

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 Verstoffwechselung 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 Inhibitor-mängel 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.