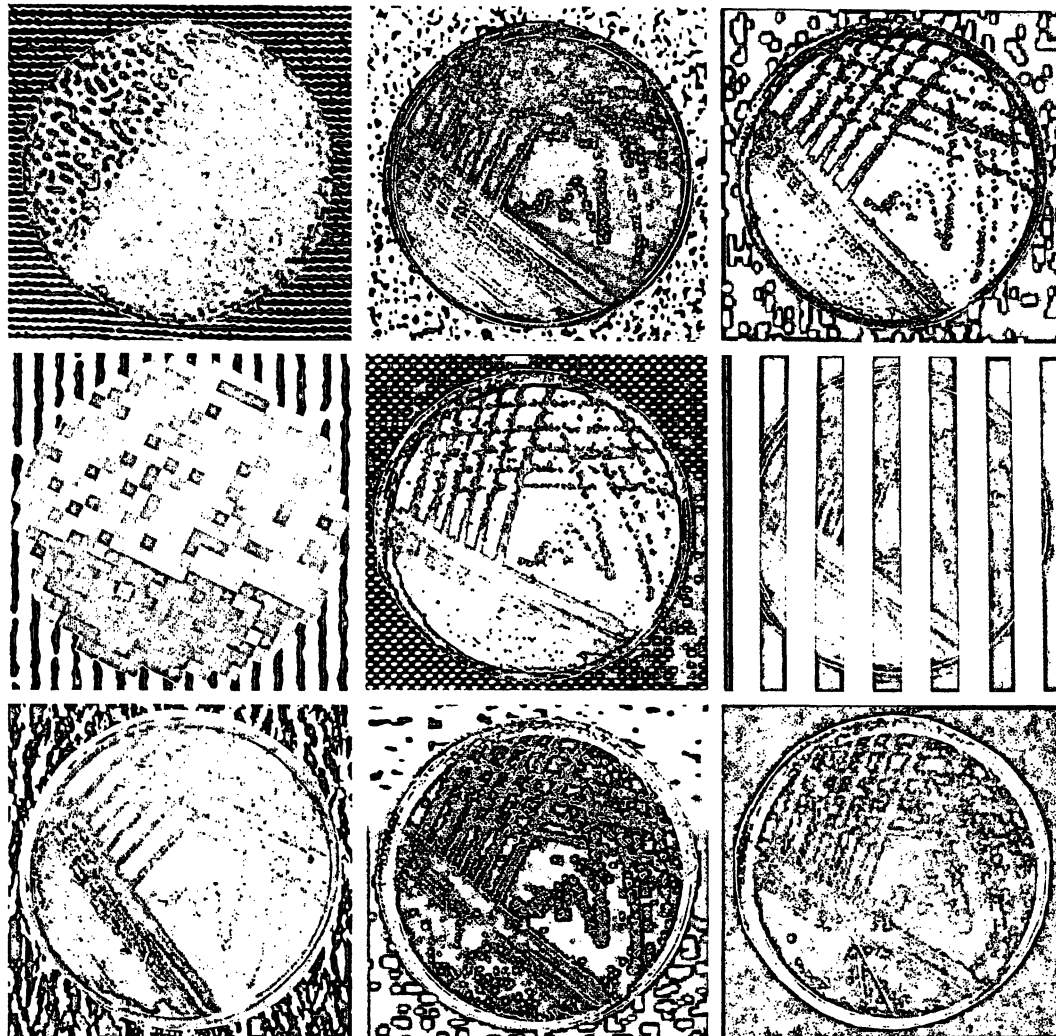
<sup>3</sup> Institut für Pathologie, O-7010 Leipzig

<sup>4</sup> Zentralinstitut für Diabetes, O-2201 Karlsburg

<sup>5</sup> Institut für Biochemie, O-4020 Halle

\* verstorben am 17. 7. 1991

*Einleitung:* Die intraportale Transplantation isolierter Pankreas-Inseln kann eine therapeutische Alternative des insulinpflichtigen



# KULTUR IM LABOR

Kultiviertes Arbeiten heißt: Ressourcen, Arbeitskraft und Zeit effizient einzusetzen und gleichzeitig einen hohen Qualitätsstandard zu gewährleisten. Deshalb sind Fertignährböden eine Alternative zur herkömmlichen Zubereitung aus Trockenpräparaten. Die traditionell bewährte OXOID Qualität

wird nun Platte für Platte als Fertignährboden angeboten. Mit einem Service, der innerhalb kürzester Zeit die OXOID Fertignährböden auf den Labortisch bringt. Denn: Ihren Qualitätsanspruch sollten Sie unter keinen Umständen aufgeben.

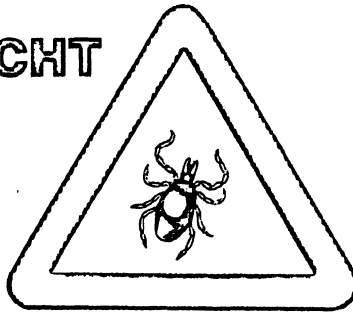
**Die neuen Klassiker. OXOID Fertignährböden.**



Unipath GmbH

Postfach 11 27 · D-4230 Wesel · Am Lippeglacis 6-8 · Telefon (0281) 152-0 · Telefax (0281) 152-1 · Teletex (17) 281 307 = UNIPATH

VORSICHT



**ZECKENBISS-  
GEFAHR**

**Jetzt beißen sie wieder!**

Eine Infektion durch einen Zeckenbiß mit *Borrelia burgdorferi* kann nicht ausgeschlossen werden.

Nur eine schnelle und sichere Diagnose kann eine wirksame Therapie nach sich ziehen.

**Sichern Sie sich ab!**

Ein IgM-ELISA, in dem als solide Phase ein 14 kDa-Fragment als *rekombinates* Protein eingesetzt wird, eignet sich am besten für eine sichere Diagnose von *B. burgdorferi*.

**Ob quantitativ oder qualitativ  
mit einem 14 kDa-IgM ELISA von  
SIGMA DIAGNOSTICS**

haben Sie

klares Meßsignal

hohe Spezifität

hohe Sensitivität

geringste Kreuzreaktionen mit anderen  
Spirochäten

**Riskieren Sie's nicht länger!  
Informationen bei SIGMA DIAGNOSTICS**

**SIA™ LYME DISEASE IgM  
(Kat. Nr. SIA 128-A)**

**SIGMA  
DIAGNOSTICS®**

Grünwalder Weg 30  
W-8024 Deisenhofen  
Service-Telefon: 0130-5155  
Service-Telefax: 0130-6490

Diabetes mellitus darstellen. Es sollte geklärt werden, ob Inseln nach Transplantation reinnerviert werden und ob die nervale Regulation der Insulin-Sekretion aus diesen Inseln wie im normalen Pankreas erfolgt. **Methoden:** Streptozotocin-diabetischen Ratten wurden 2000 Inseln intraportal transplantiert. 3 Monate danach wurden mikroskopische Untersuchungen zum Nachweis der Reinnervation der transplantierten Inseln und Perfusionsstudien der isolierten Leber zur Charakterisierung der nervalen Regulation der Insulin-Sekretion aus den transplantierten Inseln durchgeführt. **Ergebnisse:** 1) 3 Monate nach Transplantation konnten vor allem adrenerge, aber auch cholinerge Nervenfasern in Lebern diabetischer Ratten nicht nur innerhalb des Portalfeldes, sondern auch in Inselzell-Komplexen zwischen  $\beta$ -Zellen nachgewiesen werden. 2) Eine Steigerung des prähepatischen Glucose-Angebotes führte – wie im normalen Pankreas – zu einer mehrphasigen Insulin-Freisetzung aus den transplantierten Inseln. 3) Eine Stimulation der Lebernerven hemmte die Glucose-stimulierte Steigerung der Insulin-Sekretion fast vollständig. 4) Durch Blockade der  $\alpha_2$ -Rezeptoren, nicht jedoch der  $\alpha_1$ - und der  $\beta$ -Rezeptoren wurde die neural bedingte Hemmung der Glucose-stimulierten Steigerung der Insulin-Freisetzung beseitigt. **Schlußfolgerungen:** Die Untersuchungen weisen eine Reinnervation der transplantierten Inseln nach und belegen, daß die Insulin-Sekretion lebertransplanterter Inseln wie normale Pankreas-Inseln nicht nur durch das Glucose-Angebot sondern auch durch die Aktivität sympathischer Nerven über eine  $\alpha_2$ -Rezeptor-abhängige Signalkette reguliert wird.

## Neuer ELISA zum sicheren und sensitiven Nachweis der Lymeborreliose

Gabriele S. Gaßmann<sup>1</sup>, Christiane Rasiah<sup>2</sup>, Elke Helftenbein<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Antigen GmbH, Brühlhofstr. 4, 7022 LE-Echterdingen

<sup>2</sup> Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Hermann-Herder-Str. 11, 7800 Freiburg

Die Labordiagnostik der Lymeborreliose ist bisher wenig befriedigend, da die zur Verfügung stehenden serologischen Tests zu wenig spezifisch und zu wenig empfindlich sind. Gerade der sichere Antikörpernachweis in der Frühphase der Erkrankung, in der eine Antibiotikatherapie am erfolgversprechendsten ist, bereitet aufgrund der mangelnden Sensitivität der Tests Schwierigkeiten.

Der von uns entwickelte ELISA basiert auf einem sehr spezifischen Bereich eines der immunodominanten Proteine von *Borrelia burgdorferi* gegen das in allen Stadien der Erkrankung Antikörper nachweisbar sind. Die erste Immunantwort der Patienten richtet sich fast ausschließlich gegen dieses Protein, wodurch es als Antigen in einem Früherkennungstest geeignet ist.

In einer umfangreichen Studie mit Patienten mit verschiedenen Stadien der Lymeborreliose konnte die klinische Diagnose mit unserem Test in der überwiegenden Zahl der Fälle bestätigt werden. Im ELISA abweichende Ergebnisse waren oftmals auf eine unklare klinische Symptomatik zurückzuführen. Bei ECM-Patienten (1. Stadium) waren die IgM-Antikörper immer erhöht und nahmen nach einer erfolgreichen Antibiotikatherapie deutlich ab. Unspezifische Reaktionen bei anderen akuten Infektionen wurden kaum beobachtet. Bei Untersuchungen auf IgM-Antikörper von Kontrollgruppen bestehend aus klinisch Gesunden bzw. aus Syphilispatienten war die Rate der falsch-positiven Resultate deutlich reduziert.

Mit diesem neuen serologischen Test wird die klinische Diagnostik der Lymeborreliose sinnvoll ergänzt, da ein positives Testergebnis auf eine akute und damit behandlungsbedürftige Infektion hinweist, während schwache Titer auf bereits abklingende Borreliose bzw. Spätstadien der Erkrankung deuten.

## Ein neues Verfahren zur Bestimmung von Nachweis- und Meßgrenzen

K. Gautschi, B. Keller, H. Keller, P. Pei und D. J. Vonderschmitt  
Institut für klinische Chemie der Universität Zürich

Zur Definition der Nachweisgrenze wird heute meist ein Proben-Leerwert mehrfach gemessen und daraus Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Der Mittelwert des Leerwertes plus drei Standardabweichungen gilt als Nachweisgrenze. Damit werden aber nur Fehler der Leerprobe ( $\alpha$ -errors) definiert, wie oft Vollproben falsch negative Resultate ( $\beta$ -errors) liefern, bleibt offen. Oft ist diese Empfehlung auch impraktikabel, z. B. wenn moderne Analysensysteme keine negativen Signale anzeigen, also kein SD berechnet werden kann. Außerdem ist es bei biologischen Systemen oft nicht möglich, Proben zu erhalten, die garantiert frei von dem gesuchten Analyt sind.

Deshalb wird zur Bestimmung der Nachweis- und Meßgrenzen folgendes vorgeschlagen:

Mit einer größeren Anzahl von Meßwerten aus Routinebestimmungen wird mittels des PC-Programms von Sadler & Smith (Clin. Chem. 1990; 36: 1346–1350) ein Präzisionsprofil konstruiert und dessen Varianzfunktion abgeschätzt.

Wo eine akzeptable VK-Gerade (z. B. 10%) die Vertrauensgrenzen schneidet, sind die unteren und oberen Meßgrenzen.

Wird in die Varianzfunktion die Konzentration mit Null eingesetzt, so resultiert die Varianz des Leerwertes. Daraus wird die Normalverteilung um den Nullwert konstruiert. Mittels iterativer Verfahren wird die nächste benachbarte Normalverteilung gesucht, die der Varianzfunktion gehorcht und die Null-Verteilung z. B. nur um 5% überlappt. Ihr Mittelwert repräsentiert die Nachweisgrenze. Auch für diese Iterationen sind PC-Programme verfügbar.

## Bestimmung von Kupfer, Zink, Selen und Quecksilber im Vollblut von Patienten mit Multipler Sklerose

A. Gebhardt<sup>1</sup>, Mauch<sup>2</sup>, H. Kornhuber<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Forschungslabor der G.N.PHARM Arzneimittel GmbH, Schorndorfer Str. 32, 7012 Fellbach

<sup>2</sup> Fachklinik für Neurologie Dietenbronn, 7959 Schwendi

In der vorliegenden Arbeit wird der Frage nachgegangen, inwieweit sich die Vollblutspiegel der Spurenelemente Kupfer, Zink und Selen bei Patienten mit Multipler Sklerose (MS) von denen eines gesunden Vergleichskollektivs unterscheiden. Da die MS eine Erkrankung des ZNS ist, untersuchten wir weiterhin, ob möglicherweise erniedrigte Spiegel der antioxidativ wirksamen Spurenelemente erhöhten Quecksilberkonzentrationen gegenüberstehen. Es ist bekannt, daß Quecksilber als Radikalbildner neben der Leber und der Nierenrinde bevorzugt im Gehirn gespeichert wird und zu schweren neurologischen Funktionsstörungen führen kann.

Von 65 Patienten (28 Männer, 37 Frauen) und einem Vergleichskollektiv mit 62 Probanden (29 Männer, 33 Frauen) wurde EDTA-Vollblut auf die genannten Spurenelemente analysiert. Nach vorhergehender Mineralisierung mittels  $H_2O_2/HNO_3$  Druckaufschluß in einem Mikrowellengerät erfolgte die Bestimmung von Zink mittels Flammen-AAS, Kupfer und Selen mit der elektrothermalen Atomisierung sowie das Quecksilber mit der Kaltdampftechnik nach Anreicherung auf Goldwolle. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Wilcoxon Rangsummentest nach Kruskal-Wallis für nicht normalverteilte Stichproben.

Mit Ausnahme vom Kupfer, hier fanden sich in beiden Kollektiven leicht signifikant niedrigere Vollblutspiegel für die Männer ( $p < 0,05$ ), konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt werden. Ebenso waren für die Spurenelemente keine

Unterschiede zwischen dem Patienten- und Kontrollkollektiv nachweisbar. Wohl zeigte sich aber beim Selen mit 70,4  $\mu\text{g/L}$  (P) bzw. 72,7  $\mu\text{g/L}$  (Ko) in beiden Gruppen eine signifikante Erniedrigung gegenüber dem Normbereich von 90–130  $\mu\text{g/L}$ . Mit durchschnittlich 6,5  $\mu\text{g/L}$  Hg (range 0,5–111,5  $\mu\text{g/L}$ ) gegenüber 2,1  $\mu\text{g/L}$  (range 0,2–6,2) im Kontrollkollektiv weisen die MS-Patienten dagegen hochsignifikant erhöhte Quecksilberkonzentrationen im Vollblut auf. Dabei fand sich bei 11% der Patienten ein Wert von  $> 10 \mu\text{g/L}$ , eine Konzentration, die nach den Beurteilungskriterien des Institutes für Wasser-, Boden- und Luftthygiene des BGA als bedenklich einzustufen ist.

Die Befunde legen den Schluß nahe, daß erhöhte Quecksilberkonzentrationen bei der Entstehung der Multiplen Sklerose von entscheidender Rolle sein können. Weitere Studien müssen klären, ob ein Zusammenhang zwischen den Quecksilberkonzentrationen und dem Schweregrad der Erkrankung besteht und inwieweit durch den therapeutischen Einsatz von Antidota, z. B. Selen, und Radikalfängern (Selen, Kupfer, Zink) die Krankheitssymptomatik gebessert werden kann.

## Diagnostische Festphasensequenzierung PCR-amplifizierter genomischer DNA

Siegmond Gehrisch, Gisela Weißflog und Werner Jaroß  
Medizinische Akademie Dresden, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Bei Erkrankungen unterschiedlichster Genese jedoch gesicherter hereditärer Beteiligung wird der Nachweis oder Ausschluß von Punktmutationen in den entsprechenden Kandidatengen ein neues Arbeitsfeld in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsdiagnostik werden. Die diagnostische Festphasen-Sequenzierung PCR-amplifizierter Genabschnitte stellt dabei die rationellste Methode dar (1). Am Beispiel des sequenzanalytischen Nachweises der Mutation von G  $\rightarrow$  A am Kodon 3.500 des Apo-B-Gens bei 16 Patienten mit familiär defektem Apolipoprotein B (FDB) (2) wird die Praktikabilität, Spezifität und Sensitivität dieser Methodik demonstriert. Ein Genabschnitt von 659 bp im Exon 26 dieses Gens wird mittels PCR amplifiziert, über den biotinylierten 5'-Primer erfolgt durch Magnetseparation und Natronlaugebehandlung die Einzelstrangpräparation und dann wird die konventionelle radioaktive Sequenzierung durchgeführt. Bei den bisher analysierten Sequenzen von mehr als 12.000 bp wurde nur die erwartete Mutation bei den Patienten mit FDB nachgewiesen.

Schrifttum:

1. Assmann, G., H. Funke (1992) Lab. med. 16, 369–374.
2. Soria, L. F. et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 687–691

## Molekularbiologische Diagnostik der Virushepatitis

Wolfram H. Gerlich  
Institut für Medizinische Virologie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Der Nachweis viraler Nukleinsäure durch die weniger empfindlichen Hybridisierungsmethoden oder die höchst empfindliche PCR ist heute von besonderer Wichtigkeit bei der weiterführenden Diagnostik der Hepatitis B und C, in Einzelproben aber auch bei Hepatitis A, D und E. Es gelang mit Hilfe der PCR in Faktor VIII-Präparaten, die mit dem gehäuften Auftreten einer Hepatitis A assoziiert waren, HAV RNA nachzuweisen. Bei Hepatitis B dient der quantitative Nachweis der HBV DNA zur Abschätzung der Infektiosität und als Auswahlkriterium für eine Interferontherapie. Für einen bleibenden Therapieerfolg ist ein vollständiges Verschwinden der HBV DNA aus dem Serum nötig. Eine Reihe von medizinisch

wichtigen HBV-Varianten kann nur durch PCR und nachfolgende Sequenzierung erkannt werden. Bei hochreplikativen Verläufen bleibt das HBV Genom weitgehend stabil, so daß durch typische Sequenzmerkmale Infektketten aufgeklärt werden können. Zahlreiche chronische HBV-Infektionen mit HBs-Ag-negativem Verlauf werden nur durch PCR auf HBV DNA erkannt. Bei Hepatitis C erlaubt die RT/PCR eine Früherkennung der Infektion schon der Inkubationsphase, eine Bestätigung unsicherer antiHCV-Befunde sowie eine Indikationsstellung und Überprüfung der Interferontherapie. In der Praxis ist die PCR für HBV und HCV wenig standardisiert, es fehlen etablierte Testkits oder Qualitätskriterien. Sowohl falsch positive Resultate durch Kontamination, als auch falsch negative Resultate werden sehr häufig beobachtet. Zur Zeit werden Siringversuche auf europäischer Ebene zur Verbesserung dieser Situation durchgeführt.

## Evaluation des Blutkultursystems BACTEC 9240

Sabine Gfrörer, H. A. G. Müller  
Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinik am Eichert, Göppingen

Das BACTEC 9240 (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) weist mittels eines Sensors am Flaschenboden und fluoresszenzoptischer Detektion nichtinvasiv einen durch mikrobiellen Stoffwechsel bedingten  $\text{CO}_2$ -Anstieg im Kulturmedium nach.

Über einen Zeitraum von 6 Monaten wurden zusätzlich zu den vom System als positiv angezeigten auch alle als negativ beurteilten Flaschen nach Ablauf der normalerweise 7 Tage dauernden Bebrütung terminal subkultiviert. Die Keimdifferenzierung erfolgte mit den üblichen biochemischen und immunologischen Methoden.

Von 1752 untersuchten Flaschen zeigte das System 299 (17,1%) als positiv an; aus 286 (16,3%) konnten Keime angezüchtet werden. 1453 Flaschen (82,9%) wurden vom System nach Ablauf der Bebrütungszeit als negativ bewertet, in 12 Flaschen (0,7%) konnten jedoch Keime nachgewiesen werden. Eine Häufung bestimmter Keimgruppen oder -spezies war hierbei nicht festzustellen.

Da die derzeit verfügbare Software noch ohne Schwellenwert arbeitet und nur die  $\text{CO}_2$ -Anstiegsrate mißt, werden vorbebrütete Blutkulturflaschen nicht als positiv erkannt und subkultiviert werden.

Vor- und Nachteile des Systems sowie Keimspektrum und Nachweisdauer werden diskutiert. Bei einfacher Handhabung und einer Rate von 0,8% falsch-positiven bzw. 0,7% falsch-negativen Ergebnissen eignet sich das BACTEC 9240 unserer Meinung nach für das mikrobiologische Kliniklabor.

## Die Polymerase Kettenreaktion (PCR) und ihre Variationsmöglichkeiten, Fehler und Grenzen

Ulf B. Göbel  
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universität Freiburg

Durch Anwendung von in-vitro Amplifikationstechniken, z. B. der Polymerase Kettenreaktion, sollte – zumindest theoretisch – der Direktnachweis eines Virions oder Bakteriums gelingen. Dabei ist es wichtig, die Grundlagen des Verfahrens zu kennen, um jeden Schritt der Analyse kontrollieren zu können. Dies beginnt mit der Auswahl des Zielmoleküls und der Amplifikationsprimer. Probenentnahme, -transport und -aufarbeitung müssen abhängig vom diagnostischen Problem sorgfältig erwogen werden. Bei der Evaluation der verschiedenen Amplifikationsmethoden sollte man

gels geeigneter Vergleichsverfahren („Goldstandards“) unbedingt das klinische Bild berücksichtigt werden. Dies gilt auch für die Bewertung kommerzieller Tests. Ein positiver Erregernachweis ist ebenso wie ein erhöhter Antikörpertiter nicht in jedem Falle diagnoseweisend. Angesichts der derzeit hohen Kosten und der dringenden erforderlichen Qualitätskontrolle sollten der Einsatz dieser Verfahren, speziell aber die Frage nach der Einführung käuflicher Tests oder der Entwicklung eigener Tests sorgfältig geprüft werden.

## Hämostase und Magnesiumstatus beim Menschen

S. Golf, V. Graef, H. Temme, U. Pohlmann, M. Schmidt, N. Katz, L. Róka

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Universitäts-Klinikum, D-6300 Gießen

Die Hämostase stellt das Zusammenspiel zahlreicher Faktoren dar, welches den Blutungsstillstand gewährleistet. Die plasmatische Gerinnung und das Fibrinolyse-System sind wesentliche Hämostasefaktoren. Unter physiologischen Bedingungen ist die Blutgerinnung ständig aktiviert, durch Fibrinolyse wird an Gefäßwänden abgelagertes Fibrin aufgelöst. Als antikoagulatorische Effekte von Magnesium wurden Calciumantagonismus, Hemmung der Thrombozytenaggregation bzw. Thrombusbildung, Verminderung von Schwangerschafts-Hyperkoagulabilität, geringere Fibrinablagerung im Tierversuch und Veränderungen bei der Aktivierung bzw. Stabilität einzelner Gerinnungsfaktoren beschrieben. Vor und nach einem 1500 m-Schwimmtest wurden bei 15 männlichen Schwimmern Gerinnungs- und Fibrinolyseparameter im Blut untersucht. Die Ergebnisse nach 31 Tagen Placebo- wurden mit denen nach Magnesium-Gabe (20 mmol/Tag) verglichen. Durch die Substitution stiegen die Magnesiumkonzentrationen im Serum um 7% und im Erythrozyten um 11% an, wobei in den Erythrozyten die untere Grenze des Referenzbereichs nicht erreicht wurde. Nach Magnesiumeinnahme fanden sich antikoagulatorische Effekte: PTT (-12%) und TPZ (-9%) waren vor dem Test signifikant verlangsamt, daneben wurde eine signifikante Zunahme der Faktor-VIII-Aktivität (+13%) gemessen. Dennoch fand sich anhand der signifikanten Beschleunigung der PTT (Verum um 17%, Kontrolle um 8%) eine gegenüber der Placebogruppe deutlichere Aktivierung des endogenen Gerinnungssystems nach Belastung. Mg zeigte unter Ruhebedingungen antikoagulierende Effekte, verminderte die Thrombinhemmung, modulierte die Plasminogen-Aktivierung und regulierte somit die Hämostase auf einem niedrigeren Niveau, ohne die belastungsinduzierte Stimulierbarkeit der Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systeme zu beeinträchtigen. Die belastungsinduzierte Hyperfibrinolyse wurde mit einem geringeren Umsatz von Fibrinogen bzw. Fibrin erreicht.

## Atom-Absorptionsspektrophotometer mit querbeheiztem Graphitrohrfenster

D. Gräfe, H. Pawlik, K. Eichardt, D. Böwe  
Carl Zeiss Jena GmbH

Vorgestellt wird das Atom-Absorptions-Spektrophotometer AAS-SEA der Firma Carl Zeiss Jena GmbH. Dem zunehmenden Trend der Aufgabenspezialisierung folgend, wurde er als erstes Gerät einer neuen Gerätefamilie ausschließlich für den Graphitrohrbetrieb konzipiert. Kernstück der neuen Gerätetechnik ist ein transversal beheizter Graphitrohrfenster in Verbindung mit einer leistungsstarken Kontinuum-Untergrundkompensation. Das Atomisator-Konzept der Querbeheizung mit dem Ergebnis annähernd isothermer Temperaturverhältnisse im gesamten Ofeninnenraum verringert in der Analytik matrixbehafteter Proben die Untergrund-

problematik und verhindert Kondensations- und Memoryeffekte, wie sie vom Massmann-Graphitrohrfenster her bekannt sind, fast vollständig. Die nahezu idealen Bedingungen für die Atomisierung ergeben kleinere charakteristische Massen sowie bessere Richtigkeit und Präzisionen. Die optimalen Atomisierungstemperaturen liegen bis zu 250°C unter den Temperaturen längs beheizter Systeme. Das bedeutet für den Routinebetrieb eine spürbare Erhöhung der Rohrlebensdauer und kürzere Analysezeiten. Die geringere Anfälligkeit gegenüber chemischen Interferenzen erlaubt eine einfache und schnellere Methodenentwicklung.

## Indikatoren für eine stimulierte Erythropoese infolge chronischer Hypoxie bei zyanotischen Herzfehlern

J. Gross<sup>1</sup>, B. Göldner<sup>2</sup> und O. Sowade<sup>2</sup>  
Institut für Pathologische und Klinische Biochemie<sup>1</sup>, Kinderklinik<sup>2</sup>, Humboldt-Universität, Universitätsklinikum Charité, Schumannstr. 20-22, O-1040 Berlin, Deutschland

In einer Longitudinalstudie von 10 gesunden Neugeborenen und von 23 Kindern mit zyanotischen Herzfehlern wurde das Verhalten des Hämatokrits (Hk), der Retikulozytenzahl, des Anteils von roten Blutzellen (rBz) mit einer Dichte < 1,088 kg/l (Erythrozytendichtetest, EDT), der Kreatinkonzentration (EKK) sowie der Carboanhydraseaktivität (ECA) in rBz untersucht.

Zyanotische Kinder zeigten im Vergleich zu Gesunden erhöhte Aktivitäten der ECA jenseits des 1./2. Tages, des EDT-Wertes jenseits des 7./9. Tages und der EKK jenseits des 25./31. Lebensstages. Das Verhalten des EDT und der EKK reflektieren wahrscheinlich die Neubildung von rBz, die Erhöhung der ECA ist wahrscheinlich auf das Auftreten ontogenetisch differenter Zellen nach der Geburt zurückzuführen.

In einer Studie von Kindern mit zyanotischen (n = 40) und azyanotischen (n = 42) Herzfehlern erwies sich der EDT in Kombination mit dem pO<sub>2</sub> als wertvoller prognostischer Parameter. Kinder mit zyanotischen Herzfehlern mit ungünstiger Prognose zeigen bereits in der 1. Lebenswoche hohe EDT-Werte.

## Blood cell differentiation by flow-cytometric analysis

G. Grundhöfer, N. Katz  
Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, 6300 Gießen, FRG

Flow cytometric analysis is the most frequently applied technique for automated differentiation of blood cells. This analysis determines quantitatively the typical populations of white blood cells and presents definitive flags for quantitative abnormalities. However atypical cells or increased numbers of bands are only indicated by suspect flags. The aim of the present investigation was: (1) to study the correlation of differential counts of typical white blood cells obtained by different flow cytometers and by microscopy; (2) to study the reliability of suspect flagging by the flow cytometric analyzers Coulter STKS, Technicon H1 and Sysmex NE8000.

The determinations of the relative numbers of neutrophils, eosinophils and lymphocytes by the three analyzers and by microscopy were in good agreement. However, a poor correlation was observed for the quantification of monocytes by the different methods.

The flagging of atypical cells ( $\geq 1\%$ ) or increased bands ( $> 9\%$ ) varied between the flow cytometers: 72% of samples containing atypical cells were flagged by STKS, 58% were flagged by NE8000

and 53% were flagged by H1. The rate of false negative results was significantly decreased to about 8% at all analyzers by including definitive flags for quantitative abnormalities of typical cells into the consideration.

## Nierenfunktionsstörungen bei Diabetes Mellitus

W. G. Guder, M. Schmolke und W. Hofmann  
Institut für Klinische Chemie,  
Städt. Krankenhaus München-Bogenhausen,  
Englschalkinger Str. 77, W-8000 München 81

Diabetische Nephropathie umfaßt glomeruläre, tubuläre und vasculäre Störungen. Bei akutem Insulinentzug kommt es zu einer glomerulären Hyperfiltration mit glomerulärer Proteinurie. Als Folge der tubulären Hypertrophie und Hyperfunktion steigt auch die Ausscheidung lysosomaler Enzyme im Urin an. Der Stoffwechsel des proximalen Tubulus beim Diabetes mellitus ist charakterisiert durch eine gesteigerte Gluconeogenese, Ablagerung von Triglyceriden und bevorzugte Oxidation von Ketonkörpern. Der Anstieg des Glycogens in distalen Tubuluszellen und des Sorbitols im papillären Sammelrohr sind Ausdruck der Insulin-unabhängigen Steigerung des Glucose-Stoffwechsels. Der Polyolstoffwechsel dient dem Ausgleich der durch die Glucosurie verursachten Hyperosmolarität des Extracellulärums der Nierenpapille. Die chronische diabetische Nephropathie hingegen ist charakterisiert durch eine überwiegend vasculäre glomeruläre Veränderung mit zunehmender glomerulärer Proteinurie, die erst im fortgeschrittenen Stadium zu einer sekundär tubulären Proteinurie führt. Eine differenzierte Analyse der Harnproteine erlaubt es, die diabetische Nephropathie in einem klinisch stummen Stadium zu überwachen und von anderen Formen der Nephropathie zu differenzieren. Eine neue Strategie der klinisch-chemischen Analytik kann, verbunden mit einer konsequenten Therapie, das Fortschreiten einer Nierenfunktionsstörung bei Diabetes mellitus wesentlich verzögern.

## The Cobas core HBsAg EIA: Evaluation and characteristics of a new enzyme immunoassay for the detection of HBsAg

J. Günther, H. Faust, J. Steinmann\*  
Roche Diagnostic Systems, a Division  
of Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland  
\* Virol. Dept., Institute of Hygiene, Bremen, Germany

The Cobas Core HBsAg EIA is a sandwich enzyme immunoassay based on HBsAg monoclonal antibodies. 200 µl sample is incubated for 105 min at 37°C with 50 µl of monoclonal anti-HBs peroxidase conjugate and a bead which is coated with monoclonal anti-HBs. After a washing step bound peroxidase is detected with tetramethyl-benzidine/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The test can be performed manually or automatically on the Cobas® Core Random Access Immuno-analyzer.

This test was evaluated with 2088 samples from blood donors, routine diagnostics and serum bank samples from 103 HBsAg-positive patients. For all samples the results were identical between the Cobas Core HBsAg EIA and an FDA approved reference method.

Also the detection limit at the cutoff was nearly identical for both methods (< 0.1 U/ml; app. < 0.1 ng/ml). Apart from its reliability, the Cobas Core HBsAg EIA is a valuable addition to the HBV diagnostics, in virtue of its ease of handling, short total incubation time (2 hours) and potential for processing with the Cobas® Core Random Access Immunoanalyzer.

## Ein nationales Konzept als Modell für Europa?

R. Haeckel  
Krankenhaus St.-Jürgen-Straße, Bremen

Die Laboratoriumsmedizin hat immer noch Identitätsprobleme und erhebliche Schwierigkeiten sich gegen mehrere medizinische Fachgebiete abzugrenzen. Sowohl Kliniker als auch vorwiegend im Laboratorium tätige Gebiete identifizieren die Laboratoriumsmedizin häufig mit der klinischen Chemie im weitesten Sinne. Nach der neuesten (Muster-) Weiterbildungsordnung der Bundesärztekammer aufgrund der Beschlüsse des 95. Deutschen Ärztetages 1992 werden Gebiete, Schwerpunkte und Bereiche unterschieden. Die Laboratoriumsmedizin wird als ein Gebiet definiert, das sich mit Inhalten beschäftigt, die auch anderen Gebieten, wie z. B. der Mikrobiologie und der Transfusionsmedizin zuerkannt werden.

Eine gemeinsame Kommission der DGLM und DGKC hat nun versucht, eine Klärung der Begriffe herbeizuführen. In Anlehnung an die Weiterbildungsordnung und in Analogie zum Gebiet der Inneren Medizin soll die Laboratoriumsmedizin als ein Fachgebiet verstanden werden, das sich in mindestens 3 Schwerpunkte gliedert: Klinische Chemie und Pathobiochemie, Medizinische Mikrobiologie und Transfusionsmedizin. Die Laboratoriumsmedizin ist ein „Oberbegriff“, der alle Schwerpunkte umschließt. Daher fordert die Kommission, daß sich alle wissenschaftlichen Fachgesellschaften als „Schwerpunkte“ im Sinne der Weiterbildungsordnung verstehen und gemeinsam einen Dachverband Laboratoriumsmedizin bilden. Diese Idee liegt auch der Absicht zugrunde, im Mai auf europäischer Ebene einen European Council for Laboratory Medicine zu proklamieren.

## Myokardiale Ischämie marker bei terminaler Niereninsuffizienz

G. Hafner, W. Ehrenthal, J. Lotz, H. D. Zuchhold, M. Schaube, W. Prellwitz  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Myokardiale Ischämien treten nicht gehäuft bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz auf. Bei 18 dialysepflichtigen Patienten (Alter 60 ± 16 Jahre; Creatinin 972 ± 203 µmol/l) wurden innerhalb von 6 Monaten viermal vor Dialyse die myokardialen Ischämie marker (Troponin T (TnT), CKMB-Masse, CK und CKMB funktionell) gemessen. Mit Ausnahme grenzwertig hoher TnT (Median 0,09 µg/l) wurden keine pathologischen Ergebnisse (CKMB-Masse 2,4 µg/l, CK 13 U/l, CKMB < 10 U/l) gefunden. Bei 7 Patienten wurden über den Beobachtungszeitraum konstant pathologische TnT (0,27 µg/l; Interquartilbereich 0,18–0,36 µg/l) und teilweise pathologische CKMB-Masse-Konzentrationen (5,1 µg/l; 3,1–8,3 µg/l) bestimmt, vergleichbar denen von 27 Patienten mit instabiler Angina Pectoris (CCS IV: TnT 0,14 µg/l, 0,03–0,96 µg/l; CKMB-Masse 2,75 µg/l, 1,60–7,50 µg/l). Bei 8 der 18 Patienten wurden TnT (0,04 µg/l) und CKMB-Masse-Konzentrationen (1,6 µg/l) unterhalb des Cut-off (TnT > 0,1 µg/l; CKMB-Masse > 5 µg/l) gemessen, vergleichbar denen von 35 Patienten mit stabiler Angina Pectoris (CCS II: TnT 0,03 µg/l; CKMB-Masse 1,80 µg/l, 1,50–2,20 µg/l). Aufgrund einer offensichtlich verzögerten Eliminierung von TnT und CKMB-Masse muß bei niereninsuffizienten Patienten von höheren Konzentrationsbereichen zur Abgrenzung einer myokardialen Ischämie ausgegangen werden.



# Frühsommer-Meningoenzephalitis

## Diagnostik der FSME

ANTI-INOZYMIT FSME IgG/1981



# FSME-Diagnostik aus erster Hand

## Immunozytm FSME

### ELISA zur Bestimmung von IgG- und IgM-Antikörpern gegen das FSME-Virus

Mit dem neuen Testkonzept Immunozytm FSME läßt sich im Gegensatz zu anderen Methoden sicher zwischen spezifischen FSME-Antikörpern der IgG- und IgM-Klasse unterscheiden. Die IgM-Bestimmung wird durch Rheumafaktoren und spezifisches IgG nicht gestört.

#### FSME-IgM-Bestimmung:

- Frühdiagnose einer Erstinfektion mit FSME-Virus nach Zeckenstich
- Differential-Diagnose zur Borreliose bei grippe-ähnlicher Symptomatik („Sommergrippe“) in der ersten und ZNS-Symptomatik in der zweiten Erkrankungsphase

#### FSME-IgG-Bestimmung:

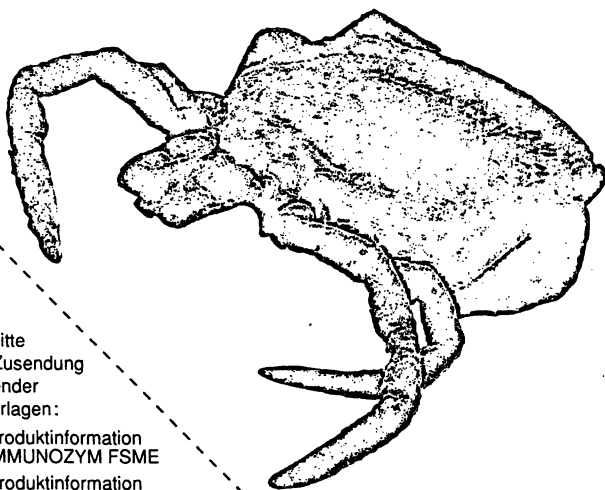
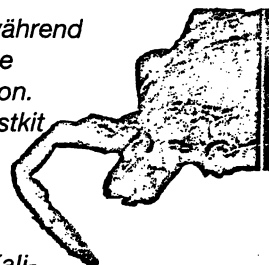
- Überprüfung auf Vorliegen einer Serokonversion
- Verfolgung des Krankheitsverlaufs nach Erstinfektion

#### IMMUNOZYTM FSME IgG/IgM

- Getrennte ELISA-Testkits:  
Immunozytm FSME-IgG,  
96 Tests, Art.-Nr.: 7701010  
Immunozytm FSME-IgM,  
96 Tests, Art.-Nr.: 7701045
- Keine Störungen durch Rheumafaktoren und spezifisches IgG bei der FSME-IgM-Bestimmung

**Neu:** RF/IgG-Absorption während der ersten Inkubation. Keine Vorabsorption/Zentrifugation. Alle Reagenzien sind im Testkit enthalten.

- Ermittlung der Testdaten nach DIN
- Standardisierung der IgG-Kalibratoren und Kontrollen nach Prof. Kunz/Wien (VIEU/ml)
- 8-er ELISA-Teststreifen ermöglichen variable Serienlängen und Automatisierbarkeit
- Testkomponenten und Verdünnungen beider Tests sind aufeinander abgestimmt.
- Inkubation: 150 Minuten bei Raumtemperatur  
Hohe Spezifität und Sensitivität (98%)  
Gute Reproduzierbarkeit (Intra-Assay 4–8%;  
Inter-Assay 6–12%)
- Haltbarkeit: 18 Monate



Ich bitte um Zusendung folgender Unterlagen:

- Produktinformation IMMUNOZYTM FSME
- Produktinformation FSME Prophylaxe/Therapie
- Literatur „Durch Zecken übertragene Infektionskrankheiten“
- Preisliste IMMUNO-Diagnostika
- Preisliste IMMUNO-Therapeutika
- Sonstiges

- Besuch des Diagnostik-Referenten

Name: \_\_\_\_\_

Straße: \_\_\_\_\_

PLZ/Ort: \_\_\_\_\_

### IMMUNO – Der FSME-Spezialist Diagnostik und Prophylaxe aus erster Hand

**IMMUNO GmbH**  
Diagnostika  
Im Breitspiel 13  
Postfach 10 30 80  
D-6900 Heidelberg

**IMMUNO AG**  
Industriestraße 67  
A-1220 Wien

**IMMUNO AG**  
Mühlebachstraße 38  
CH-8008 Zürich



## Erste Erfahrungen mit einem neuen Toxoplasmose-Screening-Verfahren, dem VIDAS-Toxo Competition Test

H.-J. Hagedorn, A. Kraminer-Hagedorn, U. Diekmann  
Medizinaluntersuchungsstelle, D-4900 Herford

Mit dem VIDAS Toxo Competition Test steht ein neues Verfahren basierend auf der ELFA- (Enzym Linked Fluoreszent Assay) Technik als Toxoplasmose-Screening-Verfahren zur Verfügung. In einer Vorstudie zur Prüfung der Sensitivität des VIDAS-Test ergaben sich für 50 IgG-IFT-positive Sera mit Titern  $> 1:32$  eindeutig positive Resultate. Bei 21 Sera mit IgG-IFT-Titern von  $1:16$  oder  $1:32$  fand sich fünfmal ein negatives VIDAS-Ergebnis. Drei dieser diskrepanten Proben waren bei einer Nachuntersuchung im SFT negativ, somit war ein unspezifischer IFT-Befund wahrscheinlich.

308 Sera wurden parallel mit einem als Toxoplasmose-Suchtest anerkannten Verfahren, der Direktagglutination (DA) geprüft. Die Übereinstimmung positiver/negativer Befunde betrug 99%. Drei DA-positive Sera waren im VIDAS-Test und IFT negativ. Ein DA-negatives Serum reagierte im VIDAS-Test und IFT. Die Sensitivität und Spezifität des VIDAS Toxo Competition Test ist der DA zumindest vergleichbar. Von insgesamt 687 im Rahmen der Toxoplasmose-Routinediagnostik geprüften, nicht selektierten Sera war der VIDAS-Test in 230 (33,5%) Proben positiv. In 228 (99,1%) Fällen konnte der Befund im IFT bestätigt werden. Nur 2 grenzwertig reagierende Proben waren im IFT negativ. Ein direkter Rückschluß aus den positiven VIDAS-Indexwerten auf die mit konventionellen Verfahren zu ermittelnden Titergrößenordnungen ist kaum möglich.

Der Screeningtest ist so konzipiert, daß eine deutliche Diskriminierung positiv/negativ möglich ist. Nach den bisherigen Erfahrungen ist der VIDAS Toxo Competition Test ein in der Praxisroutine einfach durchzuführendes effizientes Verfahren zur Vorselektion von Sera, die mittels erweiterter Toxoplasmose-Serologie charakterisiert werden müssen.

## Evaluierung eines neuen indirekten Enzymimmunoassay als alternativer Syphilis-Screening-Test

H.-J. Hagedorn, A. Kraminer-Hagedorn  
Medizinaluntersuchungsstelle, D-4900 Herford

Die Empfehlungen zur Serodiagnose der Syphilis des BGA aus dem Jahre 1979 lassen ein alternatives Verfahren zum TPHA-Test zu, sofern der Test eine vergleichbare Spezifität und Sensitivität aufweist. Unter dieser Fragestellung prüften wir einen neuen Enzymimmunoassay, den TP-EIA (Biologische Arbeitsgemeinschaft GmbH, Lich). Die Spezifität des TP-EIA wurde in 1054 Serum- und Plasmaproben mit 99,6% ermittelt. Falsch positive Befunde waren in wenigen Fällen bedingt durch kreuzreagierende Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi*. Die Sensitivität in 247 TPHA reaktiven Sera betrug 98,8%. Alle Sera von Patienten mit frühen Infektionsphasen oder möglicher aktiver Syphilis (IgM-Antikörperbefund positiv) wurden von dem TP-EIA als positiv erkannt. Ein spezielles Problem sind Sera mit einem grenzwertigen TPHA-Titer von  $1:80$ . Von 56 solcher Sera wurden 32 als spezifisch oder wahrscheinlich spezifisch klassifiziert mittels anderer serologischer Methoden (FTA-Abs-Test, Immunoblot), klinischer Daten oder einer bekannten spezifischen Anamnese. Der TP-EIA reagierte in diesem Probenkollektiv in 71,9% der Sera. Nach unserer Erfahrung ist der TP-EIA ein spezifischer und sensitiver Syphilis-Suchtest und kann alternativ zum TPHA-Test im Routinelaboratorium angewendet werden.

## DNS-Amplifikation zum Nachweis von humanem Cytomegalievirus (HCMV) in Granulocyten und peripheren mononukleären Zellen (PMN) immunsupprimierter Patienten mittels „Nested-PCR“: Diskrepanz zur Virusisolierung

Klaus Hamprecht, Gabriele Sorg und Hans-Joachim Gerth  
Abt. für Med. Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten,  
Hygieneinstitut der Universität Tübingen

Primärinfektion oder Reaktivierung des zur Gruppe der Herpesviren zählenden Cytomegalievirus verursacht in immunsupprimierten Patienten oft lebensbedrohliche Krankheitsbilder. Gerna et al. (1992, J. Infect. Dis. 166:1236-1244) fanden kürzlich Evidenz für eine initiale Replikation von HCMV in Granulocyten virämischer Patienten. Unter Verwendung einer sehr sensitiven PCR-Reaktion mit „nested primer“-Oligonukleotiden (Brytting et al., 1991, J. Virol. Meth. 32:127-138) wurden PMN, Granulocyten und Urin sowie diverse andere Materialien (unfixierte Autopsieproben, Liquor und Bronchiallavage) von 18 Patienten nach Knochenmark- oder Nierentransplantation und 2 Patienten mit M. Wegener untersucht. Zur Leukocytenfraktionierung reichte der Dextranüberstand von 5-10 ml EDTA-Blut aus. Nach Verdau mit Proteinase K wurde aus jeder Zellfraktion DNS mit Phenol-Chloroform extrahiert und mit EtOH präzipitiert. Der DNS-Präparation aus 5-20 ml Urin wurde eine Viruspräzipitation mit PEG 6000/NaCl vorgeschaltet. 0,1-100 ng DNA wurden jeweils amplifiziert. Die Nachweisgrenze lag bei 10 fg isolierter HCMV-DNS in der Agarosegelelektrophorese (ca. 40 HCMV-Kopien). In 14 von 21 PMN-Proben und 11 von 17 Granulocytenproben sowie 11 von 13 Urinproben und 4 von 4 Gewebeproben wurde HCMV-DNS nachgewiesen. Infektiöses Virus ließ sich in der parallel durchgeführten Virusanzucht (aus Leukozyten) jedoch nicht isolieren. Diese Diskrepanz zwischen HCMV-DNS-Nachweis in Leukozytenfraktionen und Virämie (siehe auch Ratnamohan et al., 1992, J. Infect. Dis. 38:252-259) ist im Kontext zur Ganciclovirtherapie und Viruspersistenz in Granulocyten und Monozyten zu diskutieren.

## Mathematische Analyse des Verlaufs von Laborwerten bei Akutem Myokardinfarkt

Kurt Hannemann-Pohl  
Marienkrankenhaus, Abteilung für Laboratoriumsmedizin,  
Mikrobiologie und Transfusionsmedizin, Alfredstraße 9,  
2000 Hamburg 76

Der zeitliche Verlauf neuerer Marker des Akuten Myokardinfarktes – wie z. B. die CK-MB- und die Myoglobin-Konzentration – nach einem Einzelereignis ist durch einfache, pharmakokinetische Funktionen beschreibbar. Komplexere Verläufe mit mehreren aufeinanderfolgenden Ereignissen sind durch additive Überlagerung derartiger Funktionen beschreibbar.

Durch Computerprogramme, die für die Analyse von Chromatogrammen entwickelt wurden, ist es möglich geworden, eine schnelle, auf dem oben angegebenen Modell basierende Analyse durchzuführen. So können Folgeereignisse deutlich herausgearbeitet und die Beobachtungen der Klinik und des EKGs ergänzt werden.

Die näherungsweise Analyse klassischer Marker – wie z. B. der CK-Aktivitätsmessungen – ergibt gleichsinnige Verläufe und trägt damit zur Sicherheit der Aussagen des Labors bei.

## Erfahrungen mit der Bestimmung von Antinukleären Antikörpern (ANA) mittels Immunfluoreszenz an Patienten eines Akutkrankenhauses

S. G. Hansel-Bessey, U. Rautenberg, P. Lutz  
Zi für Labormedizin, Kreiskrankenhaus Böblingen

Antikörper gegen Bestandteile des Zellkerns treten bei einer Vielzahl von Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und der Kollagenosen auf (1). Der Nachweis dieser Antikörper im Serum stellt einen wichtigen Teilaspekt für die Diagnose und Verlaufsbeurteilung dieser Krankheiten dar. Die Anzahl der Anforderungen beträgt in unserem Labor ca. 6–8 pro Woche, wobei der größte Teil (75%) auf die Innere Abteilung entfällt. Die Pädiatrische Abteilung trägt dazu mit 23% bei, die restlichen 2% sind Anforderungen der Chirurgischen Kliniken.

Die Präferenz des weiblichen Geschlechts für die differentialdiagnostisch wichtigen Erkrankungen zeigt sich in einer Geschlechterverteilung der Anforderungen von 60 zu 40.

Zur Bestimmung der ANA werden von uns Hep2-Zellen zweier verschiedener Hersteller, polyvalentes sowie IgG-spezifisches Antihumanglobulin und Präparationen von *Crithidia luciliae* zum Nachweis von Anti-DNS verwendet. Die ermittelten Titerhöhen schwanken zwischen 1:100 und 2:12 800 mit einem Schwerpunkt bei 1:400–800. Die höchsten Titer werden bei Patienten mit aktivem SLE gemessen. Neben der Titerhöhe wird auch das Fluoreszenzmuster dokumentiert und dem Arzt als zusätzliche Information mitgeteilt. Die beobachteten Muster korrelieren gut mit den damit assoziierten Krankheitsbildern. Zur Dokumentation werden Fotografien der Fluoreszenzmuster dem Befund beigegeben.

Schrifttum:

1. H. P. Seelig: Antikörper gegen Zellkernantigene

## Ein neues APTT Reagenz (IL Test™ APTT-L), optimiert für das ACL (Instrumentation Laboratory)

M. Heins\*, S. Vazzana\*\*, E. Botta\*\*, L. Papagni\*\*

\* Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, Medizinische Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, 4000 Düsseldorf 1

\*\* Instrumentation Laboratory SpA, Viale Monza, 20128 Mailand, Italien

Reagenzien zur Bestimmung der APTT ergeben üblicherweise auf einem nephelometrisch messenden Zentrifugalanalysator kürzere Meßzeiten als auf mechanischen Systemen, wie zum Beispiel dem Kugelkoagulometer.

Um eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den beiden Gerätetypen zu gewährleisten, wurde ein neues APTT Reagenz entwickelt, welches an Stelle von Kaolin Kieselgur enthält.

Die Präzision von Tag zu Tag – über 10 Tage – erzielte mit unterschiedlichen Kontrollmaterialien Variationskoeffizienten von < 2,0% (Fünffachbestimmung).

Eine gute Faktorenempfindlichkeit konnte für die Faktoren VIII, IX, XI und XII nachgewiesen werden. Bei einer Faktor VIII Aktivität von 36% war die APTT auf 46 Sek. verlängert.

Das für das nephelometrische ACL System optimierte Reagenz wurde mit einem kommerziell erhältlichen Reagenz (Pathromtin, Behring) auf einem Kugelkoagulometer (KC 10, Amelung) verglichen.

Der Korrelationskoeffizient von 0,958 (für ein zufällig ausgewähltes Patientenkollektiv einer Universitätsklinik, mit Normalproben,

Patienten unter Heparintherapie sowie solchen mit angeborenen und erworbenen Faktormangelzuständen) zeigte einen ausgezeichneten linearen Zusammenhang sowie eine gute Vergleichbarkeit der beiden Methoden ( $y = 1,43 + 0,97x$ ).

Der bei 90 offensichtlich gesunden Probanden mit dem neuen Reagenz ermittelte Normbereich liegt zwischen 28–40 Sekunden ( $\bar{x} = 37$  Sek).

## Optimierung eines neuen kontinuierlichen UV-Tests zur Bestimmung der F XIII-Aktivität im Plasma

M. Heins, U. Fahrion, W. Rick

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, 4000 Düsseldorf 1

Der von Fickenscher et al. 1991 beschriebene UV-Test zur Bestimmung der F XIII-Aktivität weist verschiedene Probleme auf: eine Auswertung zu festen Reaktionszeiten ist abzulehnen; zwischen F XIII-Aktivität und Meßsignal besteht nur bis 80% Aktivität eine lineare Beziehung; die Bestimmung der F XIII-Aktivität in Plasmaproben mit hoher Fibrinogenkonzentration ist nicht möglich, da sich im Test ein Fibringerinnsel bildet, dessen Trübung eine Extinktionszunahme vortäuscht, so daß ein verminderter NADH-Verbrauch gemessen wird. Das Verfahren wird durch Herabsetzung des Probevolumens von 100 µl auf 50 µl und Erhöhung des Fibrinaggregationshemmstoffes von 0,5 mg/ml auf 1,0 mg/ml in der Reaktionslösung modifiziert. Das Zeitintervall zur Auswertung ist variabel dem Reaktionsverlauf entsprechend festgelegt. Die Berechnung der Aktivität erfolgt in U/l. Mit dem in dieser Form optimierten Test besteht eine lineare Beziehung zwischen Extinktionsabnahme und F XIII-Aktivität bis über 128 U/l (37°C) entsprechend 140%. Plasmen mit hoher Fibrinogenkonzentration lassen sich problemlos analysieren. Bei 100 offenbar gesunden Probanden wurde ein Normbereich der F XIII-Aktivität von 66 bis 142 U/l (37°C) beziehungsweise 73 bis 155% ermittelt.

## EBNA-1-Antikörper: Ein neuer, spezifischer Marker in der EBV-Diagnostik

Elke Helftenbein<sup>1</sup>, Yvette Ziemendorf<sup>1</sup>, Georg Bauer<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Med. Lab. Degerloch und Lab. Dr. Frey/Dr. Huesgen, Brühlhofstr. 4, 7022 LE-Echterdingen

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Hermann-Herder-Str. 11, 7800 Freiburg

Die EBV-Infektion wurde bisher serologisch durch die Bestimmung von Antikörpern (AK) gegen Virus-Capsid-Antigen (VCA), Early-Antigen (EA) und gegen eine Familie nukleärer Antigen (EBNA) nachgewiesen. Die Standard AK-Bestimmung wird auf EBV-infizierten Kulturzellen mittels Immunfluoreszenz durchgeführt.

VCA- und EBNA-IgG-AK sind schon kurz nach der Infektion nachweisbar und persistieren lebenslang. Ihre Bestimmung erlaubt keine Aussage über eine kürzlich oder lange zurückliegende Infektion aus nur einer Serumprobe. Die Diagnose einer akuten EBV-Infektion ist nur in den ersten 4–6 Wochen mit dem VCA-IgM Test möglich. EA-IgG-AK treten frühestens 8–12 Wochen nach Infektion auf.

Da Symptomatik und Transaminasen-Erhöhung länger als 6 Wochen persistieren können, ist bei negativem Test auf VCA-IgM und EA-IgG die Serodiagnose einer kürzlichen EBV-Infektion nicht möglich. Vorhandene Symptome werden u. U. nicht in einen kausalen Zusammenhang mit einer EBV-Infektion gebracht.

# WICHTIGE INFO ZUR INFEKTIONSSEROLOGIE

## EBV-DIAGNOSTIK UNVERZICHTBAR

Besonders bei...

anhaltender Müdigkeit  
unklarem Fieber  
Lymphadenopathie  
Leukozytose  
Splenomegalie  
Hepatitis...

ist eine Epstein-Barr-Diagnostik  
angezeigt.

Gezielter Nachweis von *IgG*- und *IgM*  
Antikörpern im Serum gegen *EBV-EBNA*  
und *EBV-VCA* von **SIGMA DIAGNOSTICS**  
bietet Ihnen ...

quantitative Ergebnisse  
geringe Kreuzreaktivität  
hohe Spezifität  
extreme Sensitivität  
schnelle Testdurchführung  
gleichbleibende Testgenauigkeit

Sie  
sollten  
Klarheit  
haben!

Rufen Sie an oder faxen Sie uns und  
informieren Sie sich über

EBV-VCA IgG (Kat.Nr. SIA 130-A)  
EBV-VCA IgM (Kat.Nr. SIA 131-A)  
EBV-EBNA IgG (Kat.Nr. SIA 132-A)  
EBV-EBNA IgM (Kat.Nr. SIA 133-A)

**SIGMA**  
DIAGNOSTICS

Grünwalder Weg 30  
W-8024 Deisenhofen  
Service-Telefon: 0130-5155  
Service-Telefax: 0130-6490

Klaus Peter Ratzmann

# Diabetologische Praxis

Leitfaden  
für den  
niedergelassenen  
Arzt

Verlag Kirchheim Mainz

Diese Broschüre vermittelt in übersichtlicher Form gesichertes Wissen über den Diabetes mellitus. Zugunsten praxisrelevanter Aspekte werden Gebiete wie Epidemiologie, Ätiopathogenese usw. nur kurz dargestellt. Die engen Beziehungen diabetischer Folgeschäden zu anderen Fachdisziplinen finden umfassende Berücksichtigung. Beim Typ-I-Diabetes mellitus stehen die therapeutischen Bemühungen um eine Normalisierung des Glukosestoffwechsels mit dem Ziel einer Prävention diabetischer Folgeschäden im Mittelpunkt. Schnell findet der interessierte Leser alle erforderlichen Informationen über den aktuellen Entwicklungsstand. Beim Typ-II-Diabetes mellitus, dem Gros der Patienten, geht es darum, durch eine problemorientierte Wissensvermittlung zu langfristigen Verhaltensänderungen zu motivieren. Viele Typ-II-Diabetiker werden im Verlauf ihrer Krankheit auf Insulin umgestellt. Insulin-Pens, Insulin-Fertigspritzen und ein breites Spektrum von Kombinationsinsulinen haben die Therapie für den Diabetiker einfacher gemacht. Ein tabellarischer Anhang gestattet eine schnelle und aktuelle Orientierung.

