

1 Vh; sample appl. up at 1: 10 Vh; extra alarm to sound at .2: 90 Vh .1: 150 V, 5 mA, 1 W, 15 C, 10 Vh .2: 250 V, 10 mA, 3 W, 15 C, 100 Vh

Färbeprogramm: (1) 20 min bei 50 C (Färbung): 1 Tabl. Coomassie R 350 (No. 17-0518-01) + 50 ml Essigsäure + 100 ml Isopropanol + 150 ml Aqua bidest; (2) 7 min bei 50 C: 20% Isopropanol, 10% Essigsäure; (3) 15 min bei 35 C: 10% Essigsäure; (4) 3 min bei 50 C: 10% v/v Glycerin

Die Färbelösung kann 10mal ohne Intensitätsverlust wiederverwendet, nach dem Trocknen können die gefärbten Gele ohne weitere konservierende Behandlung aufbewahrt werden. Das Verfahren liefert in Qualität und Empfindlichkeit bei Einsatz nativen Urins gute Ergebnisse, die klinisch interpretierbar sind. Es kann problemlos im klinisch-chemischen Routinelabor eingesetzt werden, die Ergebnisse können densitometrisch dokumentiert werden.

#### Schrifttum:

1. HEUKESHOVEN, J., DERNICK, R.: Electrophoresis 9, 28-32 (1988).
2. NEUHOFF, V., STAMM, R., EIBL, H.: Electrophoresis 6, 427-448 (1985).

\* die vorgestellten Untersuchungen entstanden am Hygiene-Institut Gelsenkirchen

P 37

## Alpha-1-Mikroglobulin-ELISA: ein sensitives Verfahren zur Erkennung tubulo-interstitieller Nephropathien und glomerulärer Filtrationseinschränkungen

K.-G. Heinze, C. Westphal und F. da Fonseca-Wollheim  
Behring-Krankenhaus Berlin, Zentrallaboratorium,  
Gimpelsteig 3-5, D-1000 Berlin 37

Die hohe Stabilität von alpha-1-Mikroglobulin ( $\alpha$ 1-MG) auch im unkonservierten Urin, geringe synthesebedingte Schwankungen und ein niedriges Konzentrationsgefälle Serum/Urin lassen dieses Protein als aussichtsreichen Kandidaten für die optimale Diagnostik und Verlaufskontrolle tubulo-interstitieller Nephropathien erscheinen (1, 2). Seine Bestimmung im Serum ist zur Erfassung einer verminderten glomerulären Filtration schon im „kreatininblinden“ Bereich geeignet (3).

Es wurde ein sensitiver Mikrotiterplatten-ELISA im Sandwich-Prinzip zur Quantifizierung von alpha-1-Mikroglobulin in Serum und Urin entwickelt. In der Enzymreaktion wird das nicht-karzinogene Tetramethylbenzidin verwendet. Die Präzision und Richtigkeitsprüfung des mit kommerziell erhältlichen Kalibratoren, Kontrollen und Antikörpern durchführbaren ELISA ist im Meßbereich zwischen 0,5–20  $\mu$ g/l gut: Präzision in der Serie im Mittel 6,3% VK, – von Tag zu Tag 9,5% VK. Bei der Richtigkeit konnte eine geringe systematische Abweichung von –3,3% von den für die radiale Immundiffusion definierten Zielwerten gefunden werden. Auch Vergleichsmessungen mit der RID zeigten eine befriedigende Übereinstimmung (Steigungsfaktor 0,97,  $r = 0,98$ ). Die Nachweisgrenze bei Verwendung unverdünnter Probenmaterialien liegt bei 0,37  $\mu$ g/l. Als 95%-Vertrauensbereiche für Gesunde fanden sich im Serum 19,9–50,3 mg/l und 1,03–19,8 mg/l (0,54–14,1 mg/g Kreatinin) im Urin.

Im Rahmen der klinischen Nephropathiediagnostik wird die  $\alpha$ 1-MG-Bestimmung in Abhängigkeit von der Fragestellung durch das Urin-Gesamtprotein, das Proteinurieverteilungsmuster in der Polyacrylamidgelelektrophorese sowie die Messung weiterer Marker-Urinproteine (Immunglobulin G, Transferrin, Albumin,  $\beta$ -2-Mikroglobulin und die N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase) flankiert (4, 5). Bei den renalen Proteinurien können die glomerulären und tubulären Anteile quantifiziert und im Verlauf besser als mit der Polyacrylamid-Gelelektrophorese verfolgt werden. Die Proteinuriediagnostik wird aus dem nativen,  $\beta$ -2-Mikroglobulin aus dem alkalisierten zweiten Morgenurin mit Bezug auf das Kreatinin durchgeführt. Durch den Wegfall der lästigen und fehlerträchtigen 24-Stunden-Harnsammlung wird der Einsatz dieses aussagekräftigen Testprofils für die Nierendiagnostik in der Klinik erleichtert.