**Verlag Kirchheim, Postfach 2524, 6500 Mainz 1**

Bitte senden Sie mir ..... Expl. Ratzmann: "Diabetologische Praxis", 116 Seiten mit farbigen Abbildungen, ISBN 3-87409-064-7, zum Preis von DM 32,- an folgende Anschrift:

Name

Straße

PLZ/Ort

Unterschrift

Aus der Familie der EBNA-Antigene induziert im Gegensatz zu den übrigen EBNA-Antigenen das EBNA-1 seine Antikörper erst 8–12 Wochen nach Infektionsbeginn. Das rekombinante EBNA-1 Antigen wurde in einem EIA der Fa. Sigma Diagnostika eingesetzt und der Immunfluoreszenztest wurde auf einer nur EBNA-1 exprimierenden Zelllinie (P3HR-1) durchgeführt. In einer Studie sind Seren von Patienten mit unterschiedlicher klinischer Symptomatik untersucht worden.

Die spezifische Bestimmung der EBNA-1 AK und die gleichzeitige Bestimmung von VCA-IgM, VCA-IgG und ggf. von EA-IgG aus einer Serumprobe ermöglicht eine Aussage über den Zeitpunkt der Primärinfektion und somit eine klare Zuordnung des Antikörperbefundes hinsichtlich einer akuten, kürzlichen oder länger zurückliegenden EBV-Infektion.

## Evaluation des Virion ELISA classic Kit Candida-IgG, -IgM und -IgA. Möglichkeiten einer Immunglobulinklassen-spezifischen Candida-Serologie

Hermann G., Gerstenecker B., Badura F., Entrup R.  
Institut Virion GmbH, Konradstr. 1, 8700 Würzburg

Für die Candida-Serologie sind seit kurzem ELISA-Techniken kommerziell verfügbar. Der bislang für die Ermittlung von Anti-Candida-Antikörpern als Standard geltende Hämagglutinationstest stellt somit nicht mehr die alleinige serologische Methode dar. Eine Bereicherung für eine differenzierte Candida-Serologie liegt in der Immunglobulinklassen-spezifischen Detektion von Anti-Candida-Antikörpern.

Da die für die Testsysteme eingesetzten Antigene die resultierenden Testergebnisse und deren Interpretation determinieren, werden die Antigenstrukturen des Virion Elisa classic Kit Candida vorgestellt und deren klinisch-diagnostische Wertigkeit anhand einer Literaturrecherche diskutiert.

Die Seroprävalenz alters- und immunglobulinspezifischer Anti-Candida-Antikörper wird anhand ermittelter Daten aus der Testentwicklung des Virion Elisa classic Kit Candida dargestellt.

Mittels ausgewählter Seren wird auf die klinische Wertigkeit des Virion Elisa classic Kit Candida im Vergleich zum Hämagglutinationstest eingegangen. Andere Parameter der mykologischen Diagnostik werden einbezogen. Es zeigt sich, daß sich die unterschiedlichen Testsysteme nicht ersetzen, sondern sinnvoll ergänzen.

## SYN<sup>elisa</sup> ANA-Profil: Rekombinante Antigene zur Analyse komplexer Antikörpermuster

P. Höpfl, E. Meier, G. Stahnke, N.-J. Cook  
elias Entwicklungslabor für Immunoassays GmbH & Co. KG,  
7800 Freiburg i. Br.

Auf der Basis unserer Palette quantitativer ANA/ENA-Einzelparame-ter haben wir einen enzymimmometrischen ANA/ENA-Profil-Assay entwickelt, mit dem im Patientenserum gleichzeitig und unabhängig Antikörper gegen die Antigene U1-snRNP (68 kDa)-Protein, RNP-Sm, Sm, SSA/Ro (60 + 52 kDa), SSB/La, Scl-70, Centromerprotein B und Jo-1 nachgewiesen werden können.

Die Antigenkomplexe RNP-Sm und Sm werden aus HeLa-Zellen isoliert. Die im SYN<sup>elisa</sup> ANA-Profil eingesetzten rekombinanten Antigene sind humane Proteine, die in voller Länge, wahlweise im prokaryotischen E. coli- bzw. im eukaryotischen Baculovirus/Sf9-Expressionssystem, mit einer sechs Histidinreste umfassenden Markierung am C-Terminus, dargestellt und mittels Ni<sup>2+</sup>-Chelat-Affinitätssäule gereinigt werden.

Die Vorteile rekombinanter humaner Antigene sind:

- klar definierte Struktur und Zusammensetzung
- höchste Spezifität, da der zu detektierende Autoantikörper und das Antigen aus dem menschlichen System stammen
- sehr niedriges Hintergrundsignal von Kontrollseren auf Grund des hohen Reinheitsgrades des Antigens

Die Auswertung des Assays erfolgt über einen gemischten Kalibrierstandard, der für jedes Antigen einen spezifischen Cut-off-Wert festlegt. Zur Charakterisierung der Patientenserum wird der Quotient (Ratio) = OD (Patientenserum)/OD (Cut-off) gebildet. Diese Auswertung wird von der SYN<sup>elisa</sup> Software unterstützt.

Wir präsentieren Daten zur Spezifität, Varianz und Linearität des SYN<sup>elisa</sup> ANA-Profiles und dessen Validierung mit ausgewählten Patientenkollektiven.

## HEMOLAB-Evaluierung eines automatischen Systems für die Gerinnung

Frau Hoffmann, Herr Lenz, Frau Professor Popov-Cenic  
Institut für experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin  
der Universität Bonn, Direktor Professor Dr. Hanfland,  
Sigmund-Freud Str., 5300 Bonn 1, Venusberg

Das Vollautomatische Gerinnungsanalyensystem Hemolab der Firma bioMérieux wurde im Vergleich mit dem MLA Elektra 1000 C-System der Firma Baxter untersucht.

Die Evaluierung erstreckte sich auf folgende Parameter:

- Quick, PTT, Thrombinzeit, Fibrinogen, AT III

Die Reagenzien stammten zum Teil von Baxter, zum Teil von bioMérieux.

Außer bei Fibrinogen wurden an beiden Systemen dieselben Reagenzien eingesetzt.

Verglichen wurde:

- Präzision in der Serie
- Präzision von Tag zu Tag
- Stabilität der Eichkurve
- Außerdem wurde die Korrelation von jeweils über 200 Patientenproben pro Parameter ermittelt.

## Automated chemiluminescent immunoassay for progesterone using the SPALT-Principle

W. Hubl, L. Reum\*, E. Freymann, G. Markowitz\*, M. Mack\*,  
D. Meißner  
Institute of Clinical Chemistry and Lab. Diagnosis,  
Dresden-Friedrichstadt-Hospital  
\* Byk-Sangtec Diagnostica, Diätzenbach, Germany

The measurement of progesterone is an integral part of investigations of amenorrhoea and infertility. The determination of progesterone level is used clinically to confirm ovulation and normal function of the corpus luteum in nonpregnant women. We developed a chemiluminescent assay for progesterone using SPALT-Principle (Solid-Phase-Antigen-Luminescent-Technique).

Total serum progesterone competes with the solid phase coated progesterone-antigen for binding to the labelled antibody. After incubation the unbound labelled antibody is removed, luminescent substrate added and finally the chemiluminescence of the bound labelled antibody is measured using the luminometer unit of the automated system. A displacing agent removes progesterone bound to serum proteins. The assay provides quantitative results in less than 2 hours. The progesterone assay has been designed to run on the LIA-mat SL 3000 System which is a fully

automated analyzer that performs both competitive and sandwich is a fully automated analyzer that performs both competitive and sandwich immunoassays. The assay has a dynamic range from 0 to 40 ng/ml. The calculated sensitivity was < 0.1 ng/ml progesterone.

The developed progesterone chemiluminescent immunoassay was compared to two commercially available progesterone assays. We observed a linear regression for the DPC and the SERONO-progesterone assays.

In conclusion, this assay provides a rapid, convenient and accurate method for determining progesterone in human serum.

## Umsatzmessungen des Kohlenhydratstoffwechsels bei Diabetes mellitus

A. Hübinger, H. Reinauer  
Diabetes-Forschungsinstitut, 4000 Düsseldorf

Die Bestimmung der basalen Glucoseumsatzrate bei Normalpersonen und bei Diabetikern wird nur mit stabil-markierter Glucose durchgeführt. Unter den zahlreichen möglichen Tracern hat sich Glucose[6,6-D<sub>2</sub>] bewährt. Dieser Tracer erlaubt die Messung der gesamten Glucoseumsatzrate (Ra), die bei 2–2,4 mg/kg/min. liegt. Die Verwendung von weiteren stabil-markierten Glucosemolekülen und deren Aussagefähigkeit wird erläutert. Ein spezieller Isotopeneffekt wurde bei diesen Messungen nicht beobachtet. Probleme bereitet die Auswertung von Meßdaten unter euglykämisch-hyperinsulinämischen Bedingungen, wo zusätzlich die Glucoseumsatzrate mit Hilfe der Clamp-Technik bestimmt werden kann. Die Diskrepanz zwischen Ra und Clamp-Methoden hat zu den sogenannten „negativen hepatischen Glucoseproduktionsraten“ geführt. Bei Typ II-Diabetikern ist die Glucoseumsatzrate unter Basalbedingungen, aber auch unter Bedingungen des euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamps als Zeichen der Insulinresistenz vermindert. Die Arbeitshypothese ist, daß der verstärkte Fettsäureabbau die Glucoseutilisation im Sinne des RANDLE-Zyklus gehemmt wird. Durch therapeutische Intervention mit ETOMOXIR, das die Carnitinsacyltransferase I hemmt, wird die Glucoseumsatzrate gesteigert. Der Effekt von ETOMOXIR auf die Glucoseumsatzrate bei Typ II-Diabetikern ist aber nicht so eindeutig, wie im isoliert perfundierten Herzmuskel von diabetischen Ratten. Das Auswertungsmodell einer „steady-state-Kinetik“ ist bei hyperinsulinämischen Bedingungen nicht zutreffend.

## Clinical and technical performance of Amerlex MAB\*FT3 RIA

TP. Irving, ND. Christofides, I. Lingham  
Kodak Clinical Diagnostics Limited,  
Research and Development, Cardiff Laboratories, UK

The Amerlex MAB\*FT3 assay is a direct competitive RIA for the measurement of FT3 in serum or plasma. The <sup>125</sup>I-labelled monoclonal anti-T3 antibody can bind either FT3 in the sample or to ligands on the magnetisable separation suspension.

Free hormone validity of the assay was examined by classical methods and its performance upon dilution and variations in binding hormone concentrations was as theory predicts (Law of Mass Action), i. e. the assay was robust to sample dilution and the FT3 concentration was independent of serum protein variations. Correlation to concentrations in human serum albumin (HSA) over the range 31–51 g/L resulted in the following functional relationship:

Amerlex MAB\*FT3 = 0.001 – HSA – 4.98 pmol/L (r = 0.094, n = 141). For all categories of NTI samples > 95% had FT3 concentrations within the reference interval. Reduction in FT3 concen-

trations was observed from 1st to 3rd trimester pregnancy samples with > 99% of samples within reference interval. Improved performance with auto-antibody samples was observed with the Amerlex MAB\*FT3 assay compared to analogue based FT3 assays. Patient sample correlation to reference methods (Amerlex M FT3 (Amlx-M) and Equilibrium Dialysis (ED)) resulted in the following least-squares regression equations:

Amerlex MAB\*FT3 = 1.00 × Amlx-M – 0.13 pmol/L (r = 0.944, n = 561).

Amerlex MAB\*FT3 = 0.88 × ED – 0.965 pmol/L (r = 0.984, n = 85).

In conclusion the Amerlex MAB\*FT3 RIA fulfills all the theoretical criteria of a valid FT3 assay.

## Molekularbiologische Diagnostik bei CMV-Infektionen

G. Jahn  
Institut für Klinische und Molekulare Virologie der Universität  
Erlangen-Nürnberg, Loschgestr. 7, 8520 Erlangen

Klinisch manifeste Erkrankungen durch Cytomegalovirus (CMV)-Infektionen treten besonders bei Neugeborenen nach intrauterinen Infektionen und bei immunsupprimierten Patienten auf. Da die üblichen Nachweismethoden noch unbefriedigend sind, wurden zunehmend molekularbiologische Verfahrenstechniken zur Verbesserung der CMV-Diagnostik erprobt. Mit Hilfe rekombinanter CMV-Proteine konnten virale Antigene definiert werden, die es ermöglichen, CMV-spezifische Antikörper in Seren von infizierten Personen zu erkennen. Die rekombinanten Proteine waren zudem hilfreich, um die Spezifität von monoklonalen Antikörpern zu bestimmen. Diese Antikörper eignen sich für den Nachweis viraler Antigene in peripheren Bluteukozyten oder im Organewebe. Der immunhistochemische Nachweis viraler Antigene für diagnostische Zwecke erlaubt zudem Einblicke in die Organpathogenese von CMV. Bei Verdacht auf eine ZNS-Infektion durch CMV ist der Nachweis viraler DNA mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) empfehlenswert.

## Fluoreszenz Polarisations Immunoassays zum qualitativen Nachweis von Suchtdrogen in Urin

M. Jalalian, B. Reckmann  
E. Merck, Forschung Djagnostica, Frankfurter Straße 250,  
D-6100 Darmstadt

Die E. Merck dau-TRAK® Immunoassays beruhen auf dem Prinzip der Fluoreszenzpolarisation (FPIA). Dieses Verfahren ist grundsätzlich für den qualitativen und quantitativen Nachweis von Drogen, deren Metaboliten, sowie von Medikamenten in Urin vorgesehen und wird am Merck VITALAB Eclair® Analyser durchgeführt. Dau-TRAK® Reagenzien für das immunologische Screening der Parameter und Parametergruppen Opiate, Cannabis, Kokain, Benzodiazepine, Barbiturate, Phencyclidin, Methadon, Amphetamin/Methamphetamin und Morphin stehen zur Verfügung.

10 µl Probe wird mit 1 ml fertiger Reagenz-Lösung gemischt und 12 Minuten im Inkubationsblock des Eclair® bei 37°C inkubiert. Anschließend wird die Fluoreszenzpolarisation des Leerwertes und der Probe gemessen. Der Eclair® berechnet automatisch die Differenz und druckt das Ergebnis als positiv oder negativ aus.

Die Haltbarkeit der Reagenzien beträgt bei 2–8°C 18 Monate. Nach einmaligem Öffnen sind die Reagenzien bei 2–8°C 8 Wochen haltbar.

Die Kalibrierung des Merck VITALAB Eclair® erfolgt mit Hilfe der Multikontrolle für die Schwellenkonzentration (cut-off). Die Kon-



trollen „hoch“ und „niedrig“ können zur Qualitätskontrolle eingesetzt werden.

Mit dem spezifischen Morphin-Test des FPIA dau-TRAK® wird ausschließlich freies Morphin nachgewiesen. Der spezifische Morphin-Test erlaubt die Unterscheidung zwischen Proben, die hauptsächlich Codein und Dihydrocodein (z. B. aus Hustenmittel) und mißbräuchliche Suchtdrogen (Heroin, Morphin).

Die Ergebnisse des FPIA dau-TRAK® zeigen sehr gute Übereinstimmung mit etablierten Immunoassays und DC.

## Struktur und Organisation einer computergestützten Tumordaten- und Serumbank als nützliches Hilfsmittel für Routine und Forschung

H.-M. Jansen, W. Schmaderer, Petra Stieber, M. Knedel, A. Fateh-Moghadam  
Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München, FRG

Wir berichten über die Organisation und Struktur einer computergestützten Serum- und Patientendatenbank, in der seit 1985 alle Analyseergebnisse von Tumormarkern und anderen klinisch-chemischen Kenngrößen (insgesamt 36 Parameter) gespeichert werden, sowie die klinischen Untersuchungsbefunde und über Koordinaten die Lokalisation der Serumproben der in die Datenbank aufgenommenen Patienten in den -70°C Tiefkühltruhen.

Derzeit sind in der Datei die Stammdaten von 59 421 Patienten mit ihren klinisch-chemischen Meßwerten (137 584 Datensätzen), und 184 769 Serumpositionen gespeichert. Die Seren stammen von Patienten mit gesicherten malignen Tumoren, benignen Erkrankungen, die bei der Diagnostik dieser Tumoren differentialdiagnostisch Schwierigkeiten bereiten, sowie von gesunden Normalpersonen.

Bei der Beleginlesung werden einmal in die Datenbank aufgenommene Patienten automatisch wiedererkannt. Die Vorwerte der angeforderten Untersuchungen werden auf der Arbeitsliste ausgegeben und das Serum kann sofort nach der Zentrifugation abgelesen werden.

Somit stehen für retrospektive Studien zur Evaluierung der klinischen Wertigkeit neuer Tumormarker gut dimensionierte Serumpools mit klinischen und klinisch-chemischen Daten zur Verfügung.

Dieses System ermöglicht die Anzeige der aktuellen Daten zusammen mit den Ergebnissen aller jemals bestimmter Tumormarker, anderer klinisch-chemischer Daten und den gespeicherten klinischen Untersuchungsergebnissen im Verlauf der Erkrankung. Durch graphische Darstellung der Kinetik wird die klinische Interpretation insbesondere der Tumormarker wesentlich erleichtert.

## Multizentrische Erprobung einer immunochemischen Methode für die Bestimmung von HbA1c auf klinischen Analysenautomaten

J. Jarausch<sup>1</sup>, T. Bieger<sup>1</sup>, E. Bissé<sup>2</sup>, H. Henrichs<sup>3</sup>, C. Lemke<sup>3</sup>, M. Niederau<sup>4</sup>, H. Reinauer<sup>4</sup>, F. J. Schmitz<sup>5</sup>, E. Schnaith<sup>5</sup>, K. Sporreiter<sup>6</sup>, H. Wieland<sup>6</sup>, B. Willms<sup>6</sup>, W. Withold<sup>6</sup>, D. Engel<sup>7</sup>, J. Karl<sup>7</sup>, P. Lehmann<sup>7</sup>

<sup>1</sup> München, <sup>2</sup> Freiburg, <sup>3</sup> Quakenbrück, <sup>4,5</sup> Düsseldorf, <sup>6</sup> Bad Lauterberg, <sup>7</sup> Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim und Tutzing

Die weitverbreitete Bestimmung von HbA1c mit HPLC ist eine zeitaufwendige und technisch anspruchsvolle Methode. Wir be-

richten über die technische Erprobung einer neuen immunochemischen Methode, die es erlaubt, HbA1c spezifisch auf gängigen Analysenautomaten zu bestimmen. Im Rahmen der Erprobung wurde gezeigt, daß die Bestimmung von HbA1c mit guter Präzision auf BM/Hitachi 704/717 oder 911 durchgeführt werden kann (Serie: 1,5–6 VK%; Lauf/Lauf: 0,9–7 VK%). Unabhängig von dem verwendeten Analysenautomaten und auch von der jeweiligen Meßtemperatur (25, 30 oder 37°C) wurden übereinstimmende Resultate erhalten. Die mittlere Wiederfindung in zwei Kontrollseren (Precinorm® und Precipath® HbA1c) lag bei allen Teilnehmern in einem Bereich von ±5% von den Sollwerten. Methodenvergleiche ergaben eine gute Korrelation der immunoturbidimetrischen Methode mit etablierten HPLC-Methoden ( $r=0.95$ ). Es wurden aber relativ große Achsenabschnitte (-0,5 bis -1,5% HbA1c) und Steigungen erhalten, die zwischen 1,05 und 1,15 lagen. Die Referenzbereiche der unterschiedlichen Methoden lassen sich vermutlich über eine vereinheitlichte Standardisierung weitestgehend angleichen. Größere Unterschiede zwischen den Methoden in einigen wenigen Patientenwerten konnten in den meisten Fällen auf eine abnorme Zusammensetzung des Hämoglobins zurückgeführt werden (HbAE, HbAA<sub>kin</sub>, HbAC). Der neue Test wurde als zuverlässig und praktikabel beurteilt. Ein zusätzlicher Vorteil wurde darin gesehen, daß eine große Zahl von Patientengruppen in einem kurzen Zeitraum analysiert werden konnten.

## Multicenter-Evaluierung eines ersten automatischen CA 72-4 Tests

D. Jaworek, R. Ziergoebel<sup>1</sup>, G. M. Gandolfo, G. Vitelli<sup>2</sup>, R. Kannagi<sup>3</sup>, R. Klapdor<sup>4</sup>, R. Kreienberg, V. Möbus<sup>5</sup>, G. Pallotti<sup>6</sup>, J. C. Rymer<sup>7</sup>, M. E. Scheulen<sup>8</sup>, D. Seiler, D. Nagel<sup>9</sup>, G. Sturt<sup>10</sup>  
Boehringer Mannheim GmbH, Tutzing, Germany<sup>1</sup>; Istituto Regina Elena, Roma, Italy<sup>2</sup>; Research Institut, Aichi Cancer Center, Japan<sup>3</sup>; Univ.-Krankenhaus Eppendorf, Hamburg, Germany<sup>4</sup>; Frauenklinik der Universität Ulm, Germany<sup>5</sup>; Ospedale Civile Piarantoni, Forli, Italy<sup>6</sup>; Hopital Henry Mondor, Creteil Cedex, France<sup>7</sup>; Universitäts-Klinikum, Essen, Germany<sup>8</sup>; Klinikum Ludwigshafen, Germany<sup>9</sup>; Universitäts-Frauenklinik, Marburg, Germany<sup>10</sup>

Der CA 72-4 Test wurde von Centocor als radioimmunologische Methode entwickelt und in die Enzymun-Test®-Technologie übertragen. Es war Aufgabe dieser Studie, die analytische Zuverlässigkeit und die klinische Vergleichbarkeit zu den eingeführten Tests zu überprüfen.

Für die Präzision in der Serie wurden Variationskoeffizienten von 1–6% und von Lauf zu Lauf von 2–8% gefunden, die den anderen Tumormarkern dieser Technologie entsprechen. Im Methodenvergleich mit Centocor RIA wurden Abweichungen offengelegt, wie diese auch bei anderen Tumormarkern, z. B. CA 19-9 gefunden werden.

Für den „Normalbereich“ wurden im 95%-Schnitt für den Enzymun-Test® 6,7 U/ml und für den Centocor RIA 3,6 U/ml erhalten. Bei Zugrundelegung dieses Cut-off-Wertes werden bei benignen Erkrankungen des Magen-Darm-Bereichs Spezifitäten bis zu 100% gefunden.

Die Überprüfung der klinischen Vergleichbarkeit ergab unter Berücksichtigung der testspezifische Cut-off-Werte übereinstimmende Sensitivität zu Centocor RIA. Im Vergleich mit CA 19-9 wurde mit Ca 72-4 mit 51% und mit Ca 19-9 41% gefunden. Bei Kombination beider Marker wurde die Sensitivität nur unwesentlich verbessert.

CA 72-4 ist der Marker 1. Wahl bei Magentumoren und Marker 2. Wahl bei Tumoren des Pankreas. Durch die hohe Spezifität von CA 72-4 kann dieser Marker auch in Verbindung mit CA 19-9 empfohlen werden.

# Anwendung der Coulter-VCS-Technologie zur Leukozytendifferenzierung von Kinderblut

H. Jochmann

Vestische Kinderklinik, Labor, Lloydstraße 5, 4354 Datteln

Die VCS-Technologie zur vollständigen Differenzierung der Leukozyten bewährt sich seit Jahren zur Bewältigung der Routinearbeit im Hämatologie-Labor. Die VCS-Technologie wird in zwei hämatologischen Analysensystemen für das kleine und große Blutbild eingesetzt: dem COULTER® MAXM bzw. MAX M/AL für das mittlere Labor und dem COULTER® STKS für das Labor mit großem Probenaufkommen.

Mit dem MAXM werden ca. 400 Messungen an Kinderblut durchgeführt und anschließend ausschließlich die Ergebnisse der Leukozytendifferenzierung mit denen der klassischen mikroskopischen 100-Zelldifferenzierung verglichen.

Folgende Ergebnisse werden erzielt:

1. Bei Kindern im Alter von etwa > 3 Monaten stimmen die Ergebnisse der Neutrophilen, Lymphozyten und Eosinophilen innerhalb der statistisch unumgänglichen Streuung der 100-Zellzählung gut überein. Die speziell bei den Monozyten gefundenen Diskrepanzen (VCS-Technologie höher als Mikroskop) werden genauer untersucht und diskutiert. Der Leukoplot zeigt bei diesen Kinderblutproben keine systematischen Veränderungen.
2. Bei Kindern im Alter von < 3 Monaten zeigt der Leukoplot zu einem gewissen Prozentsatz der untersuchten Fälle im Lymphozytenfeld eine oft distinkte Zweitpopulation. Es wird diskutiert, ob es sich bei dieser um eine Unterpopulation der Lymphozyten oder um spezielle Erythrozyten handelt. Auch in diesen Fällen liefert der Leukoplot eine wichtige Zusatzinformation.

## Untersuchungen zur Bestimmung des neonatalen Bilirubins nach Vink am Spektralphotometer LS 500

H. Kaehler<sup>1</sup>, E. Retzat<sup>2</sup>, R. Schlegel<sup>3</sup>, K. Schlichting<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Klin.-Chem. Institut, Krankenhaus Neukölln, Berlin

<sup>2</sup> Kinderkrankenhaus Neukölln, Berlin

<sup>3</sup> Dr. Bruno Lange GmbH, Berlin

Die von Vink beschriebene Zweiwellenlängenmethode (1) zur direktphotometrischen Bestimmung des neonatalen Bilirubins wurde an das Spektralphotometer LS 500 adaptiert. Zur Messung wird die Serumprobe (20 µl) mit einem Coffeinreagenz (500 µl) verdünnt. Die Messung erfolgt bei 465 und 528 nm. Der Meßablauf wird durch den geräteinternen Computer gesteuert.

Die Linearität ist bis zu einer Bilirubinkonzentration von 40 mg/dl gegeben. Untersuchungen zur Präzision lieferten in dem für die Indikationsstellung der Austauschtransfusion relevanten Konzentrationsbereich in der Serie VK-Werte zwischen 0,6–1,5% und von Tag zu Tag VK-Werte zwischen 0,9–1,9%.

Der Methodenvergleich (n = 119) mit der im Routinebetrieb eingesetzten DPD-Methode ergab die Regressionsgerade  $y$  (Vink) =  $0,128 + 0,957 \times$  (DPD) (mg/dl) sowie einen Korrelationskoeffizienten  $r$  von 0,990.

Dieses Ergebnis fügt sich gut in das Bild anderer Erprobungen ein (2).

Die Methode ist im Gegensatz zu den Azofarbstoffmethoden unempfindlich gegenüber Hämolyse. Auch stark hämolytische Proben, die im neonatalen Bereich keine Seltenheit sind, können problemlos gemessen werden.

Das LS 500 ist wenige Minuten nach dem Einschalten meßbereit. Die beschriebene Methode kann in jedem Routinelabor auch un-

ter Notfallbedingungen sowie im Nachtdienst problemlos durchgeführt werden.

Schrifttum:

1. Vink, K. L. J., Schuurman, W., van Gansewinkel, R. (1988) Direct spectrophotometry of bilirubin in serum of the newborn, with use of caffeine reagent. Clin. Chem. 34, 67–70.
2. Schiebusch, H., Axer, K., Schneider, Ch., Liappis, N., Röhle, G. (1990) Comparison of five routine methods with the candidate reference method for the determination of bilirubin in neonatal serum

## Optimierung der Bedingungen zur Isolierung von Zellen aus zellarmen Körperflüssigkeiten am Beispiel des Liquor cerebrospinalis

C. Kaiser, H. A. G. Müller, Inst. f. Lab. Med., Klinik am Eichert, 7320 Göppingen

Bei der Markierung von Zellen mit monoklonalen Antikörpern sind zur Entfernung unspezifisch gebundener Antikörper Waschschritte erforderlich, bei denen ein Zellverlust unvermeidlich ist. Ziel der Untersuchungen war eine Minimierung von Zellverlusten bei der Vorbereitung von Liquor cerebrospinalis zur durchflußzytometrischen Analyse.

Bei der bisher durchgeführten Methode (= alt, 200xg, 10 Min. (1)) betrug der Zellverlust nach zweimaligem Waschen zum Teil deutlich mehr als 50%, abhängig von der jeweiligen Zellart. Als günstigste Bedingung erwies sich die Zentrifugation bei 400xg für 5 Minuten (= neu). Alle Untersuchungen wurden bei 4°C durchgeführt.

Wiederfindung	1 x waschen		2 x waschen	
	alt	neu	alt	neu
Leukozyten gesamt	91%	96%	51%	90%
Neutrophile	62%	97%	41%	96%
Lymphozyten	104%	98%	57%	90%
Monozyten	43%	62%	17%	75%

Von den untersuchten Varianten erwies sich die Zentrifugation bei 400xg für 5 Minuten am günstigsten. Die Ausbeute an Zellen, vor allem der Monozyten, konnte durch dieses Verfahren deutlich gesteigert werden.

Schrifttum:

1. „Durchflußzytometrische Analytik von Liquor cerebrospinalis“ H. A. G. Müller, K.-M. Töllner, G. Hiendlmayer, Lab.med. 15, 69–72 (1991)

## Sind die Calcium-Referenzwerte revisionsbedürftig?

C. Kaiser, H. A. G. Müller, I. f. Lab.-Med., Klinik am Eichert, 7320 Göppingen\*

Y. Schmitt, I. f. Klin. Chem. u. Lab.-Med., Katharinenhosp., 7000 Stuttgart 1<sup>b</sup>

H. P. Geisen, Zentrallab. u. Blutbank, Diakonie-KH, 7170 Schwäbisch Hall<sup>c</sup>

F. J. Schott, Zentrallabor, KH am Plattenwald, 7107 Bad Friedrichshall<sup>d</sup>

Bei Routineuntersuchungen wurde in verschiedenen Laboratorien die Beobachtung gemacht, daß das geometrische Mittel der Calcium-Werte gemischter Patientenkollektive eher am unteren Ende des jeweiligen Referenzbereichs angesiedelt war. Im Rahmen einer Multicenter-Studie wurde dieser Frage durch die Bestimmung von Calcium-Werten an 100 Blutspender-Proben mit verschiedenen Methoden nachgegangen.



# ACS:180 – um Längen voraus!

Das erste vollautomatische Chemilumineszenz-Immunoassay-System

## ✓ Flexibel

Die Proben können patienten- oder testselektiv abgearbeitet werden. Bis zu 13 verschiedene Parameter pro Lauf werden direkt aus den Primär- oder Sekundärgefäßen analysiert. Der bidirektional angeschlossene ACS:180 kommuniziert selbständig mit der Labor-EDV und bietet mehr Komfort und Sicherheit.

## ✓ Effizient

Der ACS:180 liefert bis zu 180 Ergebnisse pro Stunde und das erste Ergebnis bereits 15 Minuten nach dem Start. Proben, die außerhalb des Meßbereiches oder in vom Labor definierten Graubereichen liegen, werden automatisch verdünnt und/oder wiederholt.

## ✓ Wirtschaftlich

Ganz klar zeitgemäß: Schnelle Resultate und geringe Betriebskosten sowie die höhere Produktivität machen den ACS:180 sehr wirtschaftlich.

## ✓ Innovativ

Magnetpartikeltrennung und Chemilumineszenz-Technik sind umweltfreundlich und zukunftsorientiert. Der ACS:180 und seine Technologien bieten Ihnen ein Höchstmaß an Sensitivität und Qualität.

### Testmenü:\*

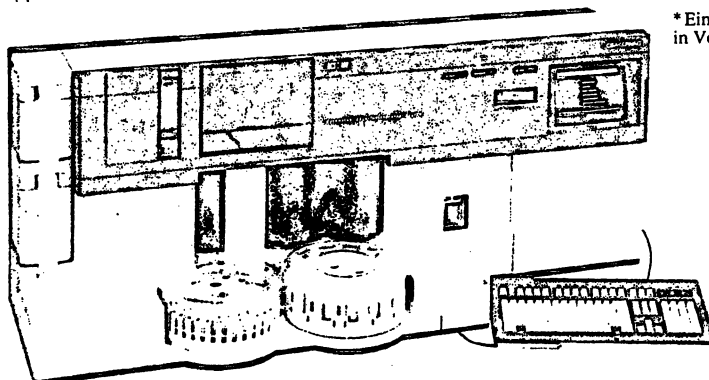
Schilddrüse, Reproduktion, Anämie, Tumormarker, Herz, TDM, PTH, IGE, Cortisol.

\* Einige Tests in Vorbereitung

**Neu**

Jetzt komplettes Anämie-Programm:

- Ferritin
- Vitamin B12
- Folsäure



Sprechen Sie uns an:

Ciba Corning Diagnostics GmbH · Industriestraße 11 · 6301 Fernwald 2  
 Telefon (06 41) 40 03-0 · Telefax (06 41) 40 03-11

**CIBA-CORNING**

# Tabellen und Methoden zur medizinisch- bakteriologischen Laborpraxis

H. Bürger, Z. Hussain  
Format 17 × 24 cm,  
256 Seiten,  
Abbildungen,  
Tabellen,  
PVC-Einband,  
ISBN 3-87409-006-X,  
DM 68,-

Isolierung und Identifizierung pathogener Mikroorganismen sind die Voraussetzungen für Diagnose, Therapie, Verhütung von Infektionen und zur Infektionskontrolle.

In dem vorliegenden Buch werden die bisher in jedem qualifizierten mikrobiologischen Labor eingeführten kulturellen und biochemischen Verfahren beschrieben.

**Die wichtigsten Daten von ca. 400 als Krankheitserreger geltenden oder aus differentialdiagnostischen Gründen im Bereich der Humanmedizin interessierenden Bakterienspezies sind in einem kompakten Abriß zusammengefaßt.**

Der erste Teil des Buches informiert über Gewinnung, Transport und Verarbeitung von Untersuchungsmaterialien, der Hauptteil enthält sehr ausführlich kommentierte Tabellen zur Identifizierung der Mikroorganismen, und im Anschluß daran werden die im Text erwähnten Methoden unter Angabe von Bezugsquellen für notwendige Hilfsmittel erläutert.

Die Gliederung in acht Bakteriengruppen erfolgt in konventioneller Weise anhand der Morphologie und des Gramverhaltens unter

Berücksichtigung der Sauerstofftoleranz. Bei gramnegativen und grampositiven Stäbchen wird die Orientierung durch ein am Kapitelanfang positioniertes Leitschema erleichtert. Es basiert auf wenigen schnell überprüfbaren Kriterien und verweist auf die ausführlich kommentierten Tabellen. Diese werden durch die Beschreibung der Anzuchtbedingungen, der Nährmedien, Färbeverfahren und Hinweise auf Bezugsquellen für die in der Bundesrepublik erhältlichen Diagnostika ergänzt.

Die zur Bezeichnung der Mikroorganismen gewählte Nomenklatur entspricht den „Approved lists of bacterial names“ und folgt den von der American Society for Microbiology herausgegebenen Angaben des „International Journal of Systematic Bacteriology“.

Das zum Gebrauch am Arbeitsplatz bestimmte Buch wendet sich an Mikrobiologen, Hygieniker, Pharmazeuten, medizinisch-technische Assistentinnen und alle diejenigen, die routinemäßig bakteriologische Untersuchungen durchführen oder sich im Praktikum auf diese Tätigkeit vorbereiten.

Ich bestelle gegen Rechnung ..... Expl. Bürger/Hussain:  
**Tabellen und Methoden zur med.-bakteriologischen Laborpraxis,**  
zum Preis von DM 68,-

Name \_\_\_\_\_

Straße \_\_\_\_\_

PLZ \_\_\_\_\_

Ort \_\_\_\_\_

Datum \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

Bestellcoupon



**KIRCHHEIM**

Postfach 25 24, 6500 Mainz

☎ (0 61 31) 9 60 70-0

## Methoden und Geräte:

- a) 1. Komplexometrie mit o-Cresolphthalein, Olympus AU 560
2. Flammenphotometrie, Eppendorf FCM 6341
- b) 3. Flammen-AAS, Zeeman 1150 B mit Deuterium-Untergrundkompensation, Perkin-Elmer
4. Trägergebundene Reagenzientchnik, Kodak-Ektachem
- c) 5. Flammenphotometrie, Eppendorf EFIX
- d) 6. Komplexometrie mit Arsenazo-III, AXON (Bayer Diagnostic)

Referenzbereiche für Calcium in den teilnehmenden Laboratorien:

- a) 2,25–2,70; b) 2,00–2,80; c) 2,25–2,60; d) 2,10–2,60; Lit.: 2,20–2,65 (1)

Mittelwerte und 2,5. bzw. 97,5. Perzentile

Proben	Methoden					
	a)1	a)2	b)3	b)4	c)5	d)6
Patienten (n = 200)	2,227 1,84–2,69			2,216 1,87–2,53	2,206 1,89–2,54	2,284 1,77–2,81
Blutspender (n = 100)	2,251 2,08–2,45	2,302 2,16–2,45	2,198 1,97–2,52	2,276 2,10–2,43	2,249 2,09–2,41	2,175 1,97–2,33

Die aufgezeigten Daten lassen den Schluß zu, daß eine Revision der Calcium-Referenzwerte erforderlich ist, wir schlagen daher einen vorläufigen Bereich von 2,00–2,50 vor (Referenzwerte mit AAS).

## Schrifttum:

1. L. Thomas, Labor u. Diagnose, Med. Verlagsges. Marburg, 1992, S. 344

## TRIAGE™: Der neue Immuno-Assay für den gleichzeitigen Nachweis 7 verschiedener Drogenklassen in Urin

P. Kalla, M. Jalilian

E. Merck, Vertrieb und Forschung Diagnostica, Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

Bei dem neuen Immuno-Assay TRIAGE™ handelt es sich um einen manuellen Schnelltest, mit welchem innerhalb von 10 Minuten die 7 wichtigsten Drogenklassen (Benzodiazepine, Kokain, Amphetamin/Methamphetamin, Cannabinoide, Opiate, Barbiturate und Methadon) in Urinproben nachgewiesen werden können. Die Nachweisgrenzen (Schwellenkonzentrationen) orientieren sich an den amerikanischen NIDA-Richtlinien. Alle für die Testdurchführung notwendigen Reagenzien sind dabei in ein handliches Kassettenformat integriert: In der Reaktionskammer (Flüssigphase) sind monoklonale Antikörper gegen die einzelnen Drogenklassen sowie Gold-Drogenkonjugate enthalten. 140 µl der Urinprobe werden in die Reaktionskammer pipettiert und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die goldgebundenen Drogen-derivate konkurrieren dabei mit eventuell in der Urinprobe vorhandenen Drogenmolekülen um freie Antikörperbindungsstellen. Nach der Übertragung des Reaktionsgemisches auf die Detektionsmembran (Festphase) werden die freien Epitope auf den goldgebundenen Drogen-derivaten von monoklonalen Antikörpern auf der Detektionsmembran gebunden. Nach einem Waschschrift werden in den Detektionsfeldern für die einzelnen Drogenklassen violette Balken sichtbar. Diese können ohne weitere Hilfsmittel abgelesen werden. Urinproben, welche Droge(n) in einer Konzentration  $\geq$  Schwellenkonzentration enthalten, erzeugen einen violetten Balken im jeweiligen Detektionsfeld. Ist keine Droge vorhanden bzw. wird die Schwellenkonzentration nicht erreicht, erscheint kein violetter Balken. Die integrierten Testkontrollen (CTRL POS und CTRL NEG) gewährleisten die richtige Testdurchführung und die Funktionsfähigkeit/Anwesenheit der einzelnen Reagenzien. Außerdem wird sichergestellt, daß dem Testurin keine potentiell interferierenden Substanzen (Adulterantien) zugegeben wurden.

Eine Reihe von Vergleichsstudien zwischen TRIAGE™ und anderen etablierten Immunoassays (FPIA, EMIT) zeigten gleichwertige Ergebnisse hinsichtlich Spezifität und Sensivität. Die mit GC/MS durchgeführten Bestätigungsanalysen der TRIAGE™-Ergebnisse ergaben für alle Drogenklassen Übereinstimmung von  $\geq$  97%.

## Quantitative nephelometrische Bestimmung von $\beta$ 2-Microglobulin

Wolfgang Kapmeyer, Walter Gruber, Hans-Peter Harthus  
Behringwerke AG, Forschungslaboratorien, Postfach 1140, D-3550 Marburg

$\beta$ 2-Microglobulin ist ein Protein, das aus 100 Aminosäuren besteht und als leichte Kette des HLA-Komplexes auf allen reifen, kernhaltigen Zellen vorkommt. Die diagnostische Verwendung von  $\beta$ 2-Microglobulin basiert auf seiner Bedeutung bei der Immunantwort und auf dem Abbau durch die Niere.

Der Test wird am Behring Nephelometer Analyzer ausgeführt, ein random access-System zur quantitativen nephelometrischen Bestimmung von Proteinen. Das Reagenz besteht aus Latexpartikeln, die mit Antikörpern gegen human  $\beta$ 2-Microglobulin beschichtet sind. Die Serumproben werden automatisch nach dem programmierten Schema vorverdünnt und getestet. Mit der Probenverdünnung von 1:100 wird ein Meßbereich von ca. 0,3 bis 12 mg/l erfaßt, höhere oder tiefere Konzentrationen können mit anderen Verdünnungen bestimmt werden. Antigenüberschuß wurde bei einer Konzentration von 200 mg/l noch nicht beobachtet.

Messungen der Präzision in Serie und von Tag zu Tag ergaben Variationskoeffizienten unter 4%. Serielle Verdünnungen von Serumproben zeigten eine gute Linearität des Testes.

Der Nephelometrische Test korreliert gut mit anderen kommerziell verfügbaren Testen. Bei einem Vergleich mit einem RIA ergibt die lineare Regression folgende Geradengleichung:

$$y \text{ (BNA)} = 1,01 \times (\text{RIA}) + 0,02 \text{ mg/l}, r = 0,995.$$

## Quantitative Bestimmung von $\alpha$ -Fetoprotein (AFP) mit einem nephelometrischen Latextest

Wolfgang Kapmeyer, Hans-Peter Harthus, Brigitta Schmidt  
Behringwerke AG, Forschungslaboratorien, Postfach 1140, D-3550 Marburg

Erhöhte  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP)-Konzentrationen im Serum treten bei Keimzelltumoren des Hodens und des Ovars sowie bei primären Leberzellkarzinomen auf. Eine AFP-Bestimmung ist derzeit indiziert zur postoperativen Nachsorge und zur Therapiekontrolle während der Behandlung dieser Tumore.

Wir haben einen Test zur AFP-Bestimmung in humanen Körperflüssigkeiten entwickelt. Er basiert auf der Reaktion von AFP mit Anti-AFP-Antikörpern, die kovalent an polymere Kern-/Schale-Partikel gebunden sind. Der Test wird am Behring Nephelometer Analyzer durchgeführt.

Die Probenverdünnung (1:5) und Kalibration werden automatisch ausgeführt. Die Meßzeit beträgt 12 Minuten. Der Basismaßbereich reicht von 2,5–160 ng AFP/ml.

Bei Proben, bei denen Verdacht auf das Vorhandensein extrem hoher AFP-Konzentrationen besteht, sollte zur Kontrolle eine zusätzliche Messung aus einer höheren Probenverdünnung durchgeführt werden, um auszuschließen, daß ein falsches negatives Ergebnis erhalten wurde.

Die Variationskoeffizienten für die Präzision in der Serie reichen von 1,0 bis 5,4%, die Variationskoeffizienten für die Präzision von Tag zu Tag ergeben Werte zwischen 3,0 und 7,9%.

Serielle Verdünnungen von Serumproben mit erhöhten AFP-Konzentrationen belegen eine gute Linearität des Tests. Der Vergleich des neuen Latex-AFP-Tests mit einem anderen kommerziellen Reagenz ergibt unter Zugrundelegung derselben Standardisierung eine gute Korrelation, und eine geringe Abweichung.

Lineare Regression  $y$  (BNA) =  $1,10 \times$  (IMX) + 2,5 ng/ml,  $r = 0,988$ .

## Localization of mineralocorticoid receptors in human mononuclear leukocytes by immunofluorescence using a specific antibody

I. Karbowiak, E. Orlandini, F. Callegari, Z. Krozowski, U. Kuhnle, D. Armanini

Laboratorio Analisi, Ospedale Piove di Sacco, Padua; Baker Medical Research Institute, Monash University, Melbourne, Australia; Kinderklinik, University of Munich, Germany and Istituto Semeiotica Medica, University of Padua, Italy

Human mononuclear leukocytes possess mineralocorticoid receptors (MR), characterized by radioreceptorassay (Armanini et al. AJP 1985). In the present study we used a polyclonal antibody, obtained in rabbit, against a peptidic sequence deduced from the immunogenic region of the cloned MR (Krozowski et al. Endocrinology, 1989). This antibody has already been evaluated in the kidney of adrenalectomized rat. Method: mononuclear leukocytes (MNL) were isolated by Percoll gradient and their membrane was permeabilized by methanol. An aliquot of cells was incubated overnight with a dilution 1:200 of the antibody. A fluorescent anti rabbit immunoglobulin polyclonal mouse serum was then added and after one hour the fluorescence was detected by fluorescence microscopy and cytofluorimetry (Cytoron, Ortho). Results: in three different experiments using MNL from normal subjects a specific fluorescence was detected with both methods. No fluorescence was observed in control MNL, preincubated with rabbit serum and treated only with the secondary antibody. Conclusions: the study clearly demonstrates the presence of MR in MNL by immunofluorescence. This human model, easily available, can be used for studying the mechanisms which confer the specificity of binding of aldosterone and not of glucocorticoids to MR. In addition this model could be useful for further studies of the abnormalities of pseudohypoaldosteronism syndrome.

## Aktivierung der plasmatischen Gerinnung und des Fibrinolyseystems

F. Keller

Zentrallabor der medizinischen Universität Würzburg

Das Einführungsreferat soll vorbereitend für die folgenden monografischen Beiträge, die sich einzelnen Teilaspekten aus der Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie widmen, die Aktivierung der Gerinnung und der Fibrinolyse zusammenfassend darstellen. Im Vergleich zur bisherigen Vorstellung, daß sich die Gerinnungskaskade lediglich aus einer Sequenz von proteolytischen Enzymreaktionen zusammensetzt, die letztlich zur Fibrinbildung führt, wird die Rolle von Komplexbildung betont, die an bestimmten Schlüsselstellen unter einem komplizierten Wechselspiel zwischen Endothel, Phospholipiden, Membranen, Cofaktoren und proteolytischen Enzymen gesteuert werden.

Dabei läßt sich die Aktivierung der plasmatischen Gerinnung und der Fibrinolyse nur theoretisch in ihrem Ablauf auseinanderdivi-

den, denn beide Grundrichtungen mit ihren enzymatischen Prozessen, Aktivatoren und Inhibitoren sind permanent zur Aufrechterhaltung der Homöostase auf niedrigem Niveau aktiviert. Wird dieser Gleichgewichtszustand gestört (Blutung oder Thrombose), wird ein phänomenaler Verstärkermechanismus mit Betonung der prokoagulatorischen oder fibrinolytischen Seite je nach Störfall zur Wiederherstellung der Balance in Gang gesetzt. Dabei entstehen Aktivierungsprodukte, deren Nachweis diagnostische Rückschlüsse auf eine überschießende Reaktion in eine der beiden Richtungen zulassen. Die Aktivierung von Gerinnung und Fibrinolyse scheint eine nicht unbedeutende Rolle bei der Arteriosklerose, bei Entzündungsreaktion durch Interaktion mit dem Komplexsystem evtl. sogar bei der Ausbreitung metastasierender Prozesse zu spielen.

## Lymphozytensubpopulation im Verlauf der HIV-Infektion: Methoden, Referenz und klinische Bedeutung

P. Kern

Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik, Sektion Infektiologie und Klinische Immunologie, Robert-Koch-Str. 8, 7900 Ulm

Die Bestimmung der Lymphozytensubpopulation im Rahmen der HIV-Infektion ist unverzichtbarer Bestandteil von Therapieentscheidungen. Immunfluoreszenzuntersuchungen im getrennten Blut, Objektträgeruntersuchungen sind weitgehend verlassen, die Durchflußzytometrie hat sich bewährt und kommt generell zum Einsatz. Die Diagnostik wird erleichtert durch die von der Industrie angebotenen Anwenderprogramme, die eine konfektionierte Analyse erlauben. Doppelmarkeranalysen sind die Regel, es stellt sich jedoch die Frage nach der Relevanz erweiterter Subtypisierungen von peripheren Blutlymphozyten. Die Bewertung der CD 4-Populationen nach relativer und absoluter Zellzahl wird dargestellt. Zum erweiterten Panel der Diagnostik zählen CD 8/HLA-DR, CD 8/CD 38, CD 3/HLA-DR Kombinationen und weitere. Ihre Bewertung im klinischen Verlauf wird kritisch hinterfragt. Im späten Stadium der HIV-Infektion ist wegen der zunehmenden Leukopenie die Bewertung dieser ergänzenden Surrogat-Marker hilfreich, um Therapieentscheidungen zu treffen.

## Hämostaseologische Risikofaktoren der arteriellen Thrombose

J. Kienast

Medizinische Klinik und Poliklinik der Westfälischen Wilhelms-Universität, Abtlg. Innere Medizin A, W-4400 Münster

Ursache arterieller Thrombosen sind in erster Linie lokale, in der Regel atherosklerotische Veränderungen der Gefäßwand. Diese führen durch Exposition thrombogener Wandstrukturen und/oder pathologische Strömungsphänomene zur Aktivierung des Hämostasesystems und damit zur Entstehung muraler oder lumenverlegender Thromben. Prospektive Studien haben gezeigt, daß systemisch nachweisbare Konzentrations- oder Aktivitätsänderungen von Hämostasefaktoren mit der Inzidenz kardio- und zerebrovaskulärer Atherothrombosen korrelieren. Hierzu zählen Thrombozytenhyperaggregabilität, hohe Fibrinogen- und von Willebrand-Faktor-Konzentrationen, hohe Faktor VII-Aktivitäten sowie ein reduziertes Fibrinolysepotential durch erhöhte Konzentrationen des Plasminogenaktivator-Inhibitors 1. Die Risikoassoziation dieser Faktoren ist möglicherweise Ausdruck einer Indikator- oder Markerfunktion, die z. B. auf eine chronische Entzündungsreaktion, Endothelschaden, Katecholaminwirkung oder Kovarianz mit anderen Risikofaktoren hinweist. Daneben sind Kausalzusam-

menhänge zu diskutieren, in denen Hämostase- oder Fibrinolysefaktoren Thrombusbildung, -ausdehnung und -persistenz am Ort einer Plaqueruptur begünstigen oder unmittelbar auf die Atherogenese Einfluß nehmen. Als atherogene Faktoren kommen neben thrombozytären Wachstumsfaktoren, mitogene und chemotaktische Effekte von Thrombin oder Fibrin(ogen)-Spaltprodukten sowie die Modulation der Aktivität von Wachstumsfaktoren und Metalloproteinasen durch das Plasminogenaktivator/Plasmin-System der Gefäßwand in Betracht.

## IgG Subklassendifferenzierung in Liquor und Serum bei neurologischen Erkrankungen

B. Kitze<sup>1</sup>, P. Lange<sup>1</sup>, B. Siegf<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Neurologische Universitätsklinik, Robert-Koch-Str. 40, W-3400 Göttingen

<sup>2</sup> Alpha Diagnostic GmbH, Siemensstraße 32, W-6070 Langen

Nach einem etablierten Verfahren (Reiber H., Felgenhauer K., 1987) kann aus einer Analyse von Liquor und Serum die Immunglobulinsynthese innerhalb des ZNS berechnet werden. Bei chronisch entzündlichen Erkrankungen des ZNS, z. B. bei der Multiplen Sklerose, findet man meist eine IgG Synthese, auf der Basis immunchemischer IgG Bestimmungen in Liquor und Serum oder durch qualitative Auswertung der isoelektrischen Fokussierung von IgG. Die Subklassendifferenzierung des IgG in Liquor und Serum wurde bisher erschwert durch den Mangel an geeigneten anti-IgG Subklassen spezifischen Antisera bzw. monoklonalen Antikörpern und zusätzlich durch die zu geringe Empfindlichkeit für Liquor der meisten etablierten Testsysteme.

Wir berichten über den Einsatz einer neuen Methodik, die Prinzipien der Säulenchromatographie und Festphasenimmunanalytik nutzt und eine ausreichende Sensitivität und Spezifität für die Messung der IgG Subklassen im Liquor besitzt. Das Verfahren ist zuverlässig und läßt sich für die parallele Messung von Liquor und Serum standardisieren.

Die Ergebnisse bei Patienten ohne entzündliche Erkrankungen des ZNS zeigen, daß die bekannten Prinzipien der diagnostischen Auswertung der Liquorproteinkonzentrationen anwendbar sind. Bei Multipler Sklerose wird eine IgG1 und IgG3 Synthese im ZNS nachgewiesen. Die weitere klinische Evaluierung auch bei infektiösen Erkrankungen des ZNS erscheint sinnvoll sowohl im Hinblick auf den diagnostischen Wert als auch zum besseren Verständnis der neuroimmunologischen Veränderungen.

### Schrifttum:

Reiber H., Felgenhauer K. (1987) Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin. Chim. Acta* 163:319-328.

## Development of a prototype enhanced luminescence immunoassay for testosterone

P. Kilmartin, J. Sippy, S. Littlewood

Kodak Clinical Diagnostics Limited, Research and Development, Chalfont St. Giles, Bucks, UK

We have developed a one step, non-radioisotopic prototype immunoassay for the measurement of testosterone in serum or plasma. The method is based on the convenient enhanced luminescence technology of the Amerlite™ system.

The assay protocol is as follows: 25 µl of standard or sample is added to microwells coated with streptavidin followed by 100 µl

of a testosterone-3-CMO-HRP conjugate and 100 µl of a biotinylated anti-testosterone monoclonal antibody. The wells are then incubated for 1 hour at 37°C with shaking. After washing the wells, signal reagent is added and the luminescent signal measured.

The operating range of the assay is from 0 to 70.0 nmol/l with an analytical sensitivity of 0.30 nmol/l. The within assay precision is 9.7 to 5.3% CV over the range 3.24 to 61.1 nmol/l. Between assay reproducibility is 8.8 to 8.0% over the same range. The cross-reactivity with 5α-Dihydrotestosterone and androstenedione is 2.5 and 1.2% respectively and less than 0.1% for all the other clinically relevant steroids tested. Correlation of the assay with an extraction RIA method is good.

(Amerlite™ Testosterone (Prototype) =  $1.065 \times \text{RIA} - 0.52 \text{ nmol/l}$ , correlation coefficient = 0.97.)

Recovery on spiking testosterone into a normal human serum pool was from 96.7 to 102.4%. Results after serial dilution of a 18.0 nmol/l sample were within 94.7% to 96.4% of the expected value.

## Evaluation der ionenselektiven Elektrode des AXON von Bayer Diagnostics

G. Klautke, R. Rosenbaum<sup>1</sup>, R. Weber<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Universitätspoliklinik, Zentrallabor, Wilhelmstraße 35-37, 5300 Bonn 1

<sup>2</sup> Bayer Diagnostik GmbH, Med. Wiss. Abteilung, Weißenseestraße 101, 8000 München 90

Zur Beurteilung der Qualität der ionenselektiven Elektrode (ISE) des AXON für die Bestimmung der Natrium- und Kaliumkonzentrationen in Serum und Urin wurden folgende Versuche durchgeführt (1). Die Präzision in der Serie aus 20 Wiederholungen (Na: Median VK = 0,7%, K: Median VK = 0,4%) und die Präzision von Tag zu Tag (Na: Median VK = 1,1%; K: Median VK = 0,9%) an bis zu 13 Arbeitstagen sowie die Wiederfindung (Na: 96,5% bis 103,7%; K = 99,8% bis 105,6%) wurden mit unterschiedlichen Kontrollseren ermittelt. Korrelationsdaten (Na:  $r = 0,964$ ,  $y = 1,07 \cdot x - 6,9$ ; K:  $r = 0,996$ ,  $y = 0,986 \cdot x + 0,32$ ) von Serumproben aus der Tagesroutine wurden im Vergleich zum Flammenphotometer AFM 5051 (Fa. Eppendorf) gemessen. Weiterhin wurden der Tagesdrift und der Einfluß starker Lipämie sowie extremer Proteinämien auf den Natriumwert untersucht.

Die Eignung der ISE für Urinproben wurde durch Vergleich mit den flammenphotometrisch bestimmten Na- und K-Werten geprüft. Die Verwendbarkeit von Urin mit extremen pH-Werten wurde getestet.

### Schrifttum:

1. J. Farre, C. Biosca, R. Galimany (1990) Guidelines for the evaluation of analysers by ion-selective electrodes. *J. Ant. Chem.* 12, 116-128

## Insulinresistenz auf Rezeptorebene

H. W. Klein, H. Al-Hasani, K. Heidenreich und U. Matthey  
Diabetes-Forschungsinstitut an der Universität Düsseldorf

Die Insulinresistenz des Diabetes Typ 2 kann durch abnorme Bindungseigenschaften des Insulinrezeptors (INSR), verminderte Rezeptordichte oder Antirezeptor-Antikörper verursacht sein. Ebenso kommen bei einer Subpopulation Postrezeptordefekte als Ursache in Frage. Bei Syndromen mit extremer Insulinresistenz werden schwerwiegende Störungen in der Funktion des INSR als die zugrundeliegenden Defekte verantwortlich gemacht (vergl. Bell, G. I. (1991): Molecular defects in diabetes mellitus, *Diabetes* 40, 413-422). Für die Klassifizierung der Defekte auf Rezeptor-

ebene werden Beispiele vorgestellt, die 1) Rezeptorbiosynthese oder Rezeptor-mRNA, 2) den Transport des Rezeptors zur Zelloberfläche, 3) Insulinbindung, 4) Internalisierung des Hormon-Rezeptorkomplexes, 5) die Recyclingierung des Rezeptors zur Plasmamembran und 6) die Tyrosinkinase und den Signalfluß betreffen. Da der INSR zu der Klasse der katalytischen Rezeptoren gehört (vergl. Rosen, O.M. (1987): After insulin binds, *Science* 237, 1452-1458), ermöglichen die molekularbiologischen Analysen der Rezeptormutanten Einblicke in den Zusammenhang von Struktur und Funktion dieses Proteins. Die Schlußfolgerungen, die sich daraus für den Mechanismus des Insulin-induzierten Signalflusses ergeben, werden im Vergleich zu in vitro erhaltenen Daten über die Tyrosinkinase des INSR diskutiert.

## Hinweise für eine Blut-Liquor-Schranke für Lymphozytensubpopulationen durch durchflußzytometrische Untersuchungen

T. O. Kleine<sup>1</sup>, R. Hackler<sup>1</sup>, J. Albrecht<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Med. Zentrum für Nervenheilkunde,

Funktionsbereich Neurochemie der Universität Marburg

<sup>2</sup> Fa. Becton Dickinson, Heidelberg

Bei der Bestimmung von Referenzwerten für Leukozyten im Liquor cerebrospinalis mit dem an Liquor adaptierten Fünf-Kanal-Durchflußzytometer FACScan (Becton Dickinson) wurde ein Blut-Liquor-Verhältnis von 2000:1 für die Gesamt-Lymphozyten gefunden, was auf eine Blut-Liquor-Schranke für Lymphozyten hinweist. Deshalb wird hier eine Differenzierung der Lymphozyten im Lumballiquor(L)-, Subokzipitalliquor (SOP)- und Blut-Proben durchgeführt durch Markierung mit sieben Fluorescein-Isotiocyanat(FITC)- und Phycoerythrin(PE)-markierten monoklonalen Antikörperreagenzien (SIMULTEST IMK PLUS plus anti-leu-4 (CD3), Becton Dickinson). Aus den Medianwerten der Lymphozytensubpopulationen (Zellen pro ml) wird das Blut-Lumballiquor-Verhältnis berechnet und der Anteil in % der Gesamtlymphozyten in L-(n=22), SOP-(n=12) und in venösen Blut-Proben angegeben: T-Lymphozyten (CD3<sup>+</sup>): 1900:1; 92%, 90%, 70%; - aktivierte T-Zellen (CD3<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup>): 2200:1; 9%, 7%, 10%; - Helfer/Inducer T-Zellen (CD4<sup>+</sup>): 1700:1; 69%, 64%, 47%; - Suppressorzytotoxische T-Zellen (CD8<sup>+</sup>): 3200:1; 21%, 19%, 21%; -xCD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup>56<sup>+</sup> T-Zellen: 6100:1; 2%, 4%, 6%; - CD8<sup>+</sup>4<sup>+</sup> T-Zellen: 850:1; 4%, 5%, 2%; - NK-Zellen (CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>3<sup>-</sup>): 10 500:1; 4%, 6%, 17%; - B-Lymphozyten (CD19<sup>+</sup>): 30 000:1; 1%, 1%, 11%. - Diese Ergebnisse zeigen eine Blut-Liquor-Schranke für Lymphozytensubpopulationen an, die ausgeprägter für CD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup>56<sup>+</sup> T-Zellen, NK-Zellen und B-Zellen erscheint, während für CD8<sup>+</sup>4<sup>+</sup> („unreife T-Lymphozyten“) eine erleichterte Passage wahrscheinlich ist. Damit muß bei der Zytodiagnostik im Liquor cerebrospinalis die Existenz einer Blut-Liquor-Schranke für Lymphozytensubpopulationen unter gesunden und krankhaften Zuständen des ZNS berücksichtigt werden.

## Zur enzymatischen Bestimmung von Blutlipidfraktionen im ELAN Analyzer Eppendorf

T. O. Kleine, C. Haak

Med. Zentrum für Nervenheilkunde, Funktionsbereich Neurochemie, Universität Marburg a. d. Lahn

Enzymatische Methoden zur Bestimmung von HDL-, LDL-, Gesamt-Cholesterin, Triglyceriden und Phospholipiden werden hier an den ELAN-Analyzer (Eppendorf, Hamburg) bei 37°C adaptiert und mit entsprechenden manuellen Küvettentests bei Raumtemperatur (Angaben in Klammern) verglichen: Gesamtcholesterin (CHOD-PAP-Methode) wird in 3 (10) µl Serum (Boehringer Mann-

heim) bei 546 nm unter Abzug des Reagenzienleerwertes gemessen: Impräzision < 4 (< 5%) VK; Richtigkeit: (< 10%), HDL- und LDL-Cholesterin nach Polyanionen-Vorbehandlung der Proben in 10 (100) bzw. 5 (25) µl Serum: Impräzision: < 7 (< 8%) bzw. < 8 (< 10%) VK, Richtigkeit: (< 9%) bzw. (< 7%). Triglyceride werden vollenzymatisch bei 334 nm (Boehringer Mannheim, Methode A) mit Berücksichtigung von Reagenzien- und Probenleerwert in 4 (20) µl Serum bestimmt: Impräzision < 5 (< 6%) VK, Richtigkeit (< 2%); mit der GPO-PAP-Methode (Merck, Methode B) in 3 µl Serum im ELAN Analyzer bei 546 nm unter Abzug des Reagenzienleerwertes: Impräzision: < 6% VK, Richtigkeit: < 3%. Phospholipide werden enzymatisch (Boehringer Mannheim) bei 546 nm in 3 (10) µl Blutserum gemessen mit Abzug des Reagenzienleerwertes: Impräzision: < 5 (< 5%) VK, Richtigkeit: (< 5%). - Nach Passing & Bablok (1983) ergeben sich im Vergleich zur MS-Referenzmethode signifikant niedrigere Cholesterin- und Triglycerid-Werte (Methode A); signifikant höhere Werte mit Methode B im unteren Referenzbereich, ebenso vom Sollwert erniedrigte Werte mit Methode B im unteren Referenzbereich, ebenso vom Sollwert erniedrigte Werte für Phospholipide und LDL- und HDL-Cholesterin. Im Serum (n = 200) stimmen manuelle und ELAN Analyzer-Bestimmungen für Gesamt-, LDL-Cholesterin und Phospholipide überein; jedoch nicht für HDL-Cholesterin und Triglyceride (Methoden A, B). Diese Ergebnisse sollten bei der Erstellung von Referenzwerten berücksichtigt werden.

## Chemische und enzymatische Kreatininbestimmung in zwei Analyzern: Ein Methodenvergleich

T. O. Kleine, C. Haak

Med. Zentrum für Nervenheilkunde, Funktionsbereich Neurochemie, Universität Marburg a. d. Lahn

Da die Kreatininbestimmung im Blutserum durch Störfaktoren beeinflussbar ist, werden hier zwei vollenzymatische Methoden (A mechanisiert und manuell (Werte in Klammern); B mechanisiert) mit einer chemischen Methode C (mechanisiert) verglichen: Ein enzymatischer Test (A) mit Kreatininiminohydrolase und Glutamatdehydrogenase (Biomed, Oberschleißheim) wird im ELAN Analyzer (37°C; Eppendorf, Hamburg) oder manuell bei Raumtemperatur und 334 (366) nm in 50 (100) µl Serum mit Abzug des Probenleerwertes gemessen: Impräzision < 13 (< 7%), Richtigkeit (< 3%). Ein enzymatischer Farbttest (PAP) (B) wird mit Kreatininase, Kreatinase, Sarcosinoxidase (Nobis, Edingen) bei 546 nm in 12,5 µl Serum unter Probenleerwertabzug oder kinetisch im ELAN Analyzer durchgeführt: Impräzision: < 9% bzw. < 4% VK; Richtigkeit < 3%.

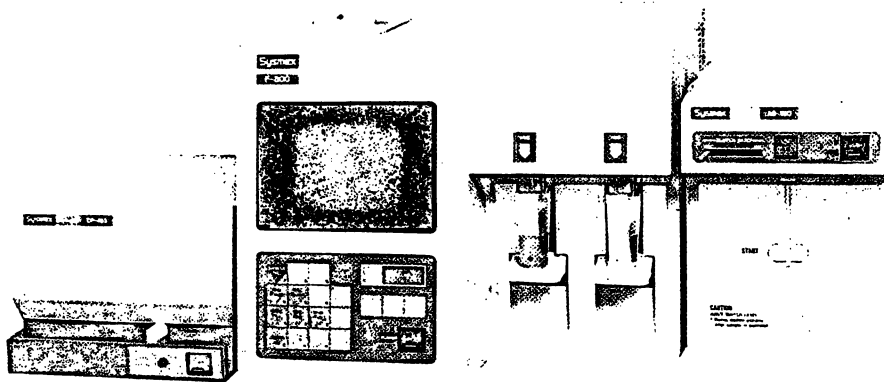
Die kinetische Jaffé-Reaktion (C) wird im Astra 8 (Beckman, München) in 30 µl Serum bestimmt: Impräzision: < 8% VK, Richtigkeit < 1%.

Nach Passing & Bablock (1983) besteht beim Vergleich zwischen HPLC-Referenzmethode und Test A manuell kein Unterschied, nicht jedoch mit Test A und B im ELAN Analyzer unter Leerwertabzug im Kreatininreferenzbereich. Test C im Astra 8 bringt zu hohe Werte. Diese Ergebnisse können im Blutserum von Patienten (n = 190) bestätigt werden, wobei gleiche Ergebnisse mit Test A manuell und Test B kinetisch erhalten werden. Somit bringen nur Test A manuell und Test B kinetisch im ELAN Analyzer mit der HPLC-Referenzmethode vergleichbare Ergebnisse.



# Die halbautomatischen Hämatologiesysteme der Sysmex® F-Serie

## Genauigkeit und Zuverlässigkeit auch im kleinen Labor



Sysmex F-800 mit Kartendrucker und Dilutor

### 3, 5 oder 15 Parameter

- Sysmex F-300: WBC, RBC, Hb
- Sysmex F-500: WBC, RBC, Hb, Hkt, MCV
- Sysmex F-800: WBC, RBC, Hb, Hkt, MCV, MCH, MCHC, PLT.  
Größenverteilungskurven für Erythrozyten  
sowie 7 weitere daraus abgeleitete  
Parameter.

### Genauigkeit und Zuverlässigkeit

Die bewährte Technologie der Sysmex Systeme in Verbindung mit automatisch arbeitenden Kontroll- und Prüfprogrammen garantiert das zuverlässige Erkennen pathologischer Blutbilder. Darum ist auch im Labor mit kleinster Probenzahl hämatologische Analysensicherheit gewährleistet.

### Anwender- und Patientenfreundlich

- Der einfache und logische Aufbau erleichtert die sichere, fehlerfreie und schnelle Bedienung des Systems.
- Ideal für Pädiatrie und Geriatrie: Für ein komplettes Blutbild werden nur 20 µl Blut benötigt.

## Interessiert ?

Info-Material bitte hier anfordern!

# DIGITALAB AG

Ganz genau und zuverlässig.

D - 2000 Hamburg 76 · Weidestraße 118 b · Tel.: 040 / 270 70 50  
CH - 8810 Horgen · Burghaldenstrasse 11 · Tel.: 01 / 725 61 91

# Vorankündigung

## Lieber Doktor, kennen Sie alle Antworten?

> Gibt es ein spezielles Erbrecht für Ärzte und Zahnärzte? > Vertragsarzt stirbt – dürfen die Erben die Praxis fortführen? > Erben auch Schwiegerkinder und geschiedene Ehepartner? > Ehepartner verstorben – erbt der überlebende Ehepartner alles? > Welche erbrechtlichen Vorteile hat die Gütertrennung? > Können die Kinder den überlebenden Ehepartner zwingen, die Familienimmobilie zu veräußern? > Wann erbt der Staat? > Pflichtteil – stets Geldanspruch? > Wie sichert man den überlebenden Ehepartner durch ein Testament? > Wie errichtet



man ein eigenhändiges Testament? > Die Enterbung von gesetzlichen Erben – zulässig? > Nichteheleche Lebensgemeinschaft – empfiehlt sich die Errichtung eines Testaments? > Nach dem Ableben eines Arztes – was ist aus rechtlicher Sicht zu tun? > Praxisübernahme – darf die Patientenkartei dem Erwerber der Praxis übergeben werden? > Schulden geerbt – arm durch Erbschaft? > Ein offenes Wort zum Thema „Schwarzgeld“ – wird „Schwarzgeld“ auch vererbt? > Nach dem Erbfall – Hochsaison für Betrüger? > Hohe Praxisschulden – haftet der Ehepartner kraft Gesetzes?

**Nein? Dann bestellen Sie**

## Nentwig/Osmers Erbrecht für Ärzte und Zahnärzte

Verlag Kirchheim + Co GmbH, Postfach 2524, W-6500 Mainz 1

- Ich bestelle ..... Expl. Erbrecht für Ärzte und Zahnärzte, Erscheinungstermin Herbst 1993, ca. 250 Seiten, ca. 165,- DM  
 Bitte senden Sie mir nähere Informationen zu Erbrecht für Ärzte und Zahnärzte – Erben, Vererben, Testieren.

Name: .....

Straße: ..... PLZ/Ort: .....

Datum: ..... Unterschrift: .....

## Screening von HIV-inhibierenden Agentien, HIV-neutralisierenden Antikörpern und Bestimmung von Transfektionseffizienzen in Mikrotiterplatten: Automatisierung des gesamten Testablaufes von der Zellkultur bis zur bildanalytischen Auswertung

A. Kleinschmidt, M. Wachinger, H. Kamutzki\*, U. Hopfner, R. Brack-Werner, V. Erfle  
GSF-Institut für Molekulare Virologie, Ingolstädter Landstr. 1, D-8042 Neuherberg  
\* MicroDoc Computersysteme GmbH, Sternstr. 21, D-8000 München 22

Mit Hilfe der adhärenz wachsenden, HIV-infizierbaren Fibroblastenlinie LC5 (Mellert et al.: AIDS 4, 527-535, 1990) konnte ein Testsystem auf Mikrotiterplatten zum Nachweis von HIV-neutralisierenden Antikörpern und für das Screening HIV-inhibierender Substanzen etabliert werden. Die intrazelluläre Expression viraler Antigene wird 3-4 Tage nach der Infektion mittels indirekter Immunperoxidasefärbung (Mellert et al.: AIFO 1, 105-107, 1985) nachgewiesen. Die Reduktion der Anzahl Antigen-positiver Foci („infectious centers“) ermöglicht hierbei eine quantitative Aussage zur HIV-neutralisierenden bzw. -inhibierenden Kapazität der Antikörper bzw. Testsubstanzen.

Die Einsaat, Infektion, Fixierung und Immunfärbung der Zellen wird ebenso wie eine mögliche Toxizitätsüberprüfung (MTT-Test) mit Pipettierautomaten durchgeführt, während die Anzahl der gefärbten Foci mit Hilfe eines für diese Aufgabe entwickelten, automatischen Bildanalyse-Systems (SNAP/MicroDoc) bestimmt wird. Die Automatisierung der Test- und Auswertungsabläufe erhöht sowohl die Effizienz und Reproduzierbarkeit der Untersuchungen als auch die Sicherheit beim Umgang mit HIV-infizierten Zellkulturen.

Die hohe Sensitivität des Bildanalyse-Systems ermöglicht zudem eine Analyse auf Einzelzellebene und somit eine Verwendung dieses Auswertungssystems für andere Zelltypen und Färbungen wie z. B. dem Nachweis von Transfektionseffizienzen mittels X-Gal-Färbung.

## Zellulärer Antigen Stimulations Test (CAST): Ein neues Zelluläres Konzept zur Diagnostik von Allergien

W. Klingler\*, J. W. Große\*, A. L. DeWeck\*\*, D. Haldimann\*\*\*  
\* Hermann Biermann Diagnostica, Hohe Straße 4-8, D-6350 Bad Nauheim, Germany  
\*\* Institute of Clinical Immunology, Inselspital, CH-3010 Bern, Switzerland  
\*\*\* Bühlmann Laboratories AG, Baselstraße 55, CH-4124 Schönenbuch, Switzerland

Allergische Reaktionen lassen sich aufgrund der Produktion und Freisetzung von Entzündungsmediatoren, wie Histamin, Leukotrienen, Platelet Activating Factor (PAF) und Zytokinen durch die beteiligten Zellen als Entzündungsreaktionen charakterisieren. Bei IgE-vermittelten Allergien des Sofort-Typs sind im wesentlichen die Mastzellen des Gewebes beteiligt, einige Stunden später auch eosinophile und basophile Blutzellen. Typische klinische Manifestationen dieser Allergien sind allergische Rhinitis, Asthma bronchiale, atopische Dermatitis und neben einigen Formen der Urtikaria auch anaphylaktische Schockreaktionen. Wichtigste Mediatoren dieser Reaktionen scheinen die Sulfidoleukotriene LTC<sub>4</sub> und die Metaboliten LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub> zu sein.

Ein Mikrotiterplatten-ELISA mit einem einzigartigen monoklonalen Antikörper, der sowohl LTC<sub>4</sub>, wie auch die Metaboliten LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub> mit derselben Empfindlichkeit und Spezifität erkennt,

eignet sich zum Nachweis der Reaktion basophiler Blutzellen auf den Kontakt mit Allergenen (und anderen Agonisten basophiler Zellen). Wie bei der Histaminfreisetzung von Mastzellen wird beim CAST-Elisa die momentane Reaktivität des Patienten auf ein spezifisches Allergen bestimmt.

Die Empfindlichkeit des Tests wird durch eine kurze Vorinkubation der Zellen mit Inter-leukin 3 entscheidend gesteigert.

Es ist zu erwarten, daß sich der CAST-Elisa neben dem Nachweis allergen-spezifischer Reaktionen auch zur Diagnose nicht IgE-vermittelter, pseudo-allergischer Reaktionen eignet.

Zwischen dem Allergen-induzierten Histamin-Release und der Allergen-abhängigen Stimulation der Sulfidoleukotrien-Produktion und Freisetzung ergab sich, genauso wie zu Skin-Tests und RAST, eine ausgezeichnete Korrelation (A. L. De Weck et al. ACI News 5/1, 9-14, 1993).

## Pyridinium-Crosslinks-ELISA im Urin als biochemischer Marker des Knochenstoffwechsels

W. Klingler<sup>1</sup>, S. Seyedin<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Hermann Biermann GmbH Diagnostica, Hohe Str. 4-8, 6350 Bad Nauheim  
<sup>2</sup> Metra Biosystems, Inc. 3181 Porter Drive, Palo Alto, CA 94304

Die Erneuerung der Knochenmatrix erfolgt kontinuierlich durch zwei gekoppelte gegenläufige Prozesse, die Resorption durch die Osteoclasten und die Knochenneubildung durch die Osteoblasten.

Diese Zelltypen sind für den Abbau bzw. Aufbau der Knochen-substanz, welche aus einer organischen mineralischen Phase (Hydroxylapatit) und einer organischen Matrix (Typ I-Collagen, Gla-Protein) besteht, verantwortlich.

Die Aktivität der Knochenumbauprozesse läßt sich zum einen durch Messung von Enzymaktivitäten der Osteoblasten (z. B. alkalische Phosphatase) oder Osteoclasten (Tartrat-resistente saure Phosphatase) bzw. durch Messung der Konzentration der Knochenmatrixproteine, die ins Blut, oder in den Urin abgegeben werden, messen.

Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) dienen der Quervernetzung (Crosslinking) der neusynthetisierten Collagenfibrillen.

Während des Knochenabbaus kommt es zu einer Degradation des reifen Collagens und die Pyridinium-Crosslinks (PYD und DPD) werden als Degradationsprodukte über den Urin ausgeschieden.

Da die Pyridinium-Crosslinks fast ausschließlich im Knochen vorkommen und ihre Ausscheidung nicht durch die Neusynthese von Collagenen beeinflusst wird, gelten Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) als derzeit beste Parameter zum Nachweis von Knochenresorptionsprozessen (Osteoporose, primärer Hyperparathyreoidismus, Morbus Paget, osteolytische und osteoblastische Metastasen).

Nachweisverfahren für PYD und DPD sind zur Zeit die relative teure und aufwendige HPLC sowie der von der Firma Metra Biosystems Inc., Palo Alto, USA, entwickelte und durch die Hermann Biermann GmbH in Deutschland vertriebene Pyridinium-Crosslinks-ELISA.

S. Seyedin et al. (J of Bone and Mineral Research, 17:534, 1992) fanden eine ausgezeichnete Korrelation ( $y = 16,54 + 0,90x$ ;  $r = 0,92$ ;  $t = 25,9$ ;  $p < 0,001$ ) zwischen Pyridinium-Crosslinks-ELISA und HPLC sowie der Bestimmung von Hydroxyprolin und Pyridinium-Crosslinks im Urin mittels ELISA ( $y = -4,75 + 15,4x$ ;  $r = 0,90$ ;  $t = 21,5$ ;  $p < 0,001$ ).

## Ergebnisse eines Vergleichs verschiedener nicht-radioaktiver Verfahren in der Hepatitis- und HIV-Serologie

Rupert J. Klosson

Abteilung für Laboratoriumsdiagnostik, Krankenhausbetrieb des Schwalm-Eder-Kreises, 3588 Homberg/Efze

Zur Hepatitis- und HIV-serologischen Diagnostik sind in den letzten Jahren eine Vielzahl nicht-radioaktiver Verfahren entwickelt worden. Im Rahmen einer Studie wurden sowohl mit Patientenproben als auch mit Blutbank- und Serokonverterpanels die Ergebnisse eines Lumineszenzimunologischen sowie zweier enzymimmunologischer Verfahren – davon eines auf der Basis der Streptavidintechnologie – gegenübergestellt.

Es fanden sich keine nennenswerten Unterschiede bei den Testverfahren Anti-HBc-IgM und Anti-HAV-IgM; die Empfindlichkeit der HBs-Antigen-Testverfahren war z. T. sehr unterschiedlich. Diskrepante Ergebnisse wurden auch bei den Testverfahren für Anti-HBc-IgM + IgG erhalten, vermutlich bedingt durch falsch positive Reaktionen bei einzelnen Testverfahren (s. a. 1). Ebenfalls konnten deutliche Unterschiede bei der Quantifizierung des Anti-HBs festgestellt werden (vergl. a. 2). Mit einem Verfahren, daß nach Angaben des Herstellers auch Anti-HIV-IgM erfaßt, wurde in einem Serumkonverterpanel bereits in einer früheren Stufe ein reaktives Ergebnis erhalten.

Die Entscheidung zum Einsatz der Verfahren wird neben den qualitativen Anforderungen an einen Test, die je nach Fragestellung etwas unterschiedlich sein können, auch vom Mechanisierungsgrad der zu den Testverfahren gehörenden Analysensystemen, dem mit der Analytik verbundenen Arbeits- und Zeitaufwand, dem Kalibrationsaufwand und letztendlich bei quantitativen Verfahren auch von der Größe des Meßbereichs bestimmt werden; diese Entscheidungsgrößen werden wertend gegenübergestellt.

Schrifttum:

1. A. M. Spronk, L. Schmidt, C. Krenc, L. Pavlis-Jenkins, J. Brady, S. Taskor, C. Angus-Finn, L. Minnus (1991); J. Clin. Microbiol. 29:611–616
2. C. Klein, K.-H. Bayer, M. Wiese, W. Jilg (1992); Klin. Lab. 38:719–720

## Stellenwert der nephelometrischen quantitativen Bestimmung von Immunglobulinen und Leichtketten zum Nachweis von monoklonalen Gammopathien in Serum und Urin

Rupert J. Klosson

Abteilung für Laboratoriumsdiagnostik, Krankenhausbetrieb des Schwalm-Eder-Kreises, 3588 Homberg/Efze

Der Nachweis einer monoklonalen Immunglobulinsynthese bzw. Leichtkettenausscheidung erfolgt heute überwiegend qualitativ mittels der Immunfixationselektrophorese (1). Dieses Verfahren ist verhältnismäßig aufwendig, teuer und nicht mechanisierbar. Von einigen Autoren wurden daher in den letzten Jahren die nephelometrische Bestimmung von Immunglobulinen sowie der Leichtkettenquotient im Serum als Screeningverfahren vorgeschlagen (2).

Bei Patientenserum und -urinen, die aus Kreiskrankenhäusern bei Verdacht auf eine monoklonale Gammopathie eingesandt wurden, wurden die aus einer Probe ermittelten Ergebnisse der nephelometrischen Bestimmung, der Serum-/Urinelektrophorese und der Immunfixationselektrophorese gegenübergestellt. Dabei zeigte sich, daß bei Berücksichtigung des Bildes der Serumlektrophorese eine vorliegende monoklonale Gammopathie durch die nephelometrische Bestimmung der Immunglobuline und der Leichtketten nahezu ebenso zuverlässig erfaßt und typisiert werden kann wie mit einem üblichen Immunfixationsverfahren. Da-

gegen lag nicht bei jedem pathologischen Leichtkettenquotienten eine monoklonale Gammopathie vor. Die quantitative nephelometrische Bestimmung von Immunglobulinen und Leichtketten im Serum sollte daher im Sinne einer Stufendiagnostik der Immunfixationselektrophorese vorgeschaltet sein; bei auffälligen nephelometrischen Befunden wird eine Immunfixationselektrophorese zur Befundssicherung angeschlossen. Bei bekannter monoklonaler Gammopathie erlaubt die Nephelometrie zusätzlich eine Verlaufskontrolle.

Ebenso kann die Leichtkettenausscheidung im Nativ-Urin nephelometrisch erfaßt werden. Auch hier kann die nephelometrische Bestimmung der Immunfixationselektrophorese vorgeschaltet werden, da nach den vorliegenden Ergebnissen Bence-Jones-Proteinurien in der Regel nur bei Konzentrationen eines Leichtketten-typs von mehr als 100 mg/l vorliegen.

Schrifttum:

1. M. Baus, T. Müller, L. Thomas (1986); Lab. med. 10:192–200
2. F. Boege, B. Koehler, M. Schwab (1989); Lab. med. 13:369–374

## Performance des Analysensystems Boehringer Mannheim/Hitachi 911 – Ergebnisse einer Multicenter-Studie

R. Koberstein, B. Sowodnick

Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31

Mit einem Durchsatz von nominal 360 Tests pro Stunde ist das BM/Hitachi 911 für das mittelgroße Labor konzipiert.

Am System können 32 verschiedene Analyte bei einer Meßtemperatur von  $T = 37^{\circ}\text{C}$  (zzgl. Na, K, Cl mit ISE) bestimmt werden. Während einer Multicenter-Studie wurden an sechs Laboratorien Erfahrungen über ein weites Spektrum von Methoden gesammelt. Probenmaterial waren Sera, Plasmen und Urine. Das Prüfprotokoll enthielt Aufgaben zur Präzision in der Serie, Präzision von Tag zu Tag, Linearität, Drift, Wiederfindung in Kontrollseren und zu Methodenvergleichen.

Mit sechs ausgesuchten Analyten der Klinischen Chemie wurde das o. g. Evaluierungsprogramm durchgeführt. Insgesamt weitere 20 Methoden, einschließlich der ISE, wurden mit speziellen Fragestellungen in Satellitenstudien geprüft.

Die Variationskoeffizienten (VK) für die Präzision in der Serie waren für die klinisch-chemischen Analyte  $< 2\%$ , für die ISE-Methoden  $< 1\%$ . Entsprechend waren die VK's für die Präzision von Tag zu Tag im Schwerpunkt  $< 3\%$  bzw.  $< 2\%$ . Drifteffekte über den Meßtag wurden nicht beobachtet. Die Meßbereiche für die meisten Analyte waren hinreichend groß. Die Sollwerte der eingesetzten Kontrollseren wurden innerhalb eines Bereiches von  $\pm 10\%$  wiedergefunden. Die Vergleiche zu den Routinemethoden brachten zumeist gute Übereinstimmungen mit Steigungskoeffizienten zwischen 0,95 und 1,05 bei vernachlässigbaren Achsenabschnitten. Größere Abweichungen (bis 18%) wurden beim Vergleich mit unterschiedlichen Meßtemperaturen beobachtet.

Die Ergebnisse bescheinigen dem BM/Hitachi 911 System eine ausgezeichnete analytische Performance bei hoher Benutzerfreundlichkeit und Praktikabilität.

## Ergebnisse einer Multicenter-Evaluierung homogener Immunoassays am Analysensystem Boehringer Mannheim/Hitachi 911

R. Koberstein, B. Sowodnick

Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31

Die Flexibilität des Analysensystems BM/Hitachi 911 erlaubt die Applikation vielfältiger Methoden. So kann die Bestimmung von

Proteinen, Medikamenten und Hormonen aus einer Probe am selben Analysengerät und im selben Arbeitsgang durchgeführt werden.

Im Rahmen einer Multicenter-Studie zur Evaluierung des BM/Hitachi 911 wurden auch Methoden zur Bestimmung von Proteinen (Turbidimetric Inhibition Immuno Assay) und Medikamenten (Cloned Enzyme Donor Immuno Assay) einbezogen: Transferrin, Ferritin, CRP und RF (TINA-Quant®) und Dioxin, Digitoxin und Theophyllin (CEDIA®). Das Prüfprogramm beinhaltete Messungen zur Präzision in der Serie und von Tag zu Tag, Wiederfindung in Kontrollen und Methodenvergleiche in Humanseren. Die Variationskoeffizienten (VK) für die Präzision in der Serie lagen sämtlich je nach Analytgehalt  $\leq 5\%$ . Für die Präzision von Tag zu Tag lagen die VK's für Digoxin und Digitoxin zwischen 5% und 8%, für Theophyllin  $< 4\%$ , entsprechend für Ferritin und RF  $< 10\%$  und für CRP und Transferrin  $< 5\%$ . Die Berechnung der Ausgleichsgeraden nach Bablok/Pasing erbrachten Steigungen zwischen 0,94 und 1,06. Die Korrelationskoeffizienten lagen zwischen  $r = 0,94$  und  $r = 0,99$ . Lediglich bei RF wurden größere Abweichungen zur Routinemethode beobachtet (Standardisierung).

Insgesamt zeigte sich die analytische Performance der Bestimmung homogener Immunoassays am BM/Hitachi 911 gleichwertig oder überlegen zur Routineanalytik bei deutlichen Vorteilen im Handling und Integration in die Laborroutine.

## Diagnostik der „Multidrug Resistance“ (MDR) in humanen Leukämiezellen mittels reverser PCR

Th. Köhler\*, D. Laßner\*\*, S. Leiblein\*\*\*, H. Remke\*\*  
Universität Leipzig, Bereich Medizin

\* Institut für Klinische Chemie; \*\* Institut für Pathologische Biochemie; \*\*\* Klinik für Innere Medizin, Hämatologische Abteilung

Manifeste bzw. erworbene Resistenzen maligner Zellen gegenüber konventioneller Chemotherapie sind häufig mit der Expression/Überexpression von MDR-Genen (*mdr-1*, *mdr-3*) verbunden, deren Translationsprodukte als membranständige „Drug-efflux“-Pumpen einer gewünschten Wirkstoffakkumulation in der Tumorzelle entgegenwirken (van der Bliek et al., *Advances Cancer Res.* 52 (1989), 165–203). Widersprüchlich diskutiert wird, ob der MDR-Phänotyp in Leukocyten bevorzugt durch das Cytostatikum induziert wird oder bereits als Resultat der malignen Entartung vorliegen kann. Die MDR-Genexpression wurde deshalb in Leukocyten von 21 Leukämiepatienten (10xAML, 7xCML, 3xALL, 1xCLL) nach stationärer Aufnahme und im Verlauf der Therapie verfolgt. Die Messung erfolgte mittels reverser PCR unter Einsatz eines *mdr-1/mdr-3* spezifischen sowie eines neu designten, *mdr-1*-mRNA spezifischen Primerpaares. Als Standard diente RNA der resistenzselektierten, *mdr-1*-positiven T-Lymphomzelllinien CCRF ADR 5000 und VCR 1000 (Gekeler et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 169 (1990), 796–802). In keinem der untersuchten Fälle war vor Beginn der Chemotherapie *mdr-1* oder *mdr-3* Expression nachweisbar. In 3 Fällen (2xCML, 1xAML) stellte sich im Therapieverlauf Cytostatikaresistenz mit nachweisbarer *mdr-1* Genexpression ein. Dies läßt den vorsichtigen Schluß zu, daß die MDR maligner Leukocyten primär durch Cytostatika induziert wird. Ein klinisch-chemisches „monitoring“ scheint somit erst nach Therapiestart sinnvoll zu sein.

## Die Adaptierung eines rekombinanten Thromboplastins (Innovin™) auf Koagulometer vom Typ ACL

H.-J. Kolde, B. Becker, B. Denzler  
Baxter Diagnostics Unterschleißheim, Edisonstraße 3,  
D-8044 Unterschleißheim

Bei der Anwendung des neuen rekombinanten Thromboplastinpräparates Innovin™ (Baxter Diagnostics) am ACL (International Laboratory) ergaben sich zunächst Schwierigkeiten, weil dieses Gerät eine simultane Kalibration des Quick-Prozentwertes sowie des abgeleiteten Fibrinogens erfordert. Die Software des ACL läßt die Eingabe eines von 100% abweichenden Sollwertes des Kalibrators nicht zu. Wegen der höheren Faktorempfindlichkeit von Innovin werden jedoch in der Regel in Kalibrierplasmen Quick-Werte von unter 100% gefunden. Es wurde daher versucht, durch Anlösen von lyophilisierten Plasmen in geringeren Volumen Gerinnungszeiten zu erzielen, die denjenigen von Frischplasmapool bzw. dessen Verdünnungen entsprechen. Es ergaben sich zwischen verschiedenen Kalibrierplasmen einige Unterschiede, die weniger auf den Quick-Prozentwert zutreffen, sondern eher auf die Richtigkeit des abgeleiteten Fibrinogens. Die besten Ergebnisse wurden erzielt, wenn zur Kalibration Citrol 1 in entsprechend reduzierten Volumen gelöst verwendet wurde, während mit dem Präparat CoagCal® N möglicherweise aufgrund seiner höheren Trübung die Ergebnisse im Vergleich zu Frischplasma etwas weniger gut ausfielen. Mit der beschriebenen Modifikation gelingt es, sowohl die Kalibration des Quick-Prozentwertes als auch des abgeleiteten Fibrinogens zu erzielen, so daß die Werte am ACL mit denen an anderen Koagulometern wie z. B. Electra gut übereinstimmen.

## Vergleich von empfindlichen Thromboplastinen bei Patienten mit stabiler oraler Antikoagulation

H.-J. Kolde, B. Denzler  
Baxter Diagnostics Unterschleißheim, Edisonstraße 3,  
D-8044 Unterschleißheim

Nach Einführung des rekombinanten Thromboplastinreagens Innovin™ (Baxter Diagnostics) wurde in verschiedenen Studien festgestellt, daß sich im Vergleich zu konventionellen Thromboplastinen insbesondere zu Placentathromboplastin Patienten mit intensiver oraler Antikoagulation einige Unterschiede zeigten. Wir haben daraufhin verschiedene empfindliche Thromboplastine mit ISI-Werten von unter 1,3 (Electra) eingesetzt und mit den Mittelwerten der exogenen Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren verglichen. Es zeigte sich eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den Prozentwerten mit Innovin™ und dem British Comparative Thromboplastin (BCT/253, ein WHO-Substandard). Diese beiden Thromboplastine liefern sehr ähnliche Prozentwerte, die nahezu den Mittelwert der drei Vitamin-K-abhängigen Faktoren des exogenen Weges entsprechen. Das zum Vergleich ebenfalls untersuchte Thromboplastin aus Placenta zeigte dagegen wesentlich höhere Prozentwerte und korrelierte weniger gut mit den Werten der einzelnen Gerinnungsfaktoren, während ein empfindliches Thromboplastin auf der Basis von Kaninchenhirn (Thromboplastin IS, Baxter Diagnostics) in etwa dazwischen lag. Nach diesen Ergebnissen scheinen Unterschiede zwischen einigen konventionellen Thromboplastinen und Innovin™ vor allen Dingen auf eine bessere Plausibilität des Quick-Prozentwertes von Innovin™ im Vergleich zu den Einzelfaktoren zurückzuführen zu sein.

## Ergebnisse einer multizentrischen Studie mit einem neuen Thromboplastin auf der Basis von rekombinatem humanem Tissue Factor und synthetischen Phospholipiden

H.-J. Kolde, B. Denzler, Isabel Ramirez  
Baxter Diagnostics Unterschleißheim, Edisonstraße 3,  
D-8044 Unterschleißheim

Ein neues Thromboplastin auf der Basis von rekombinatem humanem Tissue Factor und synthetischen Phospholipiden (Innovin™, Baxter Diagnostics) wurde in einer internationalen multizentrischen Studie mit konventionellen Thromboplastinen auf der Basis von Kaninchenhirn bzw. Humanplazenta verglichen. Die Studie wurde auf voll- bzw. teilautomatisierten Gerinnungsgeräten vom Typ Electra (MLA) durchgeführt. Die Ergebnisse der Präzisionsuntersuchungen zeigen insbesondere bei pathologischen Gerinnungszeiten Vorteile für Innovin™ im Vergleich zu beiden getesteten konventionellen Gewebsthermostoplastinen. Bei Patienten mit kongenitalen Gerinnungsstörungen und mit Lebererkrankungen waren die Werte der verschiedenen Reagenzien sehr gut miteinander vergleichbar. Es zeigten sich jedoch Unterschiede bei Patienten unter Heparintherapie, wo mit Innovin aufgrund eines zugesetzten Heparininhibitors tendenziell eher höhere Werte gefunden werden, sowie bei Patienten unter oraler Antikoagulation. Bei diesen Patienten werden mit Innovin™ eher tiefere Werte gefunden. Durch in-vitro Untersuchungen der Faktorenempfindlichkeit sowie auch durch Untersuchungen der Einzelfaktoren bei Patienten ist es plausibel, daß das rekombinante Thromboplastin Innovin™ aufgrund seiner hohen Reinheit und fehlender Kontamination mit Gerinnungsfaktoren tiefere Werte liefert als die konventionellen Präparate. Bei Umrechnung der Werte in die Internationale Normalisierte Ratio (INR) werden jedoch bei fast allen Patienten sehr ähnliche Ergebnisse gefunden.

## Messung des Thrombin-Antithrombin III Komplexes mit einem doppelt monoklonalen Enzymimmunoassay

H.-J. Kolde, M. MacInerney, H. Pelzer  
Baxter Diagnostics Unterschleißheim/Miami, Edisonstraße 3,  
D-8044 Unterschleißheim

Die Bestimmung des Thrombin-Antithrombin III Komplexes (TAT) erfolgt heute zumeist mit polyklonalen Antikörpern von begrenzter Spezifität. Wir haben verschiedene monoklonale Antikörper gegen TAT entwickelt und zum Aufbau eines vereinfachten Enzymimmunoassays eingesetzt. Einer der monoklonalen Antikörper dient dabei als Fängerantikörper und liegt immobilisiert auf Mikrotiterstreifen vor. Ein zweiter monoklonaler Antikörper gegen TAT ist enzymmarkiert und wird zusammen mit der Probe in die Mikrotiterplatte gegeben. Nach einem einmaligen Inkubationsschritt wird der Überschuß an Konjugat und Probenbestandteil entfernt und durch Zugabe des Substrates die enzymatische Reaktion ausgelöst. Es ist lediglich ein Waschschrift erforderlich. Damit ist der Test in seiner Durchführung einfacher als die bisher verwendeten Methoden für TAT bzw. AT III Neoantigen. Die Ergebnisse von Normalen und Patientenproben korrelieren mit der von Pelzer et al. beschriebenen Originalmethode.

## Enzymatische Entfernung von Heparin aus Citratplasma

H.-J. Kolde, L. Tejjidor  
Baxter Diagnostics Unterschleißheim/Miami, Edisonstraße 3,  
D-8044 Unterschleißheim

Heparin ist eines der am häufigsten verwendeten Medikamente im Krankenhaus. Es hat auf verschiedene Gerinnungstests einen

ganz erheblichen Einfluß, daher wird überwiegend auch die Heparintherapie anhand von Gerinnungsuntersuchungen wie der PTT gesteuert. In der klinischen Routine ist es jedoch nicht auszuschließen, daß Blutproben mit Heparin kontaminiert werden, insbesondere bei Abnahme aus Kathetern. Mit einer stabilisierten Präparation des Enzyms Heparinase aus Flavobakterien (Hepzym™) gelingt es einfach und ohne Probenverlust innerhalb von 15 Minuten Heparin in Plasmaproben abzubauen. Dazu werden 0,5–1,0 ml Plasma in ein Fläschchen mit Hepzym™ gegeben und dadurch die enzymatische Reaktion gestartet. Die Gerinnungstests PTT und TPZ werden durch dieses Verfahren nicht beeinflusst, wie Ergebnisse von Normal Spendern zeigen. Zugesetztes Heparin wurde bis zu 2 U/ML zuverlässig abgebaut. Es ergeben sich für dieses Enzym auch eine Fülle von zusätzlichen Anwendungen, so etwa bei der gleichzeitigen Behandlung mit Heparin und anderen Medikamenten wie Aprotinin oder Thrombolytika, die ebenfalls in das Gerinnungssystem eingreifen.

## Diagnose der Thrombophilie und präthrombotischer Zustände

M. Kraus, H. Keuper, K. Fickenscher, U. Becker  
Forschungslaboratorien der Behringwerke AG, Postfach 1140,  
3550 Marburg

Ca. 1/3 aller Todesfälle in der BRD sind auf thromboembolische Komplikationen zurückzuführen. Die Diagnostik der Thrombophilie und die Erkennung präthrombotischer Zustände sollte ein frühzeitiges therapeutisches Eingreifen ermöglichen.

Als gesicherte Parameter der Thrombophilie gelten ein Mangel oder die Dysfunktion der Inhibitoren Antithrombin III, Protein C, Protein S und PAI, sowie des Fibrinogens und Plasminogens. Die Bestimmung dieser Parameter ist durch photometrische Methoden einfach und schnell möglich.

Die Erkennung präthrombotischer Zustände ist erst in den letzten Jahren durch den Nachweis von Aktivitätsmarkern möglich geworden und wird noch weiter entwickelt. Bei diesen Markern handelt es sich zum einen um Produkte, die aus dem proteolytischen Kaskadensystem der Gerinnung bzw. Fibrinolyse freigesetzt werden (F1 + 2, D-Dimer, FSP); zum anderen können aktivierte Enzyme in Form ihrer im Blut zirkulierenden Protease/Inhibitor-Komplexe nachgewiesen werden (TAT, APP). Da die intakten bzw. inaktiven Vorläufermoleküle im vielfachen Überschuß vorliegen, ist der Nachweis nur mit hoch sensitiven und spezifischen Enzymimmunoassays möglich.

## Rubella Referenz-Panel

T. Krech, Barbara Pustowitz, Monica Grandien, Jennifer Best  
European Group for Rapid Viral Diagnosis,  
c/o T. Krech, In der Fina 21 A, FL-9494 Schaan, Liechtenstein

**Ziel:** Durch die Vielzahl angebotener Tests und die fehlende Standardisierung läßt die Vergleichbarkeit infektionserologischer Untersuchungsergebnisse vielfach zu wünschen übrig. Die Schaffung von Referenzseren in ausreichender Menge ist eine wichtige Voraussetzung für die Standardisierung.

**Material und Methoden:** Es wurde ein 23teiliges Panel zusammengestellt. Von jedem Teil sind 300 lyophilisierte Aliquots zu 100 µl vorhanden. 12 Seren stammen von Patienten mit frischen Röteln. 1 Serum stammt von einem Patienten mit vermutlich frischer Epstein-Barr-Virus-Infektion. Von einem Mischserum wurden durch 5er-Verdünnungen mit einem Röteln-IgG-positiven Normalserum 5 weitere Teile hergestellt. Der Panel wurde sodann durch die Autoren in 6 verschiedenen Testsystemen quantitativ auf Röteln-IgM untersucht.

**Ergebnisse:** Alle Tests erkannten die IgM negativen Seren nicht erkrankter Patienten richtig. Das EBV-Serum war nur in 2 Testsystemen eindeutig negativ. Die Untersuchung des Panels mit dem gleichen IgM-Test in zwei verschiedenen Laboratorien ergab ein völlig identisches Reaktionsprofil. Zwischen Tests verschiedener Provenienz fiel das Reaktionsprofil jedoch teilweise recht unterschiedlich aus. Alle Tests erkannten das 1:5 verdünnte Poolserum noch als positiv, das 1:25 verdünnte als grenzwertig oder negativ.

**Schlußfolgerungen:** Die Ergebnisse zeigen am hier vorgestellten Rubella-IgM-Referenz-Panel, daß solche Panels vergleichbare und reproduzierbare Aufschlüsse über die Charakteristika verschiedener Tests liefern können. Die Integration einer Verdünnungsreihe gibt Anhaltspunkte zur analytischen Sensitivität. Vorteil solcher Referenz-Panels ist ihre generelle Verfügbarkeit in relativ großer Menge. Damit werden die Ergebnisse verschiedener Untersucher direkt vergleichbar und wiederholbar. Der Rubella-Referenz-Panel dürfte bei der Beurteilung neuer Testkits, zur Untersuchung der Chargen-Variabilität sowie für Vergleichsuntersuchungen zur quantitativen IgG-Bestimmung in IU/ml nützlich sein.

## Amerlite Primeur. Konzeption und Entwicklung eines Probenvorverteilsystems

Eugen Kretschmer, Heinz Krauth  
Kodak Diagnostik (Deutschland) GmbH,  
Mascheroder Weg 1b, 3300 Braunschweig

Wir konzipierten ein Probenvorverteilsystem auf der Basis eines handelsüblichen Tecan RSP 5052 (2-Arm-) Samplers für den Einsatz im Klinisch-Chemischen Labor. Serumproben können aus Primärgefäßen in bis zu 6 Verteilziele (= Arbeitsplätze) pipettiert werden. Die zwei Arme des Samplers arbeiten je auf bis zu 3 Zielbereiche, wobei diese wieder aus bis zu 3 Sekundärracks bestehen dürfen. Konkret werden Verteilungen für Arbeitsplätze wie Elektrophorese, HDL/LDL, Immunglobuline, Rheumafaktoren und Immunodiagnostik vorbereitet. Das Serum kann dabei ein einfaches Aliquot als Vorlage für eine weitere Unterverteilung, oder direkt eine Testvorlage sein. Verteilvolumina sind im Bereich von 10 µl bis 1000 µl je Arm konfigurierbar mit dem Ziel, ein Primärrack in nur einem Pipettierlauf abzarbeiten, um die Primärproben schnellstmöglich dem weiteren Laborablauf zugänglich zu machen.

Mit einem Zieldurchsatz von 300–400 Proben/h soll der Probenfluß im Labor unterstützt werden. In gleichem Sinne wirkt die Möglichkeit, Racks aus Klinisch-Chemischen Automaten direkt als Primärrack auf dem Sampler zu plazieren, mit dem Vorteil, daß einmal festgelegte Probenpositionen nicht mehr aufgegeben werden müssen und manuelle Schritte auf ein Minimum reduziert werden.

Rackgrößen sind frei konfigurierbar und ermöglichen eine optimale Anpassung an die im Labor bestehenden Testserienlängen.

Ein wichtiger Aspekt ist die EDV-technische Einbindung in bestehende Labor-EDV Systeme mit dem Hintergrund einer transparenten, an sämtlichen Schnittstellen nachvollziehbaren und im Zweifelsfalle überprüfbaren Datenkommunikation. Die Einbindung in ein PC Netzwerk wird ebenso unterstützt wie der sonst übliche bidirektionale EDV-Anschluß.

## Fibronektin in Galle als Parameter zur Diagnostik maligner Gallengangsprozesse

J. Kropf, Th. Körner\*, A. Brenzel, D. Jaspersen\*, W. Schorr\*,  
C.-H. Hammar\*, A. Gressner  
Abt. Klinische Chemie und Zentrallaboratorium  
des Univ. Klinikums Marburg und  
\* Med. Klinik II Städt. Klinikum Fulda

Es wurde überprüft, ob die Konzentration des Glykoproteins Fibronektin in der Galle zur Differenzierung von malignen und benignen Gallenwegprozessen beitragen kann. Bei 29 Patienten wurde im Rahmen der ERC Nativgalle gewonnen und die Fibronektinkonzentration mit einem empfindlichen zeitaufgelösten Fluoreszenz Immunoassay (Nachweisgrenze 1,2 ng/ml) bestimmt (1). Bei 19 Patienten lag kein Gallenwegstum vor (Cholelithiasis: n = 9, Normalbefund: n = 10), während 10 Patienten ein Malignom der Gallenwege bzw. des Pankreas aufwiesen (infiltrierendes Pankreas-Ca: n = 6, primäres Gallengangs-Ca: n = 3, Klatskin-Tumor: n = 1). In der Nicht-Malignomgruppe wurde eine Fibronektinkonzentration mit Median 12 ng/ml (untere/obere Quartile 5–30 ng/ml) gefunden. Demgegenüber waren die Fibronektinkonzentrationen in der Galle von Patienten der Malignomgruppe mit einem Median von 1675 ng/ml (untere/obere Quartile: 155–3430 ng/ml) signifikant erhöht ( $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis Test). Unsere Ergebnisse zeigen, daß in Analogie zur Aszitesdiagnostik die Fibronektinkonzentration in der Galle ein wichtiger, leicht bestimmbarer Parameter in der Differentialdiagnose maligner und benigner Gallenwegserkrankungen werden kann.

Schrifttum:

(1) Kropf, J., Quitte, E., Gressner, A. M. (1991) Time-resolved immunofluorometric assay with measurement of a europium chelate in solution: application for sensitive determination of fibronectin. *Anal. Biochem.* 197:258–265.

## Detektion der (14;18) Translokation bei Patienten mit Non Hodgkin Lymphomen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion

Uta Lay, Corinne Klett und Jürgen D. Kruse-Jarres  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Katharinenhospital, Kriegsbergstr. 60, 7000 Stuttgart 1

Im Rahmen von Tumorerkrankungen des blutbildenden Systems spielen chromosomale Translokationen bei der Tumorphagenese eine unmittlere Rolle. So findet man bei Patienten mit Non Hodgkin Lymphomen häufig eine Translokation zwischen den Chromosomen 14 und 18 (q32.3; q21.3). Durch diese Translokation wird das bcl-2-Protonokogen an eine Stelle im Genom versetzt, an welcher bei gesunden Zellen die Information zur Antikörperproduktion (Schwerketten, IgH) lokalisiert ist. Das bcl-2-Onkogen wird nun dort, wie ursprünglich das IgH-Gen, verstärkt transkribiert und läßt sich in erhöhter Konzentration im Zellkern der Tumorzelle nachweisen. Das bcl-2-Protein fördert über einen bisher unbekanntenen Mechanismus im Zellkern die Zellteilung und trägt damit zur Transformation einer gesunden Zelle zur Krebszelle bei. Ziel der Arbeit war der Nachweis dieses genetischen Defekts sowohl durch zytogenetische Untersuchungen (Chromosomenanalysen) als auch durch die hochsensitive Polymerase-Kettenreaktion, um die „minimal residual cells“ im Rahmen von Rezidivkontrollen frühzeitig zu erkennen. Der experimentelle Nachweis erfolgte aus Leukozyten und Knochenmarkszellen von NHL-Patienten und aus Tumorzelllinien. Im Gegensatz zu den klassischen Methoden wie Zytologie und Durchflußzytometrie, unter deren Anwendung erst zu einem späteren Zeitpunkt ein Rezidiv erkannt werden kann, bietet die PCR die Möglichkeit, bereits einzelne im Blut zirkulierende Tumorzellen zu detektieren.

Schrifttum:

1. J. G. Gribben et al. (1991): *Blood*, Vol. 78, 3275–3280.
2. M. S. Lee et al. (1987): *Science*, Vol. 237, 175–178.
3. E. Lipford et al. (1987): *Blood*, Vol. 70, 1816–1823.

## Methodenvergleich zwischen Sedimentations- und Zentrifugationstechniken bei der Zytodiagnostik im Liquor cerebrospinalis

R. Lehmitz<sup>1</sup>, T. O. Kleine<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nervenambulanz und Poliklinik, Zentrallabor für Liquordiagnostik der Universität Rostock

<sup>2</sup> Med. Zentrum für Nervenheilkunde, Funktionsbereich Neurochemie der Universität Marburg a. d. Lahn

Für die Zytodiagnostik müssen Liquorproben wegen ihrer Zellarmut (Normalbereich 5 M/l Leukozyten) angereichert werden. Hier werden Zytocentrifugations- und Sedimentationsverfahren verglichen untersucht: – Verfahren A: Zentrifugation von 400 µl nativer Probe 10 min bei 900 U/min und Raumtemperatur (Cytospin I; Shandon Labortechnik). – Verfahren B: Zentrifugation von 200 µl nativer Probe 5 min bei 1500 U/min und 5°C (Zytozentrifuge Hettich; Zytokammer 1275) mit anschließender Trocknungszentrifugation 1 min bei 3000 U/min. – Verfahren C mit Anreicherung der zellarmen Liquorprobe durch Zentrifugation 20 min bei 220xg: das resuspendierte Sediment wird zusammen mit 50 µl Serumalbumin-Parker 199-Medium nach Verfahren B auf einen Objektträger (beschichtet mit Polydimethylallylammoniumchlorid) zentrifugiert. – Verfahren D: Sedimentation der Liquorzellen von 1 ml nativem Liquor in der Original-Sayk-Kammer innerhalb 20–30 min bei Raumtemperatur. Alle Liquorzellpräparate werden nach Pappenheim panoptisch angefärbt. – Folgende Zellausbeuten (in % der Leukozytenzahl von untersuchten Proben) werden mit den Verfahren erhalten: A: 7–21%; B: 26–53%; C: 37–59%; D: 4–14%, wobei die Differenzierbarkeit der Zellen verfahrensabhängig ist. Verfahren A, B, C liefern Präparate mit ähnlicher Leukozytenzusammensetzung (Lymphozytenanteil ~ 85%; Monozytenanteil ~ 15%); dagegen werden mit Verfahren D durch Lymphozytenverlust ungefähr gleich viel lymphozytäre und monozytäre Zellen ermittelt. – Damit erscheinen nur Verfahren mit hoher, nicht selektiver Zellausbeute und unverfälschter Zelldarstellung zur zuverlässigen Zytodiagnostik im Liquor geeignet.

## Immunchemische Quantifizierung von IgM, IgA, IgG und Albumin im Liquor cerebrospinalis durch Messung der Lichtstreuungsrate oder der Licht-Vorwärtstreuung

R. Lehmitz<sup>1</sup>, P. Nebel<sup>2</sup>, T. O. Kleine<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nervenambulanz und Poliklinik, Zentrallabor für Liquordiagnostik der Universität Rostock

<sup>2</sup> Med. Zentrum für Nervenheilkunde, Funktionsbereich Neurochemie der Universität Marburg a. d. Lahn

Da die Quantifizierung der Immunglobuline IgM, IgA, IgG und von Albumin im Liquor cerebrospinalis bis heute nicht befriedigend optimiert werden konnte, werden hier zwei verschiedene immunchemische Verfahren an Liquor adaptiert und miteinander verglichen: Das Verfahren A (Array Protein System Beckman) bestimmt die Rate der Lichtstreuungszunahme bei der Antigen-Antikörper-Präzipitation; das Peak-Rate-Signal wird in Konzentration automatisch Kalibration umgewandelt. Mit 0,042 ml Probe liegt die Nachweisgrenze für IgM bei > 7 mg/l und IgA bei > 12 mg/l oberhalb des Liquorreferenzbereiches, weniger für IgG mit > 9 mg/l und nicht für Albumin mit > 7 mg/l. Werden in 0,10 ml Probe die Rate Units (100–4000) von 8 Standards gemessen und mittels externer Eichkurve evaluiert, beträgt der Meßbereich für IgM: 1–14 mg/l, für IgA: 3–17 mg/l. Beim Verfahren B (Laser Nephelometer 100, Behringwerke) wird das Vorwärtstreuereicht der Antigen-Antikörper-Reaktion im Fixed-Time Mode (10 s bis 6–60 min) gemessen und mittels Kalibration (8 Meßpunkte) automa-

tisch in Konzentration (mg/l) umgewandelt: Meßbereiche (Probenmenge): IgM: 1–52 mg/l (0,10 ml); IgA: 1–111 mg/l (0,10 ml); IgG 5–153 mg/l (0,05–0,10 ml); Albumin 17 (35)–559 (2152) mg/l (4, 15 µl). Beide Verfahren bestimmen IgA, IgG und Albumin in niedrigen Liquorkonzentrationen mit einer Impräzision von < 11% VK; IgM kann nur oberhalb seines Referenzbereiches (> 0,5 mg/l) ermittelt werden (VK > 11%). Mit Antiseren und Kontrollen von Beckman, Behringwerke bzw. Dakopatts werden signifikant abweichende Ergebnisse erhalten, was die Standardisierung der immunchemischen Quantifizierung in Liquorproben dringend erforderlich macht.

## Trennung und Identifizierung von ungesättigten Fettsäure Isomeren in Blutserum und Fischölpräparationen in Form ihrer Oxazolinderivate mittels GC/MS

H. M. Liebich, N. Schmieder, H. G. Wahl und J. Wöll  
Medizinische Universitätsklinik, 7400 Tübingen

Die Identifizierung von ungesättigten, insbesondere vielfach ungesättigten Fettsäure (FS) Isomeren in Form ihrer Methylester, welche üblicherweise als Derivate bei der FS Analyse benutzt werden, mittels GC/MS bereitet häufig Schwierigkeiten bezüglich der exakten Lokalisierung der Doppelbindungen. Oxazoline, die durch Reaktion zwischen FS und 2-Amino-2-methyl-1-propanol (AMP) hergestellt werden, eignen sich sehr gut für eine zuverlässige Trennung und Identifizierung der FS. Die Methode wurde auf 37 Referenz FS, die Analysen von FS in Serum und FS in therapeutischen Fischölpräparationen angewandt.

Die Lipide werden aus 1 ml Serum mit 4 ml Chloroform/Methanol (2:1, v/v) extrahiert, und die isolierten Serumlipide oder 0,1 ml Fischöl mit methanolischer KOH verseift. Nach Umsetzung der FS mit 0,05 ml AMP bei 210°C über 2 h wurden die Derivate an einer 25 m x 0,25 mm FFAP Quarzkapillarsäule getrennt und die Massenspektren im Elektronenstoß-Modus registriert. Die Massenspektren der Derivate weisen deutliche Molekülionen, systematische schrittweise Fragmentierung der FS Kette und besonders ein sehr typisches und beweisendes Spaltungsmuster für die Doppelbindungen auf. Verschiebungen der Doppelbindungen während des Fragmentierungsprozesses wurden nicht beobachtet.

Die beschriebene Methode ist einfach in der Ausführung und erlaubt die zuverlässige Identifizierung ungesättigter FS Isomere. Angewandt auf Serum und therapeutische Fischölpräparationen läßt sich die Analyse durchführen, selbst wenn Referenzsubstanzen nicht verfügbar sind, und in Spuren vorhandene unbekannte FS können identifiziert werden.

## Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Analysis by Capillary Electrophoresis

Cheng-Ming Liu and Jerry Klein  
Beckman Instruments Inc., 200 S. Kraemer Blvd., Brea, CA 92621, USA

Differentiation of an enzyme into its isoenzyme fractions can be very useful in the diagnosis of certain diseases. In recent years, lactate dehydrogenase (LD) isoenzyme analysis has become extremely useful in confirming the diagnosis of myocardial infarction. Currently, electrophoresis is the most common method used to separate isoenzyme fractions. Although electrophoresis separates the isoenzyme fractions, it does not render them visible to the naked eye or to spectrophotometric analysis. The separated isoenzymes have to react with substrate and NAD<sup>+</sup>, producing NADH, which can then be viewed under UV light. Capillary zone electrophoresis presents a particular problem for isoenzyme



measurements, since it is technically very difficult to introduce the substrate into the column after separation. A new method is presented for achieving isoenzymes react with substrate inside capillary and detecting the end product: NADH. The rate of NADH production is determined by the rate of increase in absorbance at 340 nm. Substrates are mixed with separation buffer and a stop flow interruption is programmed during separation in order to develop measurable catalytic product peaks for measurement. Results using the five LD isoenzymes as a model system for isoenzyme measurement with capillary electrophoresis have shown detection sensitivity in a clinically useful range.

## Myeloma Protein Classification and Typing by Capillary Electrophoresis

Cheng-Ming Liu and Hann-Ping Wang  
Beckman Instruments Inc., 200 S. Kramer Blvd., Brea,  
CA 92621, USA

Myeloma Protein (M-Protein) is the product of a single clone of lymphoid cell. The protein is present in serum or urine in the form of a monoclonal immunoglobulin. Determination of the class and type of monoclonal immunoglobulin is very important for clinical diagnosis and prognosis.

Capillary electrophoresis is a new analytical method in biochemical research and clinical diagnosis. This technique is well-suited for automation with on-line detection and real-time data analysis. This new technique has been applied for serum protein (CZE-SPE) analysis very successfully. The monoclonal M-Protein can be identified with CZE-SPE by an elevated UV absorptive peak at the gamma region. The patient sera can be sorted out from the CZE-SPE screening and can then be characterized by immunosubtraction. Immunosubtraction is a technique for removing a specific class or type of immunoglobulin from serum by use of a solid support (e. g. cyanogen-bromide activated agarose), which coupled with specific antibody against the immunoglobulin (anti-IgA, anti-IgG, anti-IgM, or anti-light chain). The class and type of M-Protein can be recognized by overlaying the electropherograms before and after reaction with the antibody labelled solid support. Good correlation was observed when the results of CZE immunosubtraction were compared with that of the conventional agarose gel electrophoresis.

## Detektion der 9;22 Translokation bei Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie

Daniela Löffler, Corinne Klett und Jürgen D. Kruse-Jarres  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Katharinenhospital, Kriegsbergstr. 60, 7000 Stuttgart 1

Im Rahmen der Diagnose und Prognostik bei Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie spielt der Nachweis der chromosomalen 9;22-Translokation bzw. des Philadelphia-Chromosoms eine wichtige Rolle. Ca. 95% aller CML-Patienten exprimieren das Philadelphia-Chromosom (Ph<sup>+</sup>), die restlichen 5% der CML-Patienten sind Philadelphia-Chromosom negativ (Ph<sup>-</sup>), wobei die Ph<sup>+</sup> CML-Patienten eine günstigere Prognose aufweisen als die Ph<sup>-</sup> CML-Patienten. Das Philadelphia-Chromosom entsteht durch reziproke Translokation an jeweils einem der längeren Arme des 9. und 22. Chromosoms. Dabei werden Teile des ursprünglich auf dem 9. Chromosom lokalisierten c-abl Gens gegen Bruchstücke des bcr-Gens des 22. Chromosoms ausgetauscht. Das durch die reziproke Translokation veränderte Chromosom 22 wird als Philadelphia-Chromosom bezeichnet. Das entsprechende Fusionsprotein p210 (bcr-abl) zeichnet sich durch eine erhöhte Tyrosinkinase-

Aktivität aus. Im Rahmen dieser Studie wurden CML-Patienten auf die Anwesenheit des Philadelphia-Chromosoms untersucht. Es wurden sowohl DNA-Hybridisierungstechniken mit einer Digoxigenin-markierten Ph1/bcr 3 Sonde als auch PCR-Ansätze der bcr-abl Fusionsregion nach RNA-Isolierung und Umschreibung in cDNA durchgeführt. Die Detektion der Amplifikationsprodukte erfolgte durch elektrophoretische Auftrennung und Ethidiumbromidfärbung direkt im Gel. Ein Vergleich der beiden Methoden mit zytogenetischen Analysen zeigte die höchste Sensitivität bez. der Detektion des rekombinierten bcr-abl Gens bei Anwendung der PCR, die eine bessere Früherkennung von Rezidiven garantiert.

Schrifttum:

1. G. T. Blennerhassett et al. (1988): Leukemia, Vol. 2, 648-657.
2. P. Martiat et al. (1990): British Journal of Haematology, Vol. 75, 355-358.

## Union Européenne des Médecins spécialistes (U. E. M. S.)

Hermann Lommel  
Gemeinschaftspraxis

Am 4. Mai 1963 fand in Brüssel die erste Sitzung der Fachärzte für Laboratoriumsdiagnostik aus Frankreich, Italien, Belgien, den Niederlanden, Luxemburg und der Bundesrepublik Deutschland statt. Dr. Albers, Stuttgart, vertrat die deutschen Kollegen in dieser Sektion (Section Monospécialisée de Biologie Médicale) der Europäischen Vereinigung der Fachärzte (Union Européenne des Médecins Spécialistes). Zur Erfüllung der Römischen Verträge vom 25. März 1957 wurde in den Folgejahren die Harmonisierung der Aus- und Weiterbildung auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin angestrebt, um eines Tages einen Austausch zu ermöglichen, der auch heute noch nicht in Sicht ist. Dagegen ist die Harmonisierung gelungen: In jetzt 12 EG-Ländern sind die Ausbildung mit Staatsexamen (6 J.) und die Weiterbildung zum Facharzt (5 J.) identisch. Die Abgrenzung innerhalb der Ärzteschaft und gegenüber Nicht-Ärzten hat stattgefunden. In fast allen Ländern dürfen Nicht-Laborärzte Analysen nicht abrechnen, in wenigen Ländern dürfen Apotheker unter der Bedingung derselben Ausbildung, derselben Weiterbildung und der strikten Beschränkung auf Analysen (Compétance et Exclusivité) den Mangel an Fachärzten für Laboratoriumsmedizin ausgleichen. Dies gilt für Biologen in Spanien, für Chemiker in Belgien und den Niederlanden (im Krankenhaus im ärztlichen Verbund wie in Italien: unter Aufsicht, mit Beschränkung auf das Teilgebiet). Selbständige MTA und Laborgemeinschaften sind nur in Deutschland bekannt. Seit 1992 gilt die einheitliche Bezeichnung Medizinische Biopathologie mit dem internen Vorschlag der Anwendung beider Bezeichnungen für die Übergangszeit.

## Methode zur intrakorpulären Bestimmung von Vitamin B12 im Vollblut

J. Lotz\*, G. Hafner\*, W. Ehrenthal\*, M. Ueberscher\*\*,  
D. Spangl, W. Prellwitz\*  
\* Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Universitätsklinik Mainz  
\*\* 1. Medizinische Klinik, Universitätsklinik Mainz

Zur Erkennung eines latenten oder manifesten Vitamin B12 Mangels, sowie der Entscheidung zur Substitutionstherapie könnte die Bestimmung der intrakorpulären Vitamin B12 Konzentration von Bedeutung sein. Vor der Bestimmung wurde durch 30-minütige Tiefgefrierung (-70 Grad Celsius) eine vollständige Hämolyse erreicht. Die Differenz der nephelometrischen Bestimmung des freien Hämoglobins zur Cyanmethämoglobinmethode lag unter 10%. Die Messung der Vit. B12 Konzentration erfolgte durch

Chemolumineszenz. Der VK der intra- und interassay-Präzision lag unter 17%. Verdünnungsuntersuchungen ergaben eine Wiederfindung zwischen 75–110%. Bei 93 Probanden mit normaler Serum-Vit.B12 Konzentration, normozytären und normochromen Erythrozytenindizes und weniger als 10000 Leukozyten pro nl fand sich eine mittlere intrakorpuskuläre Vit.B12 Konzentration von 1000 pg/ml (2 s-Bereich: 700–1300 pg/ml) und zeigte daher deutlich höhere Werte als im Serum.

Der Vergleich dreier Patientenkollektive (I: Normalpersonen; II: nach Mainz-Pouch Operation; III: M. Crohn, Colitis ulcerosa bei Mitbeteiligung des terminalen Ileums) ergab bei etwa gleichen Serumwerten der Kollektive II und III deutliche Unterschiede in der Konzentration der intrakorpuskulären Vit.B12 Konzentration. In beiden Kollektiven lagen die Mittelwerte unterhalb des Referenzbereiches.

## Vergleich von Pyridinolin-Crosslinks, 1-C-terminalem Telopeptid und Propeptid des humanen Typ I Prokollagens mit der densitometrischen Knochendichtemessung mittels DEXA

J. Lotz\*, D. Steeger\*\*, W. Ehrenthal\*, G. Hafner\* und W. Prellwitz\*

\* Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinik Mainz

\*\* Orthopädische Kliniken der Universität Mainz

Als biochemische Parameter zur Erfassung des Knochenstoffwechsels wurden die Bestimmungen der Pyridinolin Crosslinks im Urin, des 1-C-terminalen Telopeptides (ICTP) und des carboxy-terminalen Propeptides des Typ I Prokollagens (PICP) mit den Ergebnissen der densitometrischen Knochendichtemessung mittels DEXA bei 148 Frauen und 23 Männern verglichen. Die densitometrische altersbezogene Knochendichte zeigte weder eine Korrelation zu den katabolen Markern Pyridinolin Crosslinks und ICTP, noch zu dem anabolen Knochenmarker PICP. Die biochemischen Parameter hatten eine hohe Spezifität (> 90%) bei geringer Sensitivität (< 60%).

Die Unterteilung in erniedrigte, normale und erhöhte altersbezogene Knochendichte ergab keine signifikanten Unterschiede der Pyridinolin Crosslinks- und ICTP-Bestimmungen. Hingegen zeigte die PICP Konzentration im Serum eine signifikante Verminderung mit abnehmender Knochendichte ( $p > 0,05$ ). Unter Berücksichtigung der menopausalen Einflüsse ergeben sich bei Unterteilung des weiblichen Kollektives in vier Altersgruppen signifikant unterschiedliche DEXA-Meßergebnisse ( $p < 0,01$ ) ohne klinisches Korrelat. Die untersuchten Laborchemischen Parameter sind zur Beurteilung der aktuellen Knochendichte im Vergleich zur DEXA weniger hinweisend. Ein verminderter Knochenaufbau kann durch die Abnahme der PICP Konzentration im Verlauf erkannt werden.

## Die immunzytologische Diagnose und Klassifizierung von akuten Leukämien

W. D. Ludwig

FU Berlin, Universitätsklinikum Steglitz, Abt. für Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie

Die Immunphänotypisierung mittels monoklonaler Antikörper (mAk) gilt heute, ergänzend zur Morphologie und Zytochemie, als wichtiger Bestandteil in der initialen Diagnostik akuter Leukämien und verfolgt 3 wesentliche Ziele: (a) morphologisch/zytochemisch undifferenzierte akute Leukämien der B-, T-lymphatischen bzw. myeloischen Zellreihe zuzuordnen sowie den Reifegrad der Leukämiezellen festzulegen; (b) durch die Behandlung nicht eliminierte residuale Leukämiezellen nachzuweisen; (c) biologisch

und/oder prognostisch relevante Subtypen zu erkennen und in standardisierter Weise zu diagnostizieren. Ausgehend von der morphologischen Diagnose akute Leukämie erfolgt bei der Immunphänotypisierung zunächst die Linienzuordnung der Blasten anhand des Nachweises von membranständigen bzw. intrazytoplasmatischen Antigenen, die von allen frühen Differenzierungsstufen der Myelo- oder Lymphopoese exprimiert werden (z. B. CD13/33/w65; CD19/cyCD22; CD7, cyCD3). In einem 2. Schritt wird anhand mAk gegen Antigene, deren Expression eng mit myeloischer (z. B. CD14/15/41/61/64) oder lymphatischer Zellreihe (z. B. CD1a/2/3/4/5/8/20/24; zytoplasmatische/membranständige Immunoglobuline) bzw. hämatopoetischen Vorläuferzellen (z. B. CD34) assoziiert ist, der immunologische Subtyp festgelegt.

Das Expressionsmuster der og. Antigene innerhalb der immunologisch definierten Subtypen akuter Leukämien wird dargestellt und die klinische Bedeutung der Immunphänotypisierung diskutiert.

## „Familial Defective Apolipoprotein B-100“: Pathobiochemie und Diagnostik

Winfried März<sup>1</sup>, Manfred W. Baumstark<sup>4</sup>, Hubert Scharnagl<sup>1</sup>, Tilla Pohl<sup>2</sup>, Viktor Ruzicka<sup>1</sup>, Jürgen Herwig<sup>3</sup>, Ludwig Schaaß<sup>1</sup>, Andreas Russ<sup>1</sup>, Hans-Josef Böhles<sup>3</sup>, Klaus Henning Usadel<sup>2</sup>, Werner Groß<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zentrum der Biologischen Chemie

<sup>2</sup> Zentrum für Innere Medizin

<sup>3</sup> Zentrum der Pädiatrie, Universität Frankfurt und

<sup>4</sup> Zentrum für Innere Medizin, Universität Freiburg

Apolipoprotein (apo) B-100 ist ein Hauptbestandteil von VLDL, IDL und LDL. Durch Interaktion mit LDL-Rezeptoren vermittelt es die Aufnahme von LDL in Körperzellen, vorwiegend in Hepatozyten. Ein Aminosäureaustausch von Arginin zu Glutamin an Position 3500 des apoB ist mit einer erheblich verminderten Bindungsaffinität zum LDL-Rezeptor assoziiert. Der hieraus resultierende Phänotyp zeichnet sich durch erhöhte Plasma-Cholesterin- und LDL-Konzentrationen aus und wird als „familial defective apoB-100 (FDB)“ bezeichnet. Die Heterozygoten-Frequenz in den bisher untersuchten Populationen ist etwa 1:500.

Wir haben eine PCR-Methode entwickelt, mit der es möglich ist, in einem Pool von bis zu 256 Spendern einen einzigen Merkmalsträger zu identifizieren. Mit Hilfe dieser Methode wurde ein homozygoter Patient für die FDB-Mutation beschrieben (Lancet, 340, 1362, 1992). Die Homozygotie wurde dokumentiert durch Restriktions-Isotypisierung und Direktsequenzierung amplifizierter DNA. Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin betragen 3,31 g/l bzw. 2,65 g/l. Die Hypercholesterinämie ist damit weniger schwerwiegend als bei homozygotem LDL-Rezeptor-Defekt. Im Internallisierung- und Degradationsassay an primären humanen Fibroblasten zeigten die FDB-LDL eine deutlich geringere Affinität zu LDL-Rezeptoren als „Wildtyp-LDL“. Die Subfraktionierung der FDB-LDL ergab eine Anreicherung der bindungsdefekten LDL in Dichteklassen über 1,037 kg/L, die Konzentrationen der LDL-Subfraktionen mit geringerer Dichte waren normal.

Die Identifizierung eines für „familial defective apolipoprotein B-100“ homozygoten Patienten eröffnet auch neue Ansätze zur Klärung der physiologischen Funktionen des apoB, des apoE und des LDL-Rezeptors.

## Molekularbiologische Analytik von hämostaseologischen Risikofaktoren

Christine Mannhalter

Klin. Inst. Med. Chem. Lab. Diagnostik, AKH Wien

In den letzten Jahren haben molekularbiologische Untersuchungsmethoden zunehmend Eingang in medizinisch diagnosti-

sche Labors gefunden. Im Bereich der hereditären Gerinnungsstörungen wurde mit Hilfe molekularbiologischer Methoden die Erfassung von Überträgern verschiedener Gerinnungsdefekte signifikant verbessert, wie am Beispiel der Hämophilie A besonders deutlich demonstrierbar ist.

Während mit konventionellen Gerinnungsanalysen selbst in spezialisierten Labors eine Konduktorin nur mit 80%iger Sicherheit diagnostiziert werden kann, ist dies mit molekularbiologischen Methoden mit 97–100%iger Sicherheit möglich. Bei kleineren Genen (in der Größe von einigen Kilobasen), wie z. B. dem Faktor IX, dem Antithrombin III, dem Protein C oder dem Protein S Gen, wird die Mutation beim Erkrankten durch Sequenzanalyse der DNA festgestellt. In der Folge können Familienangehörige untersucht und die Mutation nachgewiesen werden. Bei großen Genen, wie dem Faktor VIII oder dem von Willebrand Faktor Gen ist ein direkter Nachweis der Mutation derzeit nicht möglich. Dort müssen sogenannte „Vererbungsanalysen“ innerhalb einer Familie angewandt werden.

Auf beide Untersuchungsstrategien wird im Vortrag eingegangen werden.

## Evaluierung eines Farblatextestes zur Schnelldiagnostik von Salmonellen aus Stuhlproben

A. Margull<sup>1</sup>, P. Schulz<sup>1</sup>, D. Sandow<sup>1</sup>, Cornelia Seehaus-Aatz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laborärztliche Gemeinschaftspraxis Ludwigsburg

<sup>2</sup> Murex Diagnostica GmbH

In Deutschland wurde seit 1986 eine deutliche Zunahme von Salmonella-Enteritiden verzeichnet (1, 2). Die derzeitige Methode zur Isolierung und Charakterisierung von Salmonellen benötigt einen Zeitaufwand von mindestens 48 Stunden und eine Reihe von Selektivmedien sowie biochemischen und immunologischen Tests. Eine Verkürzung dieses diagnostisch leeren Intervalls ist erforderlich, um durch die frühzeitige Erkennung von Infektionsquellen und die zügige Einleitung hygienischer Überwachungsmaßnahmen eine Ausbreitung der Salmonellosen zu begrenzen.

Der Wellcolex Colour Salmonella (WLS) stellt ein schnelldiagnostisches Verfahren zum Nachweis der Salmonella-Serogruppen A, B, C, D, E/G und des Vi-Antigens dar. In der vorliegenden Studie wurde der WLS mit Material direkt aus der Anreicherungsbouillon von 2423 Stuhlproben durchgeführt und die nach 24 Stunden erhaltenen Ergebnisse mit denen der kulturellen Standardmethode verglichen. Im Vergleich zum üblichen Kulturverfahren zeigte der WLS eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 99,8%.

Schlusfolgernd erwies sich der WLS als eine zeitsparende und sichere Methode zum Screening der Anreicherungsbouillon auf Salmonellen. Weiterführende kulturelle, biochemische und serologische Untersuchungen müssen allerdings einen positiven Befund bestätigen.

### Schrifttum:

1. Rasch, G. (1992): Bundesgesundhbl. 7, 350–352.
2. Hartung, M. (1991): Bundesgesundhbl. 12, 555.

## New Automated Chemiluminescent Immunoassay For Free Thyroxine

G. Markowitz, W. Gehrke, R. Schlett, M. Mack, L. Reum  
Byk-Sangtec Diagnostica GmbH & Co. KG,  
D-6057 Dietzenbach 2, Germany

A new coated tube assay for the determination of free thyroxine in human serum was developed using the SPALT technology (So-

lid Phase Antigen Linked Technology) utilizing well proven isoluminol labelled monoclonal antibody and antigen coated tubes. The new test is fast, simple and reliable and has been designed to run manually and on the LIA-mat S300 an open fully automated system for coated tube immunoassays, respectively.

The test needs two pipettings, with sample volume of 50 µl. Standards are covering a range up to 10 ng/dl. Incubation time is 1 hour with shaking. Within assay cv's are typically below 5%, sensitivity is far below 0.1 ng/dl. Measured patient values are reliable reflecting the thyroid status. Normal range is between 0.6 and 1.8 ng/dl, sera from pregnant women are measured in the lower normal range. Values are in close relation to results with reference methods like symmetric dialysis or the SPAC-ET FT4 kit a well established method for the reliable determination of free thyroxine. The new LIA-mat FT4 is not influenced by abnormal binding proteins. In contrast to compared analog tracer methods adding of albumin is not increasing the measured values. Spiking with Thyroxine Binding Globulin yields the expected decrease of FT4 concentration. With increasing concentrations of oleic acid higher values are obtained. Predilution of patient samples up to 1:100 gave FT4 concentrations deviating not more than 80% from undiluted sample values. All results are in good correlation with our in-house reference method SPAC-ET FT4 (correlation coefficient 0.97) revealing the new LIA-mat FT4 providing a reliable, rapid and convenient tool for the clinical staff in routine use.

## Analytical performance of the selective multianalyser Olympus AU 5200

H. Mayer, C. Luley, M. Behnke, H. Wieland  
Abteilung für Klinische Chemie, Universitätsklinik  
der Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg, Germany  
Hugstetter Str. 44, 7800 Freiburg i. Breisgau

The analytical performance of the selective, automatic multianalyser Olympus AU 5200 was tested over three months and assessed for practicability for another six months. Twenty-two analytes including electrolytes, substrates and enzymes were tested and compared to the Olympus AU 5200 analyser. A Hitachi 747 analyser was also included in this survey in order to obtain correlation data for ISE measurements. The evaluation followed the ECCLS guidelines, the results can be summarized as follows:

1. The imprecision data expressed as median CV values were found below 2% in series for 21 parameters, and for 19 parameters below 3% from day to day. Creatinine measured with the kinetic Jaffe method obtained a median CV value of 4% in series, creatine phosphokinase showed the worst imprecision from day to day with a CV value of 9%. Slightly better precision values for the majority of all tests were found on the Olympus AU 5200 than on the AU 5000 analyser.
2. The recovery of the assigned values in 32 commercial control sera was between 95% and 105% for 14 tests. Five of the remaining tests yielded recoveries with deviations between 5% and 10%, deviations above 10% showed albumine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and creatine phosphokinase. The accuracy of most test parameters was again slightly better on the AU 5200 analyser than on the comparison instrument.
3. The range of linearity of the tested methods in general covers the range stated by the manufacturers.
4. No sample carry-over was detected, reagent carry-over is impossible on this instrument due to construction principles.
5. Most parameters tested yielded close correlation to those on the comparison instrument. Amylase measurements on both analysers correlated well but are not comparable without data correction.
6. No drift effects were observed over a period of 9 hours.
7. The ion-selective-electrode unit showed very good performance regarding sample throughput, precision and stability over time.

8. The whole system showed good practicability with respect to patient sample and reagent handling, a short training period of technicians, ease of system software, maintainance, a robust bar-code reader and a flexible host communication procedure.

## Genetisch bedingte Spurenmittel-Krankheiten

Dieter Meißner

Städtisches Klinikum Dresden-Friedrichstadt  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Genetische Molekularkrankheiten, die durch genetischen Polymorphismus oder genetische Molekulardefekte hervorgerufen werden, können zu Spurenmittel-Krankheiten führen, da fast alle Teilschritte des Spurenmittelmetabolismus an das Vorhandensein von Eiweißkörpern oder eiweißähnlichen Substanzen gebunden sind. Dementsprechend ist die Auswirkung genetischer Mutationen oder Defekte auf Spurenmittel außerordentlich vielgestaltig und kann sowohl deren biochemische Verfügbarkeit, Absorption, Transport, Speicherung und Ausscheidung als auch deren Verteilung im Organismus oder biochemische Funktion betreffen. Ebenso zahlreich und verschiedenartig sind die Krankheitsbilder, die aus diesen Störungen resultieren. Charakteristische Beispiele werden für die Elemente Eisen, Zink, Kupfer, Kobalt und Molybdän besprochen.

## Stabilität des Doppelt-Monoklonalen Tandem®-PSA Assays und dessen klinische Bedeutung

M. Meyer, C. Darte

Hybritech Europe SA, Liege, Belgium

Der Einsatz von monoklonalen Antikörpern für die PSA-Bestimmung bietet die besten Voraussetzungen für eine genaue Langzeitüberwachung von Patienten mit Prostatakrebs.

Tumormarker-Teste mit zwei monoklonalen Antikörpern bieten verbesserte Spezifität und die Stabilität von Charge zu Charge, die zur Überwachung mit Tumormarkern notwendig ist.

Langzeit- und Charge-zu-Charge Stabilität des Hybritech Tandem®-R PSA Tests mit zwei monoklonalen Antikörpern ist durch prospektive Messungen von PSA-Werten von Januar 1989 bis März 1992 gezeigt worden. Fünf kommerzielle Kontrollen mit Konzentrationen im Bereich von 0 bis 7 ng/ml wurden gemessen. Der Mittelwert, Gesamtzahl der gemessenen Proben und der Variationskoeffizient (%VK) wurde bestimmt. Jede der kommerziellen Kontrollen wurde über den Zeitraum von 1989 bis 1992 mit allen 522 produzierten Chargen des Tandem-R PSA getestet.

Die durchschnittlichen VK für die PSA-R Konzentrationen lagen zwischen 0,9% und 3,5%. Der VK der PSA-R Messungen der 0,7 ng/ml Kontrolle über zwei Jahre betrug 3,5%.

Diese Daten belegen die Stabilität der Hybritech Tandem PSA Teste über mehrere Jahre. Dadurch hat der Kliniker Gewißheit, daß Änderungen der PSA Konzentration durch den Tumor und nicht durch Testvariabilitäten verursacht werden. Der Einsatz von zwei monoklonalen Antikörpern im Tandem PSA Test bietet außergewöhnliche Charge-zu-Charge Stabilität über einen großen Zeitraum. Dies ist bei den langen Zeiträumen, über die Patienten mit Prostatakrebs beobachtet werden, essentiell.

## Nachweis produktiver Cytomegalievirus (CMV) Infektionen durch RNA-Amplifikation

T. Meyer, D. Keeser, R. Arndt

Labor Dr. Keeser/Prof. Arndt und Partner, Hamburg

Aufgrund der Persistenz viraler DNA nach primärer CMV Infektion in peripheren Blutleukozyten (PBL) stellt der Nachweis von CMV DNA in diesen Zellen nicht unbedingt eine produktive Infektion dar. Da die Transkription der viralen DNA bei nicht produktiven Infektionen auf die „immediate early“ Gene beschränkt ist, haben wir einen PCR Assay entwickelt, um die mRNA des „late“ Gens UL 99 nachzuweisen, das für ein 28 kd Protein kodiert. Die Differenzierung von DNA und RNA abgeleiteten PCR Produkten erfolgt durch Analyse der isolierten Nukleinsäuren in drei Ansätzen: 1. Amplifikation nach DNase Behandlung und cDNA Synthese, 2. nur nach DNase Behandlung und 3. ohne Vorbehandlung. Bei seropositiven Gesunden konnten in keinem Fall RNA abgeleitete PCR Produkte nachgewiesen werden, was auf die Spezifität des Tests hinweist. Dagegen konnte in 10 von 11 Blutproben nierentransplantierten Patienten UL99-mRNA nachgewiesen werden bei denen eine aktive CMV Infektion durch den Nachweis von pp65 Antigen in Granulozyten und CMV DNA im Serum diagnostiziert wurde. Da bei 2 Patienten der RNA Nachweis zuerst negativ wurde, scheint die RNA PCR Analyse geeignet, um bei einer antiviralen Therapie die Beendigung der Virusreplikation möglichst früh zu erkennen.

## VDGH: Struktur, Aufgaben, Industriedaten, Aktivitäten

Dierk Meyer-Lürßen

VDGH, Münchener Straße 49, 6000 Frankfurt am Main

Zielsetzung des VDGH ist die Interessenwahrnehmung der in Deutschland tätigen Diagnostica-Industrie. Dabei hat er es sich zur Aufgabe gemacht, partnerschaftlich mit allen an der Labordiagnostik interessierten Gremien/Organisationen zusammenzuarbeiten und ihnen als kompetenter Ansprechpartner zur Verfügung zu stehen. Der VDGH wird dabei berücksichtigen, daß im Gesundheitssektor immer der Patient im Mittelpunkt steht.

Die wirtschaftliche Bedeutung der Diagnostica-Industrie ist, trotz ihres relativ geringen Umsatzvolumens, nicht unerheblich. Deutsche Firmen haben am Weltmarkt, der 1990 circa 22 Mrd. DM betrug, ungefähr 25% Anteil. Sie verkauft also, überwiegend im Ausland, für 5,5 Mrd. DM Diagnostica.

Da die Bedeutung der Labordiagnostik für die Gesundheit und das wirtschaftliche Einsparpotential bei ihrem richtigen Einsatz nur unzureichend bekannt sind, informiert der VDGH die Öffentlichkeit hierüber. Durch Fachaufklärung der Gesundheitspolitiker sowie der in diesem Sektor tätigen Mitarbeiter in Ministerien und Behörden sowie Selbstverwaltungskörperschaften und der Medizinjournalisten wird der medizinische Nutzen herausgestellt und versucht, die bisher ganz überwiegend den monetären Aspekt in den Mittelpunkt stellende Diskussion auf eine breitere Basis zu stellen.

## Folsäuren bei Epilepsie und Depression

Andrea Michelsen<sup>1</sup>, Walter Fröscher<sup>2</sup>, Manfred Wolfersdorf<sup>3</sup>,  
Martina Laage<sup>2</sup>, Gerald Steinbach<sup>1</sup> und Volker Maier<sup>1</sup>  
Abt. Klinische Chemie<sup>1</sup>, Neurologie<sup>2</sup>, Psychiatrie<sup>3</sup>,  
Universität Ulm

Es wird vermutet, daß eine Verbindung besteht zwischen den Parametern von psychiatrischen Diagnosen und erniedrigten Folsäure-Werten. Die psychische Situation kann möglicherweise

durch die Gabe von Folsäure verbessert werden. Bei Patienten mit Epilepsie (alle Typen, jeder Typ des Syndroms) und Depressionen (IDC 9, 296,1, etc.) und als Kontrollgruppe Patienten mit Bandscheibenvorfällen wurde die Folsäure mit Hilfe des Magic® lite folate assay-Systems von CIBA-CORNING gemessen (Normalwerte im Serum: 7,61–25,0 nmol/l, in Erythrozyten: 271,8–973,95 nmol/l). Als bemerkenswertes Ergebnis von 100 Patienten aus jeder Gruppe ergab sich eine erniedrigte Folsäurekonzentration bei 15% der Epileptiker und weitgehend Normalwerte bei depressiven Patienten. Dies steht im Gegensatz zu früheren Berichten der Arbeitsgruppe von Reynolds, London, die bei vielen depressiven Patienten erniedrigte Folsäurespiegel fand. Diese Werte wurden allerdings mit Hilfe eines mikrobiologischen Assays ermittelt: Bis dato ist nicht völlig geklärt, ob die mikrobiologischen und immunologischen Meßverfahren völlig übereinstimmen oder ob die Ergebnisse dadurch zu erklären sind, daß inzwischen Vitaminzusätze und damit auch Folsäuresubstitutionen der Nahrung in Deutschland gängig sind.

## Der Süßstoff Acesulfam K induziert in hohen Dosen beim Menschen die Sekretion von Pankreatischem Polypeptid

Ursula Mirastschijski, Gerald Steinbach, Sabine Bertleff, Bernhard Glasbrenner, Volker Maier  
Abt. Innere Medizin I, Universität Ulm

Acesulfam K, ein künstlicher Süßstoff, der nicht metabolisiert wird, ist ungefähr 300mal süßer als Saccharose und wird deshalb derzeit in der Nahrungsmittelindustrie häufig eingesetzt. In hohen Dosen appliziert (150 mg/kg/K. G.), kann er eine cephalische Phase der Insulinsekretion induzieren. Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate sind starke Stimulatoren für die Sekretion des Pankreatischen Polypeptides: Eine Testperson erhielt p. o.: 630 mg Acesulfam K, 415 mg Saccharin, 24 g Sorbit + 630 mg Acesulfam K, 14 g Xylit + 630 mg Acesulfam K, 24 g Sorbit + 230 mg KCl und 14 g Xylit + 230 mg KCl. Nach Applikation von Acesulfam K oder Kaliumchlorid änderten sich die Glukagonspiegel nicht, während Pankreatisches Polypeptid von 60 auf 200 pg/ml nach 10 Min. anstieg. Saccharin induzierte eine ähnliche Hormonsekretion, während durch Sorbit das Pankreatische Polypeptid bis auf 280 pg/ml anstieg. Es ist jedoch völlig offen, ob den Sekretionsraten von Insulin und Pankreatischem Polypeptid, induziert durch hohe Dosen von Acesulfam K, eine physiologische Bedeutung zukommt.

## INR-TPZ zur Kontrolle der Oraln Antikoagulation (OAK) – Eine Klinische Notwendigkeit

W. Müller-Beißenhirtz  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Bürgerhospital, Tunzhofer Str. 14–16, 7000 Stuttgart

1977 bereits wurde die INR als Maßeinheit eingeführt und spätestens seit 1985 besteht eine WHO-Empfehlung zur Standardisierung der Therapie-Kontrolle der OAK. Die Verwendung einer international normalisierten Gerinnungszeitverlängerung (INR) als Ergebnisdokumentation soll dabei die unterschiedliche Sensitivität der zahlreichen nicht standardisierten biologischen Thromboplastinpräparate (TP) für den therapeutischen Gerinnungsdefekt nivellieren. Durch Potenzierung der gemessenen TPZ-Verlängerung (R) mit einem TP-chargenspez. ISI wird diese auf die Verlängerung umgerechnet, die mit dem WHO-Standard-TP erzielt wäre. Die Verwendung der INR zur Therapieführung der OAK ist eine klinische Notwendigkeit mit großer, ärztlich-ethisch zu verantwortender Bedeutung für die Patientensicherheit.

An Fallbeispielen werden Gefährlichkeit und Unsicherheit einer nicht standardisierten OAK verdeutlicht. Es ist unverständlich mit welcher Leichtfertigkeit diese international bewährte Standardisierung bei uns bisher unverstanden geblieben ist bzw. abgelehnt und die geschilderte Gefährlichkeit für die Patienten in Kauf genommen wird. Es sollte die Einsicht verlangt werden können:

- daß nur mit der INR alle TP den gleichen therapeutischen Bereich haben – nicht dagegen mit dem sog. Quick-Wert (den dabei häufig zitierten pauschalen Bereich von 15–25% gibt es nicht).
- daß nur mit der INR anerkannte, indikationsabhängige Therapieziele erreicht und überwacht werden können, zumal sich in den letzten Jahren neue Indikationen einer breiteren Anwendung der OAK mit sehr unterschiedlichen Intensitäten abzeichnen.
- daß damit die INR nur der Patientensicherheit und nicht einer Expertenbefriedigung dient.

Praktisch ist es notwendig, die Thromboplastinzeiten (TPZ) von der Indikation über den Laborauftrag bis zur Dokumentation und Interpretation prinzipiell auf zwei Arten neu zu definieren:

1. Für die Therapie-Kontrolle der OAK unter der Bezeichnung INR-TPZ (oder INR-Test) mit Angabe der INR (zusätzlich evtl. in Prozent unter Angabe des TP).
2. Für die Diagnostik unter der Bezeichnung TPZ (Quick) Angaben in Prozent wie bisher.

Bei der OAK ist die INR konsequent für jeden Patienten anzuwenden, ein therapeutisches Intensitätsziel ist anzugeben, die Dokumentation sollte eine Qualitätskontrolle der Therapieführung erleichtern. Dieses ist in allen Laboratorien, Kliniken und Arztpraxen heute schon möglich. Die Diagnostika-Industrie sollte ihrerseits zügig weitere Verbesserungen der Standardisierung vornehmen durch Einführung von Standard- und Kontrollplasmen zur ISI und INR-Ermittlung.

## Postoperativer Verlauf verschiedener Marker einer aktivierten Haemostase

W. Müller-Beißenhirtz, H. Strosche\*, E. Spanuth\*\*, G. Hiendlmayer, G. Haaf  
Bürgerhospital Stuttgart, Inst. f. Klin. Chemie u. Labormed.  
\* Chir. Klinik  
\*\* Boehringer Mannheim GmbH

Pilotstudie mit folgender Fragestellung: Kann in der postoperativen Thromboseprophylaxe ein Monitoring mit Aktivierungsmarkern der Blutgerinnung die Entwicklung einer Thrombose (Präthromb. Stadium) so rechtzeitig anzeigen, daß durch Therapieanpassung eine manifeste Thrombose verhindert werden kann? Dafür wurden bei 54 Patienten mit erhöhtem Thromboserisiko und standardmäßiger Thromboseprophylaxe Blutproben präop. und bis zu 10 Tagen postop. entnommen und Plasma zur Bestimmung folgender Parameter eingefroren: D-Dimer Spaltprodukte, lösliches Fibrin/Fibrinmonomere (FM) mit drei Verfahren, Antithrombin III-Komplexe und Prothrombin Spaltprodukt F1 + 2. Sofort wurden in jeder Probe die PTT und der FM-Agglutinationstest nach Largo bestimmt. Von der Auswertung ausgeschlossen wurden Pat. mit einer präop. festgestellten und behandelten Gerinnungsaktivierung sowie Pat. mit einem Wechsel in der Antikoagulationsprophylaxe und Pat., die verstarben. 46 Pat. kamen in die Auswertung und wurden in drei Diagnosegruppen eingeteilt: I. (n = 15) Hüftgelenkendoprothesen, II. (n = 21) Frakturen der unteren Extremitäten mit osteosynthetischer Versorgung, III. (n = 10) große abdominelle Operationen (5 Malignome). Es wurde keine routinemäßige Sonographie oder radiologische Diagnostik zum Ausschluß von Thrombosen durchgeführt.

Die Ergebnisse werden als Medianverläufe für jeden Parameter in den drei Diagnosegruppen dargestellt. Folgende Auffälligkeiten können hervorgehoben werden:

- Die drei Diagnosegruppen unterscheiden sich. Der elektive Eingriff einer TEP der Hüfte zeigt die geringste Aktivierung.

- Eine aktivierte Haemostase ist systemisch bis zum 10. postoperativen Tag ansteigend nachweisbar.
- am 4./5. postoperativen Tag zeigen alle Parameter eine besonders hohe Aktivierung an.
- Es lassen sich postoperative „Normalverläufe“ darstellen, von denen sich Verläufe mit Patienten mit Komplikationen charakteristisch unterscheiden lassen. Damit kann aus dieser orientierenden Studie gefolgert werden: Eine Thromboseentwicklung als postoperative Komplikation läßt sich durch Bestimmung ausgewählter Marker (FM, D-Dimer, F 1 + 2) erkennen. Weitere, größer angelegte Studien erscheinen erfolgversprechend und von erheblicher klinischer Bedeutung.

## Hereditärer Protein-S-Mangel: Erstdiagnose bei einem 75jährigen Patienten und seiner Enkelin mit anschließender familiärer Abklärung

M. Neubauer (1), H. Ramschak (2)

(1) Krankenhaus d. Barmherzigen Brüder Graz-Eggenberg

(2) Med. Univ.-Klinik Graz

Bei Auftreten thrombembolischer Ereignisse im Alter von unter 40 bis 45 Jahren wird die funktionelle und immunologische Bestimmung verschiedener Inhibitoren der Blutgerinnung – in erster Linie Antithrombin-3, Protein-C, Protein-S – empfohlen. Wir untersuchten zehn Familienmitglieder aus drei Generationen, wobei sich beim 75jährigen Großvater und bei seiner 22jährigen Enkelin nahezu gleichzeitig eine thrombophile Diathese manifestierte; bei beiden betroffenen Patienten wurde ein Protein-S-Mangel (Typ I) diagnostiziert. Anamnestische Daten ergaben, daß die Eltern des Großvaters vor dem 50. Lebensjahr an Pulmonalembolien verstorben waren. In der dritten Generation hatte eine Tochter des Großvaters als Mutter der erwähnten 22jährigen Patientin bei deren Geburt eine Bein- und Beckenvenenthrombose erlitten. Eine Schwester des Großvaters hatte vier Kinder, wovon drei einen Protein-S-Mangel aufwiesen, aber nur eines bisher thrombembolische Komplikationen aufwies. In der vierten Generation findet sich bisher nur die eine beschriebene erkrankte Patientin, vier weitere Mitglieder zweier Familien sind bisher asymptomatisch, zwei jedoch mit einer niedrigen Protein-S-Aktivität. Im Falle rezidivierender thrombembolischer Ereignisse sollte auch bei älteren Patienten an die Erstmanifestation eines Inhibitordefektes gedacht werden.

## BeriLux® und RIA-gnost® PSA coated tube-Assays zur Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens (PSA)

S. Neuenhofer<sup>1</sup>, G. K. Schnorr<sup>1</sup>, R. Käsmarker<sup>1</sup>, A. Kraft<sup>1</sup>,  
G. Oremek<sup>2</sup>, P. Merle<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Hoechst AG, D-6230 Frankfurt/Main 80

<sup>2</sup> Klinikum der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität,  
D-6000 Frankfurt/Main 70

<sup>3</sup> Behringwerke AG, 3550 Marburg/Lahn

Zwei immunometrische (Sandwich-) Assays zur Bestimmung von PSA werden beschrieben.

Der immunoluminometrische BeriLux®-Assay und der immunoradiometrische RIA-gnost®-Assay verwenden Antikörper, die gleichermaßen das frei vorliegende PSA sowie den Komplex aus PSA und  $\alpha_1$ -Antichymotrypsin erkennen. Das Probenvolumen beträgt 20  $\mu$ l (BeriLux®) bzw. 50  $\mu$ l (RIA-gnost®). Nach der Inkubationszeit von 60 Minuten (ILMA) bzw. 30 + 30 Minuten (IRMA) ist der Gleichgewichtszustand erreicht; demzufolge treten keine Kopfschwanz-Effekte auf. Trotz 1-Schritt-Durchführung im Falle des

ILMA kann eine High Dose Hook Sicherheit von 10.000 ng PSA/ml garantiert werden. Die analytische Sensitivität (2 s-Bereich) liegt unterhalb 0,1 ng PSA/ml, im Falle von BeriLux® bei 0,03 ng PSA/ml. Das Präzisionsprofil zeigt Intraassay-Werte zwischen 3,5 und 9,5% bzw. 2,4 und 7,6%. Matrixeffekte werden nicht beobachtet. Andere Proteine wie AFP, CEA, hCG, PAP, Ferritin, Prolactin und Lactalbumin zeigen keine Kreuzreaktivität.

Das im ILMA eingesetzte luminogene Label stellt ein Acridinium-Derivat dar, das sich durch eine besonders hohe Stabilität auszeichnet. Die Lichtemission wird durch Injektion von zwei gebrauchsfertigen Reagenzien im Luminometer ausgelöst; die Meßzeit beträgt 1 Sekunde pro Probe.

## Testung von Immunglobulinpräparaten auf Anti-HCV

M. Nübling, H. Willkommen, J. Löwer  
Paul-Ehrlich-Institut, 6070 Langen

Immunglobulinpräparate werden aus humanem Plasma hergestellt. Da humanes Plasma infektiöse Viren enthalten kann, ist das Screenen der Plasmen vorgeschrieben, und es sind die Plasmen auszusondern, die u. a. HBsAG, anti-HIV 1 und 2 sowie anti-HCV enthalten. Aufgrund nationaler und europäischer Regelungen dürfen seit dem 1. 1. 1993 nur noch Immunglobulinpräparate auf den Markt gebracht werden, die aus anti-HCV-freien Plasmen hergestellt worden sind.

Es entstand nun die Frage, ob die Einhaltung dieser Regelung durch die Testung der Immunglobulinpräparate überprüft werden kann. Wir untersuchten mehrere Chargen von insgesamt 19 Immunglobulinpräparaten verschiedener Firmen mit 4 in Deutschland zugelassenen Anti-HCV-Testen (Ortho HCV ELISA Test System, 2. Gen., Abbott HCV EIA 2.0, Wellcozyme anti-HCV und Chiron RIBA HCV Testsystem, second generation assay). Für einige Präparate war die Aussonderung anti-HCV-positiver Ausgangsplasmen eindeutig nachweisbar. Andere Präparate zeigten dagegen bei Testung mit verschiedenen Testsystemen diskrepante Ergebnisse. Der Einfluß einiger Parameter (Proteinkonzentration, pH-Wert, Zusammensetzung des Verdünnungspuffers) auf die Ergebnisse in den verschiedenen Testen wurde untersucht.

## Diagnostik von Autoantikörpern gegen Zellkerne (ANA) mit der Substrat- Kombination HEP-2-Zellen/Primatenleber

S. Olbrich, W. Schlumberger, E. Müller-Kunert, W., K. Stöcker  
EUROIMMUN GmbH, Groß Grönau bei Lübeck

**Fragestellung:** Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) werden vorwiegend durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmt, in der Regel mit humanen Epithelzellen (HEP-2-Zellen) oder mit Gefrierschnitten der Leber als Testpräparaten. Mit jedem einzelnen Substrat erfaßt man allerdings nur ein begrenztes Spektrum der relevanten Antikörper. Wir haben geprüft, ob man durch eine Kombination beider Substrate die diagnostische Sicherheit steigern kann.

**Methoden:** Insgesamt wurden 600 Seren mit der indirekten Immunfluoreszenz analysiert. Die verwendeten Objektträger enthielten zwei BIOCHIPS je Reaktionsfeld, mit Gefrierschnitten der Primatenleber und mit HEP-2-Zellen. Bei positiven Resultaten wurden Antikörper gegen mehrere definierte Zellkern-Antigene monospezifisch durch einzelne ELISA identifiziert.

**Ergebnisse:** Sechundsiebzig der 600 Seren ergaben mit Leber und HEP-2-Zellen übereinstimmend einen positiven und 480

einen negativen ANA-Befund. Ein Drittel der positiven Resultate zeigte eine Diskrepanz: 37 ANA waren nur mit einem der beiden Substrate nachweisbar oder die Titer differierten um den Faktor 10 und darüber. Mit HEp-2-Zellen waren mehr Antikörper und meist höhere Titer festzustellen, bei den Gewebeschnitten ließen sich negative Befunde eindeutiger ablesen. Antikörper gegen RNP, Sm, DNS, Histone und Nuclear Dots reagierten mit HEp-2-Zellen und Leber gleich stark, während Antikörper gegen SS-A, SS-B, Zentromere und Cyclin auf Lebergewebe eine viel schwächere Fluoreszenz zeigten. ANA der Immunglobulin-Klasse IgM reagierten bei der Leber mit allen Zellkernen, bei den HEp-2-Zellen nur mit den mitotischen Zellen.

**Diskussion:** Beide Substrate haben Vor- und Nachteile: HEp-2-Zellen enthalten humane Antigene, sie sind als Zellkultur-Präparat leichter standardisierbar, ihre (größeren) Kerne erlauben eine genauere Antikörper-Differenzierung aufgrund des Fluoreszenzmusters und sie weisen mehr Mitosen auf. Bei der Leber lassen sich negative Resultate oft sicherer erkennen, sie eignet sich daher besser zur Titration. Mit Lebergewebe kann man außerdem zusätzliche Antikörper identifizieren, etwa gegen Leber-Niere-Mikrosomen, lösliches Leber-Protein, Endomysium und Granulozyten (p-ANCA, c-ANCA; Granulozyten in den Sinusoiden), deren Kenntnis den Klinikern zu einer unvermuteten Diagnose verhelfen kann! Durch eine Beurteilung des Fluoreszenzmusters und durch einen Vergleich der Fluoreszenz beider Substrate miteinander kann man Zellkern-Antikörper bereits vordifferenzieren. Folgerung: Die parallele Untersuchung mit beiden Substraten, HEp-2-Zellen und Gefrierschnitten der Primatenleber, ermöglicht eine qualifizierte Diagnose der Zellkern-Antikörper.

## Proteinbezug des Fructosamins führt zu Fehleinschätzung der Blutzuckerkontrolle

Bernhard Ölgemöller, Klaus Gerbitz und Erwin Schleicher  
Medizinisch-diagnostisches Institut, Fährichstr. 70,  
8000 München 80 und Institut für Klinische Chemie  
und Diabetesforschung, Kölner Platz 1, 8000 München 40

Unter der Annahme einer relativ konstanten Halbwertszeit des Hämoglobins werden HbA<sub>1c</sub> und HbA<sub>1c</sub> auf die Hb-Konzentration bezogen. Der Nutzen eines Proteinbezugs des Serumfructosamins hingegen wird kontrovers diskutiert. Theoretisch sollte die Fructosaminkonzentration der Albuminkonzentration und -Halbwertszeit sowie der Glucosekonzentration proportional sein. Um die Ursachen der berichteten Varianz des Fructosamins zu untersuchen, wurden 63 nichtdiabetische Patienten mit einem HbA<sub>1c</sub> zwischen 5,1 und 5,9% ausgewählt, die einen vergleichbaren mittleren Blutglucosespiegel aufweisen sollten. Die gemessenen Fructosaminkonzentrationen (Frc) korrelierten sehr schlecht mit der Albuminkonzentration ( $r = 0,348$ ). Berücksichtigt man die Abhängigkeit der individuellen Halbwertszeit des Albumins vom Serumalbuminspiegel ( $T_{1/2} = -\log \text{Alb}$ ) [1], so ergibt sich:  $\log(\text{Frc}/\text{Alb}) = \text{konst.} - k(\text{Alb})$ . Der Logarithmus des spezifischen Fructosamins  $\text{Frc}/\text{Alb}$  korreliert nun gut mit dem Serumalbuminspiegel ( $r = -0,842$ ). Ein niedriger Albuminspiegel führt also zu einer verlängerten  $T_{1/2}$  und damit zu einem höheren spezifischen Fructosamin und vice versa. Ein Proteinbezug des Fructosamins führt so zur Fehleinschätzung der Blutzuckerkontrolle.

Schrifttum:

[1] Schulze HE Heremans JE: Molecular biology of human proteins. Amsterdam, New York Elsevier 1966. 450-517.

## Neopterin ein biochemischer Marker zur Erfassung von Infektionen?

G. M. Oremek, U. B. Seiffert und M. Zirker  
Zentrallabor – ZIM, Universitätsklinikum, Theodor-Stern-Kai 7,  
6000 Frankfurt/Main

Bei 160 Patienten mit infektiösen Komplikationen im Rahmen der stationären Behandlung wurde das Neopterin im Serum bestimmt. Zusätzlich wurden folgende Laborparameter bestimmt: CRP, Elastase und  $\beta_2$ -Mikroglobulin.

Die Normwerte für das Neopterin wurden an 100 gesunden Probanden ermittelt. Die Neopterinbestimmung wurde mit einem kompetitiven Enzym-Immunoassay am MIOS-Analyser durchgeführt. Die Stabilität von Neopterin wurde bei unterschiedlichen Lagertemperaturen überprüft.

Für die gesunden Probanden ermittelten wir einen Normbereich der Neopterinkonzentration im Serum, der zwischen 1,7 nmol/l und 13,5 nmol/l lag. Neopterin ist eine lichtempfindliche Substanz. Unter Lichtausschluß bei +4°C ist das Neopterin 14 Tage lang stabil. Ein Neopterinanstieg ging bei 69,5% der Patienten den klinischen Symptomen voraus. Bei 11,3% der Patienten kam es zu einem Neopterinanstieg ohne faßbares klinisches Korrelat.

Die Relevanz der Neopterinmessung in der Diagnostik wird weiter bearbeitet.

## Bestimmung der PMN-Elastase bei Patienten der chirurgischen Intensivstation

G. M. Oremek, J. Windolf, U. B. Seiffert und M. Zirker  
Zentrallabor – ZIM, Zentrum der Chirurgie, Universitätsklinikum, Theodor-Stern-Kai 7, 6000 Frankfurt/Main

Bei 2000 Patienten der chirurgischen Intensivstation im Zeitraum von Januar 1991 bis Januar 1993 mit verschiedenen Erkrankungen wurde die PMN-Elastase bestimmt.

Die Bestimmung der PMN-Elastase erfolgte mit einem Immunoassay der IMAC-Technik verwendet (klinisch-chemischer Analyser RA-1000). Die Normwerte wurden an 100 gesunden Probanden ermittelt.

Zur Untersuchung wird EDTA bzw. Citratplasma verwendet. Das Plasma muß binnen 2 Stunden nach Blutentnahme gewonnen werden.

Für das gesunde Kollektiv wurde ein Normbereich von  $22 \pm 10 \mu\text{g/l}$  ermittelt. Die PMN-Elastase ist ein sehr stabiler Parameter, der bei +4°C 4 Wochen stabil ist, bei Raumtemperatur 1 Woche. Diese Stabilität gilt nur beim Normkollektiv.

PMN-Elastase ist ein diagnostischer Parameter bei entzündlichen Prozessen und deren Verlauf.

## Mammary Serum Antigen (MSA) ein Tumormarker für Mammakarzinom?

G. M. Oremek, M. Stegmüller, A. Verring und U. B. Seiffert  
Zentrallabor – ZIM, Zentrum der Frauenheilkunde, Universitätsklinikum, Theodor-Stern-Kai 7, 6000 Frankfurt/Main

Wir haben bei 50 Patienten mit einem Mammakarzinom in verschiedenen Stadien das MSA bestimmt. Die Normwerte ermittelten wir bei 100 gesunden Probanden (80 Frauen und 20 Männer) im Alter von 18 bis 65 Jahren.

Die MSA Bestimmung wurde mit einem Inhibitions-Elisa mittels monoklonaler Antikörper durchgeführt. Die Stabilität von MSA wurde bei +25°C, +4°C und -20°C untersucht. Zusätzlich sollte

die Relevanz in Diagnostik und Prognose bei Mammakarzinomen festgestellt werden. Lobuläre und mucinöse Karzinome sezernieren MSA in das Serum.

Bei 92% der Probanden liegt der Normwert unter 30 U/l, bei 8% zwischen 30 U/l und 40 U/l. MSA ist bei +25°C 12 Stunden lang stabil, bei +4°C zwei Tage, bei -20°C bis 4 Wochen.

Für Mammakarzinome ist das MSA als Diagnostikum anzusehen, vor allem zur Verlaufskontrolle bei konservativer und operativer Therapie. Vergleichsuntersuchungen bezüglich der Relevanz und Korrelation mit anderen Tumormarkern wie CA 15-3 und MCA werden bearbeitet.

## Umsatzmessungen des Kohlenhydratstoffwechsels

*D. Overkamp, W. Renn, A. Pickert, M. Eggstein  
Medizinische Universitätsklinik, Abt. IV, 7400 Tübingen*

Die Glukosekonzentration im Plasma resultiert aus dem Verhältnis von Glukosezufuhr zu Glukoseelimination. Im postabsorptiven Basalzustand ist die endogene Glukoseproduktion in der Leber die einzige Quelle der Glukosezufuhr, während die Glukoseelimination durch verschiedene Mechanismen erfolgt. Zum einen findet sich eine Partitionierung der Glukoseaufnahme in insulinabhängige und insulinunabhängige Gewebe, zum anderen verläuft die Verstoffwechslung der Glukose intrazellulär auf unterschiedlichen Wegen: die Glycogenbildung steht oxidativem und nicht oxidativem Glukosestoffwechsel gegenüber. Tracermethoden machen es möglich, die Geschwindigkeit des Glukoseumsatzes im Plasma zu bestimmen. Insbesondere der Einsatz des stabilen Kohlenstoffisotops <sup>13</sup>C zur Markierung des Glukosemoleküls erlaubt zusätzlich die quantitative Beurteilung der Glukoseumwandlung in Stoffwechselzwischen- und endprodukte. Die apparativen Voraussetzungen für die Messungen, die analytischen Methoden, und Ergebnisse bei Normalpersonen werden besprochen.

## Hämostaseologische Risikofaktoren der venösen Thrombose

*Ingrid Pabinger  
Med. Klinik I, Abteilung für Hämatologie  
und Hämostaseologie, Währinger Gürtel 18-20, 1090 Wien*

Bei manchen Individuen und Familien kann eine auffällige Neigung zu venösen Thrombosen beobachtet werden. 1965 wurde erstmals ein Zusammenhang zwischen biochemischer Abnormalität (Antithrombin III-Mangel) und Thromboseneigung beschrieben. Weitere Abnormalitäten, die zu einer Thrombophilie führen, sind der Protein C-(PC), der Protein S-(PS) Mangel und die Dysfibrinogenämie. Das Auftreten eines Lupus-Antikoagulans oder maligne Erkrankungen, insbesondere myeloproliferative Syndrome, sind erworbene Risikofaktoren für das Auftreten von venösen Thrombosen.

Die Prävalenz des AT III-, PC-, PS-Mangels und der Dysfibrinogenämie bei Patienten mit venösen Thrombosen beträgt rund 7%. Bei Selektion nach klinischen Kriterien (positive Familienanamnese oder frühes Manifestationsalter) steigt die Prävalenz der Inhibitormängel um ca. das Zweifache. Bei ca. 1% von Patienten mit Thrombosen kann ein Lupus-Antikoagulans gefunden werden.

Es besteht eine bedeutende inter- und intrafamiliäre Heterogenität in bezug auf die Ausprägung der Thromboseneigung bei den einzelnen Individuen. Wesentlich für die Abschätzung des Risikoprofils ist die individuelle und familiäre Vorgeschichte von venösen Thrombosen. Bei therapeutischen Überlegungen sollten daher sowohl Labordaten über die Art der biochemischen Abnorma-

lität als auch Information über die klinische Vorgeschichte vorhanden sein. Eine Langzeitantikoagulationstherapie sollte nur bei Patienten mit rezidivierenden Thrombosen und/oder bei Patienten mit bewiesener biochemischer Abnormalität, die bekannterweise zu Thrombosen führt, eingeleitet werden.

## Einpunktquantifizierung zur Bestimmung von Borrelia-spezifischen IgG-Antikörpern in einem neuen ELISA

*Helmut Peters, Klaus Ruth, Hans-Detlef Dopatka  
Forschungslaboratorien der Behringwerke AG,  
Postfach 1140, W-3550 Marburg/Lahn*

Die Quantifizierung von Anti-Borrelia-IgG-Antikörpern, bei gleichzeitigem Nachweis von IgM-Antikörpern, ist hilfreich bei der Ermittlung des Krankheitsstadiums und bei der serologischen Verlaufskontrolle nach Antibiotika-Therapie. Das Ziel der vorliegenden Studie war die Bewertung einer neuen Methode zur Einpunktquantifizierung von Borrelia-spezifischen IgG im Vergleich zu herkömmlichen Methoden, wie Endpunkttitration oder Referenzkurvenstellung.

Der neue ELISA (Enzygnost® Borreliosis) im Mikrotiter-Format basiert auf dem indirekten Testprinzip und verwendet ein  $\gamma$ -spezifisches POD-Konjugat. Die Festphase ist mit einem Detergenz-Extrakt des europäischen Patientenisolates PKo beschichtet. Zur Reduktion von Unspezifitäten enthält der Probenverdünnungspuffer Ultraschall-Antigen aus Treponema phagedenis.

Die Quantifizierung des Borrelia-spezifischen IgG in menschlichem Serum, Plasma oder Liquor cerebrospinalis erfolgt mittels der „ $\alpha$ -Methode“, welche die optische Dichte (OD) bei einer festgelegten Probenverdünnung (1:231) mit dem Titer (oder mit Einheiten) in folgender Formel verknüpft:

$$\log \text{Titer} = \alpha \cdot \text{OD}^{\beta}$$

$\alpha$  und  $\beta$  sind chargen-spezifische Konstanten. Eine Meßwertkorrektur unter Verwendung eines positiven Referenzserums verbessert die Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge, von Test zu Test und von Labor zu Labor. Im Gegensatz zur Titration erlaubt die stufenlose Quantifizierung eine frühere Beurteilung von Titerbewegungen. Somit liefert die  $\alpha$ -Methode (Dopatka, H.-D. und Giesendorf, B., J. Clin. Lab. Anal. 6: 417-422 (1992)) einen wichtigen Beitrag zur Verbesserung der Standardisierung von serologischen Tests zur Borrelia-Diagnostik.

## Molekularbiologische Diagnostik der HIV-Infektionen

*Harald Petry, Walter Bodemer und Gerhard Hunsmann  
Deutsches Primatenzentrum, Kellnerweg 4, D-3400 Göttingen*

Die hohe Sensitivität der Polymerasekettenreaktion (PCR) erlaubt den Nachweis einer frühen HIV-Infektion, in der mit bisherigen immunologischen und virologischen Verfahren kein Virusnachweis gelingt. Immundefizienzviren sind Retroviren, die ihre DNA in das Erbgut der befallenen Zellen einbauen und dort als Proviren über Jahre persistieren können. In dieser Situation ist kein virales Antigen nachweisbar, unter Umständen auch kein Antikörper, wohl aber das virale Erbmaterial mit der PCR. Durch Sequenzierung der PCR Produkte ist eine schnelle und genaue Typisierung des infizierenden Virus möglich. Da die PCR auch quantifizierbar ist, kann sie Aufschluß über die Virusbelastung des Patienten geben, was zur Therapieüberwachung benutzt werden kann.



## New immunoassays of HCG, MCKMB, TSH, and Beta-2 microglobulin for the Du Pont aca® discrete clinical analyzer

James F. Pierson-Perry, Thomas A. Luhr, Joseph Sielemann  
E. I. du Pont de Nemours and Co., Inc., Medical Products  
Department, Glasgow Site, Wilmington DE 19898, USA

We describe four new diagnostic tests which have been developed on the DuPont aca® discrete clinical analyzer. HCG (human chorionic gonadotropin), MCKMB (mass creatine kinase MB), and TSH (thyroid stimulating hormone) are heterogeneous sandwich immunoassays based on the new DuPont aca® plus immunoassay system. B2M (beta-2 microglobulin) is a homogeneous immunoassay using particle-enhanced immunoturbidimetry.

The HCG, MCKMB, and TSH assays are sensitive two-site enzyme immunoassays. Chromium dioxide magnetic particles provide a solid support for a capture monoclonal antibody. The enzyme conjugate contains an F(ab')<sub>2</sub> detection monoclonal antibody fragment, coupled to beta-galactosidase (HCG and MCKMB) or alkaline phosphatase (TSH). The aca(R) plus automatically performs the sandwich formation and separation steps, then transfers the magnetic particle-analyte-enzyme conjugate complex into an analytical test pack. The aca(R) analyzer quantitates the enzyme moiety of the sandwich through hydrolysis of a chromogenic substrate (HCG and MCKMB) or an amplification cascade based on hydrolysis of synthetic flavin adenine dinucleotide phosphate (TSH). The B2M assay reacts analyte with antibody-coated latex particles in an analytical test pack. The resulting rate of aggregation is proportional to sample concentration.

## The Cobas Core anti-HAV-EIA: Performance of the Cobas Core anti-HAV EIA as highly sensitive „pseudo“-2-step Elisa

J. Piper<sup>1</sup>, B. Satzinger<sup>1</sup>, M. Zauke<sup>1</sup>, G. Wagner<sup>2</sup>, A. Delem<sup>3</sup>, H. Andres<sup>1</sup>, D. Lavanchy<sup>2</sup>, E. D'Hondt<sup>2</sup>, H. Hüdig<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Roche Diagnostic Systems, a Division of Hoffman-La Roche Ltd., Basel Switzerland

<sup>2</sup> Division d'Immunologie et d'Allergie, Centre Hospitalier Universitaire Baudois, Lausanne, Switzerland

<sup>3</sup> SmithKline Beecham Biologicals, Rixensart, Belgium

After immunization of patients with inactivated HAV vaccine the success of vaccination has to be examined by measurement of the patients' anti-HAV antibody response. Some commercially available tests for total anti-HAV antibody screening are not sensitive enough to reveal an early and significant seroconversion. Therefore, it is often necessary to use self-designed tests, which are more sensitive. However, these assay systems often lack convenience. Sometimes they need overnight incubation or, in the case of neutralization assays, virus cultivation has to be done for several days.

To overcome these problems we developed a new competitive one-step solid phase anti-HAV ELISA (Cobas Core Anti-HAV EIA), which can be performed manually or automatically on the Cobas® Core Random Access Immunoanalyzer with a total incubation time of only 75 min and a detection limit at cutoff of < 140 ml U/ml.

Moreover, performed as a „pseudo“-2-step version, wherein sample and solid phase (anti-HAV analyte/HAV-complex bound to polystyrene beads) are preincubated before the anti-HAV-POD conjugate is added, the assay shows an even higher analytical sensitivity at cutoff (5–25 ml U/ml). Nevertheless this test version only lasts 2 hours and 45 min.

The external evaluation of the Cobas Core Anti-HAV EIA with 526 specimens from a hospital laboratory revealed a specificity and sensitivity of 100%. In addition, a quantitative anti-HAV determi-

nation from 995 HAV vaccinated patients was performed with the Cobas Core Anti-HAV EIA in its highly sensitive „pseudo“-2-step test format. Quantitative data correlate well with those generated by a well-established in-house anti-HAV ELISA from SmithKline Beecham.

## Die Bestimmung von Sn im Urin und Bi im Serum

Barbara Pohl, Marius Lange  
VARIAN GmbH, Aisfelderstr. 6, 6100 Darmstadt

Zur Spurenelementbestimmung in humanbiologischem Material wird immer häufiger die Graphitrohrfen-AAS eingesetzt.

Es werden zwei Beispiele aus diesem Bereich vorgestellt: die Bestimmung von Sn im Urin und Bi in Serum.

Für beide Methoden wird die Probenvorbereitung beschrieben und optimierte Temperatur- und Probengeberprogramme vorgestellt.

Die Reproduzierbarkeit und die Anwendungsbereiche werden diskutiert.

## CYFRA 21-1 beim nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom (NSCLC) – Erste prospektive Ergebnisse

S. Poley<sup>1</sup>, H. Dienemann<sup>2</sup>, U. Hascholzner<sup>1</sup>, A. Zimmermann<sup>2</sup>, P. Stieber<sup>1</sup>, K. Hofmann<sup>1</sup>, A. Fateh-Moghadam<sup>1</sup>  
Institut für Klinische Chemie<sup>1</sup> und Chirurgische Klinik<sup>2</sup>,  
Klinikum Großhadern, LMU München

Nach den Ergebnissen einer Pilotstudie (1, 2) ist CYFRA 21-1 ein geeigneter Tumormarker für nicht kleinzellige Lungenkarzinome. Im Rahmen einer prospektiven Multicenterstudie untersuchten wir an 101 gesunden Normalpersonen, 108 Patienten mit benignen Lungenerkrankungen und 69 Patienten zum Zeitpunkt der Primärdiagnose eines Lungenkarzinoms unterschiedlicher Histologie und Stadien das Sensitivitäts-/Spezifitätsprofil von CYFRA 21-1 (ELISA, ES 600, Boehringer) im Vergleich zu NSE (RIA, Pharmacia), CEA (EIA, Imx, Abbott) und SCC (EIA, Imx, Abbott). Außerdem wurden die genannten Tumormarker im Verlauf vergleichend mit den klinischen und apparativ erhobenen Befunden untersucht. Bei einer 95%igen Spezifität gegenüber dem benignen Vergleichskollektiv fanden wir bei Plattenepithelkarzinomen der Lunge (n = 25) eine Sensitivität von 72% für CYFRA 21-1 gegenüber 24% für SCC, 12% für CEA und 28% für NSE, bei nicht kleinzelligen Lungenkarzinomen (n = 63) eine Sensitivität von 60% für CYFRA 21-1, 26% für CEA, 14% für SCC und 20% für NSE. Bei der Verlaufs- und Therapieeffizienzkontrolle zeigte sich CYFRA 21-1 bei NSCLC und Plattenepithelkarzinomen als geeigneter Marker und zeigte zum Teil ein bis sechs Monate früher ein Rezidiv an. Nach den vorliegenden Ergebnissen ist CYFRA 21-1 ein geeigneter Marker für nicht kleinzellige Lungenkarzinome, insbesondere Plattenepithelkarzinome. Die Ergebnisse stimmen gut mit den retrospektiv erhobenen Daten der Pilotstudie überein.

### Schrifttum:

1. P. Stieber, U. Hascholzner, H. Bodenmüller, D. Nagel, L. Sunder-Plassmann, H. Dienemann, W. Meier, A. Fateh-Moghadam: CYFRA 21-1 – A new marker in Lung Cancer, Cancer, in press.
2. U. Hascholzner, P. Stieber, M. Fiebig, L. Sunder-Plassmann, A. Fateh-Moghadam: Cyfra – A New Tumor Marker for Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) in: R. Klapdor (ed) Tumor Associated Antigens, Oncogenes Receptors in: Tumor Diagnosis and Therapy at the Beginning of the Nineties. 1992, W. Zuckschwerdt Verlag, München Bern Wien New York.

## In-vivo-Einflüsse und In-vitro-Effekte auf die Tumormarker-Bestimmung

S. Poley<sup>1</sup>, W. Samtleben<sup>2</sup>, J. HolP, B. Hero<sup>1</sup>, K. Hofmann<sup>1</sup>, P. Stieber<sup>1</sup>, J. Eisenburg<sup>4</sup>, A. Fateh-Moghadam<sup>1</sup>  
Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern<sup>1</sup>,  
I. Med. Klinik, Klinikum Großhadern<sup>2</sup>,  
II. Med. Klinik, Klinikum Großhadern<sup>3</sup>,  
Krankenhaus der Barmherzigen Brüder<sup>4</sup>, W-8000 München, FRG

**Fragestellung:** Für eine sinnvolle Interpretation von Tumormarkerwerten ist die Kenntnis ihrer Einfluß- und Störgrößen von wesentlicher Bedeutung. Dies wurde anhand von 11 verschiedenen Tumormarkern untersucht.

**Methodik:** CEA, SCC: EIA (IMx, Abbott); CA 19-9, CA 15-3, AFP, CYFRA 21-1: EIA (ES 600, Boehringer Mannheim); PSA: EIA (Tandem, Hybritech); CA 125, CA 72-4: RIA (Centocor); NSE: RIA (Pharmacia); TPS: RIA (Beki).

**Ergebnisse:** In-vivo kann ein gestörter Katabolismus Tumormarker-Konzentrationen beeinflussen. Besonders ausgeprägt wurden bei extrahepatischer Cholestase (n = 17) erhöhte CA 19-9- (bis 366 U/ml) sowie TPS-Werte (bis 846 U/ml) beobachtet, die nach endoskopischer Gallensteinentfernung einen signifikanten Abfall ( $p < 0,001$  bzw.  $p < 0,005$ ) zeigten. Hämodialysierte Patienten aufgrund chronischer Niereninsuffizienz (n = 150) hatten vor allem SCC (75%), CEA (39%), TPS (90%), CYFRA 21-1 (32%) und CA 19-9 (20%) gegenüber Normalpersonen erhöht. Unter standardisierten Bedingungen zeigten drei gesunde Probanden über mehrere Jahre Erhöhungen bzw. deutliche Schwankungen eines Tumormarkers (CA 19-9, CA 72-4, TPS). In vitro führte eine Kontamination des Probenmaterials mit Speichel bei SCC, CA 19-9, CEA, CA 125, TPS und CYFRA 21-1, und mit Epithelen bei SCC zu falsch positiven Werten. Hämolyse und verspätete Zentrifugation (n = 8) beeinflussten im wesentlichen die NSE-Konzentrationen. Die einzelnen Tumormarker sind in unterschiedlichem Ausmaße methodenabhängig. Bei Wechsel der Methodik z. B. bei CA 19-9, CA 72-4 und CEA (7 verschiedene Kits) konnten Progressionen und Remissionen vorgetäuscht werden. Immunglobuline,  $\alpha_2$ -Makroglobulin oder Rheumafaktor können die einzelnen Enzymimmunoassays in unterschiedlichem Maße beeinflussen.

**Schlußfolgerung:** Um eine Fehlbeurteilung zu vermeiden, sollten von jedem einzelnen Tumormarker die wesentlichen Stör- und Einflußgrößen bekannt sein, wobei insbesondere die Leber- und Nierenfunktion sowie die Methodenabhängigkeit berücksichtigt werden muß.

## Pränatale Diagnostik des Mb Down durch Cu/Zn SOD Quantifizierung

T. Porstmann, G. Cobet, E. Nugel, R. Bollmann, P. Pas  
Inst. Med. Immunologie, Inst. Med. Genetik und Frauenklinik  
des Universitätsklinikum (Charité), Humboldt-Universität  
zu Berlin

Auf Grund des bekannten Gen-Dosis Effektes für die Cu/Zn abhängige Superoxid-Dismutase (Cu/Zn SOD) bei Mb. Down (1) wurde ein Schnelltest zur Quantifizierung des Enzyms in Nabelschnurerhythrozyten als Alternative zur Diagnose des Mb. Down durch Karyotypanalyse entwickelt.

**Methodik:** Gewinnung von Nabelschnurerhythrozyten unter Ultraschallkontrolle, Einstellung auf 1 Mill. Zellen/ml bei gleichzeitiger Lyse, immunenzymometrischer 1-Schritt Assay mit 10 min Inkubation von Erythrozytenlysat und Konjugat, 10 min Substratreaktion (2). **Ergebnis:** in einer Prospektivstudie seit 1989 SOD-Bestimmung bei 770 Föten bei Risikoschwangerschaften für Mb. Down  $> 1:250$ . Korrekte Diagnose von 17 freien Trisomien 21 und einer strukturellen Aberration (Bestätigung durch Chromosomenanalyse). Mittlere Cu/Zn SOD Konz. der Normalfälle  $13,9 \pm 1,33$  und der Fälle mit Down Syndrom  $22,3 \pm 1,27$  ng/10<sup>6</sup> Erythrozyten. Bei

einem Grenzwert von 19,0 ng/10<sup>6</sup> Zellen beträgt die diagnostische Spezifität 99,99% und diagnostische Sensitivität 99,71% (3).

**Schrifttum:**

1. Sinet et al.: C. R. Acad. Sci. (D) (Paris) 278 (1974) 3267-3270.
2. Porstmann, T. et al.: J. Immunol. Methods 127 (1990) 1-10.
3. Porstmann, T. et al.: Prenat. Diagn. 11 (1991) 295-303.

## Zwei-Marker Enzymimmunoassay zum simultanen Nachweis einer Infektion mit HBV und HIV

T. Porstmann, E. Nugel, P. Henklein und P. Pas  
Inst. Medizinische Immunologie und Inst. Pharmakologie  
und Toxikologie, Universitätsklinikum Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

**Zur Reduzierung des Kosten- und Arbeitsaufwandes sowie der Abfallmenge** wurde ein Kombinationsassay zum Nachweis von Antikörpern gegen HIV-1 und -2 sowie HBsAg entwickelt.

**Methodik:** Monoklonale anti-HBs Antikörper (anti-pre-s2 und anti-s) werden mit synthetischen Peptiden des Transmembranproteins von HIV-1 und -2 und gereinigtem rekombinantem p24 Antigen von HIV-1 koimmobilisiert. Die Seren (Verdünnung 1:2) werden 60 min und das Konjugatgemisch anschließend 30 min inkubiert. Gebundene HIV-Antikörper werden durch AP-markierte anti-human IgG/IgM Antikörper, gebundene HBsAg-Moleküle durch POD-markierte monoklonale anti-HBs-Antikörper mittels sequentieller Substratreaktion (jeweils 30 min) mit pNP und TMB als Substrate nach Reaktionsstopp detektiert.

**Ergebnis:** Die Spezifität, getestet an 5000 Blutspenderseren, beträgt für HBsAg 99,8% und für anti-HIV-1/2 Antikörper 99,5%. Die untere Nachweisgrenze für HbsAg bewegt sich zwischen 0,25-0,30 U/ml (PEI-Standard). Die Sensitivität für HIV-1 (n = 600) und HIV-2 (n = 115) antikörperhaltige Seren beträgt 100%. Serokonversionen werden zeitgleich mit den meisten gegenwärtig verfügbaren Einzeltesten erfaßt.

**Schrifttum:**

- Porstmann, T. et al.: J. Immunol. Methods 158 (1993) 95-106.

## Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Neopterin in Humanserum

W. Rautenberg, A. Heubner  
E. Merck, Forschung Diagnostica, Frankfurter Straße 250,  
D-6100 Darmstadt

1979 wurden erstmals erhöhte Neopterinkonzentrationen im Urin von Patienten mit malignen Erkrankungen und viralen Infektionen nachgewiesen. In der Folge kristallisierte sich die diagnostische und prognostische Bedeutung des Neopterin als ein Produkt aus aktivierten Monozyten und Makrophagen heraus. Heute stellen erhöhte Neopterinkonzentrationen in Körperflüssigkeiten wie Serum oder Urin einen spezifischen Indikator für den jeweiligen Aktivierungsgrad des Systems aus Monozyten, Makrophagen und T-Lymphocyten im Rahmen einer Erkrankung dar.

E. Merck hat einen nicht-radioaktiven Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Neopterin in Humanserum entwickelt. Mikrotiterplatten werden mit Antikörpern gegen Neopterin beschichtet, die aus Schafen nach Immunisierung mit einem Konjugat aus Neopterin und Keyhole Limpet Hämocyanin gewonnen wurden. In die mit BSA abgestättigten Kavitäten wird ein Probenpuffer pipettiert, der auch die Bestimmung von Neopterin in frischen Serumproben z. B. von Blutspendern ermöglicht. Die Serumprobe wird zum

Probenpuffer gegeben und 30 Minuten inkubiert. Zur Mischung wird ein Konjugat aus Neopterin und Meerrettichperoxidase gegeben und weitere 60 Minuten inkubiert. Nach einem Waschschritt wird die gebundene Peroxidase in einer weiteren Substratinkubation von 30 Minuten bei 405 nm nachgewiesen. Die Kalibrierungskurve wird mit Hilfe von 6 Standards im Bereich bis zu 200 nmol/l erstellt. Die exakte Testdurchführung wird mit zwei Kontrollproben überwacht. Die Kreuzreaktivität mit 7,8-Dihydro-Neopterin beträgt nur 2,5%. Andere Kreuzreaktivitäten wurden nicht gefunden. Die Testpräzision wurde zu 5–10% innerhalb einer Serie und zu 5–15% bei Messungen von Tag zu Tag je nach Höhe der Neopterinwerte bestimmt. Die Wiederfindung von Neopterin in aufgestockten Seren betrug 90–110%. Die Testsensitivität, ausgedrückt als X-3SD, lag unter 1 nmol/l. Hämoglobin bis 40 mg/dl, Bilirubin bis 25 mg/dl, Triglyceride bis 1000 mg/dl und Ascorbinsäure bis 75 µg/ml stören den Test nicht. Der Methodenvergleich des EIA mit einem kommerziell erhältlichen RIA wurde zu EIA = 1,034 RIA–1,66 mit einem Korrelationsfaktor von 0,96 gefunden.

### E30 und TissuGnost® Unipak, ein neues Nachweissystem zur immunhistologischen Bestimmung des Epidermal Growth Factor Rezeptors auf formalinfixiertem Gewebe

K. A. Reiffen, S. Neumann

E. Merck, Forschung Diagnostica, Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

Seitdem bekannt ist, daß die Expression des Epidermal Growth Factor Rezeptors (EGF-R) bei verschiedenen Tumoren von erheblicher prognostischer Bedeutung sein kann, wurde immer wieder versucht, eine einfache, rasch und zuverlässig arbeitende Methode zur Bestimmung der Rezeptorexpression im Tumorgewebe zu finden. Eine der verbreitetsten Techniken zur Bestimmung des EGF-R ist die Immunhistochemie, die im allgemeinen am Gefrierschnitt durchgeführt wird, da die meisten Antikörper gegen den EGF-R nicht an fixiertem Material arbeiten. Wir beschreiben den monoklonalen Antikörper E30, der in der Lage ist, den Rezeptor an Schnitten von routinemäßig formalinfixiertem und paraffineingebettetem Gewebe zu erkennen. In Verbindung mit dem außerordentlich sensitiven und anwenderfreundlichen Nachweissystem TissuGnost® Unipak ist die Bestimmung des Rezeptors im Rahmen der Routine-IHC leicht möglich. Wir fanden spezifische Membranfärbungen bei verschiedenen Tumortypen, u. a. bei Zellen von Mamma-Karzinomen und bei Plattenepithel-Karzinomen aus dem HNO-Bereich. Die Anwendung der Kombination von Antikörper und passendem Nachweissystem gibt dem behandelnden Arzt die Möglichkeit, ohne großen Aufwand zusätzliche Hinweise zur Prognose bei verschiedenen Tumoren zu erhalten, außerdem läßt sich retrospektiv an archivierten Proben der Einfluß des EGF-Rs auf den Verlauf der Erkrankung untersuchen.

### Koordinierung und Standardisierung der Qualitätssicherung auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin in Europa

H. Reinauer

Diabetes-Forschungsinstitut, 4000 Düsseldorf

Die Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien sowie § 4 der Eichordnung muß aufgrund einer Intervention durch die EDMA novelliert werden. Erst nach dieser Novellierung wird eine Notifizierung durch die EC erreicht. Danach werden auch die Richtlinien zur Qualitätssicherung von Analysen mit Reagenzieneinzelabpackungen („Trockenche-

mie“) in Kraft treten. In zwei Organisationen wird die Zusammenarbeit der Organisatoren von Ringversuchen gepflegt: EQUA-Organizers in der EG (Dr. Uldall) und ECEQUAO (Dr. Leblanc, Paris). In beiden Organisationen werden die Grundprinzipien der Qualitätssicherung und eine Standardisierung der Probenherstellung, der Herstellung von Zielwerten, der Akkreditierung und Zertifizierung bearbeitet. Die ECEQUAO ist über die Europäische Gemeinschaft hinaus bemüht um Zusammenarbeit mit Ringversuchsorganisationen in den mittel- und osteuropäischen Ländern. Im Auftrag der World Association of Society of Pathologie (WASP) wurde eine Erhebung über Ringversuchsprogramme und Modalitäten der Auswertung gesammelt. Diese Daten werden im einzelnen vorgestellt.

### CA 72-4: Ein sinnvoller Tumormarker beim Magenkarzinom (Wertigkeit im Vergleich mit CEA und CA 19-9)

W. Reiter<sup>1</sup>, P. Stieber<sup>1</sup>, H. Denecke<sup>2</sup>, R. Lamerz<sup>2</sup>,

A. Fateh-Moghadam<sup>1</sup>

Institut für Klinische Chemie<sup>1</sup>, Chirurgische Klinik<sup>2</sup>, II. Medizinische Klinik<sup>2</sup>, Ludwig-Maximilians-Universität München, FRG

Ziel der Untersuchung war es, die klinische Wertigkeit von CA 72-4 (IRMA, Isotopen Diagnostik, Cis) beim Magenkarzinom im Vergleich zu den „klassischen“ aber nicht zufriedenstellenden Markern CEA (EIA, Abbott) und CA 19-9 (Enzymun, Boehringer Mannheim) zu klären.

Wir untersuchten die Seren von 197 Patienten mit einem gesicherten Magenkarzinom unterschiedlicher Stadien, sowie von 50 Patienten mit benignen gastrointestinalen Erkrankungen.

Fordert man eine Spezifität von 95% gegenüber benignen Erkrankungen für alle drei untersuchten Marker, erhält man eine obere Referenzbereichsgrenze (cut off) von 2,4 U/ml für CA 72-4, von 10,1 ng/ml für CEA und für CA 19-9 von 96 U/ml. Bei dieser 95%igen Spezifität zeigt CA 72-4 bei der Primärdiagnose des Magenkarzinoms eine Sensitivität von 48%, CEA von 43% und CA 19-9 von 41%; beim metastasierten Magenkarzinom beträgt die Sensitivität 69% bei CA 72-4, 54% bei CEA und 48% bei CA 19-9. Kombiniert man zwei Marker (Spezifität 95%), erhält man die höchste Sensitivität von 72% für CA 72-4 und CEA (66% für CA 19-9 U CA 72-4 bzw. 40% für CEA U CA 19-9). CA 72-4 zeigt anhand der erstellten ROC-Kurven eine bessere Trennschärfe zwischen benignen gastrointestinalen Erkrankungen und dem Magenkarzinom als CEA und CA 19-9.

### Lipoprotein-Subfraktionen bei normolipämischen Patienten mit Indikation zur aortokoronaren Bypass-Operation

V. Richter<sup>1</sup>, K. Purschwitz<sup>1</sup>, H. Schröfel<sup>2</sup>, W. Herrmann<sup>3</sup>,

G. Schmitz<sup>3</sup>, W. Rotzsch<sup>1</sup>

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik<sup>1</sup>, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie<sup>2</sup> der Universität Leipzig und Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin<sup>3</sup> der Universität Regensburg

Bei männlichen „normolipämischen“ Patienten mit Indikation zur aortokoronaren Bypass-Operation wurden unter Einbeziehung der Kapillaristotachophorese Lipoproteinsubfraktionen mit der Fragestellung einer möglichen Diskrimination zwischen Patienten- und Vergleichskollektiv untersucht.

Gegenüber der Kontrollgruppe weisen die in die Untersuchung einbezogenen Patienten mit Indikation zur aortokoronaren Bypass-Operation bei normalem Gesamtcholesterol- und Triglyce-

ridspiegel eine verringerte HDL-Cholesterol- und HDL-Apo A-I-Konzentration und einen Abfall der Relation HDL<sub>2</sub>-Cholesterol/HDL<sub>3</sub>-Cholesterol auf. Gleichfalls wird ein erniedrigter Quotient freies Cholesterol-/Gesamtcholesterol in den HDL-Fractionen deutlich. Es ist eine verminderte Konzentration von Lipoprotein-Partikeln mit ApoA-I als Marker (Lp-A-I), jedoch gleichermaßen auch von Apo A-I sowie Apo A-II enthaltenden Partikeln (Lp-A-I:A-II) zu verzeichnen.

Wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Lipoproteinsubklassen-Verteilung zwischen Vergleichs- und „normolipämischem“ Koronarsklerose-Patientenkollektiv werden durch Subfraktionierung mittels Analytischer Kapillarisotachrophorese deutlich. Diese beziehen sich vor allem auf eine erniedrigte Konzentration Apo E-haltiger HDL und auf einen hohen Anteil relativ triglyceridreicher VLDL und an Intermediate-density-Lipoproteinen (IDL).

## Das Zytokinexpressionsmuster mononukleärer Zellen

*P. Rieckmann, M. Albrecht, M. Burchhardt, U. Michel  
Neurobiologisches Labor, Psychiatrische  
und Neurologische Klinik der Universität Göttingen*

Mit Hilfe der cDNS PCR konnte eine semiquantitative Methode zum Nachweis der mRNS für die Zytokine IL-1, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$  und Endothelin-1 in mononukleären Zellen verschiedener Kompartimente etabliert werden. Durch Verwendung von Primern, die ein Intron überspannen, wurde eine Amplifikation kontaminierender DNS vermieden. Die Spezifität der PCR Produkte wurde durch deren Größe, eine Restriktionsenzymanalyse und die Hybridisierung mit einem internen Oligonukleotid bestimmt. Densitometrische Auswertung ergab eine lineare Regression der Konzentration von Zytokin mRNS über 3 log-Stufen. Wiederholte Doppelbestimmungen erbrachten eine Re-test Variabilität unter 10%.

Untersuchungen des Zytokinexpressionsmusters von mononukleären Zellen aus Blut, Liquor cerebrospinalis, Lymphknoten, Tonsillen und Thymus von Patienten mit verschiedenen, neurologischen Erkrankungen ergaben wichtige Hinweise für die Kompartimentalisierung der immunologischen Reaktion. Darüber hinaus konnte in einer Verlaufsuntersuchung bei Patienten mit multipler Sklerose der prädiktive Wert dieser Methode evaluiert werden.

## Bedeutung von NS5 für das Screening und zur Bestätigung von Hepatitis C

*B. Rodgers, N. O'Callaghan, D. Jeffery, I. Forgie, D. Parker  
Murex Diagnostics Ltd., Temple Hill, Dartford, U. K.*

Das Hepatitis C Virus (HCV) ist als Hauptverursacher der parenteralen Non-A, Non-B Hepatitis (NANBH) bekannt. Wir haben eine Anzahl von sich überschneidenden Klonen aus einer aus England stammenden Blutprobe isoliert, die die gesamte kodierende Region des HCV umfassen und diese Core, NS3, NS4 und NS5 Regionen in Insektenzellen und *E. coli* exprimiert.

Die Analyse von Immunantworten auf die unterschiedlichen Genomregionen zeigen beträchtliche Schwankungen, außerdem wurden für jede Region monoreaktive Proben identifiziert, einschließlich PCR positiver monoreaktiver NS5 Seren.

Basierend auf diesen Daten, haben wir einen anti-HCV Enzymimmunoassay entwickelt, der zusätzlich zu Core und NS3 auch NS5 enthält. Dieser Test zeigt eine hohe Sensitivität bei der Untersuchung von Serokonversions- und Niedrigtiterpanelen und weist eine Spezifität von 99,69% in Studien, in denen Seren von ca. 16000 Blutspendern getestet wurden, auf. Weitere Untersuchungen von Blutspendern identifizierten ebenfalls zwei NS5 monore-

aktive Proben, die in einem unabhängigen Labor als PCR positiv bestätigt wurden.

Zur Bestätigung von ELISA reaktiven Proben haben wir einen schnellen und sensitiven rekombinanten HCV Western Blot entwickelt, der die vier Genomregionen des Virus (Core, NS3, NS4 und NS5) enthält. Dieser Test kann zur Bestätigung der reaktiven Probenergebnisse eines jeden erhältlichen kommerziellen HCV ELISAs verwendet werden. Durch das Vorhandensein von NS5 ist es möglich, Antikörper gegen die wichtige Replikase-Region zu erfassen und RIBA-2 fragliche Seren zu diagnostizieren. In Studien konnten ca. 65% der RIBA-2 fraglichen Proben mit Hilfe des Western Blots eindeutig bestimmt werden.

Die Bedeutung von NS5 für die HCV Diagnostik wird weiterhin diskutiert werden.

## Methodenvergleiche in der Spurenelementanalytik – Planung, statistische Auswertung und Ergebnisinterpretation

*U. Rösick, J. Grzanna, S. Recknagel und P. Brätter  
Hahn-Meitner-Institut Berlin, Abt. Spurenelemente  
in Gesundheit und Ernährung*

Spurenelementanalysen sind ziemlich anfällig für systematische Fehler. Für die Qualitätssicherung der Ergebnisse ist deshalb einiger Aufwand erforderlich, z. B. eine engmaschige Kontrolle der Probenanalysen mit Hilfe parallel analysierter Standardreferenzmaterialien mit zertifizierten Spurenelementgehalten. Wegen der begrenzten Verfügbarkeit solcher Substanzen und wegen ihres hohen Preises sind solche Untersuchungen allerdings nur in wenigen Fällen möglich. Dann helfen Methodenvergleiche, indem die aktuellen Proben mit einer weiteren, ähnlich zuverlässigen Methode analysiert werden. Ziel jeden Methodenvergleichs ist letzten Endes der Nachweis, daß zwischen den mit beiden Analysemethoden ermittelten Probenkonzentrationen ein linearer Zusammenhang besteht und daß die Regressionsgerade die Steigung Eins hat und durch den Koordinatenursprung verläuft.

Der Vortrag gibt einen Überblick, welche Auswertetechniken heute für die unterschiedlichen Experimentdesigns zur Verfügung stehen, welche besonderen Vorteile zu bieten und wo ihre Einsatzbereiche und -grenzen sind. Im einzelnen diskutiert werden die ungewichtete lineare Regression (G. J. Babu, E. D. Feigelson, Commun. Statist. Simula. 21 (1992) 533), die gewichtete lineare Regression (B. Ripley, W. Thompson, Analyst 112 (1987) 377) und robuste Schätzungen im linearen Modell (W. Bablok, H. Passing, Lab.med 8 (1984) 232). Die Darstellung orientiert sich an den Bedürfnissen des Praktikers und wird mit Analysebeispielen aus unserem Labor unterlegt (A1 in Seruminfusionslösungen und Se in Seren total-parenteral ernährter Kinder).

## Gerinnungsaktivierung und verminderte Fibrinolysekapazität bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK)

*E.-B. Rohwedder, K.-H. Zurborn, S. Meyer, G. Herrmann,  
R. Simon, H. D. Bruhn  
I. Medizinische Klinik, Christian-Albrechts-Universität, Kiel*

Bei 59 Patienten mit angiokardiographisch gesicherter koronarer Herzerkrankung (KHK) wurden Thrombin-Antithrombin III-Komplexe (TAT), D-Dimer, Gewebefibrinogenaktivatoraktivität (t-PA act), -antigen (t-PA ag) und die Fibrinolysekapazität (Differenz t-PA ag vor und nach 10 Minuten Venenokklusion) bestimmt. Im Vergleich zu 19 Kontrollpersonen ohne KHK waren TAT signifikant

erhöht ( $p < 0,01$ ) und die Fibrinolysekapazität im Venenokklusionstest signifikant ( $p < 0,05$ ) vermindert.

Diese Befunde demonstrieren eine Gerinnungsaktivierung und verminderte Fibrinolysekapazität bei Patienten mit KHK und gehen einher mit den Ergebnissen von Gram et al. (Acta Med Scand 1987; 221: 149–153), der ein gestörtes Fibrinolyse-System bei Risikopatienten für einen Myokardinfarkt beschrieb.

## Fibrinolysestörungen bei Patienten mit Rezidivstenose nach perkutaner transluminaler Koronarangioplastie (PTCA)

E.-B. Rohwedder, K.-H. Zurborn, S. Meyer, G. Herrmann, R. Simon, H. D. Bruhn.

I. Medizinische Klinik, Christian-Albrechts-Universität, Kiel

Prospektiv wurden bei 59 Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK) vor einer geplanten PTCA Thrombin-Antithrombin III-Komplexe (TAT), D-Dimer, Gewebepelminogenaktivatoraktivität (t-PA act), -antigen (t-PA ag) und die Fibrinolysekapazität (Differenz t-PA ag vor/nach Venenokklusion) bestimmt. Nach erfolgter PTCA wurden Gerinnungs- bzw. Fibrinolyseparameter erneut nach 24 und 48 Stunden sowie nach 3 Monaten gemessen. Mittels erneuter Herzkatheteruntersuchung nach 3 Monaten ließ sich bei 24 Patienten eine signifikante Restenosierung (Gruppe I) und bei 35 keine (Gruppe II) nach primär erfolgreicher PTCA dokumentieren. Als Kontrollgruppe dienten 19 Patienten ohne KHK. Die Fibrinolysekapazität war signifikant niedriger ( $p < 0,05$ ) in der Patientengruppe mit Restenosierung im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne KHK. Die PTCA induziert nach 24 Stunden einen signifikanten Anstieg ( $p < 0,01$ ) des TAT als Ausdruck einer Thrombinaktivierung und einen signifikanten Anstieg ( $p < 0,01$ ) der D-Dimere als Ausdruck einer sekundären Fibrinolyse. Die signifikante Zunahme der D-Dimere dauerte bei Patienten ohne Restenose noch nach 48 Stunden an ( $p < 0,01$ ). Das Verhältnis zwischen D-Dimer und TAT zeigte sowohl nach 24 als auch nach 48 Stunden eine signifikante Abnahme ( $p < 0,05$ ) bei den Patienten mit Restenose. Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß ein gestörtes Verhältnis zwischen Gerinnungsaktivierung und Fibrinolyse zu einer späten Restenose nach primär erfolgreicher PTCA beitragen kann. Die Bestimmung der Fibrinolysekapazität nach Venenokklusion wäre geeignet, Fibrinolysestörungen aufzudecken.

## Development of an immuno radiometric assay for the quantitation of active renin and total renin

F. M. A. Rosmalen, M. J. C. van Hoek, and M. F. W. C. Martens  
Nichols Institute Diagnostics BV, Wijchen, The Netherlands

Determination of the active renin concentration on plasma of men is an important diagnostic tool in patients with severe or secondary hypertension, and has been shown to predict survival in patients with congestive heart failure. The choice of treatment in these patients is partially dependent on renin measurements. The measurement of plasma prorenin may be useful for predicting which patients with diabetes mellitus will develop vascular injury and it may also play a role in the pathogenesis (long-term monitoring) of diabetes. Total renin is also a good marker in patients with nephroblastoma. Until now the most widely used method is the plasma renin activity measurement (PRA). This method has two major limitations: PRA may give inadequate results due to the endogenous angiotensinogen concentration in serum and PRA concentrations of identical serum samples largely vary depending on the laboratory, due to different methods used.

For this reason we developed an immunoradiometric assay (IRMA) for the measurement of active renin in serum. In this assay

two monoclonal antibodies are used. One of these is directed against the active side of the renin molecule. One antibody, which is biotinylated, is bound to an avidin coated bead, while the second antibody is iodinated. Active renin is „sandwiched“ between these antibodies (ALLEGRO®-System). The amount of radioactivity bound to the bead is proportional to the amount of renin present in the tube. The sensitivity of the assay is about 2 mU/L.

For the measurement of total renin, a pretreatment of the samples with a renin inhibitor is carried out. This renin inhibitor attaches to the active sites of the renin molecule and to the prorenin molecule after unfolding the prosegment. Our antibody recognizes these two forms completely. This method is very selective and specific, because the renin inhibitor only occupies the active sites of the renin molecule without damaging the renin molecule as trypsin does. Prorenin is calculated by subtracting active renin from total renin.

## Hepatitis C Virus Subtypen in Patienten einer Frankfurter Klinik

W. K. Roth, B. Ruster, A. Franke\*, S. Zeuzem\*  
Georg-Speyer-Haus Frankfurt/Main

\* Zentrum der Inneren Medizin, Abt. für Gastroenterologie,  
J. W. Goethe Universität Frankfurt/Main

Ziel der Arbeit war, die Verteilung verschiedener HCV Subtypen bei ambulanten Patienten zu untersuchen, welche die Gastroenterologische Abteilung des Zentrums der Inneren Medizin aufsuchten.

Methoden: HCV-RNA wurde aus dem Serum von anti-HCV positiven Patienten mit chronisch aggressiver Hepatitis extrahiert, revers transkribiert und in der „nested“ PCR amplifiziert. Die Primer waren aus der 5'-NC Region und generierten ein 256 bp Fragment, das direkt sequenziert wurde.

Ergebnisse: Amplifikationsprodukte aus 42 HCV-PCR positiven Patienten wurden untersucht. Mutationen wurden in 29 der 256 Nucleotidpositionen gefunden, die vorwiegend zwischen den Positionen -170 und -70 lagen. Keines der Isolate hatte Insertionen oder Deletionen. Von den 42 Amplifikaten konnten 28 den HCV Prototypsequenzen zugeordnet werden, 8 zeigten große Homologien zu einem amerikanischen Subtyp und 6 waren einem in Japan vorherrschenden Typ am ähnlichsten. Eine Korrelation zwischen einem bestimmten Subtyp und einem schwereren oder leichteren Krankheitsverlauf konnte weder über klinische und histologische noch über biochemische Parameter hergestellt werden.

Schlußfolgerung: Alle bekannten über die 5'-NC-Region definierten HCV-Subtypen konnten in unserem Patientenkollektiv nachgewiesen werden. Die Prozentanteile betragen für den Prototyp 67%, für den amerikanischen Subtyp 19% und den japanischen Subtyp 14%. Im Gegensatz zu anderen Arbeitsgruppen konnten wir keinen Zusammenhang zwischen einem bestimmten HCV Subtypen und der Schwere des Krankheitsverlaufes feststellen.

## Evaluation des klinisch-chemischen Analysator Dimension AR

M. Rückgauer, Y. Schmitt, J. D. Kruse-Jarres  
Institut für Klinische Chemie und Labormedizin,  
Katharinenhospital, D-7000 Stuttgart

1987 wurde im Rahmen der weiteren Entwicklung der ACA-Technologie ein Gerät mit einer unterschiedlichen Technologie präsentiert – der Dimension 380. Dieser Analysenautomat wurde 1992 weiter verändert und steht nun als Dimension AR zur Verfügung. Dieses Gerät wurde zunächst als Prototyp und später als Seriengerät unizentrisch evaluiert. Hierzu wurden die Richtlinien der ECCLS (1) und der SFBC (2), soweit wie möglich, zugrundegelegt

und beachtet. Als Vergleichsgeräte wurden die Technologien benutzt, die für die Routinediagnostik zur Verfügung standen. Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Ergebnisse der Präzision von Tag zu Tag und in der Serie mit durchschnittlichen Werten zwischen 1 und 5% sehr zufriedenstellend sind. Die Richtigkeit und die Chemie der Methoden ist ohne wesentliche Beanstandungen. Zu bedauern ist lediglich die Tatsache, daß kein enzymatisches Kreatinin zur Verfügung steht. Eine solche Methode müßte mit Fremdreaenz auf einem der freien Kanäle adaptiert werden. Dies bereitet keine Schwierigkeiten. Störeinflüsse durch die Verwendung von Lithiumheparinat als Antikoagulant treten besonders bei der Bestimmung des Eisens und des HDL-Cholesterins auf. Eine Anwendung in Routine- und Notfallanalytik kann empfohlen werden.

#### Schrifttum:

- (1) Haeckel, R., Busch, E. W., Jennings, R. D. & Truchaud, A. (1983) Guidelines for the Evaluation of Analyzers in Clinical Chemistry, ECCLS Document, 3, No. 2, Beuth Verlag, Berlin.
- (2) Société Française de Biologie Clinique (1986) Protocol for the validation of methods. Ann. Biol. Clin. 44, 686-745.

## Schneller und sensitiver Nachweis von HBV-DNA im Serum mit PCR: Bestimmung der Infektiosität von HBs-Antigen Trägern

U. Schacker, H.-P. Bermayer, D. Ionescu und M. Zapata  
Labor Dr. Zapata/Dr. Ionescu, Baden-Baden

Um die Infektiosität von 110 HBs-Antigen Trägern zu bestimmen, wurden humane Serumproben mit der Polymerase Ketten Reaktion (PCR) auf das Vorhandensein von HBV-DNA untersucht. Bei aktiver Virusreplikation findet man virale Nukleinsäuren im Serum. Aus 50 µl Serum wurde dazu nach Proteinase K-Verdau die gesamte DNA extrahiert. Zum Nachweis von HBV-DNA wurden drei verschiedene PCR-Primerpaare eingesetzt, die spezifisch sind für die pre-S, S und pre-C Region des Virus. Alle PCR-Reaktionen wurden in einem Gesamtvolumen von 10 µl durchgeführt. Nach 30 Zyklen wurden die Produkte der Amplifikationen nach Agarosegel-Elektrophorese durch Färbung mit Ethidiumbromid sichtbar gemacht. 54 der untersuchten Serumproben zeigten alle drei HBV-spezifischen PCR-Produkte und wurden damit als infektiös diagnostiziert. Die restlichen 56 Proben waren in den untersuchten PCR-Systemen negativ und damit nicht infektiös. In 42 der 54 positiven Proben bestätigt die PCR-Analyse die Ergebnisse der klassischen Antigen- und Antikörper-Diagnostik. Die restlichen 12 PCR-positiven Proben sind HBe-Antigen negativ und damit von besonderem diagnostischem Interesse. Hiervon wurden in 3 Proben Hbc-IgM-Antikörper nachgewiesen; diese Patienten befinden sich im Stadium der Serokonversion.

## Detektion von Mycobacterium Tuberculosis und MOTT: Vergleich konventioneller Nachweismethoden mit der PCR

U. Schacker, D. Ionescu und M. Zapata  
Labor Dr. Zapata/Dr. Ionescu, Baden-Baden

Zum Nachweis von Mykobakterien wurden 300 Proben (Sputum, Trachealsekret, Magensaft oder Urin) mit der Ziehl-Neelsen-Färbung, der Bactec-Flüssigkultur und der Kultivierung auf Stonebrink- und Löwenstein-Jensen-Agar untersucht. Neben den Originalproben selbst wurden die N-Acetyl-Cystein behandelten Originalproben und ein Aliquot der Bactec-Flüssigkultur mit mehreren Mykobakterien-spezifischen PCR-Systemen analysiert. Positive Bactec-Kulturen wurden mit dem Gen-Probe-System (Fa. Biermann) differenziert. 17 der untersuchten Proben waren sowohl

den Kulturen als auch in allen PCR-Ansätzen positiv; bei einem einzigen Isolat handelte es sich nicht um Mycobacterium tuberculosis, sondern um M. kansasii. Die DNA dieser Mykobakterien zeigte wie erwartet weder Hybridisierung mit der M.tbc.-spezifischen Biermann-Sonde noch mit PCR-Primern, die spezifisch sind für das Insertionselement IS6110 der Spezies M.tbc. Drei Kultur-negative Patientenmaterialien waren M.tbc.-PCR positiv, die klinischen Daten dieser Patienten werden zur Diskussion gestellt. Bei zwei Kultur-positiven Proben war die PCR aus dem Originalmaterial negativ, diese wurden aber nach PCR-Analyse der Bactec-Flüssigkeit als M.tbc. positiv bestätigt. Solche Ausfälle bei der PCR wurden seit der Anwendung einer alkalischen Lyse vor der Extraktion der mykobakteriellen DNA nicht mehr beobachtet. Damit erweist sich die PCR als geeignete zusätzliche Methode für die Mykobakterien-Diagnostik. Neben der hohen Sensitivität kommt der Schnelligkeit dieses Mykobakteriennachweises innerhalb von Stunden besondere Bedeutung zu, da sich die konventionelle Kultivierung meist über Wochen hinzieht.

## Freies $\beta$ -hCG, ein geeigneter Marker zur Bestimmung des Down-Syndroms aus dem mütterlichen Serum

H.-J. Schaeffer und A. Bolte  
Universitäts-Frauenklinik Köln

In einer ersten deutschen Studie größeren Umfangs (bislang über 1000 Seren von Schwangeren der 14.-22. SSW) wurde die klinische Relevanz des neuen RIA-Kits der Fa. Isotopen Diagnostik CIS, Dreieich, untersucht. Verglichen wurden die Ergebnisse mit den Konkurrenzmethoden nach WALD (Brit. Med. J. 297 (1988), 883-887) und dem DERMALOG-Programm und wurden schließlich den erzielten cytogenetischen Befunden nach Amniozentese bzw. Plazentabiopsie gegenübergestellt.

Die Trisomie 21 wurde von allen Methoden richtig erkannt. Falsch-negative Befunde wurden bei uns bislang nicht beobachtet. Die Rate der falsch-positiven Fälle war bei der Bestimmung nach WALD vergleichbar mit der des neuen Programms von Dr. T. M. Reynolds, Cardiff/UK, das die Ergebnisse des freien  $\beta$ -hCG zusammen mit denen des AFP bewertet. Lediglich das DERMALOG-Programm zeigte eine deutlich höhere Rate an falsch-positiven Resultaten. Als falsch-positiv wurden alle Ergebnisse betrachtet, die eine höhere Risikowahrscheinlichkeit als 1:385 (entsprechend dem reinen Altersrisiko einer 35jährigen) ergaben und nichts mit einer Trisomie 21 zu tun hatten.

Die Anwendung des neuen  $\beta$ -hCG zeigte sich vorteilhaft trotz der vergleichbaren Rate an falsch-positiven Ergebnissen mit der herkömmlichen Bestimmungsmethode nach WALD, da hier erhöhte Risiken auch auf andere Störungen des Gestationsgeschehens hinweisen können. Außerdem ist es möglich, bei der Anwendung des  $\beta$ -hCG auf die Bestimmung des  $\text{fE3}$  zu verzichten, was zur Dämpfung der Kosten nicht unberücksichtigt bleiben sollte. Die Durchführung der  $\beta$ -hCG-Bestimmung ist einfach und zuverlässig, da die Seren in der Regel nicht verdünnt werden müssen.

## Die Bedeutung des neuen Tumormarkers CYFRA 21-1 bei Blasenkarzinomen im Vergleich zu TPA und TPS

C. Schambeck<sup>1</sup>, P. G. Fabricius<sup>2</sup>, P. Stieber<sup>1</sup>, U. Hasholzner<sup>1</sup>, K. Hofmann<sup>1</sup>, H.-M. Jansen<sup>1</sup>, N. Schmeller<sup>2</sup>, A. Fatéh-Moghadam<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Klinische Chemie<sup>1</sup> und Urologische Klinik<sup>2</sup>,  
Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München

Bislang war für die Verlaufskontrolle von Blasenkarzinomen kein zufriedenstellender Tumormarker verfügbar. Allenfalls TPA schien

für den follow-up in Betracht zu kommen. Aufgrund der sehr unterschiedlichen Vergleichskollektive wurden Sensitivitäten zwischen 24% und 72% für TPA beschrieben (1, 2). Studien aus Ägypten berücksichtigen zudem infolge der epidemischen Bilharziose vor allem Plattenepithelkarzinome, während es sich in über 90% der Karzinome im europäischen Raum um Urothelkarzinome handelt (3).

Wir untersuchten die klinische Bedeutung des neuen Tumormarkers CYFRA 21-1 verglichen mit TPA und TPS beim Blasenkarzinom. CYFRA 21-1 charakterisiert ein lösliches Fragment des Cytokeratins 19, das mittels des ELISA von Boehringer Mannheim gemessen wird. Die Bestimmung von TPA bzw. TPS basiert auf dem IRMA von Sangtec medicals bzw. dem IRMA von Beki Diagnostics.

Die Analysen wurden anhand tiefgefrorener Seren (-80°C) von insgesamt 88 Karzinompatienten aller UICC-Stadien durchgeführt. Unser Vergleichskollektiv umfaßt 73 Patienten mit ausschließlich benignen, urologischen Erkrankungen (Harnwegsinfekte, Nieren- und Harnleitersteine etc.).

Bei einer 95%igen Spezifität (Cut-off für CYFRA 21-1: 2,6 ng/ml, für TPA: 165 U/l, für TPS: 144 U/l) gegenüber dem Vergleichskollektiv fanden wir eine Gesamtsensitivität von 38% für CYFRA 21-1 vs. 27% bzw. 23% für TPA und TPS. Betrachtet man nur die prognostisch ungünstigen, muskelinvasiven Karzinome, so resultiert für CYFRA 21-1 eine Sensitivität von 56% vs. 42% und 31% für TPA und TPS. CYFRA 21-1 zeigte darüber hinaus eine Abhängigkeit vom Stadium der Erkrankung. Somit stellt CYFRA 21-1 gegenüber TPA und TPS den geeigneteren Marker bei Blasenkarzinomen dar.

#### Schrifttum:

- (1) Adolphs H.-D. et al. (1984) Significance of Plasma Tissue Polypeptide Antigen Determination for Diagnosis and Follow-up of Urothelial Bladder Cancer. *Urological Research* 12: 125-128.
- (2) Schwemmer B. et al. (1985) Simultaneous Determination of Six Tumor Markers in Patients With Prostatic Carcinoma and Bladder Tumors. *Urological Research* 13: 133-136.
- (3) El-Ahmadly O. et al. (1992) The Clinical Value of Tissue Polypeptide Antigen for Cancer Patients: Egyptian Experiences. In Klapdor R. (ed): *Tumor Associated Antigens, Oncogenes, Receptors, Cytokins in Tumor Diagnosis and Therapy at the Beginning of the Nineties*. W. Zuckschwerdt Verlag München 1992.

## Der Labeling Index (LI%) als prognostischer Faktor beim multiplen Myelom-Vergleich einer neu entwickelten durchflußzytometrischen Methode mit dem Verfahren am Fluoreszenzmikroskop

C. Schambeck<sup>1</sup>, A. Fateh-Moghadam<sup>1</sup>, R. Bartel<sup>2</sup>, R. Lamerz<sup>3</sup>, M. Wick<sup>1</sup>  
Institut für Klinische Chemie<sup>1</sup>, 3. Medizinische Klinik<sup>2</sup>,  
2. Medizinische Klinik<sup>3</sup>, Klinikum-Großhadern,  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Zur Zeit gibt es keinen Befund, der für sich alleine die frühzeitige Diagnose eines multiplen Myeloms zuläßt und eine Aussage über Prognose und Verlaufsbeurteilung der Erkrankung ermöglicht. Im Einzelfall ist die Entscheidung über den adäquaten Therapiebeginn sehr schwierig, da zwischen benigner monoklonaler Gammopathie, Smouldering Myeloma und dem Beginn eines progredient verlaufenden Myeloms nicht immer sicher zu differenzieren ist. Nach Untersuchungen der letzten Jahre hat sich die Proliferationskinetik als prognostischer Indikator bewährt.

Hierfür eignet sich der LI%, der den prozentualen Anteil der Plasmazellen in der S-Phase bezogen auf alle Plasmazellen angibt. An der Mayo-Clinic wurde 1985 der BU-1-Ak entwickelt, der sich auch ohne Denaturierung an das während der S-Phase in die replizierende DNA eingeschleuste Bromdesoxyuridin anlagert. Bei BU-1

werden Nukleasen verwendet, und es entfällt die sonst übliche Denaturierung. Zellmorphologie und immunologische Marker bleiben erhalten.

Wir entwickelten mit diesem Antikörper eine durchflußzytometrische Methode zur Bestimmung des LI%. Anhand des Knochenmarkes von 44 Patienten testeten wir Präzision und Wertigkeit der Durchflußzytometrie im Vergleich zur etablierten Methode am Fluoreszenzmikroskop. Ferner waren Gegenstand unserer Untersuchungen die Beziehung des LI% zu klinischem Status, B-2-Mikroglobulin i. S. und histologischer Klassifikation nach Bartl. Es zeigt sich, daß der LI% neben B-2-Mikroglobulin und dem monoklonalen Immunglobulin selbst einen wertvollen Parameter hinsichtlich eines Therapieentscheides darstellt.

## Clot-Tutor®, Computer-Lernprogramm Gerinnung – Software Version 2.7

B. Schaper<sup>1</sup>, D. Gulba<sup>2</sup>, J. Kienast<sup>3</sup>, B. Kehnen<sup>4</sup>, H. Lind<sup>4</sup>, R. Seitz<sup>5</sup>, M. Sosada<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Krankenhaus Nordstadt, Hannover

<sup>2</sup> Klinikum Rudolf Virchow d. Univ. Berlin-Buch

<sup>3</sup> Med. Klinik u. Poliklinik der Westf. Wilhelms-Univ., Münster

<sup>4</sup> Behringwerke AG (MIV), Liederbach

<sup>5</sup> Med. Zentrum f. Innere Medizin, Philipps-Univ., Marburg

<sup>6</sup> Med. Hochschule Hannover, Hannover

In den letzten Jahren hat die Kenntnis der Vernetzung gerinnungsphysiologischer Vorgänge mit entzündlichen und immunologischen Prozessen enorm zugenommen. Viele experimentell beschriebene Mechanismen haben inzwischen klinische Relevanz erlangt, insbesondere was die Prophylaxe und Therapie von thrombembolischen Ereignissen anbelangt. Dem behandelnden Arzt wie auch dem nicht primär hämostaseologisch orientierten Labor fällt es nicht leicht, auf diesem traditionell „gefürchteten“ Wissensgebiet Schritt zu halten und dabei unmittelbar Anwendbares von eher Theoretischem zu trennen.

Der CLOT-Tutor ist ein völlig neuartiges Medium zur raschen Informationsvermittlung auf dem Gebiet der klinischen Haemostaseologie. Klassische Elemente des wissenschaftlichen Journals wie Fach-Lektorat und Redaktionskonferenz wurden hierzu mit den Möglichkeiten moderner Computer-Oberflächen verbunden. Das Textmaterial der Originalpublikationen wird in Referaten aufgearbeitet und in Form von didaktisch begründeten Assoziationsketten gegliedert. Dem Anwender steht somit ein individueller Weg der Wissensakquisition zur Verfügung.

Der Clot-Tutor erscheint einmal jährlich und wird in Zusammenarbeit mit namhaften, klinisch tätigen Haemostaseologen fortlaufend ergänzt bzw. überarbeitet.

## Vergleichende Studie zur Evaluation kommerziell erhältlicher Columbia Blutagarbasismedien

H.-P. Schau, U. Warweg

MLVUA Thüringen, Hygieneinstitut; Fachbereich

Med. Mikrobiologie, Haus VI, Nationales Referenzzentrum für Clostridien, Nordhäuser Str. 74, O-5010 Erfurt

Eine vergleichende Studie von herkömmlichen Columbia Blutagarbasismedien mit den neu entwickelten Blutagarbasismedien von DIFCO, Columbia EH (erhöhte Hämolyse) und Columbia No. 2, wurde mit einer repräsentativen Auswahl klinisch relevanter Stämme durchgeführt.

In die Studie wurden sowohl Wild- als auch Referenzstämme verbreiteter aerober und fakultativ anaerober Mikroorganismen einbezogen.

Ferner wurde besonderer Wert auf die Bewertung der DIFCO Blutagarbasismedien zur Kultivierung von Anaerobiern gelegt.

Beurteilt wurden sowohl das Wachstum anhand der Koloniezahl und Koloniegröße sowie bei hämolyisierenden Keimen die arttypische Hämolyse, der Hämolysegrad und die Brillanz der Hämolysezonen.

## Verdauungsstörungen/Oberbauchschmerz – Ist das Pankreas beteiligt?

### Pankreatische Elastase 1 (ELISA) zur Diagnostik der chronischen und/oder akuten Pankreatitis

U. Scheefers-Borchel<sup>1</sup>, H. Scheefers<sup>1</sup>, A. Michel<sup>1</sup>, H. Will<sup>1</sup>, R. Arnold<sup>2</sup>, A. Sziegoleit<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ScheBo Tech Medizinisch-Biologische

Forschungsgesellschaft mbH, Wettenberg 2

<sup>2</sup> Medizinische Universitätsklinik der Philipps-Universität, Marburg

<sup>3</sup> Institut für Medizinische Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität, Gießen

Die menschliche pankreatische Elastase 1 (E1), übersteht die Darmpassage unbeschadet und ist im Stuhl als Protein zu quantifizieren. Die Konzentration im Stuhl spiegelt die exokrine Pankreasfunktion wider. In der akuten Entzündungsphase wird E1 retrograd in das Serum abgegeben, so daß die Quantifizierung der E1 im Serum die Diagnose oder den Ausschluß einer akuten Pankreatitis erlaubt. Im Vergleich zu den gebräuchlichen Parametern der Pankreasdiagnostik: Amylase und Lipase für die akute Pankreatitis, Chymotrypsinbestimmung im Stuhl, für die Pankreasinsuffizienz, bietet die quantitative Bestimmung der E1 entscheidende Vorteile: (1) E1 ist absolut pankreasspezifisch. (2) E1 ist darmstabil, d. h. die Konzentration der E1 im Stuhl spiegelt in idealer Weise die Sekretionsleistung des Pankreas wider (Diagnose oder Ausschluß einer Pankreasinsuffizienz). (3) Eine Substitutionstherapie hat keinen Einfluß auf das Testergebnis. (4) E1 tritt wie die übrigen Pankreasenzyme während akuter Entzündungsphasen ins Blut über, bleibt darin aber länger nachweisbar als z. B. Lipase oder Amylase, so daß ein akuter Krankheitsschub auch 3 bis 4 Tage nach Krankheitsbeginn noch erkennbar ist. Zur Bestimmung der E1 stehen zwei ELISA, basierend auf monoklonalen Antikörpern, zur Verfügung. Diese eignen sich sowohl für die Quantifizierung der E1 im Serum, zur Diagnostik einer akuten Pankreatitis oder eines akuten Schubes einer chronischen Pankreatitis (E1-Serum-Test), als auch zur Quantifizierung der E1 im Stuhl (E1-Stuhl-Test), um eine chronische Pankreatitis, sowie eine Pankreasinsuffizienz im Rahmen der cystischen Fibrose zu erkennen oder auszuschließen. Beide ELISA (automatisierbar) stehen ab sofort zur routinemäßigen Anwendung zur Verfügung.

Schrifttum:

U. Scheefers-Borchel, H. Scheefers, R. Arnold, P. Fischer und A. Sziegoleit: Lab. med. 16:427–432 (1992).

## Quantitative Bestimmung (ELISA) der Pyruvatkinase Typ Tumor M2

### Ein neuer, genereller Tumormarker

U. Scheefers-Borchel<sup>1</sup>, H. Scheefers<sup>1</sup>, A. Michel<sup>1</sup>, H. Will<sup>1</sup>, G. Fischer<sup>2</sup>, N. Dahlmann<sup>3</sup>, R. Laumen<sup>4</sup>, S. Mazurek<sup>5</sup>, E. Eigenbrodt<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ScheBo Tech GmbH, Wettenberg 2

<sup>2</sup> Zentrum für Pathologie, Universität Göttingen

<sup>3</sup> Inst. für klinische Biochemie, Universität Bonn

<sup>4</sup> Klinik Seltersberg Universität Gießen

<sup>5</sup> Inst. für Biochemie, Veterinärmedizin Universität Gießen

Untersuchungen bei einer Vielzahl von verschiedenen Tumoren der Ratte und des Menschen zeigten, daß in allen Tumoren ein Isoenzym der Pyruvatkinase, Typ Tumor M2 (TU M2-PK), in erhöh-

ter Konzentration auftritt. Es besteht eine Korrelation zwischen der Malignität von Tumoren und dem Gehalt an Tu M2-PK (Eigenbrodt et al. 1992). ScheBo Tech hat einen ELISA entwickelt, mit dem die Tu M2-PK im Serum nachgewiesen werden kann. Dieser Test basiert auf monoklonalen Antikörpern, die hoch spezifisch für die Tu M2-PK sind und deshalb nicht mit den anderen Isoenzymen der Pyruvatkinase (Typ L, R, M1 und M2) reagieren. Die Variationskoeffizienten der Intraassay- (n = 30) und der Interassay-Präzision (n = 10) betragen 3,5% bzw. 5,5%. Eine Untersuchung an 800 Seren von Lungenpatienten zeigt, daß bei verschiedenen malignen Erkrankungen der Lunge ein Anstieg der TU M2-PK nachweisbar ist. Die Sensitivität des Tests beträgt bei Tumoren der Lunge für das Adenokarzinom 71%, für das Plattenepithelkarzinom 68% und für das kleinzellige Bronchialkarzinom 50%. Für das gesunde Kontrollkollektiv wurde eine Spezifität von 95% bei einem cut off von 17 U/ml Serum festgelegt. Bei benignen Erkrankungen sowie bei Entzündungen der Lunge war kein signifikanter Anstieg der TU M2-PK nachweisbar. In einer weiteren Studie wurden 102 Seren von Patienten mit anderen Tumoren untersucht. Hierbei wurden folgende Sensitivitäten bestimmt: Mamma-Ca: 74%, Prostata-Ca: 76%, Rectum-Ca: 75%, Colon-Ca: 87%, Magen-Ca: 58%. Erste Studien belegen, daß der ELISA auch zur Verlaufskontrolle bei der Tumorthherapie geeignet ist. Der ELISA (automatisierbar) steht ab sofort zur routinemäßigen Anwendung zur Verfügung.

Schrifttum:

E. Eigenbrodt, M. Reinacher, U. Scheefers-Borchel, H. Scheefers, R. Friis: Critical Reviews in Oncogenesis, 3 (1, 2):91–115 (1992).

S. Mazurek, U. Scheefers-Borchel, H. Scheefers, A. Michel, G. Fischer, N. Dahlmann, R. Laumen und E. Eigenbrodt: notabene medici, 23, März 1993.

## Angiotensinase A: ein Progressions-Parameter bei Nierenerkrankungen

J. E. Scherberich, J. Wiemer, C. Herzig, W. Schoepp  
Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Abt. Nephrologie,  
W-6000 Frankfurt am Main

Eine als Aminopeptidase A bezeichnete Protease kommt in der menschlichen Niere in proximalen Tubulusepithelien sowie in Podozyten und Endothelien von Glomeruli vor (1). Das Enzym von aus normalen Nieren isolierter Glomeruli baute spezifisch Angiotensin II ab und wurde daher als Angiotensinase A (ATA) bezeichnet. Um zu klären, welche möglichen Beziehungen zwischen verschiedenen Graden einer Niereninsuffizienz und der renalen Gewebsexpression und Ausscheidung der ATA bestehen, haben wir das Enzym aus Nieren und aus Harnkonzentrat Nierenkranker isoliert, charakterisiert und polyklonale Antikörper (Kaninchen) erzeugt. Als Verfahren dienten Methoden der Differential/Dichtegradienten-Zentrifugation, Lektinaffinitätschromatographie und FPLC einschließlich der hydrophoben Interaktionschromatographie (2). ATA aus Nieren fand sich in zwei Isoformen mit Mr in der nativen PAGE von 212 kDa (ATA-I) und 118 kDa (ATA II), bzw. 117 und 127 kDa in der SDS-PAGE und unterschiedlicher Km (2,05 mMol bzw. 0,87 mMol Substrat). Antikörper gegen Isoform I reagierten nur mit Tubuli, Antikörper gegen ATA II mit Tubuli und Glomeruli; Antikörper gegen ATA II reagierten auch spezifisch mit kultivierten menschlichen Podozyten (FACS-Analyse, G. M. Haensch, Univers. Heidelberg). Dagegen fand sich in pathologischen Harnproben nur eine ATA vom Mr 199 kDa (Superdex HP-Säule) bzw. von 96 kDa in der SDS-PAGE. ATA aus Nieren war Ca<sup>++</sup> aktivierbar (5 mMol), der Substratumsatz kompetitiv durch Angiotensin II hemmbar. Die Ausscheidung der ATA im Harn war mit der Kreatinin-clearance negativ korreliert (RS: -0,65; 2p: 0,0017, n = 24) und die ATA, damit das einzig bisher bekannte Membranenzym, das mit zunehmender Funktionsverschlechterung vermehrt eliminiert wurde. In der quantitativen Bildanalyse von Nierenschnitten von Patienten mit unterschiedlichen Graden einer Niereninsuffizienz nahm zwar die glomeruläre Gesamt-ATA-Aktivität mit zunehmender Niereninsuffizienz ab, jedoch pro Restnephron adaptiv zu: nur



überlebende, hypertrophierte Nephronen wiesen hohe ATA-Aktivität auf. Wahrscheinlich unterbindet die ATA in einer resistenten Nephron-Population, die Angiotensin II vermittelte Mehrythese extrazellulärer Matrixsubstanz (u. a. Kollagen I, III und IV) und damit eine progrediente Glomerulosklerose. Hohe proteolytische ATA-Aktivität wäre demnach ein protektives Prinzip überlebender Nephronen bei sonst chronisch fortschreitenden Nierenerkrankungen (3).

#### Schrifttum:

- 1) Kugler P, Wolf G, Scherberich JE; Histochemistry 83, 337-341 (1985).
- 2) Herzig CM, Schoeppe W, Scherberich JE; J. Chromatogr. 625, 73-82 (1992).
- 3) Scherberich JE, Wolf G, Schoeppe W; Eur. J. Clin. Pharmacol. 1993 (im Druck).

## Evaluierung des Blutzuckermeßsystems Glucometer ELITE: Präzision, Richtigkeit sowie Einfluß von Hämatokrit und Temperatur

Harald Schlebusch<sup>1</sup>, Marianne Sorger<sup>2</sup>, Iris Pfaffenholz<sup>1</sup>, Helga Harnack<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Frauenklinik der Universität Bonn und <sup>2</sup> Medizinische Poliklinik

Glucometer Elite (BAYER Diagnostics) ist ein kleines, 50 g schweres Gerät zur Blutzucker selbstkontrolle, das die Glucosekonzentration in einem Blutvolumen von 3 µl nach einem elektrochemischen Meßprinzip bestimmt: Die bei der Oxidation von Glucose durch immobilisierte GOD entstehenden Elektronen werden auf einen Acceptor übertragen (Kaliumhexacyanoferrat) und anschließend mittels einer Elektrode gemessen. Für die Präzision in der Serie (n = 20) fanden wir bei Verwendung venöser Vollblutproben VK zwischen 2,7% und 4,3% (Hyper/Hypoglykämie). Für die Präzision von Tag zu Tag (n = 15) ergaben sich VKs < 3%. Das System mißt linear im Bereich 40-400 mg/dl.

Beim Vergleich von 100 Kapillarblutproben (Blutzucker: 46-432 mg/dl) fanden wir ausgezeichnete Übereinstimmungen mit der naßchemischen Referenzmethode (Hexokinase) für Konzentrationen < 150 mg/dl. Darüber hinaus lagen die Werte im Mittel um 6% zu hoch, was durch eine geänderte Kalibration verbessert werden sollte (Gesamt-Regression  $y = -8,8 + 1,13x$ ,  $r = 0,995$ ).

Steigt der Hämatokritwert einer Probe um 10%, so vermindern sich die gemessenen Glucosewerte um 6-10% (abhängig vom Meßbereich). Der bei Sensor-Systemen zu erwartende Einfluß der Temperatur auf das Ergebnis wird zwischen 14° und 32° wirksam kompensiert.

Das System erlaubt eine einfache und zuverlässige Blutzucker selbstkontrolle; die Hämatokritabhängigkeit der Ergebnisse schränkt jedoch seine Verwendung auf Intensiv- oder Neugeborenenstationen ein.

## Antikörper gegen Gliadin und gegen Endomysium zur Diagnose der Gluten-sensitiven Enteropathie

W. Schlumberger, S. Olbrich, E. Müller-Kunert, K. Sonnenberg, W. Stöcker

Fragestellung: Bei Gluten-sensitiver Enteropathie (GSE) lassen sich häufig Antikörper gegen Gliadin (1) und Endomysium (2) nachweisen. Beide Antikörper kommen auch bei der Dermatitis herpetiformis Duhring vor, die oft mit einer GSE assoziiert ist. Es wurde ein neuer, optimierter Anti-Gliadin-ELISA evaluiert und außerdem untersucht, welche Gewebe sich für den Nachweis der

Endomysium-Antikörper mit der indirekten Immunfluoreszenz eignen.

Methoden: Antikörper gegen Gliadin wurden mit einem neu entwickelten Enzymimmunttest bestimmt, Antikörper gegen Endomysium durch indirekte Immunfluoreszenz an unfixierten Gefrierschnitten 20 verschiedener Primaten- und Nagetiergewebe. Als Zweitantikörper diente Peroxidase- bzw. FITC-gekoppelte Antihuman-IgA, -IgG oder -IgM (Ziege).

Ergebnisse: Bei aktiver GSE (n = 14) traten Antikörper gegen Gliadin in 93% auf (Remission 40%, Blutspender 5%), und Antikörper gegen Endomysium in 64% (Remission 20%, Blutspender 0%). Gliadin-Antikörper gehörten vorwiegend den Ig-Klassen IgA und IgG an, Endomysium-Antikörper bestanden fast immer aus IgA. IgM-Antikörper gegen Gliadin lagen nur im aktiven Stadium vor (29%), IgM-Antikörper gegen Endomysium waren in keinem Falle nachweisbar. IgA-Antikörper ausschließlich gegen Gliadin traten nur in 7% und gegen Endomysium nur in 14% der Fälle auf, gegen beide Antigene aber in 50%. Antikörper gegen Endomysium wurden durch zugesetztes Gliadin nicht neutralisiert. Endomysium-Antikörper ließen sich am deutlichsten mit fetalem Primatenmagen darstellen, sie zeigten eine typische membranöse Fluoreszenz der glatten Muskulatur, sowie eine wabenförmige Anfärbung der Lamina propria mucosae. Weitere geeignete Primatenorgane waren fetaler Ösophagus, fetaler Darm, adulte Leber und Nebenniere. Nagetierorgane reagierten meist nur schwach.

Diskussion: Die parallele Bestimmung der Antikörper gegen Gliadin und gegen Endomysium trägt wesentlich zur Diagnose einer Gluten-sensitiven Enteropathie oder einer Dermatitis herpetiformis Duhring bei. Beide Antikörper sind nicht miteinander korreliert. Maßgeblich ist die Antikörper-Klasse IgA. Für den Nachweis der Endomysium-Antikörper sollten Nagetierorgane nicht verwendet werden, da sie schwächer reagieren als Primatengewebe und mit heterophilen Antikörpern verwechselt werden können. Bei Ösophagus kann es zur Verwechslung mit Antikörpern gegen glatte Muskulatur kommen. Antikörper gegen Endomysium und gegen Retikulin sind weitgehend identisch (3).

#### Schrifttum:

- 1) A. Bürgin-Wolff et al.; Eur. J. pediatr. 148 (1989), 496-502.
- 2) T. P. Chorzelski et al.; Ann. N. Y. Acad. Sci. 20 (1983) 325-334.
- 3) M. Meurer und S. Kárpáti; Hautarzt 42 (1991) 193.

## Vollmechanisierte Urineiweißdifferenzierung am Hitachi 911

Dirk Schmidt, W. Hofmann, W. G. Guder  
Institut für Klinische Chemie am Städtischen Krankenhaus München-Bogenhausen

Für die quantitative Bestimmung von Einzelproteinen im Urin zur Differenzierung von Nierenerkrankungen werden zunehmend immunnephelometrische und -turbidimetrische Verfahren eingesetzt (1, 2). Um eine größere Zahl von Untersuchungen vollmechanisiert durchführen zu können, haben wir die Bestimmungen von Albumin, IgG,  $\alpha$ 1-Mikroglobulin (immunturbidimetrisch), Gesamteiweiß (turbidimetrisch),  $\beta$ -NAG (kinetisch) und Kreatinin (Jaffé) an das Analysengerät Hitachi 911 adaptiert. Das Gerät bietet die Möglichkeit, durch automatische Probenverdünnungen und kombinierte Anwendung von nichtlinearen und linearen Kalibrationen das gesamte Programm abzudecken. Die Meßbereiche sind so aufeinander abgestimmt, daß der Antikörperverbrauch (< 20 µl/Test) und die Anzahl der Wiederholungsanalysen gering ist. Automatische Probenverdünnungen werden durchgeführt bei Überschreitung folgender Konzentrationen: Gesamteiweiß > 7500 mg/l, Albumin > 2300 mg/l, IgG > 600 mg/l,  $\alpha$ 1-Mikroglobulin > 80 mg/l. Dieser große Meßbereich ist nur möglich, wenn für jede Meßgröße zwei Verfahren mit unterschiedlichen Meßbereichen adaptiert werden und eine Vorsortierung der Proben aufgrund des Proteinteststreifenresultates stattfindet. Eine manu-

elle Probenvorverdünnung muß erst bei Proteinurien über 40 g/l durchgeführt werden. Der Probendurchsatz bei Durchführung eines Untersuchungsspektrums liegt bei 30–40/Stunde, wobei die Durchführung eines Untersuchungsspektrums ca. 20 Minuten dauert. Die Präzisionen liegen im Bereich der von den Richtlinien der BÄK geforderten Werte für Serumproteine. Das Analysensystem erfüllt damit die Anforderungen, ein komplexes Untersuchungsspektrum mit verschiedenen Verdünnungsstufen vollmechanisiert und kostengünstig abzuarbeiten.

#### Schrifttum:

- 1) Hofmann, W. & Guder, W. G. (1989) A Diagnostic Programme for Quantitative Analysis of Proteinuria. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 27, 589–600.
- 2) Hofmann, W., Rossmüller, B., Guder, W. G. & Edel, H. H. (1992) A New Strategy for Characterizing Proteinuria and Haematuria from a Single Pattern of Defined Proteins in Urine. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 30, 707–712.

## Neue Entwicklungen in der automatisierten multifluorophoren DNA Analytik

Gerald Schmidt

Applied Biosystems GmbH, Brunnenweg 13, 6108 Weiterstadt

Während sich die Anwendung der multifluorophoren Laser-Scanning-Technologie zunächst auf die nicht radioaktive DNA Sequenzierung (1, 2) konzentrierte, wurden die Möglichkeiten dieser Technologie auch für weitere Bereiche der molekularen DNA Analytik erschlossen. So wurde für die DNA Sequenzierung eine neue Markierungsstrategie entwickelt (3); der Einsatz von basenspezifisch Fluoreszenzmarkierten dideoxy-Nukleotide führt zu einer 3'-Markierung ausschließlich der gewünschten DNA Fragmente (keine False Stop oder Termination Sites). Darüber hinaus ermöglicht diese Methode eine „Ein-Topf-Sequenzierungs-Reaktion“, die den manuellen Aufwand wesentlich reduziert. Von der PCR ausgehend, wurde mittels dieser 3'-Terminator-Markierung des Cycle Sequencing Konzept entwickelt. Diese Methode bedeutet für die DNA-Sequenzierung ähnliche Vorteile wie die PCR für die DNA-Amplifizierung. Sie ermöglicht selbst bei geringsten DNA-Mengen auch schwierige DNA-Sequenzen zu analysieren. Der Einsatz der multifluorophoren Technologie in der Quantifizierung und Größenbestimmung von DNA Fragmenten macht bei der Elektrophorese die Verwendung eines internen Standards möglich. Diese Methode garantiert eine exakte und reproduzierbare Daten-Auswertung, da sie unabhängig ist von Gelartefakten und Mobilitätsunterschieden verschiedener Gelspuren. Für verschiedenste Anwendungsgebiete wurden Methoden entwickelt, wie etwa die Erkennung genetisch bedingter Krankheiten durch spezifisch markierte Multiplex PCR, die HLA-Typisierung und die quantitative Analyse von mRNA Transkripten zu (T-Cell, -Östrogen) Rezeptor Studien.

#### Schrifttum:

- 1) Smith, I. M. et al.: *Nature* (1986) 321:674–679.
- 2) Stein, v. J.: *Labor-Medizin* (1990) 13:315–318.
- 3) Schmidt, G.: *Forum Mikrobiologie* (1990) 4:220–224.

## Leucognost® Kits- Naphthol AS-D-Chloracetatesterase und Sudanschwarz

Ute Schmidt

E. Merck, Forschung Diagnostica, Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

Bei hämatologischen Erkrankungen kommt der genauen Typisierung der Zellen wachsende Bedeutung zu. Die Zuordnung der Zellen mit klassischen hämatologischen Färbemethoden ist nicht in allen Fällen möglich. Enzymreaktionen zur Darstellung von Per-

oxidasen, Esterasen, Phosphatasen und PAS-positive Strukturen sind bei der Klassifikation akuter Leukämien von Bedeutung.

Mit Leucognost® können semiquantitative Aktivitäten in leukämischen Zellen bestimmt werden. Die Leucognost® Reihe, die bis jetzt Kits für den Nachweis der unspezifischen Esterase, Peroxidase, PAS-positiver Strukturen, alkalischer und saurer Phosphatase umfaßt, wird durch Kits für die spezifische Esterase und Sudanschwarz erweitert. Die Chloracetatesterase-Reaktion ist spezifisch für Esterase, die in granulozytären Zellen (Segmentkernige, einschließlich Promyelozyten und z. T. in Myeloblasten) nachgewiesen werden kann. Die Esteraseaktivitäten sind leuchtend rot dargestellt. Die lipophilen Strukturen in den Segmentkernigen werden mit Sudanschwarz dargestellt. Vorteile der Leucognost® Farbesets sind neben der Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten die problemlose, rasche und zuverlässige Testdurchführung auch in der Hand des ungeübten Anwenders.

## Die Bestimmung von Zink, Kupfer und Aluminium in den korpuskulären Bestandteilen des Blutes bei Patienten mit präterminaler und terminaler Niereninsuffizienz

Y. Schmitt, V. Moser und J. D. Kruse-Jarres  
Institut für Klinische Chemie und Labormedizin,  
Katharinenhospital, D-7000 Stuttgart

Spurenelemente sind von essentieller Bedeutung. Die exakte Diagnose eines Mangels anhand der Plasmakonzentration ist problematisch, da der Austausch der Spurenelemente innerhalb der Kompartimente die Festlegung auf die Indikatormatrix Plasma erschwert. In der vorliegenden Arbeit wurde anhand eines Kollektivs von Patienten mit Niereninsuffizienz untersucht, ob die intrazelluläre Bestimmung von Zink, Kupfer und Aluminium abweichende Ergebnisse im Vergleich zur Bestimmung im Plasma ergibt. Als Ergebnis kann belegt werden, daß die intrazellulären Gehalte vom Plasmawert abweichen. Der Zinkspiegel der Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten liegt im mittleren bis oberen Normbereich. Der Kupferspiegel der Erythrozyten ist erniedrigt, derjenige der Thrombozyten erhöht, während die Leukozyten kein Kupfer aufweisen. Der leicht erhöhte Aluminiumgehalt der Erythrozyten scheint auf die übrigen Blutzellen übertragbar zu sein. Bisher wurden Funktionsstörungen im Stoffwechsel von urämischen Patienten auf das urämische Milieu bzw. die Dialyse an sich bezogen. Die vorliegenden Ergebnisse wiesen jedoch darauf hin, daß die auftretenden Symptome zum Teil auf Störungen des Spurenelementhaushaltes zurückgeführt werden können. Im Rahmen der erhöhten Fragilität der Erythrozyten und ihrer verkürzten Lebensdauer kann dem erniedrigten Kupfergehalt eine wesentliche Bedeutung zukommen. Die bei diesen Patienten ungeklärte Thrombozytopenie in Zusammenhang mit einer erhöhten Aluminiumbelastung bringen.

## Gerinnungsaktivierung bei Retransfusion von Drainagenblut nach Knieprotheseoperationen

Y. Schmitt<sup>1</sup>, M. Stampel<sup>2</sup>, A. Henn-Beilharz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Klinische Chemie und Labormedizin

<sup>2</sup> Zentrum für Innere Medizin

<sup>3</sup> Klinik für Anästhesiologie, Katharinenhospital, D-7000 Stuttgart

Die Transfusion von Drainagenblut nach Gelenkersatzoperationen stellt einen wichtigen Baustein im autologen Transfusionskonzept dar. Im Rahmen von Knie-TEP-Operationen wurde das Gerin-

nungspotential der autologen Bluteinheit und die Auswirkungen der Retransfusion auf den Patienten untersucht und mit einem Kollektiv solcher Patienten verglichen, die einer Knie-TEP-Operation ohne Retransfusion unterzogen wurden. Intraoperativ bestand Blutleere, postoperativ wurde über das Consta Vac System (Fa. Stryker, USA) retransfundiert. Vor Drainagenanschluß wurden 5000 IE-konventionelles Heparin in das System gegeben. In der Retransfusionskonserve und im Patienten (vor und nach Retransfusion) wurden das Blutbild, die Prothrombinzeit, die partielle Thromboplastinzeit, das Fibrinogen nach Clauss, der Thrombin-Antithrombin-Komplex, die Prothrombinfragmente, die Fibrinmonomere und der Plättchenfaktor 4 gemessen. Bereits postoperativ kommt es zu einer Aktivierung der Gerinnung in vivo. In der Konserve selbst tritt eine ausgeprägte Gerinnungsaktivierung ein, die auch durch die Zugabe von Heparin nicht verhindert werden kann. Nach Retransfusion des Drainagenblutes kommt es zu einer Zunahme der Gerinnungsaktivierung in vivo. Es kann die Schlußfolgerung gezogen werden, daß bei Retransfusion von Drainagenblut eine Menge von 500 ml Volumen nicht überschritten werden sollte. Die Patienten sind nach der Retransfusion bezüglich der Gerinnungsaktivierung sorgfältig zu überwachen und bedürfen einer adäquaten Heparintherapie. Für die Überwachung der Gerinnungsaktivierung eignet sich besonders der quantitative Test zur Bestimmung der Fibrinmonomere, der an klinisch-chemischen Analysenautomaten einfach durchgeführt werden kann.

## Cyfra 21-1: Ein neuer Tumormarker für Bronchialkarzinome

B. Schmolke, W.-H. Peters

Immunologische Laboratorien, Berlin, Kliniken Zschadraß, Zschadraß

Während für das kleinzellige Bronchialkarzinom mit der neuron-spezifischen Enolase (NSE) ein klinisch bewährter Tumormarker zur Verfügung steht, ist ein gleichwertiger Marker für die verschiedenen nicht-kleinzelligen Formen bisher nicht bekannt. Erst seit kurzem steht hier ein neuer Tumormarker zur Verfügung, das Cyfra 21-1-Antigen.

Im Rahmen erster orientierender Untersuchungen überprüften wir die neue radioimmunologische Meßmethode (CENTOCOR) bei 90 Patienten mit nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen im Vergleich zu 120 gesunden Probanden und 80 Patienten mit nicht-malignen Lungen- und Lebererkrankungen.

Bei einem gewählten Cut-off-Wert von 2,3 ng/ml für Cyfra 21-2, entsprechend der 95,8%-Spezifität gegenüber gesunden Probanden, finden sich bei den Patienten mit nicht-malignen Erkrankungen der Lunge bzw. der Leber nur in wenigen Fällen leichte Erhöhungen (< 4,6 ng/ml) der Serumspiegel. Bei nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen liegt der Cyfra-Wert in einem hohen Prozentsatz oberhalb des gewählten Referenzbereichs, insbesondere beim Plattenepithelkarzinom.

Kleinzellige Bronchialkarzinome zeigen immerhin noch in rund einem Drittel der Fälle erhöhte Cyfra-Werte.

Auch bei Lungenmetastasen (nach Mammakarzinom) und beim Ovarialkarzinom ist Cyfra 21-1 in sehr hohen Prozentsätzen eindeutig erhöht.

### Schrifttum:

1. H. Becher: Epidemiologie des Bronchialkarzinoms. Münch. med. Wschr. 134 (1992) 569-574.
2. WHO. The World Health Organization: Histological typing of the lung tumors. 2nd Ed. Am J. Clin. Pathol. 77 (1982) 123-136.

## Optimierte Methode zur Bestimmung des Angiotensin I-Converting-Enzyms

E. Schnaith, W. Rick

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, 4000 Düsseldorf 1

Die Bestimmung der Aktivität des Angiotensin I-Converting-Enzyms (ACE, Kininase II, EC 3.4.15.1) dient einerseits der Therapie- und Verlaufskontrolle der Sarkoidose, andererseits kann damit die Behandlung der Hypertonie mit Enzyminhibitoren, den sogenannten ACE-Hemmern wie Captopril, kontrolliert werden. Dazu wurden zahlreiche synthetische Substrate beschrieben, deren katalytischer Abbau ein Maß für die Enzymaktivität ist. Ein kontinuierlicher Test mit N-[3-(2-Furyl)-acryloyl]-L-Phenylalanyl-Glycyl-Glycin als Substrat, ein fluorimetrischer Test mit 4-Nitrobenzoyloxycarbonyl-Glycyl-L-Tryptophyl-Glycin als Substrat und ein diskontinuierlicher Test mit Hippuryl-L-Histidyl-L-Leucin als Substrat wurden auf ihre Eignung für die klinisch-chemische Diagnostik überprüft und verbessert. Die Reaktionsgeschwindigkeit, die Michaelis-Konstante und die Aktivierungsenergie ändern sich mit der Chloridionen-Konzentration im Test. Als Optimum wurde 0,5 mol/l bei der kontinuierlichen und der fluorimetrischen Methode sowie 1,1 mol/l beim diskontinuierlichen Verfahren gemessen. Die Aktivierungsenergie beträgt dabei 53 kJ/mol bzw. 56 kJ/mol. Wegen seiner Empfindlichkeit wird das Verfahren mit Hippuryl-L-Histidyl-L-Leucin als Substrat für die klinische Anwendung empfohlen. Es wurden Normbereiche für die 3 Methoden bei 25°C erstellt. Die Histogramme zeigen eine logarithmisch-normale Verteilung der Enzymaktivitäten bei gesunden Probanden. Nach oraler Gabe von Captopril fällt die Aktivität des Angiotensin I-Converting-Enzyms im Serum innerhalb von 60 min auf ein Minimum ab.

## MAGIA®, der vollautomatische Immunoanalyzer für den Einsatz in der Serologie, Endokrinologie, zur Diagnostik von Krebs und Erkrankungen der Schilddrüse

R. Schnapke, D. Leiss, B. Reckmann, W. Rautenberg, A. Heubner

E. Merck, Vertrieb/Forschung Diagnostica, Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

Der MAGIA®-Immunoanalyzer ist ein vollautomatisch arbeitendes System mit magnetischer Partikeltechnologie. Unter Verwendung von „ready-for-use“ Flüssigreagenzien hat das System einen Durchsatz von 100 Tests pro Stunde mit ersten Ergebnissen bereits nach etwa 30 Minuten. Die Möglichkeit der Arbeit als Random Access Analyzer mit bis zu 20 verschiedenen Tests „on board“ macht ihn zu einem sehr interessanten und flexiblen Gerät. Auf dem Probenkarussell können bis zu 36 Positionen mit Primär- oder Sekundärgefäßen besetzt werden. Eine Probenidentifizierung mit einem Barcodeleser ist möglich.

Der Einsatz von magnetischen Partikeln ermöglicht die Durchführung verschiedener Immunoassay-Formate auf dem Gerät, wie z. B. Sandwich-ELISA's, indirekte ELISA's, kompetitive EIA's und  $\mu$ -capture-Tests.

Dem Anwender ist die Möglichkeit gegeben, aus einer Palette von zur Zeit 18 Tests für verschiedene diagnostische Aufgabenstellungen zu wählen.

Als Tumormarker stehen zur Zeit AFP, CEA, PAP und ein ultrasensitiver PSA-Test zur Verfügung. Für die Schilddrüsendiagnostik existieren Tests zur Bestimmung von TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> und freiem T<sub>4</sub>. Für die Endokrinologie sind HCG, FSH, LH, Prolactin und für die Serologie Rubella IgG, Chlamydia IgG und Toxoplasma IgG und IgM vorhanden. Weitere Parameter sind Ferritin für den Eisen-

stoffwechsel und IgE für die Allergologie. Dieses breite Spektrum verfügbarer Tests, das in naher Zukunft erweitert wird, zeigt die vielfältige Einsatzmöglichkeit des Immunoanalyzers.

Im Folgenden stellen wir als Beispiel die gute Korrelation der MAGIA<sup>1</sup>-Teste für TSH und PSA mit entsprechenden kommerziell erhältlichen Tests dar. Die Korrelationsfaktoren liegen für TSH bei 0,99 und für PSA bei 0,979.

## Verhinderung der Progression der Arteriosklerose durch LDL-Apherese bei familiärer Hypercholesterinämie

Hans Schneider<sup>1</sup> und York Schmitt<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zentrum für Innere Medizin, Nephrologische Abteilung,

<sup>2</sup> Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Katharinenhospital, D-7000 Stuttgart

Bei einem 36jährigen Patienten wurde 1989 bei ausgeprägter Angina pectoris coronarangiographisch eine 3-Gefäßerkrankung diagnostiziert. Die weitere Diagnostik ergab eine ausgeprägte Erhöhung des Cholesterins mit Werten um 600 mg/dl. Als deren Ursache konnte eine familiäre heterozygote Hypercholesterinämie gesichert werden. Bei entsprechender Familienanamnese mit cardialem Tod beider Eltern 55- und 57jährig wurde die Indikation zur LDL-Apherese gestellt. Es kommt die Technik der Dextransulfat-Adsorption zur Anwendung, wobei 2 Jahre lang in 14tägigen Abständen 5 L Plasma apherisiert wurden. Daneben hält der Patient eine streng cholesterinarme Ernährung ein und wird medikamentös mit einem CSE-Hemmer (Mevinacor 2 x 20 mg), Quantalan 3-6 Beutel/Tag, ASS 100 mg, Isoket ret. 20 mg, Adalat ret. 2 x 20 mg sowie Concor 5 mg behandelt. Eine Recoronarographie 1991 zeigte kein Fortschreiten der KHK, jedoch eine deutlich bessere LV-Funktion. Klinisch war es zu einer deutlichen Reduktion der Angina-Symptomatik mit erheblich besserer körperlicher Leistungsfähigkeit gekommen. Seit 1991 wird die LDL-Apheresebehandlung wöchentlich durchgeführt, die Gesamtcholesterinwerte sind darunter zwischen 250-300 mg/dl (vor Behandlung), LDL 160-250 mg/dl, HDL 36-43 mg/dl, Lp(a) 85-100 mg/dl zu halten. Um einen Rückgang der schweren KHK-Veränderungen zu erreichen, muß neben der streng eingehaltenen diätetischen und medikamentösen Therapie eine weitere Intensivierung der LDL-Apheresebehandlung erfolgen.

## Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassays für das therapeutische Medikamentenmonitoring

U. Schönefeld, H. Gaul, A. Heubner, H. Henle, D. Kleefeld  
E. Merck, Forschung Diagnostica, Frankfurter Str. 250,  
D-6100 Darmstadt, BRD

Die E. Merck thera-TRAK<sup>®</sup> Tests sind homogene Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassays (FPIA) für die quantitative Bestimmung von Digoxin, Digitoxin, Cortisol, Theophyllin, Phenobarbital, Phenytoin, Primidon, Carbamazepin, Valproinsäure, Amikacin, Gentamicin, Tobramycin und Vancomycin in Serum oder Plasma.

Der Merck VITALAB Eclair<sup>®</sup> in Verbindung mit den E. Merck thera-TRAK<sup>®</sup> Reagenzien ist ein manuelles System, das sich ideal für die Messung kleiner Serien und für Einzelbestimmungen eignet. Die Proben werden 1 + 20 mit Puffer vorverdünnt, während eine Probenvorbehandlung für die Bestimmung von Digoxin, Digitoxin und Cortisol durchgeführt wird. Nach der Messung eines Probenleerwertes erfolgt die Messung nach 6 Minuten Inkubationszeit.

Die VK-Werte der Impräzisionen sind für alle Tests im therapeutischen Bereich deutlich unter 10%. Die Methodenvergleiche mit

kommerziell erhältlichen FPIAs ergeben Korrelationskoeffizienten von über 0,970. Die Tests werden durch Bilirubin (bis 100 mg/l), Hämoglobin (bis 10 g/l) und Lipide (20 g/l) nicht gestört. Bei den Testen mit Vorbehandlung ist keine Interferenz durch Bilirubin (bis 300 mg/l) meßbar.

Die Kreuzreaktivität der Tests zeichnet sich durch eine hohe Spezifität aus, besonders der Digoxin-Test reagiert nur in sehr geringem Maße kreuz: Digitoxin (1,2%), Dihydrodigoxigenin (0,7%) und Dihydrodigoxin (< 0,1%). Zusätzlich wird der Digoxin-Test durch endogene Digoxin-ähnliche immunreaktive Faktoren (DLIF) nicht oder in vergleichsweise sehr geringem Ausmaß gestört.

## Evaluierung des Amplicor-Testkit Roche zum Direktnachweis von Chlamydia trachomatis

G. Schönian, R. Bollmann, C. Schweynoch, D. Gudd und W. Presber

Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Medizinischen Fakultät (Charité) der Humboldt-Universität zu Berlin

Der Amplicor PCR-Testkit Chlamydia trachomatis (Roche) wurde für den Chlamydien-Nachweis bei 143 Zervixabstrichen von 104 Patientinnen sowie bei 31 Urethra-Abstrichen von 29 Patienten eingesetzt. Als Vergleich wurden die Erreger mit dem Enzymimmunoassay (Chlamydiazyme) bestimmt. Von insgesamt 15 positiven Ergebnissen wurden 13 mit PCR und 8 mit dem EIA gefunden, was einer Sensitivität von 86% bzw. 53% entsprach. Bei den 2 falsch-negativen PCR-Resultaten wurde die PCR erst nach einer Aufreinigung der untersuchten Proben durch eine Phenol/Chloroform-Behandlung ein positiver PCR-Befund erhoben. Mit dem Enzymimmunoassay wurden 7 falsch-negative Ergebnisse erhalten. Die Spezifität lag bei beiden Testsystemen zwischen 99-100%. Bei 2 Patienten mit positivem PCR- und EIA-Befund wurde die Testung 3-4 Wochen nach Therapiebeginn wiederholt. Beide Methoden lieferten ein negatives Ergebnis. Die Vorteile des Amplicor PCR-Testkit zum Nachweis von Chlamydia trachomatis sind neben der hohen Empfindlichkeit vor allem die geringe Zeitdauer des Tests: für Probenvorbereitung, Amplifikation und Detektion werden je nach Anzahl der Untersuchungen etwa 4 bis 4,5 Stunden benötigt.

## Anwendung voltammetrischer Verfahren zur Spurenelementbestimmung in klinischen Proben: Eine kritische Bewertung der Möglichkeiten und Grenzen

P. Schramel  
GSF - Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit,  
Institut für Ökologische Chemie, D-8042 Neuherberg

Voltammetrische Verfahren, vor allem DPASV (Anodic stripping voltammetry) sind hinsichtlich des Nachweisvermögens eine der leistungsfähigsten analytischen Bestimmungsmethoden in der modernen Spurenelementanalytik. Relativ einfache und preiswerte Geräte sind ein weiterer Vorteil.

Allerdings stellen diese Verfahren einen sehr hohen Anspruch an die „Qualität“ der Probenlösung, da geringe Spuren von organischem Material den Elementnachweis empfindlich stören. Voraussetzung für den Einsatz ist daher eine vollständige Zerstörung der organischen Matrix der Probe, d. h. den Einsatz von speziellen Aufschlußtechniken mit hohem oxidativen Potential.

Neben der Darstellung der Analysenmethode selbst, werden deshalb vor allem die adequate Aufschlußtechniken diskutiert.

# Die computergestützte potentiometrische Stripping-Analyse (cPSA) – eine Möglichkeit zur Spurenelementanalytik im klinisch-chemischen Labor

R. Schüttig<sup>1</sup>, D. Meißner<sup>1</sup> und T. van Bueren<sup>2</sup>

Krankenhaus Dresden Friedrichstadt, Städtisches Klinikum, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik<sup>1</sup> und Radiometer Deutschland GmbH<sup>2</sup>

Die Elektrochemie erlebt eine Renaissance in der Spurenelementanalytik. Die Ursachen dafür sind in einem verbesserten Handling der Geräte, dem Einsatz von Personalcomputern und der hohen Nachweisempfindlichkeit bei relativ niedrigen Anschaffungskosten zu suchen. Wir prüften die Einsatzmöglichkeiten des elektrochemischen Analysensystems TRACELAB in einem Krankenhauslabor. Hauptaugenmerk galt den selteneren Bestimmungen von Blei und Thallium im Vollblut und Urin, Quecksilber im Vollblut, Urin und Kopfhair bei Belastung sowie der Bestimmung des Kupfers im Urin und Leberbiopaten bei einem Kleinstkind mit Kupferintoxikation.

Die Qualitätskontrolle wurde mit den Materialien „Seronom TE-Urine“, „Seronom Whole Blood“ sowie „Urine Metal Control“ durchgeführt. Die Variationskoeffizienten lagen zwischen 4 und 10%, bei einzelnen Urinproben bis 20%, und damit in dem für Spurenelemente üblichen Bereich. Die deklarierten Werte wurden richtig gefunden. Die bei den Patientenproben erhaltenen Ergebnisse werden mitgeteilt und die dabei auftretenden Probleme und Schwierigkeiten diskutiert.

Unsere bisherigen Erfahrungen erlauben den Schluß, daß die cPSA eine wertvolle Ergänzung zur etablierten AAS-Methodik darstellt, besonders dann, wenn Analysenserien geringeren Umfangs untersucht oder toxikologische Fragestellungen bearbeitet werden sollen.

## Multiprimer-PCR als Screeningverfahren zum Nachweis von Toxingenen (LT, STI, VTII/II) bei E. coli Pathotypen

B. Schütz, B. Hack, K. Keiner, K. Zimmermann  
Institut für Mikrobiologie, Institut für Mikrobiologie und Biochemie, Kornmarkt 34, 6348 Herborn

Über Enterotoxine vermögen pathogene E. coli Stämme schwere Diarrhoen hervorzurufen [1]. Routineverfahren (immunologische Nachweisverfahren [2], Gensondentechniken [3]) erfassen nur einzelne Toxinklassen, -typen oder -subtypen. Ein Screeningverfahren, wie die Multiprimer-PCR, das nahezu alle beim Menschen vorkommenden Toxintypen und Subtypen berücksichtigt, existiert bisher nicht. Basierend auf bekannten Gensequenzen wurden drei Primerpaare synthetisiert, mit deren Hilfe vorhandene Toxingene für LT, STI, VTI und VTII innerhalb eines Laufes nachgewiesen werden können. Als Ausgangsmaterialien dienen Stuhlproben oder Bakterienisolate. Die amplifizierten PCR-Produkte erscheinen nach Gelaufreinigung und Anfärbung mit Ethidiumbromid als Fragmente einer Größe von 322 (LT), 105 (STI) und 230 (VTI/II) Basenpaaren. Eine Identifizierung ist über Vergleich mit Längenmarkern leicht möglich. Die Sensitivität der PCR wurde über serielle Verdünnungen toxinproduzierender E. coli Stämme getestet. 10 (LT, VTI/II) bzw. 100 (STI) Bakterienzellen genügte, um auf einem Agarosegel sichtbare Amplifikationsprodukte hervorzurufen. 50 bekannte E. coli Stämme wurden parallel zur Multiprimer-PCR, mit immunologischen Tests (ST-EIA und VET-RPLA, OXOID) und Dot-Blot-Hybridisierungsverfahren auf eine Enterotoxinproduktion hin untersucht. Die Korrelation zwischen den drei Verfahren war ausgezeichnet. Über eine Poolbildung von Bakterienisolaten läßt sich die Kapazität der Multiprimer-PCR erhöhen. Bis zu 1000 E. coli-Stämme lassen sich so innerhalb von 5 Stun-

den auf das Vorhandensein der entsprechenden Toxingene hin untersuchen.

Schrifttum:

1. Levine, M. M. (1987) Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive and enteroadherent. Journal of Infectious Diseases 155, 377.
2. Caroll, R. J., Woodward, M., Wray, C. (1990) Detection of LT and STa toxins by latex and EIA tests. The Veterinary Record 29, 335.
3. Riley, L. K., Caffrey, C. J. (1990) Identification of enterotoxigenic Escherichia coli by colony hybridisation with non-radioactive digoxigenin-labeled DNA probes. Journal of Clinical Microbiology 28, 1465.

## Unzureichende Sensitivität eines EMIT-Verfahrens zum Nachweis von 1,4-Benzodiazepinen im Serum: Absicherung negativer Ergebnisse mittels HPLC

A. Schuh, W. Wiebersinsky, J. Bohner  
Institut für Laboratoriumsmedizin, Städtisches Klinikum Fulda

Obwohl der an den ACA (DuPont) adaptierte EMIT im Kliniklabor als eingeführtes Verfahren zum Nachweis von 1,4-Benzodiazepinen (BNZ) gilt, besitzt er für einige häufig verordnete BNZ wie Bromazepam, Flunitrazepam, Lorazepam und Oxazepam eine so geringe Nachweisempfindlichkeit, daß selbst toxische Serumspiegel dieser Pharmaka unerkannt bleiben (1).

Zur Verbesserung der Sensitivität und Substanzspezifität entwickelten wir daher eine Methode, bei der die BNZ über eine RP-18-Festphase aus Serum extrahiert und mittels HPLC detektiert werden. Die Kalibration erfolgte mit Leerserum (Biorad), das mit den regional meistverordneten BNZ und deren wichtigsten Metabolite aufgestockt wird. Auf je eine Extraktionssäule wird 1 ml Kalibrator, Kontrollserum bzw. Probe gegeben, mit ca. 2 ml Wasser gewaschen und mit 800 µl Acetonitril/Methanol/Wasser (3/2/2) eluiert. Die Chromatographie erfolgt an einer RP-18 Säule mit anschließender UV-Detektion (235 nm). Als mobile Phase dient Acetonitril/Phosphatpuffer pH 2,3 (60/40).

Im Gegensatz zum EMIT erfaßt das HPLC-Verfahren alle geprüften BNZ im therapeutischen Konzentrationsbereich. Die untere Nachweisgrenze beträgt bei Flunitrazepam und Lorazepam 5 µg/l, für Oxazepam 10 µg/l. Bezogen auf 300 µg/l Diazepam beträgt die Wiederfindung 94–107%.

### Schlußfolgerung

Unser substanzadaptiertes HPLC-Verfahren zum Nachweis von BNZ im Serum eignet sich gleichermaßen zur Absicherung negativer EMIT-Resultate wie zur Quantifizierung von BNZ-Spiegeln im Rahmen der Therapiekontrolle bei Abhängigkeit.

Schrifttum:

1. Schütz, H., G. Rochholz, G. Weiler, Zur Problematik der falsch-negativen Benzodiazepin-Immunoassays. Klin. Lab. 38, 150–152, 1992.

## A sensitive immunoassay for measurement of fibrin monomers in plasma

D. Schuller, H. Lill, A. Dessauer, D. Banauch, G. Treiber, W. Mühlhofer  
Boehringer Mannheim GmbH, Biochemical Research Center Tuting, D-8132 Tuting Germany

In contrast to the immunoassay of Scheefers-Borchel et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 (1985) 7091–7095) the new assay uses

twice the same fibrin specific antibody. The assay was designed for the automated Enzymun-Test® systems of Boehringer Mannheim Corporation which are based on streptavidine pre-coated tubes. For immunization we used the synthetic N-terminal heptapeptide Gyl-Pro-Arg-Val-Val-Glu-Arg of human fibrin  $\alpha$ -chain. Although the binding epitope is present twice on the fibrin molecule, fibrin in plasma can be detected only after pre-treatment with chaotropic ions. This reflects the situation of fibrin present in plasma, parts of the molecule being hidden by complex formation with itself, fibrinogen, split products or even others. Investigations of Dempfle et al. (Blood Coag. Fibrinol. 4 (1993) 79) have proven that under pre-incubation with SCN<sup>-</sup> ions fibrin aggregates dissociate and fibrin will get measured in its monomeric form.

Measuring range extends up to 50 µg/ml. Precision of the method is satisfactory, intra-assay CVs using plasma samples range between 5% (23.7 µg/ml) and 12.4% (0.2 µg/ml). Lower detection limit is 0.12 µg/ml. No cross reactivity with fibrinogen, fibrinogen split products or fibrin D-dimer could be observed. Spannagl et al. found significantly lowered fibrin plasma levels (0.21 ± 0.08 µg/ml) in patients on long-term and stable oral anticoagulation as compared to a non-anticoagulated control group (1.82 ± 0.34 µg/ml) (37th Meeting GTH, Badgastein 1993). In a monitoring study of 130 post-operative patients under low dose heparin, fibrin was increased in 12 of 13 patients 2 days before the phlebographic confirmation of a deep vein thrombosis (92% sensitivity) (Vogel et al., 37th GTH Badgastein 1993). In conclusion the new assay allows a very sensitive detection of soluble fibrin in plasma enabling profound insights into the individual activation state of blood coagulation in patients.

## Charakterisierung eines neuen Reagenz zur Bestimmung von Fibrinogen nach Clauss am ACL (Instrumentation Laboratory)

M. Schwaiger\*, M. Manzoni\*\*, A. Morandotti\*\*, M. Spagnotto\*\*, E. Botta\*\*, M. Papagni\*\*

\* Instrumentation Laboratory GmbH, Klausnerring 4, 8011 Kirchheim

\*\* Instrumentation Laboratory SpA, Viale Monza, 20128 Mailand, Italien

Die Fibrinogenbestimmung nach Clauss hat in der hämostaseologischen Diagnostik weite Verbreitung gefunden. Sie zeigt, z. B. bei Patienten mit einer Dysfibrinogenämie oder unter Fibrinolysetherapie scheinbar verringerte Fibrinogenkonzentrationen gegenüber der ACL Methode (Derived Fibrinogen) oder der Methode nach Ratnofl-Menzie.

Bei der neuen FIBRINOGEN-Clauss-Methode wird am ACL das 1:10 vorverdünnte Plasma mit Thrombin im Überschuß zur Gerinnung gebracht. Nach Messung der Gerinnungszeit über einen Schwellenwert bei 405 nm ermittelt das Gerät anhand einer Eichkurve die Fibrinogenkonzentration.

Der Meßbereich liegt zwischen 70 mg/dl–600 mg/dl. Heparinkonzentrationen bis 1 U/ml stören die Analytik nicht. Die Präzision von Tag zu Tag – über 10 Tage – erzielte mit unterschiedlichen Kontrollmaterialien Variationskoeffizienten von < 6% (Fünffachbestimmungen).

Patientenproben mit einer Fibrinogenkonzentration von 140 mg/dl–1050 mg/dl wurden mit der ACL Methode (PT-HS Reagenz) und der Methode nach Clauss am MLA 1000 (Baxter) mit Fibrinogen Reagenz (Baxter) verglichen. Beide Vergleichssysteme zeigen gute Korrelationskoeffizienten von 0,958 (ACL Methode) und 0,983 (Methode nach Clauss mit dem Baxter System), wobei beide Vergleichssysteme die Fibrinogenwerte – vor allem im oberen Bereich – überschätzen.

$y = 22,9 + 0,88x$  Vergleich mit Methode nach Clauss am MLA 1000  
 $y = 60,0 + 0,83x$  Vergleich mit ACL Methode

## Miles Free Thyroxine Assay: A fully Automated Direct Immunoassay for the Determination of Free T4 in Human Serum

M. Schwarzberg, S. Ahmad, D. Morris  
 Miles Inc., Tarrytown, NY 10591

Free T4 in conjunction with a sensitive TSH assay provides a diagnostically reliable, clinical picture of thyroid function.

The Miles Free T4 assay is designed to run on the Technicon Immuno-1 Immunoassay System.

The heterogeneous Free T4 immunoassay consists of a capture antibody, an alkaline phosphatase labeled conjugate, and a magnetic particle solid phase. After separation, the enzyme produces color through a para-Nitrophenoxide substrate which is measured at 405 nm.

The assay requires only 5 µl of serum and has a range up to 7 ng/dl. Total assay time is 38 minutes. Sample correlation statistics to Clinical Assays Free T4 2-Step RIA are: (n = 59; slope = 0.92; y.int = 0.04; r = 0.97; s<sub>y.x</sub> = 0.21). In addition, the results obtained by the proposed assay correlate well with the Free Thyroid Index (r = 0.968). Imprecision data are summarized below:

N	Mean ng/dl	Total SD ng/dl	Total %CV
116	0.77	0.08	10.6
161	1.65	0.11	7.4
76	4.68	0.18	3.8

Assay specificity was estimated by spiking elevated levels of relevant cross-reactants (10x) into Thyroid stripped and normal human serum. The change in Free T4 concentration was < 0.10 ng/dl for Phenylbutazone, Sodium Salicylate, Aspiring, Methimazole, Thiouracil, Dilantin, Phenobarbital, Heparin, L-T3, D-T3, L-T2 and L-MIT.

Together with the Miles Immuno-1 sensitive TSH assay, the Miles Immuno-1 Free T4 assay is well suited for distinguishing hyperthyroid, euthyroid and hypothyroid populations.

## Hämostaseologische Marker einer venösen Thrombose

E. Seifried, M. Grünewald

DRK-Blutspendezentrale Hessen und Sektion Hämostaseologie, Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik Ulm

Neben der seit Jahrzehnten bekannten angeborenen und erworbenen hämorrhagischen Diathese rückte in den letzten Jahren zunehmend die thrombophilie Diathese in den Vordergrund des wissenschaftlichen und klinischen Interesses. Nach der Entdeckung des ersten Patienten mit einer angeborenen Thrombophilie auf der Basis eines hereditären Antithrombin III-Mangels wurden diese Befunde weltweit bestätigt und im Verlauf der letzten Jahre zahlreiche weitere Proteine des Blutgerinnungs- und Fibrinolyse-systems entdeckt, deren Fehlen oder defekte Funktion zu einer Thromboseneigung prädestiniert. Neben dem Protein C-, Protein S- und dem Heparin-Cofaktor-Mangel wurden der Plasminogenmangel bzw. die Dysplasminogenämie, der verminderte Release an Gewebepasminogenaktivator und die Erhöhung von Plasminogenaktivator-Inhibitor sowie des Histidin-reichen Glykoproteins und andere als Marker der Thrombophilie erkannt. Das in Ulm betreute Kollektiv an Patienten mit einer hereditären Thrombophilie wird vorgestellt. Neben dem o. g. Marker wurden sogenannte Aktivierungsmarker wie der Thrombin-Antithrombin III-Komplex und das Prothrombin-Fragment F<sub>1+2</sub> als Indikator für eine Thrombinaktivität entdeckt. Die beiden Marker können zwischenzeitlich über einfache-ELISA-Methoden quantitativ bestimmt werden und stehen damit für den klinischen Einsatz einschl. der Überwachung einer Antikoagulantientherapie zur Verfügung.

## Bedeutung der basalen Ammonium- und Harnstoffausscheidung für die Gesamtstickstoffausscheidung

O. Selberg, \*B. Markfeld, \*M. J. Müller, E. Henkel  
Medizinische Hochschule Hannover, Abteilung Klinische Chemie II und \*Abteilung Gastroenterologie und Hepatologie, Podbielskistraße 380, 3000 Hannover 51

**Einleitung:** Die heute angewandten Berechnungsformeln zur Abschätzung der Urin-Stickstoffausscheidung vernachlässigen den Vorhersagewert der Urin-Harnstoff- plus Ammoniumkonzentration [1–3].

**Methodik:** Insgesamt wurden die Urine von 62 Patienten einer gastroenterologischen Station auf Harnstoff- plus Ammonium- sowie Gesamtstickstoffgehalt untersucht. Urin-Harnstoff plus -Ammonium wurde enzymatisch mit Urease und der Berthelot-Reaktion bestimmt (Testkombination Harnstoff S, Boehringer), Gesamtstickstoff wurde mit Chemilumineszenz (Antek 703 C System) gemessen.

**Ergebnisse:** Die mittlere Harnstoff- plus Ammonium-N-Ausfuhr betrug  $10.6 \pm 7.5$  g/d (range 2.2–41.5) und die mittlere Gesamt-N-Ausfuhr  $12.7 \pm 7.5$  g/d (range 3.0–41.6), eine Regressionsanalyse zeigte folgenden Zusammenhang: Gesamt-N [g/d] =  $2.3530 + 0.9799$  Harnstoff- plus Ammonium-N [g/d],  $r = 0.983$ . Eine Vorhersageformel wurde entwickelt:  $N$  [g/d] =  $3.146 + 1.039 \times$  Harnstoff- plus Ammonium-N [g/d] –  $0.189 \times$  Harnstoff- plus Ammonium-N [g/l]. Folgende Differenzen zwischen kalkulierten und gemessenen Gesamt-N Werten wurden gefunden (Angabe als Summe der quadrierten Abweichungen): Neue Formel (s. o.) 81.40; einfache Regressionsgleichung (s. o.) 117.18; Lee et al. 281.01 [1]; MacKenzie et al. 121.50 [2]; Palmo et al. 169.40 [3].

**Konklusion:** Es wird eine Formel zur Berechnung der Urin-N Ausscheidung unter Berücksichtigung der Urin Harnstoff- plus Ammonium-N Konzentration vorgestellt. Die Berücksichtigung der Urin Harnstoff- plus Ammonium-N Konzentration verbessert die Prädiktion der Gesamt-Stickstoffausscheidung.

### Schrifttum:

1. Lee, H. A., Hartley, T. F. 1975. Postgraduate Medical Journal 51:441–445.
2. MacKenzie, T. A., Blackburn, G. L., Flatt, J. P. 1974. Federation Proceedings 33:683.
3. Palmo, A., Ombra, L., Massarenti, P., et al. 1989. Clinical Nutrition 8:45–47.

## DNA-Mutationsanalyse des CFTR-Gens bei Patienten mit Cystischer Fibrose in Südbaden

H. H. Seydewitz und I. Witt  
Univ.-Kinderklinik Freiburg, Klin.-Chem. und Biochem. Labor

Bei 76 Patienten mit Cystischer Fibrose (CF) wurde mit Hilfe der PCR-Reaktion und verschiedenen Detektionsverfahren (allelspezifische Primer, Heteroduplex, sequenzmodifizierende Primer, Restriktionsendonucleasen) nach der Hauptmutation  $\Delta F508$  sowie den weiteren Mutationen 1717-1 G  $\rightarrow$  A, G551D, R553X und G542X gesucht.

Unter den 152 CF-Chromosomen wurden  $\Delta F508$  115 mal, also in 75.7% der Fälle gefunden. Die anderen Mutationen wurden je 4, 3, 3 und 1 mal gefunden. Außerdem wurde noch bei 2 Patienten die seltene Mutation  $\Delta I507$  entdeckt. Insgesamt wurde also bei 128 = 84.2% der CF-Chromosomen die Mutation aufgeklärt. Die diagnostische Sensitivität liegt bei Verwendung dieser 5 Mutationen somit bei 70%. Die gefundenen Werte werden mit Untersuchungen an andere Populationen verglichen und mögliche Wege zur Verbesserung der diagnostischen Sensitivität diskutiert.

## Klinische Evaluierung von vier verschiedenen Methoden zur Bestimmung der CK-MB

W. H. Siede, A. Regeniter, M. Henrich, G. Oremek, U. B. Seiffert  
Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinikum Lippe-Lemgo, Lemgo und Zentrallaboratorium, Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Frankfurt/M.

Eine klinische Evaluierung der folgenden vier Methoden zur CK-MB-Bestimmung

- Elektrophorese auf Agar-Gel (Helena, REP („ELPHO“))
- Immunität von CK-M-Untereinheiten (Boehr. Mannh.) („II“)
- Lumineszenz-Immunoassay (Ciba-Corning) („LIA“)
- Enzym-Immunoassay (Abbott, IMx) („EIA“)

wurde an Hand von 76 konsekutiven Patienten (46 Herzinfarkte, 30 Angina pectoris als Kontrolle) durchgeführt, denen seriell zwischen 1–72 h nach Schmerzereignis Blut entnommen wurde. CK-MB-Werte wurden in % Gesamt-CK (kinetischer Text 25°C, DGKC) ausgewertet; als optimaler Trennwert („cut-off“) wurde 4% CK-MB bei allen Methoden ermittelt, wenn CK-MB > 10 U/l (II/ELPHO) bzw. > 5 ng/ml (LIA/EIA) war.

Die beste diagnostische Spezifität zeigte der EIA (100%) gefolgt von ELPHO (99%), II (97%) und LIA (94%).

Die diagnostische Sensitivität war deutlich besser

bei LIA/EIA wie bei II/ELPHO zu fast allen Zeitpunkten:

- 56/54% vs. 44/44% zwischen 1–6 h
- 90/82% vs. 60/65% zwischen 7–12 h
- 100/100% vs. 89/82% zwischen 25–36 h
- 83/44% vs. 33/28% zwischen 37–72 h

II zeigte die beste Sensitivität (96%) zwischen 13–24 h.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sich der automatisierte Immunoassay als Methode der Wahl für das klinische Laboratorium erweist.

## Die Aufnahme von Lipoprotein (a) in kultivierte Zellen erfolgt über LDL-Rezeptoren und Rezeptoren für $\alpha_2$ -Makroglobulin und t-PA

Rüdiger Siekmeier<sup>1,2</sup>, Winfried März<sup>1</sup>, Hubert Scharnagl<sup>1</sup>, Angela Beckmann<sup>2</sup>, Uli Mondorf<sup>2</sup>, Elke Groß<sup>2</sup>, Werner Groß<sup>1</sup>, Wolfgang Schneider<sup>2</sup>, Manfred Hüttinger<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zentrum für Biologische Chemie und

<sup>2</sup> Zentrum für Innere Medizin, J. W. Goethe-Universität, Frankfurt, FRG

<sup>3</sup> Institut für Medizinische Chemie der Universität, Wien

Lipoprotein (a) (Lp(a)) ist ein eigenständiger atherogener Faktor. Strukturell ähnelt es den LDL. Neben Apolipoprotein B-100 enthält Lp(a) Apolipoprotein (a) (apo (a)). Apo(a) ist homolog zu Plasminogen. Es wird daher angenommen, daß Lp(a) an der Regulation der Fibrinolyse beteiligt ist. Die bisher verfügbaren Daten zur Elimination von Lp(a) aus dem Plasma sind widersprüchlich. In vitro bindet Lp(a) an LDL-Rezeptoren. Im Gegensatz dazu führt die Induktion von LDL-Rezeptoren durch Behandlung mit Hemmstoffen der HMG-CoA Reduktase nicht zur Verminderung hoher Lp(a)-Konzentrationen. Ziel dieser Arbeit war die Charakterisierung von zellulären Aufnahmemechanismen für Lp(a). Untersuchungen zur Bindung, Internalisierung und Degradation von Lp(a) in kultivierten Zellen ergaben, daß Lp(a) an LDL-Rezeptoren (LDL-R) und an andere zelluläre Rezeptoren, die vom LDL-R verschieden sind, bindet. Durch Konkurrenzexperimente mit  $\alpha_2$ -Makroglobulin

und t-PA wurde gezeigt, daß das LDL-receptor related protein (LRP,  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor) einer der alternativen Rezeptoren für Lp(a) ist. Aus Voruntersuchungen war bekannt, daß Lp(a) hinsichtlich der Partikelgröße äußerst polymorph ist (relative molare Massen zwischen  $2 \cdot 10^6$  und  $10 \cdot 10^6$ ). Es wurden daher Experimente mit Lp(a)-Subfraktionen unterschiedlicher Größe durchgeführt: high molecular weight Lp(a) (HMW-Lp(a)) und low molecular weight Lp(a) (LMW-Lp(a)). LMW-Lp(a) war ein besserer Ligand für LDL-R als HMW-Lp(a). Im Gegensatz dazu wurde HMW-Lp(a) bevorzugt über LRP aufgenommen. Die Expression von LRP ist nicht durch den zellulären Cholesteringehalt kontrolliert. Lp(a) kann daher unabhängig vom zellulären Cholesterinstoffwechsel in Zellen gelangen. Dies könnte einer der Gründe für die Atherogenität des Lp(a) sein.

## Einfluß chronischen Zigarettenkonsums auf die $\alpha_1$ -Antitrypsin Serumspiegel gesunder Probanden

R. Siekmeier<sup>1,2</sup>, R. Buhl<sup>2</sup>, J. Scherberich<sup>3</sup>, W. März<sup>4</sup>, H. Kronenberger<sup>2</sup>, W. Mondorf<sup>2</sup>, J. Meier-Sydow<sup>2</sup>

<sup>1</sup> GSF – Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH, Paul-Ehrlich-Str. 20, W-6000 Frankfurt/Main

<sup>2</sup> Abt. für Pneumologie und

<sup>3</sup> Abt. für Nephrologie, Zentrum der Inneren Medizin,

J. W. Goethe Universität, Frankfurt

<sup>4</sup> Labor für angewandte Biochemie, Gustav Embden Zentrum für Biologische Chemie, J. W. Goethe Universität, Frankfurt

Ein funktioneller  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangel ( $\alpha_1$ -AT-Mangel) infolge oxidativer Inaktivierung des Enzyms stellt eine wesentliche Komponente in der Pathogenese des Lungenemphysems bei Rauchern dar. Nachdem Voruntersuchungen gezeigt hatten, daß Zigarettenrauchen bei Männern in der Altersgruppe zwischen 40 und 60 Jahren zu einer Steigerung der  $\alpha_1$ -AT-Spiegel führt (Siekmeier et al.: Klin. Wochenschr. 69, Suppl. 28, P408, 152), haben wir diese Fragestellung auf Patienten im Alter zwischen 20 und 40 Jahren ausgedehnt. **Studienprotokoll:** Untersucht wurden 29 gesunde männliche Raucher (R:  $40,3 \pm 11,8$  Jahre;  $31,2 \pm 11,8$  Pack Years) und 29 gesunde männliche Nichtraucher (NR:  $39,6 \pm 11,6$  Jahre), gepaart nach Größe, Alter und Gewicht. Die Bestimmung des  $\alpha_1$ -AT erfolgte nephelometrisch, die des Carboxyhaemoglobins (COHb) spektralphotometrisch. **Ergebnisse:** Bei Rauchern fanden sich im Vergleich zu Nichtrauchern deutlich erhöhte  $\alpha_1$ -AT-Werte ( $294 \pm 43$  vs.  $255 \pm 36$  mg/dl;  $p < 0,01$ ) bzw. COHb ( $5,9 \pm 2,2$  vs.  $1,3 \pm 0,5\%$ ;  $p < 0,001$ ). In der Gruppe der Nichtraucher bestand kein Zusammenhang zwischen der  $\alpha_1$ -AT-Konzentration und dem Alter der Probanden. Bei den Rauchern nahmen die Intensität des Tabakkonsums (tägl. Zigarettenzahl, COHb) und die  $\alpha_1$ -AT-Konzentration mit dem Alter der Probanden zu. Dabei waren die  $\alpha_1$ -AT-Konzentration und die Intensität des Tabakkonsums ( $\alpha_1$ -AT vs. tägl. Zigarettenzahl  $r_s$ : 0,393,  $p < 0,025$ ;  $\alpha_1$ -AT vs. Pack-Years  $r_s$ : 0,408,  $p < 0,025$ ;  $\alpha_1$ -AT vs. COHb  $r_s$ : 0,507,  $p < 0,005$ ) signifikant korreliert. **Diskussion und Schlußfolgerung:** Bei Rauchern fand sich – möglicherweise als Reaktion auf die gesteigerte oxidative Belastung der Lunge – ein erhöhter  $\alpha_1$ -AT-Spiegel im Serum. Das Ausmaß der  $\alpha_1$ -AT-Konzentrationserhöhung ging mit der Intensität des Tabakabusus einher. Unter der Annahme, daß diese Konzentrationserhöhung auch den tiefen Respirationstrakt erreicht, reicht der dadurch induzierte protektive Effekt offensichtlich nur bei einem Teil der Raucher zur Verhinderung eines Lungenemphysems aus.

## Serumspiegel der Immunglobuline bei gesunden Rauchern und Nichtrauchern mittleren Alters

R. Siekmeier<sup>1,2</sup>, J. Scherberich<sup>3</sup>, W. März<sup>4</sup>, H. Kronenberger<sup>2</sup>, W. Mondorf<sup>2</sup>

<sup>1</sup> GSF – Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH, Paul-Ehrlich-Str. 20, W-6000 Frankfurt/Main

<sup>2</sup> Abt. für Pneumologie und

<sup>3</sup> Abt. für Nephrologie, Zentrum der Inneren Medizin,

J. W. Goethe Universität, Frankfurt

<sup>4</sup> Labor für angewandte Biochemie, Gustav Embden Zentrum für Biologische Chemie, J. W. Goethe Universität, Frankfurt

Aufgrund der Ergebnisse meist epidemiologischer Studien wird den Inhaltsstoffen des Tabakrauchs eine immunmodulierende Wirkung zugeschrieben, die in ihren Einzelheiten jedoch nur unzureichend bekannt ist. Darüber hinaus weisen die Serumkonzentration der Immunglobuline eine z. T. erhebliche Altersabhängigkeit auf. **Ziel** dieser Studie war daher die Untersuchung des Einflusses anhaltenden Tabakkonsums auf die Serumkonzentration der Immunglobuline IgG, IgA, IgM und IgE bei gesunden Probanden zwischen 40 und 60 Jahren. **Material und Methodik:** Im Rahmen der Studie wurden 64 gesunde starke Raucher (R) und lebenslängliche Nichtraucher (NR), gepaart nach Geschlecht, Alter, Größe und Gewicht, untersucht (siehe Tabelle). Die Bestimmung der Immunglobuline erfolgte nephelometrisch (Behring: IgA, IgG, IgM) bzw. mittels Phadezym-Prist<sup>®</sup> (Pharmacia: IgE). **Ergebnisse:** Die Serumkonzentration des IgG ist bei gemeinsamer Betrachtung aller Raucher gegenüber allen Nichtrauchern signifikant vermindert ( $10,1 \pm 2,0$  g/l vs.  $11,9 \pm 1,7$  g/l; Kruskal  $p = 0,001$ ). Die Konzentration des IgA ist bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern tendenziell vermindert ( $2,2 \pm 0,8$  g/l vs.  $2,7 \pm 1,3$  g/l;  $p = 0,195$ ), die des IgM praktisch gleich ( $1,7 \pm 1,0$  g/l vs.  $1,7 \pm 0,9$  g/l;  $p = 0,537$ ) und die des IgE tendenziell erhöht (Medianwerte: 19,5 vs. 9,5 kU/l;  $p = 0,066$ ). Berücksichtigt man zusätzlich das Geschlecht der Probanden, so bestätigen sich die Veränderungen innerhalb der gebildeten Gruppen (MW  $\pm$  STD; siehe Tabelle). **Diskussion und Schlußfolgerung:** Rauchen führt zu einer signifikanten Abnahme der Serumkonzentration von IgG sowie einer tendenziellen Abnahme von IgA, während die Konzentration von IgM offenbar nicht beeinflusst wird. Dagegen führt Rauchen offenbar zu einer Zunahme der IgE-Konzentration. Demnach wird die Synthese der einzelnen Immunglobulinklassen durch Tabakrauchen unterschiedlich beeinflusst.

	n	Zig/die	Pack Years [Jahre]	IgG [g/l]	IgA [g/l]	IgM [g/l]	IgE [kU/l]
männl. R	16	31 $\pm$ 10	49 $\pm$ 15	9,6 $\pm$ 1,5	2,3 $\pm$ 0,9	1,6 $\pm$ 1,1	18,5
männl. NR	16	0	0	11,5 $\pm$ 1,7	2,9 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 0,3	19
weibl. R	16	28 $\pm$ 9	40 $\pm$ 17	10,6 $\pm$ 2,2	2,1 $\pm$ 0,7	1,8 $\pm$ 0,9	19,5
weibl. NR	16	0	0	12,2 $\pm$ 1,7	2,5 $\pm$ 1,3	2,1 $\pm$ 1,0	5,0

## Der ischämische Insult – ein systemisch nachweisbarer thrombophiler Zustand? Vorläufige Ergebnisse

H. J. Siemens<sup>2</sup>, J. Scholz<sup>1</sup>, C. Kessler<sup>1</sup>, T. Wagner<sup>2</sup>  
Neurologische<sup>1</sup> und Medizinische<sup>2</sup> Klinik der Medizinischen Universität zu Lübeck, Ratzeburger Allee 160, W-2400 Lübeck

Bei der tiefen Beinvenenthrombose und anderen thrombotischen Ereignissen ist regelmäßig nicht nur im akuten Stadium eine Aktivierung des prokoagulatorischen und fibrinolytischen Systems nachzuweisen. Das Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob ein thrombophiler Zustand auch in der akuten Phase der zerebralen Ischämie in einem relativ kleinen Areal einer arteriellen Endstrombahn mit geringer Menge an thrombotischem Material systemisch zu messen ist.



Wir untersuchten daher 25 Patienten mit der klinischen und später radiologisch gesicherten Diagnose des ischämischen Insults gleich bei der Aufnahme in die Klinik (10 weiblich, 15 männlich, im Alter zwischen 39 und 80 Jahren) Patienten mit TIA oder anderen neurologisch-funktionellen Störungen wurden bei der Auswertung ausgeschlossen. Wir untersuchten neben den üblichen gerinnungsphysiologischen Globaltesten die Aktivitäten und Konzentrationen der verschiedenen prokoagulatorischen und fibrinolytischen Faktoren und deren Inhibitoren.

In einem Vergleich zu einem gesunden Normalkollektiv (21 männliche Probanden nach einer mindestens halbstündigen Ruhephase) fanden sich deutliche Unterschiede (Signifikanzniveau mit dem Test nach Mann Whitney von mindestens  $p < 0,02$ ) bei der spontanen Thrombozyten-Aggregation, der Faktor V – und VIII – Aktivität, dem TAT-Komplex, den Prothrombinfragmenten F 1 + 2 und den Fibrinmonomeren im Sinn einer gesteigerten prokoagulatorischen Aktivität, sowie auf der fibrinolytischen Seite erhöhte Konzentrationen bei den D-Dimeren, dem t-PA und den Plasminogenaktivatoren vom Urokinase-Typ. Von den Inhibitoren waren weder AT III, noch Protein C oder S signifikant erniedrigt gewesen. Auch ein Lupus-Antikörper war nicht nachweisbar.

## Prädiktive Diabetes-Diagnostik: Quantitativer ELISA zur Bestimmung von Glutamat-Decarboxylase-Antikörpern mittels rekombinanten Antigens

*U. Sonnenschein, L. Mauch, W. Northemann, H. Haubruck  
elias Entwicklungslabor für Immunoassays GmbH & Co. KG,  
7800 Freiburg i. Br.*

Der insulinpflichtige Diabetes mellitus (Typ I) wird erst seit 20 Jahren als Autoimmunerkrankung eingestuft. Der entscheidende Hinweis hierfür waren Inselzell-Antikörper in Patientenserum, die mittels indirekter Immunfluoreszenz auf humanen Pankreasschnitten nachgewiesen wurden (Bottazzo, G. F., et al., 1974, Lancet ii, 1279–1283). Besondere Bedeutung erlangte das 64 K Inselzell-Antigen, da die dagegen gerichteten Antikörper bereits Jahre vor der klinischen Manifestation eines Diabetes mellitus Typ I auftreten können und somit als Hochrisiko-Marker angesehen werden.

Kürzlich konnte das 64 K-Antigen als Glutamat-Decarboxylase (GAD) (Baekkeskov, S., et al., 1990, Nature 347, 151–156) und von den beiden GAD-Isoformen die GAD II als das Pankreas-spezifische Antigen identifiziert werden. Durch konsequenten Einsatz gentechnischer Methoden gelang uns die Darstellung der humanen full-length GAD II-cDNA, deren Expression in einem eukaryotischen System (Sf9-Insektenzellen) nach Infektion mit einem Baculovirus-Vektor und somit die Überwindung der limitierten Verfügbarkeit des authentischen Antigens.

Basierend auf dieser extrem hochreinen, humanen rekombinanten GAD II entwickelten wir den quantitativen, enzymimmunometrischen Sandwich-Assay SYN<sup>®</sup> GAD II-AK. Das Antigen dieses Assays ist an die Festphase immobilisiert.

Folgende Daten zum SYN<sup>®</sup> GAD II-AK-Assay werden vorgestellt:

- Prinzip des ELISAs
- Assaycharakteristika, betreffend Spezifität, Sensitivität, Standardisierung, Antigenchargenvariation und Inter-/Intra-Assay-variation
- Assayvalidierung: Untersuchung unterschiedlicher Normal- und Patientenkollektive mit dem SYN<sup>®</sup> GAD II-AK-Assay
- Vergleich des ELISAs mit der Immunpräzipitation (Einsatz von <sup>35</sup>S-Methionin-markierter GAD II)

## Kontrolle der oralen Antikoagulantientherapie durch Messung des Plasmaspiegels von Prothrombinfragment F1+2

*F. Spranger, K.-H. Zurborn, H. D. Bruhn  
I. Medizinische Klinik, Christian-Albrechts-Universität Kiel*

Die Aktivierung von Prothrombin zu Thrombin, bei der es zur Abspaltung des Prothrombinaktivierungs-Peptids F1+2 kommt, stellt eine Schlüsselreaktion bei der Gerinnungsaktivierung dar. Der Plasmaspiegel des Prothrombinfragmentes wurde mittels eines Enzymimmunoassays bestimmt (Pelzer et al., 1991). Verglichen mit einem gesunden, nicht antikoagulierten Kontrollkollektiv ( $n = 47$ ; Median des F1+2 = 0,73 nM/l) zeigten Patienten unter stabiler Antikoagulation ( $n = 218$ ) signifikant reduzierte F1+2-Spiegel ( $p < 0,001$ ). Mit steigendem Grad der Antikoagulation, dokumentiert durch die Zunahme der INR (international normalized ratio), nahmen die F1 + 2-Spiegel ab. Bei intensiver Antikoagulation (INR über 4) zeigte die überwiegende Mehrzahl der Proben F1+2-Konzentrationen unterhalb des Normbereiches. Die F1 + 2-Spiegel waren auch bei gering dosierter Cumarintherapie (INR unter 2) in den Normbereich gesenkt. Eine solche Therapie kann nicht mit dem Quickwert kontrolliert werden.

Ca. 60% der Patienten unter einer beginnenden Cumarintherapie ( $n = 47$ ) zeigten am 1. und/oder 2. Tag der Therapie eine vorübergehende Phase der Hyperkoagulabilität (Anstieg von F1 + 2). Die F1 + 2-Spiegel sechs Tage nach Therapiebeginn lagen noch im Normbereich (Median = 0,57 nM/l F1 + 2), wohingegen in der stabilen Phase der Antikoagulation die F1 + 2-Spiegel unter den Normbereich sinken (Median = 0,37 nM/l, INR 3,0–4,0). Aus den Daten ist ersichtlich, daß eine individuelle Kontrolle der oralen Antikoagulation durch Bestimmung des Prothrombinfragmentes F1+2 möglich ist.

## Zur Treffsicherheit des freien Androgen-Index (FAI) bei Androgenisierungserscheinungen der Frau: Vergleichsbestimmungen mit gesamtem (T) und freiem Testosteron (fT)

*T. Steck<sup>1</sup>, H. Wernze<sup>2</sup>, F. Keller<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Frauenklinik und <sup>2</sup> Medizinische Klinik, Universität Würzburg

Die zusätzliche Bestimmung des FAI (T · 100/SHBG) bei der rationalen Labordiagnose von Hyperandrogenisierungserscheinungen der Frau wird von manchen Untersuchern empfohlen (1, 2), von anderen aber in Zweifel gezogen (3). Widersprüchlich sind auch die Angaben über den Referenzbereich des FAI in der Literatur, die zwischen  $< 4,5$  (1) und  $< 9$  (2) schwanken. Wir verglichen bei 88 prämenopausalen Patientinnen mit Hyperandrogenisierung (Hirsutismus, Akne, Alopezie) und sonographischem Nachweis polyzystischer Ovarien die diagnostische Präzision (Rate richtig positiver Resultate) des FAI gegenüber der von T und fT. An 53 unauffälligen Probandinnen vergleichbaren Alters, standardisiert getestet während der frühen Follikelphase morgens nüchtern im Liegen und nach einer Ruhezeit von 30 min., wurden eigene obere Normgrenzen ermittelt als Perzentile 95 (FAI = 8,7, T = 0,70 ng/ml, fT = 3,9 pg/ml). T, fT und SHBG wurden mittels konventionellem RIA bestimmt. Die Präzision des FAI war mit 45% deutlich geringer als die von T (67%) und identisch mit der von fT (44%). Die zusätzliche Messung von SHBG und Berechnung des FAI konnte in unserem sorgfältig ausgewählten Kollektiv die Treffsicherheit nicht erhöhen. Eine routinemäßige Bestimmung des FAI bei Hyperandrogenisierungserscheinungen der Frau kann nach unseren Daten nicht empfohlen werden.

#### Schrifttum:

1. Carlström K, et al.: *Gynecol. Obstet. Invest.* 1987; 24:256.
2. Eden JA, et al.: *Ann. Clin. Biochem.* 1988; 25:346.
3. Jung-Hoffmann C, et al.: *Gynecol. Endocrinol.* 1987; 1:83.

## Vergleich von CYFRA 21-1, TPA und TPS beim Bronchialkarzinom

P. Stieber, H. Dienemann<sup>1</sup>, U. Hasholzner, A. Zimmermann<sup>1</sup>, S. Poley, K. Hofmann, H. M. Jansen, W. Reiter, A. Fateh-Moghadam

Institut für Klinische Chemie und Chirurgische Klinik<sup>1</sup>, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München

Nach einer von uns retrospektiv durchgeführten Studie zeigte sich CYFRA 21-1 als geeigneter Marker für nicht kleinzellige Bronchialkarzinome.

Anhand der Seren von 218 Patienten mit Bronchialkarzinom (Histologie: kleinzellig = 62; Adeno = 67; Plattenepithel = 66; Großzeller = 17; undifferenzierte Karzinome = 6) sowie 58 Patienten mit benignen pulmonalen Erkrankungen untersuchten wir die klinische Bedeutung von CYFRA 21-1 (ELISA, Boehringer Mannheim), TPA (IRMA, Sangtec medicals) und TPS (IRMA, Beki Diagnostics) im Vergleich zu den bisher etablierten Tumormarkern CEA (EIA, Abbott), SCC (EIA, Abbott) und NSE (RIA, Pharmacia) beim Bronchialkarzinom.

Unter Zugrundelegung einer Spezifität von 95% gegenüber benignen Lungenerkrankungen ergaben sich folgende cut off-Werte: CYFRA 21-1: 2,1 ng/ml; TPA: 131 U/l; TPS: 237 U/l; CEA: 7,4 ng/ml; SCC: 2,4 ng/ml; NSE: 18 U/ml). Unabhängig von der Histologie errechneten sich daraus bei 95%iger Spezifität folgende Gesamtsensitivitäten beim Bronchialkarzinom: CYFRA 21-1: 61%, TPA: 51%; TPS: 22%; CEA: 29%; SCC: 18% und NSE: 19%. Bei nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) führte weiterhin CYFRA 21-1 (64%) gegenüber TPA (50%), TPS (17%), CEA (33%), SCC (19%) und NSE (5%). Beim Plattenepithelkarzinom der Lunge betrug die Anzahl richtig positiver Testergebnisse für CYFRA 21-1 79%, für TPA 62%, TPS 18%, CEA 25%, SCC 38% und NSE 5%.

Anhand der ermittelten Sensitivitäts-Spezifitäts-Daten sowie der erstellten ROC-Kurven zeigt CYFRA 21-1 ein besseres Diskriminanzvermögen beim NSCLC; insbesondere beim Plattenepithelkarzinom der Lunge gegenüber benignen Lungenerkrankungen als TPA und TPS.

## Client/Server-basiertes Laborsystem mit integrierter Wissensverarbeitung zur Unterstützung der labormedizinischen Plausibilitätskontrolle

H. G. Struß, W. Ehrenthal, G. Hafner, J. Lotz und W. Prellwitz  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Es geht hier um die Fragestellung, inwieweit man den Vorgang der Plausibilitätskontrolle zur Erkennung von implausiblen Befundkonstellationen und die Interpretation von pathologischen Laborbefunden mit Hilfe von wissensbasierten Verfahren unterstützen und eventuell optimieren kann.

Unter Anwendung von induktiven Mechanismen werden anhand von ausgewählten Fallbeispielen Befundmuster abgeleitet, die in einer regelbasierten Wissensbasis abgelegt werden. Hier wird das Prinzip „Lernen am Beispiel“ angewendet, wobei hierunter eine passive Lernmethode verstanden werden soll, durch die Wissen erworben werden kann, und nicht die tatsächlichen Mechanismen, die Lernen ermöglichen. Die zu implementierenden Induk-

tionsalgorithmen haben die Aufgabe, aus plausiblen Laborwertkonstellationen regelbasierte Befundstrukturen zu generieren, um sie für Analogieschlüsse im Befundungsprozeß einzusetzen.

Auf diese Weise lassen sich aus den alltäglich zu befundenden Patientenproben Fallbeispiele mit charakteristischen aber auch seltenen Befundkonstellationen gewinnen. Diese möglicherweise um spezifische Befundungstexte erweiterten Musterbefunde können für die Plausibilitätskontrolle, für die Befundinterpretation und für eine differentialdiagnostische Betrachtung aus labormedizinischer Sicht eingesetzt werden. Der Analogieschluß wird dem Nutzer in einer grafischen Darstellungsform als Entscheidungsgrundlage für das weitere Vorgehen am Bildschirm präsentiert.

Wesentliches Merkmal dieser integrierten anwendungsbezogenen Wissensverarbeitung ist die Einbettung der wissensbasierten Verfahren in eine vernetzte Laborapplikation auf der Basis einer Client-Server-Topologie.

## Antikörperidentifizierung mit Hilfe eines Computer-Programms

R. Stute

Zentrallabor Saarbrücker Winterbergkliniken

Antikörperidentifizierung verlangen große Erfahrung vom Untersucher, damit auch untypische Reaktionen richtig erkannt und bewertet werden. Um eine personenbezogene Auswertung der Testresultate auszuschließen, wurde ein Computerprogramm entwickelt, das die häufigsten erkennbaren Antikörperkombinationen als Muster enthält und mit den Versuchsergebnissen vergleicht. Das Computerprogramm greift auf das allgemein erhältliche Programmpaket F&A Version 4.0 zurück. Dieses Programm ist d-Base kompatibel und kann gängige Import- und Export-Funktionen durchführen. Die mathematische Berechnung wurde in der systemeigenen Sprache generiert und durch Paßwortschutz gesichert. Circa 300 Antikörperkombinationen können mit dem System berechnet werden. Bei Übereinstimmung werden die Musterkombinationen angezeigt und bereits als vorformulierter Befund in ein Ausgabeprotokoll geschrieben. Der Vorteil der Methode besteht darin, daß menschliches Versagen beim Auswerten der Protokolle weiter reduziert werden kann.

## 4 Jahre Erfahrungen mit einem Festphasenassay zum Nachweis irregulärer erythrozytärer Antikörper

R. Stute

Zentrallabor Saarbrücker Winterbergkliniken

Von PLAPP und Mitarbeitern<sup>1</sup> wurde 1984 ein Solidphase Verfahren in Mikrotiter-Technik publiziert, das nach Zulassung durch die FDA (Food and Drug Administration USA) 1989 in der Bundesrepublik unter dem Namen CAPTURE R (Immucor/Rödermark) vertrieben wurde. Aufgrund der hohen Sensitivität und Spezifität wurde das Verfahren im März 1989 in die Routine der Spenderüberwachung der Saarländischen Blutspendezentrale und ab Juli 89 auch in die Patientenüberwachung unseres Hauses eingeführt. Bei allen transfundierten Patienten (ca. 50%) wurde der Antikörpersuchtest anlässlich der Kreuzprobe konventionell im Röhrchen nachuntersucht und verglichen. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Blutspenden:	38263	davon pos.:	23 (0,06%)
Krhs.Pat.:	30684		509 (1,66%)
Einsend.:	2662		1470 (55,2%)

Während transfusionsirrelevante Kälteantikörper nur im Röhrchentest nachweisbar waren, konnten in der CAPTURE-Methode

55 transfusionsrelevante IgG-Antikörper zusätzlich erkannt und identifiziert werden.

Schrifttum:

1. Plapp, Fv, Sinor, LT, et al. A solid phase antibody screen. *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 719.

## Vitaminstatus bei Diabetikern, Morbus Crohn-Patienten, Alkoholikern und Vegetariern

F. Susanto, C. Hillmann, A. Zwilling, S. Humfeld und H. Reinauer  
Diabetes-Forschungsinstitut, Auf'm Hennekamp 65, 4000 Düsseldorf 1

In einer gemeinsamen Studie mit der klinischen Abteilung des Diabetesforschungsinstitutes sowie der neurologischen und der gastroenterologischen Abteilung der Universität Düsseldorf wurden Vitaminanalysen bei Normalpersonen, Diabetikern, Morbus Crohn-Patienten, Alkoholikern und Vegetariern durchgeführt.

Neben den fettlöslichen Vitaminen A, E wurden die wasserlöslichen Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C und Folsäure im Serum mit HPLC und RIA bestimmt. Die Analyseergebnisse wurden zwischen den einzelnen Patientenkollektiven und denen der gesunden Probanden verglichen.

Aus den Untersuchungen folgt, daß Mangelzustände vereinzelt auch bei Normalpersonen beobachtet werden. Die Fälle mit Vitaminunterversorgung sind häufiger bei Diabetikern, Vegetariern, Alkoholikern und M. Crohn-Patienten.

Darüber hinaus werden Resultate von Vit A und E-Analysen von 466 Kindern im Alter zwischen 4 und 6 Jahren präsentiert, die im Rahmen einer groß angelegten Studie ermittelt wurden.

## Eine schnelle und einfache HPLC-Methode zur Bestimmung von verschiedenen Retinoiden im Serum

F. Susanto, C. Kaiser, S. Humfeld und H. Reinauer  
Diabetes-Forschungsinstitut, Auf'm Hennekamp 65, 4000 Düsseldorf 1

Es wird eine HPLC Methode zur simultanen und quantitativen Bestimmung von Retinoiden: Acritretin, Etretnat, Isotretinoin und Tretinoin im Serum beschrieben.

Die Extraktion von Retinoiden aus dem Serum erfolgt über eine flüssig-flüssig-Extraktion im sauren Medium, nach Denaturierung und Fällung des Proteins. Als interner Standard wird Retinylacetat verwendet.

Für die Untersuchung der Präzision, Spezifität, Richtigkeit, Wiederfindung und Reproduzierbarkeit dieser Methode diente aufgestocktes medikamentenfreies Albumin/Serum im Konzentrationsbereich von 10 bis 1000 ng/ml. Es ergab sich ein durchschnittlicher Variationskoeffizient von 5,1% für die Analysen im therapeutischen Bereich. Die Nachweisgrenze betrug 5 ng/ml Serum, die analytische Wiederfindungsrate lag im Durchschnitt bei 95%.

Die Grenzen und die Problematik der Anwendung dieser Methode, insbesondere im Zusammenhang mit dem Metabolismus dieser Arzneimittelgruppen, werden diskutiert.

Schrifttum:

1. R. Wyss: *Chromatography of retinoids*, J. Chromatogr. 531, 481-508 (1990).

2. W. E. Lambert, E. Meyer, A. P. De Leenheer, J. De Bersaques, A. H., Kint: *Pharmacokinetics and drug interactions of etretinate and acitretin*, J Am Acad Dermatol 27, 19-22 (1992).

## Ein-Punkt-Quantifizierung von IgG-Antikörpern mit dem EIA – Interpretation von Titern der $\alpha$ -Methode<sup>1</sup> im Vergleich mit klassischen Techniken am Beispiel Masern/Mumps/Röteln

Annedore Tischer  
Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes,  
Nationales Referenzzentrum für Masern, Mumps, Röteln

Ein quantitativer Antikörpernachweis mit dem EIA ohne Endpunkt-Titration sowie ohne Verwendung einer Standardkurve wurde von Dopatka und Giesendorf<sup>2</sup> vorgestellt. Aus einer Serumverdünnung der Probe läßt sich durch Einsetzen der gemessenen optischen Dichte in die Formel  $\log_{10} \text{ titer} = \alpha \cdot \text{OD}^9$  ein Titer berechnen, der dem über Endpunkttitration ermittelten Wert entspricht. Die gefundenen  $\alpha$ -Titer/IU/ml wurden im Vergleich mit Titern klassischer Techniken betrachtet hinsichtlich Antikörperdynamik im Serumpaare. Wir untersuchten über 100 Schulkinder vor und nach Gabe von Dreifachimpfstoff Masern/Mumps/Röteln auf IgG-Antikörper sowie 45-48 Serumpaare von Patienten mit Verdacht auf Masern bzw. Mumps bzw. Röteln. Eingesetzte Techniken: Masern-Hämagglutinationshemmtest, Mumps und Röteln-Hämolyse-in-gel-Test sowie der o. g. EIA ( $\alpha$ -EIA) für alle drei Parameter. Für die  $\alpha$ -Methode wurde über die Bestimmung der Titervariation im intra- und interassay ermittelt, daß ein  $\geq 2$ facher Titeranstieg zwischen zwei Seren signifikant ist. Bei einer Endpunkt-titration ist der  $\geq 4$ fache Titerzuwachs erforderlich. Mit dem  $\alpha$ -EIA kann eine Antikörperdynamik genauso gut bzw. besser nachgewiesen werden als mit den verwendeten konventionellen Techniken. Die 10-20% höheren Nachweisraten eines Antikörperanstiegs mit dem  $\alpha$ -EIA sind durch die stufenlose Titerangabe und größere Präzision bedingt.

Schrifttum:

1. Behringwerke AG.  
2. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 6: 417-422 (1992).

## Diagnostik von Hämostasestörungen bei Patienten der chirurgischen Intensivmedizin

G. Töpfer<sup>1</sup>, Waltraud Ehrhardt<sup>2</sup>, U. Funke<sup>3</sup>, M. Schulze<sup>4</sup>, C. Sauer<sup>1</sup> und F. Hornig<sup>1</sup>  
Zentrallabor<sup>1</sup> und Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin<sup>2</sup> der Städtischen Klinikum Görlitz GmbH, Zentrallabor<sup>3</sup> und Klinik für Innere Medizin<sup>4</sup> des Kreiskrankenhauses Zittau

Folgende Parameter eignen sich zur Aufdeckung einer erworbenen Hämostasestörung bzw. Gerinnungsaktivierung bei dieser Patientengruppe, wenn keine akute Blutung vorliegt:

1. Hepato-Quick-Wert (Parameter für die Intaktheit des exogenen Gerinnungssystems ohne Einfluß sind Heparin und FDP), 2. AT III als Ausdruck des wesentlichen substituierbaren Inhibitors, 3. FM als Indikator für eine Gerinnungsaktivierung. FM zeigt besonders bei ansteigenden quantitativen Befunden eine Mikrothrombosierungstendenz an. 4. Thrombozyten. Bei akuten Blutungen Erweiterung um folgende Parameter: 5. Thrombinzeit als Indikator für Heparin, FDP, Dysfibrinogene, Hypofibrinogenämie, 6. Thrombinzeit mit Heparininhibitor (besser als Reptilasezeit, da F-1 ohne Einfluß), 7. Fibrinogen nach Clauss (Anstieg bei akute Phase Reaktion, Abfall bei DIG, Hyperfibrinolyse und akutem Lebersagen), 8. D-Dimer, das eine gleichzeitige Gerinnungs- und Fibrinolyseakti-

vierung anzeigt. Bei vorliegender DIG können folgende Parameter darüber hinaus hilfreich sein: TAT und ELP signalisieren den spezifischen und/oder unspezifischen Verbrauch. Einen Konzentrationsabfall des Fibronektins findet man bei hohen Fibrinmonomerkonzentrationen. Ein abfallendes Protein C (mit chromogenem Substrat gemessen) zeigt eine schlechte Prognose an. F XIII kann isoliert stark vermindert sein. Er wird zur Überwachung der Substitution chromogen gemessen. Verlaufsstudien bei 30 Patienten belegen die Bedeutung dieser Parameter für die Kontrolle der Behandlung und die Prognose.

## Neues Verfahren der Thrombinzeitbestimmung

G. Töpfer<sup>1</sup>, A. Seifert<sup>1</sup>, G. Friedel<sup>1</sup>, G. Dornheim<sup>3</sup>, G. Lutze<sup>3</sup>, U. Funke<sup>4</sup>

Zentrallabor der Städtischen Klinik Görlitz GmbH<sup>1</sup>  
Institut für Transfusionsmedizin Suhlf<sup>2</sup>  
Institut für Klin. Chemie u. Laboratoriumsdiagn.  
der Med. Akademie Magdeburg<sup>3</sup> und Zentrallabor  
des Kreiskrankenhauses Zittau<sup>4</sup>

Aus Thrombin für Testzwecke der Arzneimittelwerk Dresden GmbH wurden 2 Thrombinzeitreagentien hergestellt: 1. Reagens, das heparinempfindlich, FSP-spaltprodukttempfindlich und empfindlich auf Hypo- und Dysfibrinogenämie reagiert. Gerinnungszeit eines Normalplasmapools von  $17,0 \pm 0,2$  Sekunden (Thrombinreagens ohne Heparininhibitor). 2. Reagens mit den gleichen Eigenschaften, wie 1., jedoch heparinunempfindlich bis  $3,0$  E/ml Heparin (Thrombinreagens mit Heparininhibitor).

Beide Reagentien sind gepuffert, so daß Plasma zur Thrombinzeitbestimmung bis 24 h haltbar ist. Das Reagens wird von der Feinchemie Sebnitz GmbH als Lyophilisat produziert. Beide Reagentien sind sehr stabil nach dem Lösen in Wasser (z. B. Stabilität bei  $37^\circ\text{C} > 8$  h). Die beiden Thrombinzeiten sind bei heparinfreien Plasmen innerhalb der Fehlergrenzen der Methode gleich (Referenzbereich für beide TZ  $15,0 \pm 19,0$  Sekunden). Die Empfindlichkeit auf FSP ist etwa gleich wie bei der Batroxobinzeit. Fibrinogen  $< 1,5$  g/l verlängert die TZ wie die Batroxobinzeit signifikant. Fibrinogenerhöhungen von  $2,9 -$  auf  $10,0$  g/l verlängern die Batroxobinzeit um 6 Sekunden, die TZ jedoch nur um 1 Sekunde. Bei heparinisierten Patienten führt die gerade klinisch relevante Heparinkonzentration von  $0,025$  E/ml im Plasma zu einer signifikanten Verlängerung der Thrombinzeit ohne Heparininhibitor. Bei etwa  $0,1$  E/ml wird sie ungerinnbar. Aufgrund dieser Eigenschaften ist die Thrombinzeit mit Heparininhibitor geeignet zur Überwachung der Streptokinasetherapie; als Indikator für Hyperfibrinolyse bei Sepsispatienten, da Fibrinogenerhöhungen ohne Einfluß sind. Die Kombination beider Thrombinzeiten ist empfehlenswert zur Überwachung der low dose-Heparintherapie. (Keine Differenz der beiden Thrombinzeiten = Heparin  $< 0,025$  E/ml wirksam.)

## „Der Tiefe Einblick“ in die Blutgasanalyse

Steffen Uhlig  
RADIOMETER DEUTSCHLAND GmbH, Am Nordkanal 8,  
4156 Willich 3

Die traditionelle Blutgasanalyse ist auch heute noch eine Standardmessung in der Intensivmedizin, die aber zunehmend durch weitere Parameter, die den Sauerstoff-Status betreffen, ergänzt wird, so daß der Therapeut einen umfassenden Überblick über den Oxygenierungsgrad des behandelten Patienten erhält. Um gefürchtete Gewebs-Hypoxien zu vermeiden, ist es wichtig zu wissen, ob das Verhältnis zwischen Sauerstoff-Aufnahme und Sauerstoff-Bedarf ausgeglichen ist.

Die Sauerstoff-Aufnahme in der Lunge, der Sauerstoff-Transport von der Lunge zu den Kapillaren im Gewebe und die Sauerstoff-

Abgabe an das Gewebe sind einige der wichtigsten physiologischen Gegebenheiten, die den Sauerstoff-Status eines Patienten beschreiben.

Blutgasanalysatoren ermöglichen die Bestimmung einer Vielzahl von Parametern wie pH,  $p\text{O}_2$ ,  $p\text{CO}_2$ , alveoloarterielle Sauerstoff-Differenz (AaDpO<sub>2</sub>), arterio-alveolärer Sauerstoff Quotient (a/ApO<sub>2</sub>) und Respiratorischer Index (RI), wobei heutige Geräte aufgrund der Simultanmessung von Säure-/Basen-/Blutgas- und Sauerstoff-Status aus einer einzigen Blutprobe eine wesentlich größere Akzeptanz finden. In der Messung eingeschlossen sind auch Parameter wie tHb, ctO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub>, p50, COHb und MetHb, so daß der Sauerstoff-Gehalt (ctO<sub>2</sub>) Indikation für lebensnotwendige Transfusionen liefert. Die Dyshämoglobine liefern dem Notarzt frühzeitig wichtige Informationen über diesbezügliche Intoxikationen.

Sofern eine gemischtvenöse Blutprobe gewonnen werden kann, stehen weitere wichtige Parameter wie die Shunt-Fraktion oder aVDO<sub>2</sub> zur Verfügung, mit denen pathologische Veränderungen der Lungenfunktion und der Sauerstoff-Aufnahme des Gewebes dokumentiert werden können. „Der Tiefe Einblick“ in die Blutgasanalyse nennt RADIOMETER die Gesamtheit der oben angeführten Meßparameter, die mit einem Blutgasanalysator – ABL520 – bestimmt werden kann.

## Free circulation of in vitro diagnostic (IVD) medical devices in Europe

R. L. Verwilghen  
European Commission on in Vitro Diagnostic Medical Devices,  
Brussels

The program of harmonization of the EC in the field of medical devices consists of three directives. These will become applicable through the whole European economic area (EEC + EFTA). The objective of the directives is to reach a common legislation for medical devices in view to protect the health and safety of patients, users and third parties. Due to their special nature, the third of these directives concerns IVD's, and a new draft will be circulated in 1993. In this draft IVD's are defined as: "any medical device which is a reagent, reagent product, calibrator, control, kit, instrument, equipment or system whether used alone or in combination, intended by the manufacturer to be used in vitro for the examination of samples derived from the human body, including blood and tissue donations, solely or principally for the purpose of providing information concerning a physiological state, state of health or disease or congenital abnormality or to determine the safety and compatibility with potential recipients. For the purpose of this directive, sample receptacles for in vitro use, specifically intended by their manufacturer for medical samples are considered to be IVD's". The "essential requirements" will mainly ensure the safety and the reliability for user and patient. For the large majority of IVD's, the manufacturer will under his own responsibility assess the conformity and fix the CE marking. Stricter measures are envisaged for IVD's for self testing, to ensure protection of the "nonprofessional" user. Further some categories of sensitive IVD's will need involvement of a "notified body" (third party certification body) before the "CE" marking is affixed and the IVD can be put on the market. The "IVD medical device" directive is a "new approach" directive. This means that the directive itself will be kept as a relatively short document. The manufacturer has to certify that the IVD responds to the stipulations of the directive. If he has followed "harmonized European standards" (prepared by CEN on a mandate of the EC) he will have a presumption of compliance with the directive. CEN standards are never compulsory: the manufacturer remains free to apply measures, different from these of the standard, as long as the medical device itself responds to the stipulations of the directive.

## Evaluation of five liquid reagents for the determination of transaminases and LDH

R. Vormbrock, J. Meyer, U. Würzburg  
E. Merck, R & D Diagnostic Division, Frankfurter Straße 250,  
D-6100 Darmstadt, Germany

The use of ready-to-use liquid reagents for clinical chemistry is a way to increase convenience in operating clinical chemistry analyzers. We evaluated liquid reagents for the determination of transaminases acc. to the recommendations of 1972 of the German Society for Clinical Chemistry (GOT and GPT) and acc. to the IFCC recommendations (ASAT and ALAT) and a liquid reagent for the determination of LDH acc. to the recommendations of 1972 of the German Society for Clinical Chemistry.

All measurements were performed on an EPOS® Analyzer to achieve closest similarity with the manual method. Our evaluation included method comparison studies, linearity and stability of the reagent, and precision and recovery with control sera.

Method comparison of the reagent versus a commercially available reagent as reference showed a good comparability of the transaminases and 9% higher results for the liquid LDH reagent. We obtained the following regression equations:

$$\begin{aligned} \text{ASAT} &= 1.000 \cdot \text{reference} + 0.000 \\ \text{ALAT} &= 1.000 \cdot \text{reference} - 1.000 \\ \text{GOT} &= 1.000 \cdot \text{reference} - 1.000 \\ \text{GPT} &= 1.03 \cdot \text{reference} - 0.542 \\ \text{LDH} &= 1.090 \cdot \text{reference} - 0.898 \end{aligned}$$

Under proper storage conditions the reagents in the opened vials are stable until the expiration date. At these conditions we found the following linearity limits:

$$\begin{aligned} \text{ASAT and ALAT} &> 240 \text{ U/l} \\ \text{GOT and GPT} &> 160 \text{ U/l} \\ \text{LDH} &> 1000 \text{ U/l} \end{aligned}$$

From our data we conclude that the reagents are suited for clinical routine use.

## Rasche Bestimmung des HbA<sub>1c</sub>: Klinische Evaluierung des DCA 2000®

Wolfgang Wagener, Hubert Overmann, Gabriele Schmitt,  
Sabine Scholz, Lutz Heinemann  
Abt. Ernährung & Stoffwechsel; Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf, Moorenstraße 5

Eine aktuelle HbA<sub>1c</sub>-Wert-Bestimmung während der Beratung der Patienten in Ambulanz oder Praxis – durch ein einfach handhabbares Gerät, welches richtige und präzise Messungen liefert – könnte eine wertvolle Hilfe zur Optimierung der Diabetikerbetreuung sein. Wir untersuchten, ob ein neues Gerät, welches das HbA<sub>1c</sub> in 9 min bestimmt (DCA 2000®; Bayer Diagnostik, München); (McCloud WW et al., 1991), diese Bedingungen erfüllt. In unserer Diabetesambulanz wurden bei 75 konsekutiven Diabetikern kapilläre Blutproben entnommen, und das HbA<sub>1c</sub> mit dem DCA bzw. einer Referenzmethode bestimmt (HPLC; Diamat, Bio-rad, München; interassay V.K. < 2%; Referenzbereich 4,2–5,5%).

Der Vergleich der Meßergebnisse mit dem DCA (8,0 ± 2%; Mittelwert ± SD) und der HPLC (8,3 ± 1,8); (lineare Regression:  $y = 1,00 - 0,31$ ;  $r = 0,94$ ) ergab, daß die HbA<sub>1c</sub>-Werte des DCA im Mittel um 0,3% unter denen des HPLC lagen ( $p < 0,001$ ). In einer Meßreihe an 50 konsekutiven Typ-I-Diabetikern in einem Diabetes-Diagnostik-Mobil wurde das kapillär bestimmte HbA<sub>1c</sub> des DCA einer venösen HbA<sub>1c</sub>-Bestimmung (HPLC) gegenübergestellt: (8,2 ± 1,7% vs. 8,3 ± 1,6%;  $y = 1,05 - 0,58$ ;  $r = 0,97$ ;  $p < 0,001$ ). Die Serienmessung ( $n = 20$ ) von Kontrollblut mit einem HbA<sub>1c</sub> im Referenzbereich (4,9 ± 0,1%; V.K. 2,5%) bzw. im erhöhten Bereich (12,2 ± 0,3%; V.K. 2,2) zeigt eine gute Präzision des DCA. Die „day-

to-day“-Variation bei 10 Messungen ergab einen V.K. von 2,4 bzw. 2,6%.

Zusammenfassend schließen wir aus der Evaluierung des DCA-Gerätes, daß dieses bei einfacher Handhabbarkeit eine akzeptable Präzision liefert, wobei die Meßergebnisse im Vergleich mit der HPLC-Methode niedriger ausfallen.

## Stabilität von TPS in Seren bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen

Susanne Wagner\*, Wolfgang Klingler\*, Kornelia Richter\*\*,  
Friedhelm Kißing\*\*, Gabriele Balsler\*\*\*  
\* Hermann Biermann GmbH, Bad Nauheim  
\*\* Labor Dr. Eberhard et al, Dortmund  
\*\*\* Bioscientia GmbH, Ingelheim

In verschiedenen klinischen Studien konnte gezeigt werden, daß TPS ein hervorragender Serum-Marker für die Tumorphilierung ist (1, 4).

Die Stabilität eines Markers im Serum ist besonders für den Versand der Probe zum Bestimmungslabor sowie für retrospektive Vergleichsstudien verschiedener Tumormarker von Bedeutung.

In dieser Studie wurde der Einfluß unterschiedlicher Lagerungstemperaturen (Raumtemperatur, 4°C, -20°C, -80°C) und Lagerungszeiträume (14 und 180 Tage) auf die TPS-Konzentration im Serum getestet.

Der TPS-Gehalt im Serum ist bei Raumtemperatur 3 Tage, bei 4°C 14 Tage, stabil.

Bei einer Lagertemperatur von -20°C bzw. -78°C ist die TPS-Konzentration 90 Tage stabil, danach bis zum 180. Tag kann es im Einzelfall zu einem Abfall von maximal 20% kommen.

## Genotypische Variation bei Borrelia burgdorferi: Konsequenzen für die molekularbiologische Diagnostik

Reinhard Wallich<sup>1</sup>, Claudia Helmes<sup>1</sup>, Ulrich E. Schaible<sup>2</sup>,  
Markus M. Simon<sup>2</sup>, Sabine E. Moter<sup>3</sup> und Michael D. Kramer<sup>3</sup>  
<sup>1</sup> Angewandte Immunologie (FS 0440),  
Deutsches Krebsforschungszentrum, W-6900 Heidelberg  
<sup>2</sup> Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Stübweg 51,  
W-7800 Freiburg  
<sup>3</sup> Institut für Immunologie und Serologie der Universität  
Heidelberg, W-6900 Heidelberg

Die Analyse der genotypischen und phänotypischen Heterogenität von Borrelia burgdorferi, dem Erreger der Lyme Borreliose, ist eine Voraussetzung für die Entwicklung standardisierter und die gesamte Art umfassender diagnostischer Testsysteme. Mit Hilfe monoklonaler Antikörper mit Spezifität für immundominante Borrelia burgdorferi Antigene wurden die Gene aus bakteriellen Expressionsbanken isoliert und sequenziert. Die entschlüsselten Genstrukturen bilden die Grundlage für verschiedene molekularbiologische Analysemethoden, z. B. Nachweis einer Borrelia burgdorferi spezifischer Antikörperantwort mittels rekombinanter Proteine oder Nachweis von erregerspezifischer DNS über die Polymerase Kettenreaktion (PCR) bzw. mittels DNS-Sonden (Southern blot). Durch immunologische Untersuchungen im Tiermodell konnte ein rekombinantes Borrelia burgdorferi Antigen (OspA) als potentieller Kandidat für die Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Lyme Borreliose identifiziert werden. Aus der Gesamtheit der erzielten Ergebnisse ergeben sich richtungweisende Ansätze für die molekularbiologische Diagnostik der Borrelia burgdorferi Infektion und die Impfstoffentwicklung.

## Separation and identification of human serum proteins with capillary electrophoresis

Hann-Ping Wang and Cheng-Ming Liu  
Beckman Instruments Inc., 200 South Kraemer Blvd.,  
Brea, CA 92621 USA

Capillary electrophoresis is a highly efficient separation technology based on principles of electroosmosis and electrophoresis. The net mobility of a molecule in capillary electrophoresis is a combined result of the electroosmotic mobility and electrophoretic mobility of the molecule in an applied electric field. Serum protein separation mostly is done with agarose slab gel or cellulose acetate paper electrophoresis. In this abstract, we present a method for separation of serum proteins into distinct peaks of pre-albumin, albumin, alpha-1-acid glycoprotein, alpha-1-antitrypsin, haptoglobin, alpha-2-macroglobulin, transferrin, complement C3, beta-lipoprotein, and gamma globulins by using untreated fused silica capillaries. The protein peaks were characterized by spiking serum samples with purified protein components, and by removal of protein components using solid phase monospecific antibodies. The total separation time was about 5 minutes. The imprecision of the procedure was less than 10%.

## Kongenitales Rötelsyndrom und kongenitale Zytomegalie mit atypischer Immunantwort: zwei Fallberichte

B. Weber<sup>1</sup>, G. Enders<sup>2</sup>, H. W. Doerr<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Institut für Med. Virologie, Universitätskliniken Frankfurt  
<sup>2</sup> Institut für Med. Virologie und Infektionsepidemiologie e.V.,  
Stuttgart

Wir berichten über eine kongenitale Rötelninfektion mit atypischer Immunreaktion wurde bei einem Kind, bei dessen Mutter eine Rötelnimmunität wiederholt vor der Schwangerschaft nachgewiesen worden war. Die Labordiagnose war ab dem 2. Lebensmonat nur eindeutig anhand der Virusisolierung möglich. Nach dem ersten Lebensmonat wurden vorübergehend spezifische IgM-Antikörper nachgewiesen. Persistierende IgM-Antikörper in ansteigernder Konzentration waren ab dem 6. Lebensmonat nachweisbar. Im weiteren Verlauf sanken die spezifischen IgG-Antikörpertiter ab. Die immunologische Analyse wies eine IgG1-Hypoglobulinämie nach.

Die Besonderheit des geschilderten Falles liegt nicht nur im Versagen der mütterlichen Immunität eine kongenitale Rötelninfektion zu verhindern, sondern auch im Defekt des kindlichen Immunsystems, so daß über die Infektionsserologie die Labordiagnose zunächst nicht gestellt werden konnte.

Im zweiten Fall wurde eine kongenitale Zytomegalie bei einer Frau in der 22. Schwangerschaftswoche diagnostiziert. Ein Infektionsverdacht bestand, weil bei dem Ehemann eine HCMV-Hepatitis diagnostiziert wurde. In dem Fruchtwasser wurde die HCMV Infektion mit der Polymerase-Kettenreaktion und der „shell vial culture“ nachgewiesen. Der serologische Nachweis von IgM- und IgA-Antikörpern in zwei Serumproben und im Nabelvenenschnurblut war negativ. Beim Neugeborenen wurde HCMV noch im ersten Lebensjahr aus dem Urin isoliert.

Durch das Fehlen serologischer Werte (HCMV Serostatus vor der Schwangerschaft) konnte eine genaue Abgrenzung einer primären Infektion von einer Rekurrenz sowie eine Risikoabwägung nicht durchgeführt werden.

## Die statistische Bewertung des Differentialblutbildes; neue Ansätze

E. Weber<sup>1</sup>, H. A. G. Müller<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Bayer Diagnostic GmbH, Abt. Med. Wiss., D-8000 München 90  
<sup>2</sup> Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinik am Eichert,  
D-7320 Göppingen

Zur Statistik des Differentialblutbildes sind von verschiedenen Autoren sehr unterschiedliche Ansätze gewählt worden. In Deutschland sind hauptsächlich die Arbeiten von Rümke (1) zu erwähnen, der als Basis seiner Untersuchungen die Binomialverteilung wählte. Im angelsächsischen Bereich wurde zum Teil mit einer Log-Normalverteilung gearbeitet. Grundsätzlich stehen für die Beschreibung der Verteilung von Blutzellen auf einem Objektträger oder in einer Suspension (Zählkammer und Gerät) verschiedene statistische Modelle zur Verfügung: Multinomial-, Binomial-, Normal-, Hypergeometrische- und Poisson-Verteilung. Aus theoretischen Gründen erscheint die Poisson-Verteilung für die genannten Anwendungen geeignet und begründet. Es läßt sich jedoch zeigen, daß die Güte der experimentell gefundenen Anpassung für die einzelnen Zellgruppen sehr unterschiedlich ist. Aus den Ergebnissen von Untersuchungen an Ausstrichen und Geräten lassen sich eine Reihe von Aussagen machen:

Für Zellen mit geringer Dichte wie Eosinophile und Basophile ließ sich bei einer 100 Zellzählung keine optimal geeignete Verteilung finden. Ebenso zeigt sich, daß für Zellen, die schwierig zu erkennen sind, wie Stäbe oder Monozyten, häufig die Normalverteilung die beste Anpassung ergibt. Das Verfahren zeigt auch, daß die optimale Zahl zu differenzierender Zellen pro Objektträgerausstrich bei ca. 300 liegt.

Ähnliches gilt für die Überprüfung von Geräten mit unterschiedlichster Analysetechnik. Auch hier zeigt sich, daß die Analysenverfahren die einzelnen Zellpopulationen mit unterschiedlicher Qualität erkennen können. Für numerische Vergleiche oder Entscheidungen auch im Qualitätssicherungsbereich sollten statistische Verfahren angewandt werden, um eine begründete Aussage zu ermöglichen.

### Schrifttum:

1. Rümke C. L. Die Zelldifferenzierung in Blutaussstrichen: Variabilität der Ergebnisse. Triangle, Band IV, Nr. 4, 1959.

## Vorteile und Grenzen der „Derived Fibrinogen“-Methode

N. Weinstock  
Medizinisch Diagnostisches Institut Städtisches Klinikum  
Karlsruhe (Direktor Prof. H. Patschke)

Fibrinogen wird als eigenständiger Risikofaktor kardiovaskulärer Erkrankungen angesehen. Epidemiologische Studien zeigen, daß eine international anerkannte Bestimmungsmethode sich bisher nicht durchsetzen konnte. Aus Kosten- und Praktikabilitätsgründen bietet sich das abgeleitete Fibrinogen „Derived Fibrinogen“ (DF) an.

Wir haben den Einfluß von Kalibratoren und Reagenzien unterschiedlicher Hersteller sowie von ikterischen, lipämischen und hämolytischen Plasmen auf die nephelometrische DF-Methode untersucht. PT-Regenzen von drei verschiedenen Herstellern zeigen starke Diskrepanzen in der Opazität, mechanischen Stabilität und nephelometrischen Streueigenschaften der gebildeten Thromben. Die Kalibration und die Richtigkeitskontrolle des DF erfordert – wie die bisher eingeführten Methoden – methodenabhängige Werte. Hämolyse bis zu 6 g/dl zeigt keinen Einfluß auf die gemessene Konzentration. Bei Triglyceriden ab 500 mg/dl und Bilirubin ab 3 mg/dl werden abfallende Werte gemessen. Die unter Lysetherapie beobachteten falsch niedrigen Werte der Clauss-Methode werden bei der DF-Methode nicht beobachtet.

Bei „richtiger“ Kalibration zeigt ein Vergleich Clauss- zu DF-Fibrinogen bei allgemeinem Patientengut, bei fötalem Fibrinogen, bei Patienten mit „Lupus Antikoagulantien“ und bei einer schweren Antiepileptika induzierten isolierten Hypofibrinogenämie im wesentlichen übereinstimmende Ergebnisse. Die Korrelation mit der Methode nach Clauss ergab  $r = 0,98$ ,  $y = 1,008 x - 13,71$ . Die Variationskoeffizienten in der Serie liegen bei 4%, die von Tag zu Tag, bei 6%. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, daß für die quantitative Erfassung der Fibrinogenkonzentration in der Routine und für epidemiologische Studien des „Derived Fibrinogen“ eingesetzt werden kann. Nur für gezielte Fragestellungen und für eine weitergehende Diagnostik kann Fibrinogen nach Clauss zusätzlich bestimmt werden.

## Personalbedarf und Personalkosten im Krankenhauslaboratorium

N. Weinstock  
Medizinisch-Diagnostisches Institut,  
Städtisches Klinikum Karlsruhe

Personalplanung und -führung lassen sich mit Hilfe des Computerprogramms „PERSONAL I“ optimieren (1).

Das Programm „PERSONAL II“ kann die erforderlichen Daten aus dem Programm „PERSONAL I“ übernehmen und berechnet aus den laufenden Eingaben die laborspezifischen aktuellen Kennzahlen (IST-KENNZAHLEN) wie:

Ausfallzeiten und Rentabilität. Personalbedarf und Personalkosten pro Analyse und pro Arbeitsplatz.

Gesamtpersonalbedarf und Gesamtpersonalkosten untergliedert z. B. nach Dienstzeiten (Routine-, Spät-, Nacht-, Wochenend-, Feiertagdienste u. a.) und nach Dienstarten (analytisches, nicht-analytisches und akademisches Personal, Auszubildende u. a.).

Beim Personalbedarf bestätigen die laborspezifischen aktuellen IST-KENNZAHLEN die Unbrauchbarkeit der seit 1979/1985 als Berechnungsgrundlage benutzten Anhaltzahlen. Die IST-PERSONALKOSTEN pro Analyse variieren zwischen 13 Pfg. (Klin. Chem., Selektivanalyser) und über 100,- DM (spezielle Toxikologie).

Das vorgestellte Programm „PERSONAL II“ zeichnet sich durch eine problemlose, wenig arbeitsintensive Datenerfassung sowie eine automatisch ablaufende Berechnung aus und ist universell innerhalb und außerhalb des medizinischen Laboratoriums einsetzbar. Die so gewonnenen Kennzahlen können mögliche Schwachpunkte in der bisherigen Personalstruktur aufzeigen und unterstützen die Entscheidungen über kostensenkende Umstrukturierungen im Labor.

Schrifttum:

1. N. Weinstock, A. Kirov. Lab.Med. 16, 178-184 (1992).

## Fettsäuren hemmen in vitro die 5 $\alpha$ -Reduktase-Aktivität der menschlichen benignen Prostatahyperplasie (BPH)

H. Weisser, S. Tunn, M. Krieg  
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Universitätsklinik Bergmannsheil, Bochum

In der Regulation des intraprostatatischen Androgenstoffwechsels spielt die membrangebundene 5 $\alpha$ -Reduktase eine entscheidende Rolle, da sie die Umwandlung von Testosteron zum biologisch hoch aktiven Dihydrotestosteron katalysiert. Dabei ist ihre Aktivität, wie die einer Vielzahl anderer membrangebundener Enzyme, von der Membranzusammensetzung abhängig. In der vorliegen-

den Studie wurde untersucht, inwieweit Fettsäuren die 5 $\alpha$ -Reduktase-Aktivität der menschlichen benignen Prostatahyperplasie (BPH) unter in vitro Bedingungen beeinflussen. Drei BPHs wurden in Epithel und Stroma fraktioniert. Zur Bestimmung der 5 $\alpha$ -Reduktase-Aktivität wurden die Fraktionen mit radioaktivmarkiertem Testosteron allein oder zusammen mit einer der nachfolgenden gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren inkubiert: C6:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C20:3, C20:4, C22:6. Die Androgenmetabolite wurden mittels HPLC getrennt und durch Messung der Radioaktivität quantifiziert.

Das Ergebnis war: 1. Die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reduktase wurde im Epithel und Stroma sowohl durch gesättigte als auch durch ungesättigte Fettsäuren deutlich gehemmt. 2. Das Ausmaß der Hemmung scheint bei den gesättigten Fettsäuren durch die Kettenlänge beeinflusst zu sein. Die mittlere prozentuale Hemmung durch gesättigte Fettsäuren betrug im Epithel bzw. Stroma: 84% und 70% (C10:0), 65% und 62% (C12:0), 48% und 39% (C14:0), 28% und 27% (C6:0), 15% und 70% (C16:0), 12% und 12% (C18:0). 3. Die mittlere prozentuale Hemmung durch ungesättigte Fettsäuren betrug im Epithel bzw. Stroma 30% und 29% (C18:1), 53% und 57% (C20:3), 23% und 31% (C20:4), 55% und 55% (C22:6). 4. Die Hemmung war dosisabhängig und nicht-kompetitiv.

Zusammengefaßt ergibt sich, daß Fettsäuren die 5 $\alpha$ -Reduktase hemmen. Der Einbau bestimmter Fettsäuren in intrazelluläre Membranstrukturen mag deshalb Auswirkungen auf die Aktivität der membrangebundenen 5 $\alpha$ -Reduktase haben. Damit können Fettsäuren potentiell an der Regulation des intraprostatatischen DHT-Milieus beteiligt sein.

## Bestimmung von Quecksilber in biologischen Materialien

B. Wenclawiak, S. Bemadda, R. Paulick  
Leeman-Labs Analysegeräte GmbH, Hommeswiese 136,  
D-5905 Freudenberg

Quecksilber wurde in verschiedenen Materialien bestimmt. Die Messung erfolgte mit dem LEEMAN-LABS PS200, einem Hg-Analysator, der sich der Kaldampf-Atomabsorptions-Methode bedient und der für die Bestimmung von Quecksilber im Spurenbereich optimiert wurde. Neben Wasser-, Abwasser- und Bodenproben wurde speziell Quecksilber in Urin und Blut bestimmt. Für Blutproben wurden verschiedene Aufschlußmethoden durchgeführt und verglichen.

Unter anderem wurde mit dem LEEMAN LABS AP200, einem voll-automatischen Probenvorbereitungssystem, eine Aufschlußmethode für Urin- und Blutproben optimiert. Es konnten gleichzeitig 88 Proben, 6 Standards und 6 Kontrollproben nach derselben Methode aufgeschlossen werden.

Die Nachweisgrenzen für Quecksilber in Blut und Urin lagen im ppt-Bereich, die Wiederfindungsraten zwischen 95% und 105%.

## Glykogenosen und angeborene Störungen der Glukoneogenese

U. Wendel  
Kinderklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Bei einigen erblichen Enzymdefekten ist der Glykogenabbau gestört, mit der Folge eines erhöhten Glykogengehalts in verschiedenen Organen. Die Symptomatologie der GSD wird durch den jeweiligen Enzymdefekt und seine Organlokalisation bestimmt. Zwei Gruppen von GSD werden unterschieden: Leber- und Muskelglykogenosen. Überschneidungen sind möglich, da einige Leberglykogenosen auch Muskelbeteiligung (GSD III) zeigen. Die Charakteristika der GSD I (G6Pase) sind schwere Hypoglykämien

mit Hyperlactacidämie. Eine intensive Therapie ist erforderlich. Bei GSD III (debranching Enzyme def.) und bei Defekten im Phosphorylasesystem ist die Hypoglykämie neigung gering. GSD IV führt durch ein Glykogen mit Fremdkörperwirkung bereits in der Kindheit zu Leberinsuffizienz. Die Diagnostik bei Glykogenosen erfolgt anhand der Klinik, klinisch-chemischer Parameter, evtl. Belastungstests, der Enzymdiagnostik in Leber- oder Blutzellen.

Im Rahmen der Glukoneogenese erfolgt die Bildung von Glukose aus Nicht-Kohlenhydrat-Precursoren wie Lactat, Pyruvat, Glycerin und Aminosäuren. Durch sie wird die Glukosehomöostase bei langen Nüchternperioden gewährleistet. Die meisten beteiligten Enzymschritte sind reversibel und werden auch während der Glykolyse genutzt. Zu Störungen kommt es, wenn eines der vier Schlüsselenzyme (PC, PEPCK, FDPase, oder G6Pase (GSD II)) defekt ist. Der wichtigste ist der FDPase-Mangel mit schweren Hypoglykämien und Keto-Lactacidosen während langer Nüchternphasen. Eine Prophylaxe ist dringend erforderlich.

## PCR-RFLP und PCR-SSCP in der ApoE Genodiagnostik

E. Werle<sup>1</sup>, T. Cantz<sup>1</sup>, M. Kohlmeier<sup>2</sup>, M. Künstler<sup>1</sup>, C. Hasslacher<sup>3</sup>, W. Fiehn<sup>1</sup>

Zentrallabor<sup>1</sup>, Innere Medizin I<sup>2</sup>, Universität Heidelberg, Chapel Hill<sup>3</sup>, USA

Apolipoprotein E (ApoE) ist bedeutsam für den Katabolismus von Lipoproteinen durch Rezeptor-vermittelte Endozytose. Drei häufige ApoE Isoformen sind beschrieben (E2: 112, 158 Cys; E3: 112 Cys, 158 Arg; E4: 112, 158 Arg). 90% der Typ III Hyperlipidämien sind assoziiert mit einem E2 Phänotyp (meist 158 Arg → Cys) und beruhen möglicherweise auf einer gestörten Rezeptorbindung der E2 Isoformen.

Die PCR (Polymerase Chain Reaction) mit den Primern F4 und F6 (Emi et al., Genomics 3, 373-379, 1988) ermöglicht die sichere Amplifikation von 245 Basenpaaren des ApoE Gens. Nach Verdau des PCR Produktes mit CFO I läßt sich eine Genotypisierung aufgrund des Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) der ApoE Isoformen durchführen. Die Interpretation des silbergefärbten Polyacrylamidgels (PAGE) ist eindeutig bezüglich des Arg → Cys Austausches an Position 112 und 158. Seltene Mutationen, die zu keinen veränderten Restriktionsfragmenten führen, werden ebenso wie bei der dot-blot Hybridisierung mit allelspezifischen Oligonukleotiden (ASO) nicht erkannt.

Die PCR-SSCP (single-strand conformation polymorphism) stellt eine Möglichkeit dar, Genmutationen aufgrund einer veränderten Mobilität in der nicht-denaturierenden PAGE zu entdecken. Bereits einzelne Punktmutationen können zu einer veränderten Sekundärstruktur und somit zu einem unterschiedlichen Laufverhalten im Gel führen. Neben der PCR-RFLP zur Diagnostik der klassischen ApoE Isoformen stellt die PCR-SSCP eine Suchmethode dar, um seltene Mutationen des ApoE Gens zu entdecken und einer Sequenzierung zuzuführen.

## Tamm-Horsfall-Protein-Ausscheidung in verschiedenen Urinsammelperioden und Beziehungen zu anderen Markerproteinen

E. Werle, Th. Martin, H.-P. Kempe, W. Fiehn, C. Hasslacher  
Medizinische Universitätsklinik Heidelberg

Das Tamm-Horsfall-Protein (THP) dient als Marker der distalen Tubululosefunktion. Da bisher Normalwerte für die THP-Exkretion (EX) nur im 24 h-Urin vorliegen (> 15 mg), untersuchten wir 1., ob die

Bestimmung der THP-EX im Nachturin (NU) ausreicht und 2., ob es einen cut-off-point der THP-Konzentration gibt, der normale und erniedrigte THP-EX diskriminiert.

**Methoden:** Bei 36 unausgewählten Patienten wurde die THP-EX im 24 h-Urin (24 h-U), aufgeteilt in Tag- (TU, 08.00-20.00) und Nachturin (NU, 20.00-08.00) mit einem Enzymimmunoassay (Synelisa-THP, Elias Freiburg) bestimmt. Gleichzeitig wurden Albumin und  $\alpha$ 1-Microglobulin (A1M) mit dem Behring-Nephelometer gemessen.

**Ergebnisse:** Die THP-EX betrug im 24 h-U 25,07  $\pm$  14,8 mg, im NU 11,02  $\pm$  6,5 mg und im TU 13,86  $\pm$  9,11 mg. Pat. mit einer THP-EX > 15 mg/24 h hatten eine THP-EX > 7,5 mg im TU zu 88% bzw. im NU zu 85%. Pat. mit einer THP-EX < 15 mg pro 24 h schieden in 90% am Tag und in 100% nachts weniger als 7,5 mg THP aus. Bestimmungen der THP-Konzentrationen ergaben für keine Sammelperiode einen cut-off-point, der normale und patholog. THP-EX getrennt hätte, ebensowenig bei Bezug auf die Kreatininkonzentration. Es bestehen nur schwache Beziehungen zwischen der THP-EX und anderen glomerulären und tubulären Markerproteinen.

**Schlußfolgerung:** Die THP-EX scheint keinen wesentlichen tageszeitlichen Schwankungen zu unterliegen. Somit ist eine Bestimmung im Nachturin ausreichend.

## Kritische Analyse von Normalwertangaben für kommerzielle RIA-Assays verschiedener Steroidhormone und Sexual-hormon-bindendes Globulin (SHBG)

H. Wernze<sup>1</sup>, T. Steck<sup>2</sup>, P. Kötting<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Klinik und <sup>2</sup> Frauenklinik, Universität Würzburg

Bei der Bewertung von Hormonveränderungen verlassen sich die meisten Laboratorien auf vorgegebene Normalbereiche kommerzieller Assays. Die Erstellung eigener Normalbereiche ist mühevoll. Wir untersuchten 59 freiwillige Frauen (Alter 19-37 Jahre), denen zuvor alle Voraussetzungen der Testung erläutert waren. Die Blutentnahme sollte demnach: nüchtern; nach 30 min. Ruhelagerung; Zeit (07.30-08.30 Uhr; ohne Pharmaka und ohne Zyklusirregularitäten) erfolgen. Meßgrößen: Gesamttestosteron (T) (Kit Immunochem), freies Testosteron (FT), Androstendion (A), DHEA-S (Kits DPC), SHBG (Kit Farnos). Resultate: 16 von 59 Frauen mußten wegen Akne, Hirsutismus, Alopecie als Kontrollen ausscheiden. 8 Personen waren in der Corpus-luteum-Phase (Progesteron > 3 ng/ml). T, FT waren jeweils in einem Fall marginal erhöht, die Streubreiche waren auch für A mit der jeweiligen Kit-Vorgabe deckungsgleich. DHEA-S lag 5mal (11%) über der Kit-Norm (> 3900 ng/ml), die SHBG-Norm (30-90 nmol/l) wurde 7mal (17%) unterschritten. Kommentar: Die Normalwertermittlung in der gynäkologischen Endokrinologie macht die sorgfältige klinische Befundung notwendig. Auch unter Einhaltung strenger Konditionen läßt sich eine weitaus größere Streuung für SHBG und DHEA-S erkennen. Kommerzielle Assays sollten mehr Angaben über die präanalytische Phase der Kontrollkollektive enthalten.

## Ferritin im Eisenstoffwechsel, diagnostische Strategien

M. Wick, W. Pinggera, P. Lehmann

Boehringer Mannheim GmbH, 6800 Mannheim 31

Eisenstoffwechselstörungen, insbesondere der Eisenmangel, zählen zu den am häufigsten übersehenen oder fehlgedeuteten Erkrankungen. Dies liegt insbesondere daran, daß die in der konventionellen Diagnostik angewandte Bestimmung des Transport-



eisens im Serum bzw. Plasma wegen der kurzfristigen Schwankungen keine repräsentative Abschätzung der Gesamtkörper-eisenreserven erlaubt. War dies früher nur durch die aufwendige und invasive Speichereisenbestimmung im Knochenmark möglich, so gestatten heute empfindliche, gut standardisierte immunchemische Verfahren eine präzise Bestimmung des Eisenspeicherproteins Ferritin im Plasma. Da dessen Sekretion in der Mehrzahl der Fälle die Depoteisenreserven korrekt widerspiegelt, ermöglicht dies eine schnelle und sichere Diagnose, insbesondere von Eisenmangelzuständen. Wegen der Häufigkeit des Eisenmangels und der meist einfachen Therapie sollte diese Erkenntnis zum medizinischen Allgemeinut gehören. Es werden die wesentlichen pathophysiologischen Grundlagen und diagnostischen Prinzipien diskutiert.

## Erste klinische Erfahrungen mit dem neuen IRMA CYFRA 21-1 bei nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen

J. Wiefelspütz und M. E. Scheulen  
Innere Klinik und Poliklinik (Tumorforschung),  
Westdeutsches Tumorzentrum, Universitätsklinik Essen

Der neue Tumormarker CYFRA 21-1, von ID-CIS, Dreieich, der lösliche Cytokeratin 19-Fragmente im Serum mißt, wurde von uns auf seine klinischen Einsatzmöglichkeiten überprüft. Untersucht wurden 69 Patienten mit nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) im Vergleich zu 219 Patienten mit benignen Lungenerkrankungen und 140 gesunden Blutspendern. Bei einem Cut-off-Punkt von 1,1 ng/ml (Spezifität von 95% bei gesunden Blutspendern) betrug die Sensitivität bei NSCLC 70% (81% für Plattenepithelkarzinome, 58% für großzellige Karzinome und 57% für Adenokarzinome) und die Spezifität bei benignen Lungenerkrankungen 81%. Ein Cut-off-Punkt von 2,2 ng/ml (Spezifität von 95% bei benignen Lungenerkrankungen) führte dagegen zu einer Sensitivität von 45% bei NSCLC (56% für Plattenepithelkarzinome, 42% für großzellige Karzinome und 29% für Adenokarzinome).

Unsere ersten klinischen Erfahrungen zeigen, daß CYFRA 21-1 im Gegensatz zu anderen Tumormarkern beim Plattenepithelkarzinom die höchste Sensitivität bei höchster Spezifität besitzt. In der Verlaufskontrolle geben die CYFRA 21-1-Werte im Vergleich zu den Tumormarkern CEA, NSE und SCC den Krankheitsverlauf am besten wieder.

## Diagnostica und Umweltschutz

Hans-Georg Will  
VDGH, Münchener Straße 49, 6000 Frankfurt am Main

Die im VDGH zusammengeschlossenen Unternehmen messen dem Umweltschutz eine zentrale Bedeutung zu. Schon seit etlichen Jahren existiert für entsprechende Fragestellungen ein besonderes Verbandsgremium, der Umweltausschuß, in dem alle anfallenden ökologischen Fragestellungen auf Expertenebene diskutiert werden. Der Ausschuß fungiert auch – und das unterstreicht die aktive Rolle des VDGH – als Sachverständigen-gremium des europäischen Verbandes der Diagnostica-Industrie.

Auf der Grundlage der Beratungen im Umweltausschuß trägt der VDGH durch eine Reihe wichtiger Dienstleistungen zur Entlastung der Umwelt bei. Diese lassen sich im wesentlichen wie folgt zusammenfassen:

- Information und Beratung der Mitgliedsfirmen über neue ökologische Entwicklungen
- Denkanstöße und Vorschläge für umweltbewußtes Handeln in Eigenverantwortung
- Mitgestaltung der gesetzlichen Regelungen

- Unterstützung der Mitgliedsfirmen bei der Umsetzung der Vorschriften
- Hilfestellung für die Anwender.

Zur Zeit konzentriert sich die Verbandsarbeit auf die Entsorgung von Laborabfällen, die Umsetzung der Verpackungsverordnung und die künftige Elektronik-Schrott-Verordnung. Für die in den medizinischen Laboratorien anfallenden flüssigen Abfälle wurde ein Entsorgungskonzept entwickelt und den Anwendern zur Nutzung angeboten, das grundsätzlich auch auf feste Laborabfälle (Reagenzträger o. ä.) übertragen werden kann. Eine Vielzahl weiterer Maßnahmen unterstreicht, daß die Diagnostica-Industrie sich ihrer Mitverantwortung für die Umwelt bewußt ist und diesbezüglich eine konstruktive Zusammenarbeit mit ihren Partnern im Markt anstrebt.

## Antioxidantienstatus im Serum bei Frauen unter dem Einfluß von Antikonzeptiva

K. Winnefeld<sup>1</sup>, G. Klinger<sup>2</sup>, H. Dawczynski<sup>1</sup>, E. Treff (1) und S. Hein<sup>1</sup>

Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena

<sup>1</sup> Klinik und Poliklinik für Chirurgie, <sup>2</sup> Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Bei 45 jungen Frauen im Alter zwischen 18 und 25 Jahren, die das Dreistufenpräparat Trisiston als Kontrazeptivum bereits über mehrere Monate oder Jahre kontinuierlich einnehmen, wurden Selen, Glutathionperoxidase, Malondialdehyd (TBA-Reaktion) sowie Eisen und Kupfer im Serum bestimmt. Es werden normale Glutathionperoxidase-Aktivitäten, jedoch deutlich erhöhte MDA-Konzentrationen gemessen. Selen im Serum war ebenfalls normal. Wir deuten die Befunde in der Weise, daß erhöhte Kupferwerte die Lipidperoxidation stimulieren, das Antioxidantienpotential jedoch dabei ausgeglichen ist. Die vorliegenden Ergebnisse lassen darauf schließen, daß Scavengersubstanzen – Vitamin E und C – zusammen mit der hormonalen Kontrazeptiva appliziert werden sollten.

## DNA-Analytik von hereditären Antithrombin III- und Protein C-Defekten

Irene Witt  
Univ.-Kinderklinik Freiburg, Klin.-Chem. und Biochem. Labor

Der hereditäre Mangel der beiden wichtigsten Inhibitoren des plasmatischen Gerinnungssystems – Antithrombin III (AT III) und Protein C (PC) – ist in der heterozygoten Form (autosomal dominante Vererbung) mit einem hohen Risiko für thromboembolische Erkrankungen (TE) assoziiert.

Nach der Aufklärung der DNA-Sequenzen der Gene konnten zahlreiche Mutationen, die den angeborenen Defekten der Inhibitoren zugrunde liegen, identifiziert werden. Das Bild der Mutationen ist sehr heterogen. Vorwiegend liegen Punktmutationen vor. Die Identifizierung der DNA-Defekte ist von Bedeutung sowohl für das Verständnis der Beziehungen zwischen Struktur und Funktion des Proteins als auch für die Diagnose und Prognose des Patienten. Beim AT III-Mangel hat die Analyse der Mutationen ergeben, daß Defekte, die eine bestimmte Region des Proteins betreffen, nur mit einem minimalen Risiko für TE verbunden sind. Beim PC-Mangel erlaubt die DNA-Analyse eine eindeutige Diagnosestellung, die auf der Protein-Ebene unsicher ist, da die Werte für die PC-Aktivität im Plasma von Gesunden und Heterozygoten breit überlappen. Außerdem ist die Diagnose bei Patienten unter oraler Antikoagulation und bei Neugeborenen möglich.

## Diagnostik und Klinik der angeborenen Störungen des Galactose-Stoffwechsels

Irene Witt

Univ.-Kinderklinik Freiburg, Klin.-Chem. und Biochem. Labor

Die wichtigsten angeborenen Störungen des Galactose-Stoffwechsels sind Defekte der Enzyme Galactokinase (GALK) und Galactose-1-phosphat-uridyltransferase (GALT). Die Defekte werden autosomal rezessiv vererbt. Die Inzidenz liegt für GALK bei ca. 1:130 000 und für GALT bei ca. 1:55 000. Erfasst werden beide Defekte mit dem Neugeborenen-Screening. Bei dessen Durchführung sind die präanalytischen Bedingungen unbedingt einzuhalten. Einige Screening-Verfahren führen z. B. zu falschen Ergebnissen unter der Gabe von Antibiotica.

Das einzige klinische Symptom bei GALK-Mangel ist die Kataraktbildung, während beim GALT-Mangel eine schwere Störung der Syntheseleistung der Leber den Krankheitsverlauf bestimmt. Unbehandelt führt der GALT-Mangel zum irreversiblen Leberversagen. Varianten mit milden Verlaufsformen kommen relativ häufig vor. Die Diagnosesicherung erfolgt durch Enzymaktivitätsbestimmungen in Erythrocyten. Die Identifizierung der im GALT-Gen vorliegenden Mutationen ist möglich und wird sich zunehmend durchsetzen. Trotz streng Galactose-freier Ernährung treten Spätschäden in Form von neurologischen Symptomen und Intelligenzminderung auf.

## Die Erkennung residueller Leukämiezellen mit Hilfe der Durchflußzytometrie

B. Wörmann, F. Griesinger, S. Toepker, S. Könemann  
D. Grove, Th. Büchner, W. Hiddemann, L. W. M. M. Terstappen  
Zentrum Innere Medizin, Abt. Hämatologie/Onkologie,  
Georg-August-Universität, 3400 Göttingen

Fortschritte in der automatisierten, durchflußzytometrischen Analyse, in der Entwicklung neuer Fluoreszenzkonjugate und eine bessere Kenntnis des Antigenprofils normaler und leukämischer Vorläuferzellen haben die Sensitivität der Multiparameter-Immunphänotypisierung für die Entdeckung residueller Leukämiezellen erhöht. Leukämische Blasten bei Patienten mit akuter myeloischer (AML) und bei akuter lymphatischer (ALL) werden aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit normalen hämatopoetischen Progenitorzellen klassifiziert. Bei 75 bis 95% von Patienten mit neu diagnostizierter akuter Leukämie kann zusätzlich aufgrund „aberranter“ oder „ungewöhnlicher“ Expression von Oberflächenantigenen eine Diskriminierung der leukämischen von normal hämatopoetischen Progenitorzellen durchgeführt werden. Bei Diagnosestellung wird das Antigenprofil mit Hilfe der Zwei- oder Dreifarbenanalyse in multiplen Kombinationen analysiert. Es wird dann für ein Monitoring eine informative Antikörperkombination festgelegt. Durch Mischexperimente von leukämischen und normalen Knochenmarkszellen wurde die optimale Sensitivität dieser Methode bei  $1 \times 10^{-3}$  Zellen festgelegt. In prospektiven Studien wird zur Zeit der Wert dieser Methode für die Erkennung von „minimal residual disease“ getestet. Die klinischen Daten bei AML-Patienten zeigen, daß Patienten mit residuellen myeloischen Blasten in kompletter Remission nach Induktionstherapie ein hohes Rezidivrisiko haben. Damit eröffnet sich die potentielle Strategie einer stratifizierten, intensivierten Postremissionstherapie für Patienten mit akuter Leukämie.

## Multi-layered slide immunorate assay for the measurement of C-Reactive Protein

A. Wu

Eastman Kodak Company, Clinical Diagnostics Division,  
Rochester, NY, 14650, USA

We have developed a sandwich-type enzyme immunoassay for the measurement of C-Reactive Protein (CRP) in human serum using a thin-film multi-layered slide consisting of a transparent plastic support layer, a reagent layer, and a porous reflective spreading layer. The spreading layer contains a monoclonal anti-CRP antibody (MAb) labeled with horseradish peroxidase (HRP) and a derivative of phosphorylcholine (PC) covalently bound to the surface of polystyrene polymer beads. The assay was conducted by applying 10  $\mu$ l of undiluted patient serum to the slide and incubating at 37°C for 5 minutes to allow the sandwich to form. Ten  $\mu$ l of wash fluid containing hydrogen peroxidase was applied to the slide to remove excess MAb-HRP conjugate from the observation area. The amount of formed PC-CRP-MAb-HRP sandwich was determined by measuring the rate of formation of oxidized leuco dye in the observation area of the slide using a high-precision reflectometer on the KODAK EKTACHEM 250 Analyzer. The results of comparison studies using clinical samples assayed for CRP showed a correlation to the Behring nephelometric method of  $r = 0.97$  (slope = 0.93, intercept = 4.3 mg/l). Within-run imprecision was 5% at 150 mg/l and 7% at 20 mg/l. The assay demonstrated no interferences from rheumatoid factor, hemoglobin, and bilirubin. There was no hook effect up to 500 mg/l CRP.

We conclude that the multi-layered slide assay offers the laboratory state-of-the art performance in a convenient and random-access format, and supports broader clinical utilization of this important analyte.

## Tandem®-R Ostase™:

### A new immunoradiometric assay (IRMA) for the quantitative measurement of skeletal alkaline phosphatase

M.-J. Yerna, C. Darte, M. Meyer, T. Scheel\*  
Hybritech Europe S.A., Liège, Belgium  
\* Hybritech GmbH, Köln, Germany

The measurement of serum total alkaline phosphatase (ALP) has been popular in clinical practice for over 50 years. However, a problem inherent in the interpretation of ALP results is the lack of specificity because of the combined activities of isoenzymes from bone, liver and intestine. Measurement of skeletal isoenzyme of ALP (Skeletal ALP) can be achieved by various electrophoretic techniques and lectin binding separations of the ALP isoenzymes. However, these methods are labor intensive and the results tend to be semi-quantitative. Recently, Hybritech Inc., San Diego, Ca, USA, has introduced a two-site immunoradiometric assay (IRMA) for the quantitative measurement of skeletal alkaline phosphatase. The assay used two monoclonal antibodies, requires 0.1 ml of serum and is very reproducible with intraassay CV's of 7% and inter-assay/inter-component CV's of 8%. Dilution of elevated patient samples gave linear responses with recoveries generally in the range of 90–110%. The assay calibration is based on mass units ( $\mu$ g/l) and was established using antigen purified to homogeneity from a human osteosarcoma cell line. The assay exhibits a dynamic range to 120  $\mu$ g/l with a minimum detectable concentration of 2  $\mu$ g/l. The mean and SD of 478 samples obtained from apparently healthy adults was 11.8  $\mu$ g/l  $\pm$  4.3. Skeletal ALP in serum is very stable with no loss of immunoreactivity after short-term room temperature or refrigeration storage or long-term frozen storage. Multiple freeze/thaw cycles were also without effect. Specificity studies showed that the assay demonstrated a seven-fold preference for detecting bone ALP over the liver isoen-

zyme in serum. We conclude that the Tandem®-R Ostase™ assay demonstrates reliable and reproducible performance characteristics important for use in clinical evaluations.

## Enzymatische Phenylalaninbestimmung im Vollblut getrocknet auf Filterpapier als Suchtest auf Phenylketonurie

S. Zabransky

Screeninglabor der Universitätskliniken des Saarlandes, Kinder- und Jugendmedizin, Homburg/Saar

Methode/Untersuchungsgut: Wir bestimmten mit dem Testkit Quantase Phenylalanine (Porton Cambridge, London), einer enzymatischen Methode, parallel zum herkömmlichen Guthrie-Test 3000 Proben (Vollblut getrocknet auf Filterpapier) von Neugeborenen im Alter von 4–6 Tagen. Ansatz: Im Durchmesser 4,5 mm große Filterpapierplättchen mit getrocknetem Blut werden 30' mit Trichloressigsäure zur Enteiweißung bei RT geschüttelt. 40 µl des Eluats werden mit 100 µl Enzymreagenz inkubiert (30', RT), anschließend wird Farbreaenz (100 µl) dazugegeben und nach 2' die optische Dichte bei 570 nm gemessen. Der VK liegt im kritischen Bereich von 2,3 mg/dl Phe unter 10%, die Intraassayvarianz bei 5%.

Ergebnisse: Mittelwert 2,04 mg/dl Phe (SD 0,65). Bei einem Cut off von 4 mg/dl betrug die Rückrufrate nur 0,03%. Eine Probe enthielt 16 mg/dl. Bei diesem Kind konnte eine PKU nachgewiesen werden.

Schlußfolgerung: Die enzymatische Bestimmung mit dem Quantase-Kit ermöglicht eine scharfe Trennung des Normbereichs von auffälligen Werten. Die Daten können im Gegensatz zum biologischen Guthrie-Test vom Reader direkt in den PC transferiert und weiterverarbeitet werden. Die Ergebnisse liegen noch am gleichen Tag vor. Antibiotika beeinflussen das Ergebnis nicht.

## Die Bedeutung der quantitativen, immunturbidimetrischen Myoglobin-Bestimmung für die Herzinfarkt Diagnostik im Notfall-Labor

H. D. Zuchhold, B. Brüche, G. Hafner, J. Lotz, W. Prellwitz  
Institut für Klinische Chemie und Labormedizin,  
Universitätsklinik Mainz

Die Agglutinationsreaktion zwischen Myoglobin und polyklonalen Anti-Myoglobin-Antikörpern (Turbiquant Myoglobin) wird im Behring Turbitimer mit einem VK von Tag zu Tag 8% durchgeführt. Die Intraassay-Präzision liegt konzentrationsabhängig zwischen 1,2 und 5,6%.

Die Bestimmung liefert innerhalb von drei Minuten quantitative Myoglobin Werte im linearen Bereich von 60–1000 µg/l. Der Referenzbereich von < 80 µg/l wird überschritten bei einer Schädigung der quergestreiften Muskulatur (Skelett- und Herzmuskel). Auf Grund des niedrigen Molekulargewichtes (MG 17000) wird Myoglobin bei Muskelnekrosen wie Myopathien und Herzinfarkt rasch in die Blutbahn freigesetzt. Es erreicht deutlich früher als die entsprechenden Enzym-Aktivitäten CK und CK-MB schon nach ein bis zwei Stunden pathologische Werte. Durch die kurze Halbwertszeit von 20 Minuten kehrt es auch früher als die Enzyme (z. B. CK-MB HWZ 12,5 Stunden) wieder in den Referenzbereich zurück.

Bei engmaschiger Verlaufskontrolle werden Mikroperfusions Effekte wie das Stakkatophänomen bei konservativer Therapie des Myokardinfarktes sichtbar. Auch ein perioperativer Infarkt bei

Herzchirurgie kann mit der Myoglobin-Bestimmung nachgewiesen werden.

Myoglobin ist diagnostisch im Notfall-Labor auch nutzbar bei nicht-infarktbedingten Erhöhungen der Myoglobinkonzentration wie z. B. maligner Hyperthermie und Rhabdomyolyse.

## Catelyzer, ein Fließ-Injektions-System zur Bestimmung von Katecholaminen

Andreas Zucker, Walter Oberrauch, Brigitte Gallert  
Bio-Rad Laboratories GmbH, Heidemannstraße 164,  
8000 München 45

Die Bestimmung der Katecholamine im Urin ist ein wichtiger Parameter für die Diagnostik von Tumoren des sympathoadrenergen Systems.

Kommerziell verfügbare Methoden sind oft sehr arbeitsaufwendig oder erfordern eine spezielle Geräteausrüstung, z. B. HPLC oder Fluorometer. Aufbauend auf den Untersuchungen über chemische Reaktionsdetektoren von Dr. Neidhart hat Bio-Rad ein preiswertes Fließ-Injektions-System (Catelyzer) zur Analyse der Katecholamine im Urin entwickelt.

Der Catelyzer ist ein platzsparendes und intelligentes Analysengerät. Alle Arbeitsschritte werden computergesteuert vollautomatisch durchgeführt. Die quantitative Bestimmung der Katecholamine erfolgt fluorometrisch nach deren Umsetzung zum Trihydroxyindol (1). Adrenalin und Noradrenalin werden hierbei gemeinsam erfaßt. Zur Kalibrierung wird eine Lösung von Noradrenalin und Adrenalin im Verhältnis 4:1, entsprechend ihrem natürlichen Verhältnis zueinander, verwendet.

Die einfache Probenvorbereitung beinhaltet nur einen Reinigungsschritt über eine Ionenaustauschersäule. Die kinderleichte Bedienung des Catelyzers schließt jegliche Fehlerquellen aus. Aufwendige Auswertungen über Eichreihen entfallen, die Meßwertausgabe kann über einen externen Drucker oder als Anzeige auf dem Display erfolgen. Eine serielle Schnittstelle ermöglicht die Integration des Catelyzers in bestehende Labordatensysteme. Jeder durchlaufene Arbeitsschritt wird auf dem Display angezeigt.

Neben der kurzen Analysenzeit besticht der Catelyzer durch seine Zuverlässigkeit und stellt eine preiswerte Alternative zu bestehenden Systemen oder manuellen Tests dar.

Schrifttum:

1. Lund, A. Method. Acta. Pharmacol. Toxicol. 5, 231–247 (1949).

## Hydroxyprolin, ein Kit zur Routinediagnose von Osteoporose

Andreas Zucker, Sigrun Meier  
Bio-Rad Laboratories GmbH, Heidemannstraße 164

Angesichts der stetig steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung rücken altersbedingte Krankheiten immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses. Nach heutigen Erkenntnissen entwickelt jede vierte Frau ab dem 60. Lebensjahr das Krankheitsbild der Osteoporose. Als geeignete biochemische Parameter zur Messung dieses Knochenabbaus kommen insbesondere 3 Moleküle in Frage: das Hydroxylysin, die Crosslinker und das Hydroxyprolin.

Da ein Testkit für die tägliche Laborroutine besondere Anforderungen hinsichtlich komfortabler Durchführbarkeit, präziser Aussage und Preis stellt, bieten die chemischen Eigenschaften des Hydroxyprolin die besten Ansatzpunkte.

In einem neuartigen patentierten Verfahren werden, schon in der Probenvorbereitung, mögliche Störsubstanzen kovalent aus dem Urin entfernt. Die quantitative Bestimmung des Hydroxyprolin erfolgt isokratisch über Reversed Phase Chromatographie mit UV-Detektion. Die Mitführung eines internen Standards garantiert eine sichere quantitative Auswertung.

Der Test weist einen VK von 3% im Intraassay und 5% im Interassay auf. Er ist linear im Bereich von 35–1200 µMol/l und erreicht eine analytische Wiederfindung von 93–97%.

Das Testergebnis kann, durch den kurzen Zeitaufwand für Probenvorbereitung und Chromatographie, schon am Tag des Eingangs der Patientenprobe vorliegen.

Diese Testmerkmale und die Möglichkeit der Bestimmung aus Urin prädestinieren das Hydroxyprolin sowohl als Parameter für die Bestimmung des geeigneten Startpunkts einer medikamentösen Therapie als auch für ein Monitoring der Osteoporose.

#### Schrifttum:

Epstein, S. *Endocrine Reviews*, 9, 437–444 (1988).  
Kraenzlin, M. *P.A.F.*, 11, 175–200 (1990).

### Nach Redaktionsschluß eingegangen:

## Monozytensubpopulationen in der Risikodiagnostik der Arteriosklerose

G. Schmitz, G. Rohde, E. Kovacs  
*Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,  
Klinikum der Universität Regensburg*

Monozyten und Makrophagen sind an der Entwicklung der Arteriosklerose sowohl durch ihre Rolle im inflammatorischen Prozeß als auch durch ihre Rolle im Lipid- und Lipoprotein-Metabolismus der Gefäßwand beteiligt. Bis heute ist es unklar, ob die verstärkte Adhäsion und Auswanderung von Monozyten aus dem Plasmakompartiment in den subendothelialen Raum bei Arteriosklerose Folge der Aktivierung aller Blutmonozyten durch atherogene Lipoproteine ist oder auf der spezifischen Rekrutierung von Monozytensubpopulationen mit besonderen funktionellen Charakteristika beruht. Wir untersuchten mit der Durchflußzytometrie die Expression von Aktivierungs- und Differenzierungsmarkern (CD 14, CD 16, CD 4, HLA-DR), Komplement-regulatorischen Proteinen (CD 35, CD 46, CD 55, CD 59) und Adhäsionsmolekülen (CD 11a, CD 11b, CD 18, CD 48) auf Monozyten des peripheren Bluts von hypercholesterinämischen Patienten mit und ohne LDL-Rezeptor-Defizienz (familiärer Hypercholesterinämie, FH) und einem Patienten mit einer isolierten Erhöhung von Lp(a) und frühen Myokardinfarkten. Eine reduzierte Expression von Differenzierungsantigenen und Adhäsionsmolekülen für endotheliale Liganden wurde hierbei bei Patienten mit FH, vermutlich als Zeichen einer Depletion aktivierter Monozyten aus der Zirkulation, gefunden. Hypercholesterinämische Patienten mit einem normalen LDL-Rezeptor-Status zeigten dagegen eine gesteigerte Expression von Differenzierungsantigenen und Adhäsionsmolekülen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden. Auf eine selektive Depletion reifer Monozyten bei Arteriosklerose deutete auch die Reduktion der CD 14+/CD 16+/CD 64-Subpopulation von „Prämakrophagen“ hin. Die Größe dieser Population normalisierte sich unter serieller LDL-Apherese bei homozygoten FH-Patienten als Zeichen des Therapieerfolgs. Auf die entzündliche Komponente der Monozytenaktivierung bei Arteriosklerose deuteten die Ergebnisse der seriellen Untersuchung eines Patienten unter therapeutischer Lp(a)-Immunadsorption hin. Ein initial 2,8fach erhöhter spontaner oxidativer Burst von Blutmonozyten normalisierte sich mit einer Verzögerung von 4 Tagen in drei Zyklen der Immunadsorption. Auch in vitro induzierte das vom Patienten gewonnene Lp(a) eine Erhöhung des oxidativen Bursts von Monozyten gesunder Kontrollspender. Zusammenfassend deuten unsere Ergebnisse darauf

hin, daß der Differenzierungsstatus und die Funktionseigenschaften zirkulierender Monozyten und ihrer Subpopulationen sensitive Parameter für die Analyse eines gesteigerten Risikos für Arteriosklerose sowie einer therapeutischen Beeinflussung darstellen.

## Routinediagnostik der Hepatitis B Virus DNA

Stefanie Köhler, Sibylle Berner, Rudolf Seibl, Rüdiger Rüger,  
Werner Kraus, Christoph Kessler, Gerhard Bienhaus,  
Cornelia Kruse  
*Boehringer Mannheim GmbH, Bahnhofstraße 9–15, 8132 Tutzing*

Methoden zum Nachweis von Nukleinsäuren sind in der Diagnostik viraler Infektionen zu wertvollen Hilfsmitteln geworden.

Durch die Verfügbarkeit von Amplifikationstechniken wurde die Sensitivität von Nukleinsäuretests erheblich erhöht. Erst dadurch wurde der Nachweis von 1–10 spezifischen Nukleinsäuretargets pro Testansatz möglich. Für die eigentliche Amplifikationsreaktion ist ein Zeitaufwand von 1–3 h nötig. Die Präparation und Extraktion der Proben sowie die Nachweisreaktion der amplifizierten Proben mittels Gelanalyse und Blotting-Verfahren kann bis zu 2 Tage dauern und erlaubt daher nur einen Durchsatz von wenigen Proben.

Wir beschreiben eine Methode für den Nachweis von Hepatitis B Virus DNA im Serum mit einem homogenen Probenaufschluß und einer Nachweisreaktion, die auf dem ELISA-Prinzip aufbaut.

Die automatisierten Reaktionsschritte:

- Hybridisierung der denaturierten Digoxigenin-markierten DNA mit einer biotinylierten Fangsonde.
- Bound free-Trennung auf Streptavidin Festphase.
- Bindung von Peroxidase-markierten Anti-Digoxigeninantikörpern.
- Quantitativer Nachweis anhand der Farbentwicklung mittels ES-Substrat.

Die Meßzeit beträgt bei 37°C Inkubationstemperatur 3 h. Bei Verwendung eines Boehringer Mannheim ES 300/ES 700 Gerätes können pro Tag während zwei Geräteläufen maximal 300 Proben aufgearbeitet werden.

## Laboratoriumsdiagnostik der frühzeitigen Nierenfunktionsstörungen bei Diabetes mellitus

V. Menschikov, D. Okunev, K. Golov, M. Schestakova, N. Neverov  
*Moskauer Medizinische Akademie, Russland*

Es wird die Enzymurie,  $\beta_2$ -Mikroglobulinexkretion mit dem Urin und die Nierenreserve bei Patienten mit Diabetes mellitus geprüft. Das Patientenkollektiv bestand aus 96 Kranken mit klinisch diagnostiziertem Diabetes mellitus. Je nach den Nierenschädigungen wurden 16 Personen mit Proteinurie in die erste Untergruppe und 50 Personen ohne Proteinurie in die zweite Untergruppe eingeteilt. Die Kontrollgruppe bestand aus 30 Gesunden. Es wird die Nierenbiopsie bei 10 Patienten mit Diabetes mellitus (ohne Proteinurie) geprüft.

Es wurde die Aktivitätssteigerung von Gammaglutamyltransferase, alkalische Phosphatase, Laktatdehydrogenase (LDH),  $\beta$ -Glukuronidase (BGRS), N-Acetyl- $\beta$ -D-glukosaminidase (NAG) und Cholinesterase im Urin bei Patienten mit Diabetes mellitus festgestellt. Diese werden besonders intensiv bei Proteinurie. Zwischen Enzymurie und dem Bestehen einer Nierenschädigung ergab sich eine Korrelation. Ebenso konnte eine Korrelation zwischen Enzymurie, Nierenreserve oder Nierenbiopsieuntersuchung festgestellt werden. Es wurde die Hyperenzymurie von LDH, BGRS und NAG bei Patienten ohne klinisch-chemische Merkmale von Nephropathie festgestellt, welche als frühzeitiges Kennzeichen einer Tubulusepithelschädigung angesehen wurde.

# Hinweise für Autoren zur Abfassung von Manuskripten (ab 1.1.1993)

Die Zeitschrift LABORATORIUMSMEDIZIN erscheint 11mal jährlich, für die Monate Juli/August als Doppelheft.

Veröffentlicht werden Originalarbeiten, Übersichtsreferate und Kurzmittelungen auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin (Klinische Chemie, Bakteriologie-Serologie, Immunologie, Hämatologie, Hämostaseologie, Zytologie, Zytogenetik) in deutscher und englischer Sprache.

Manuskript in Schriftform und wenn möglich auf Diskette einsenden.

## Annahmebedingungen für Originalarbeiten

1. Die wissenschaftlichen Ergebnisse dürfen noch nicht veröffentlicht sein, die Autoren müssen das Urheberrecht besitzen.
2. Umfang des Manuskriptes bis zu 20 Schreibmaschinenseiten inklusive Literatur, Abbildungen und Tabellen.
3. Gliederung in:  
Titel (deutsch und englisch),  
Zusammenfassung (deutsch und englisch),  
Schlüsselwörter (deutsch und englisch),  
Einleitung, Material und Methoden, Ergebnisse, Diskussion, Literatur.  
Der Ergebnisteil muß auch die Interpretation der Ergebnisse beinhalten. In der Diskussion sollen die Ergebnisse kritisch zu den Arbeiten anderer Arbeitsgruppen gleicher Forschungsrichtung beurteilt werden, ferner soll ein Bezug zur klinischen Anwendung hergestellt werden.
4. Arbeiten, die einen direkten Beitrag zu aktuellen Fragestellungen der Laboratoriumsmedizin liefern, werden bevorzugt angenommen und schneller veröffentlicht.

## Annahmebedingungen für Übersichtsreferate

1. Das Thema muß aktuell sein und außer Ärzte für Laboratoriumsmedizin und Naturwissenschaftler im medizinischen Labor mindestens eine weitere Gruppe von Fachärzten und Allgemeinärzten ansprechen.
2. Umfang des Manuskriptes bis zu 20 Schreibmaschinenseiten inklusive Literatur, Abbildungen und Tabellen.
3. Die Gestaltung ist frei, zwingend sind jedoch: Titel (deutsch und englisch), Zusammenfassung (deutsch und englisch), Schlüsselwörter (deutsch und englisch) sowie die Gliederung in Einleitung, Methoden, Ergebnisse, Diskussion und Literatur.

## Annahmebedingungen für Kurzreferate

1. Vorwiegend methodische oder klinisch-diagnostische Arbeiten sowie Erfahrungen oder Hinweise zur Praxis oder Fortbildung auf dem Gebiete der Laboratoriumsmedizin werden angenommen.
2. Umfang des Manuskriptes bis zu 4 Schreibmaschinenseiten.
3. Gestaltung wie Originalarbeiten.
4. Veröffentlichung gewöhnlich innerhalb von 2 Monaten nach Annahmedatum.

## Gestaltung der Manuskripte

1. *Seite:* Titel des Beitrages in deutsch und englisch, abgekürzter Vorname und Nachname der Autoren (bei Frauen ausgeschriebener Vorname), Klinik, Institut.
2. *Seite:* Zusammenfassung, Schlüsselwörter in deutsch und englisch.
- Letzte Seite:* Literaturverzeichnis und Autorenanschriften.

## Literaturzitation:

Die Literaturzitate werden in folgender Reihenfolge numeriert, also nicht alphabetisch. Die Literaturstellen werden durch Name, Vorname, Erscheinungsjahr, Titel der Arbeit, Zeitschriftentname, Band-Nummer und Seite in dieser Reihenfolge gekennzeichnet.

**Beispiel Originalarbeit:** Thomas, L. (1990): Quantitative immunchemische Plasmaproteinbestimmung mittels Nephelometrie und Turbidimetrie. *Lab.med.* 14, 313–320.

**Beispiel Bücher:** Felgenhauer, K. (1992) *Liquordiagnostik. In: Labor und Diagnose – Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik* (Thomas, L., ed.). Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, Germany. pp. 1715–1740.

Am Ende des Manuskriptes sollen aufgeführt werden: Ausgeschriebene Vor- und Nachnamen sowie Anschriften aller Autoren, und zwar zuerst der Name jenes Autors, bei dem Sonderdrucke angefordert werden können.

**Abbildungen, Tabellen und Diagramme:** Die Abbildungen sollen reproduktionsreif sein. Für Originale übernimmt der Verlag keine Haftung. Symbole, Einheiten, Buchstaben und Zahlen müssen in Rundschrift und so groß gezeichnet werden, daß sie auch nach der Verkleinerung gut lesbar sind.

Die Legenden zu den Abbildungen und Tabellen sollen auf einem gesonderten Blatt sein. Abbildungen müssen auf der Rückseite die Nummer der Abbildung, den Namen des ersten Autors und die gewünschte Position im Text tragen.

**Anzahl der einzusendenden Manuskripte:** 3 Ausdrucke.

**Schreibweise:** maßgebend ist der Duden.

## Begutachtung

Der verantwortliche Schriftleiter entscheidet über die Annahme nach Einholung von 2 sachverständigen Gutachten. Die Gutachter bleiben gegenüber den Autoren anonym und beurteilen unabhängig. Die Autoren erhalten eine Kopie der Gutachten und spätestens 2 Monate nach Eingang des Manuskriptes die Entscheidung über Annahme oder Ablehnung sowie einen vorläufigen Termin der Veröffentlichung.

## Korrekturen

Dem federführenden Autor werden die Umbruchseiten zur Korrektur übersandt. Er hat dafür Sorge zu tragen, daß auch im Falle seiner Abwesenheit die korrigierten Seiten innerhalb von maximal 2 Wochen dem Verlag zurückgesandt werden. In den Druckfahnen soll nur in Ausnahmefällen und bei eindeutigen Fehlern, deren Korrektur übersehen wurde, berichtigt werden. Deshalb darf jedes Manuskript erst nach sorgfältiger Prüfung aller Gesichtspunkte zur endgültigen Fassung der Schriftleitung eingereicht werden. Nachträgliche Textänderungen dürfen 2 Prozent des Textes nicht überschreiten.

## Veröffentlichung

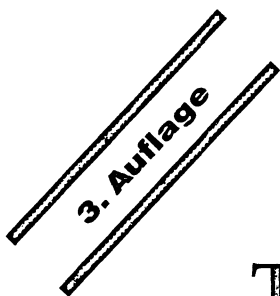
Zielsetzung ist es, jede Arbeit innerhalb von 6 Monaten nach Eingang zu veröffentlichen. Der einsendende Autor erhält nach Veröffentlichung ein Belegheft sowie 50 Sonderdrucke.

**Einsendung:** Original und 2 Kopien, wenn möglich auch Diskette, an:

Schriftleitung Wissenschaft und Fortbildung  
der Zeitschrift LABORATORIUMSMEDIZIN  
Prof. Dr. L. Thomas, Kirschbaumweg 8, D-6000 Frankfurt 90.

“... eine ähnliche Provokation  
wie die satanischen Verse ”

(L'Express)



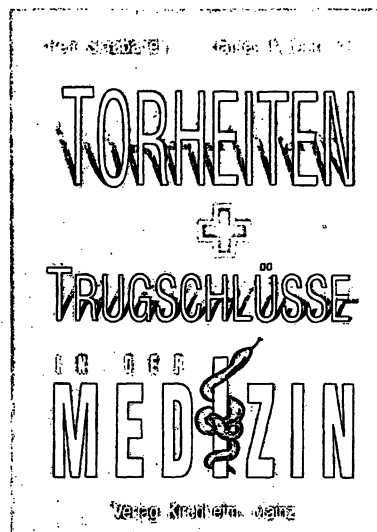
Petr Skrabanek  
James McCormick

## Torheiten und Trugschlüsse in der Medizin

ISBN 3-87409-060-4, 164 Seiten, Fadenheftung, 39,80 DM

(kongenial übersetzt von

Dres. Chantelau, Cleveland, Sawicki und Richter,  
alle Med. Klinik der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf)



### Endlich auch in Deutschland:

“Torheiten und Trugschlüsse in der Medizin” attackiert die Selbstgefälligkeit des zeitgenössischen ärztlichen Denkens und fordert eine rationale Bestandsaufnahme etablierter medizinischer Praktiken. Die Autoren empfehlen Skepsis gegenüber Diagnosen, Behandlungen und Heilmethoden und setzen sich mit angelsächsischem, bisweilen tiefend schwarzem Humor mit “Absurditäten und Modeerscheinungen” des Medizinbetriebes auseinander – vom Placebo über Homöopathie und Akupunktur bis zur Prävention: “Das Buch ist wichtig für alle, die besser verstehen wollen, was Medizin ist und was nicht” (New England Journal of Medicine zur britischen Originalausgabe).

**Verlag Kirchheim, Postfach 25 24, 6500 Mainz**

Ich bestelle ..... Expl. Skrabanek/McCormick, Torheiten und Trugschlüsse in der Medizin, 3. Auflage,  
ISBN 3-87409-060-4, 39,80 DM

Name: \_\_\_\_\_

Straße: \_\_\_\_\_

PLZ/Ort: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_