#### Schrifttum:

1. DONALDSON, M. D. C., CHAMBERS, R. E., WOOLRIDGE, M. W., WHICHER, J. T.: Stability of alpha-1-microglobulin, beta-2-microglobulin and retinol binding protein in urine. Clin. Chem. Acta 179, 73-78 (1989).
2. WEBER, M. H., SCHOLZ, P., STIBBE, W., SCHELER, F.: Alpha-1-Mikroglobulin in Urin und Serum bei Proteinurie und Niereninsuffizienz. Klin. Wochenschr. 63, 711-717 (1985).
3. ITOH, Y., ENOMOTO, H., TAKAGI, K., KAWAI, K.: Clinical usefulness of serum alpha-1-microglobulin as a sensitive indicator for renal insufficiency. Nephron 33, 69-70 (1983).
4. BOEGE, F., LIEBERMANN, F., LUTHER, A., GILGE, U., HEILAND, A.: Quantifizierung und Differenzierung der Proteinurie durch automatisierte nephelometrische Messung von alpha-1-Mikroglobulin, Albumin und IgG: Vergleich mit der SDS-PAGE-Analyse. Lab.med. 14, 243-249 (1990).
5. HOFFMANN, W., GUDER, W. G.: A diagnostic programme for quantitative analysis of proteinuria. J. Clin. Chem. Biochem. 27, 589-600 (1989).

P 38

## Multizentrische Erprobung eines immunturbidimetrischen Albumintests für Urin in acht klin.-chem. Laboratorien

A. Hubbuch, F.-S. Lang und W. Stockmann  
Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31

Wir haben einen neuen immunologischen Albumintest für Urin an den Boehringer Mannheim/Hitachi Analysensystemen 704 und 717 sowie an RA 1000<sup>®</sup>, COBAS<sup>®</sup> Mira und COBAS<sup>®</sup> Fara erprobt. Die Trübung wird im Endpunkt der Reaktion an Hitachi bichromatisch (340/700 nm), an den anderen Geräten bei 340 nm gemessen. Die Kalibration erfolgt mit 5 Standards von 0–350 mg/l.

**Ergebnisse:** Die Präzision ( $n = 21$ ) in der Serie lag im Bereich von 10–260 mg/l unter 3% VK, von Serie zu Serie bei fester Kalibration unter 4% VK. Meßbereich: 3–400 mg/l an Hitachi 704 und 717. Die Kalibration ist an diesen Geräten mindestens 2 Wochen stabil. Der Vergleich zwischen Hitachi 704 (x) und 717 zeigte eine gute Übereinstimmung:  $y = -0,7 + 1,00x$ ,  $r = 0,999$ . Ähnliche Ergebnisse lieferten die Vergleiche mit Applikationen auf den o. g. Geräten sowie Vergleiche mit Behring Nephelometer Analyser und einem Radioimmunoassay. Keine Verschleppung wurde mit 44 Systemreagenzien von Boehringer Mannheim beobachtet. Endogene Störfaktoren sowie 17 Arzneimittel störten nicht.

Das neue Reagenz erlaubt eine zuverlässige Albuminbestimmung im Urin. Es ist für die Messung niedriger Albuminkonzentrationen zur Diagnose der diabetischen Nephropathie gut geeignet.

P 39

## Aussagekraft von Tissue Polypeptide Antigen (TPA) bei urologischen Tumoren

G. M. Oremek, W. Boeckmann und U. B. Seiffert  
Zentrallabor – Zentrum der Inneren Medizin; Universitätsklinik  
Frankfurt, Theodor-Stern-Kai 7, 6000 Frankfurt/M.

Wir untersuchten, ob TPA Indikator für die Infiltration eines Tumors darstellt oder einen Hinweis auf die Regression unter Chemotherapie geben kann. Bei 100 Patienten mit Urothelkarzinom ( $n = 60$ ), Prostatakarzinom ( $n = 30$ ) und Nierenzellkarzinom ( $n = 10$ ) wurde TPA im Serum bestimmt. Im Serum wurde die Bestimmung mit einer radioimmunologischen Methode durchgeführt. Die Probeentnahme wurde an nüchternen Patienten durchgeführt, und das gewonnene Serum wurde unmittelbar danach bei  $-70^{\circ}\text{C}$  gelagert. Die Stabilität von TPA bei  $-70^{\circ}\text{C}$  erwies sich als ausreichend. Unter Lagerung bei Zimmertemperatur  $+4^{\circ}\text{C}$  und  $-20^{\circ}\text{C}$  ist eine signifikante Reduktion der Konzentration zu beobachten. Der Verlust der Konzentration bei  $+4^{\circ}\text{C}$  betrug 62%, bei  $-20^{\circ}\text{C}$  38% im Vergleich zum Frischwert. Bei zunehmender Infiltration des Tumors, z. B. von Blasen-tumoren, zeigten sich stark erhöhte Werte für TPA im Serum. Unter neoadjuvanter Chemo-

therapie nach dem MVEC-Schema konnten keine einheitlichen Ergebnisse erzielt werden, so zeigten 4/6 Patienten einen Anstieg nach Chemotherapie trotz Remission des Tumors. Die Gefrierschnitte zeigten eine positive Reaktion nur bei Harnblasen- und Nierenzellkarzinomen.

Zur Bestimmung von TPA muß das Material unmittelbar nach der Entnahme bei  $-70^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren werden, um Konzentrationsabnahmen zu vermeiden. Die aufwendige Behandlung und Lagerung des Probematerials bei ungewisser Aussagekraft lassen TPA für den klinischen Einsatz wenig praktisch erscheinen.

P 40

## Stabilität des Tumor-Nekrose-Faktors im Plasma und Serum

G. M. Oremek, U. B. Seiffert und H. Allert  
Zentrallabor – Zentrum der Inneren Medizin; Universitätsklinik Frankfurt, Theodor-Stern-Kai 7, 6000 Frankfurt/M.

TNF ist ein Polypeptid, bestehend aus 157 Aminosäuren. Er wird von Monozyten/Makrophagen im Rahmen einer Immunreaktion sezerniert und fungiert sowohl als Mediator einer Entzündungsreaktion als auch direkt zytotoxisch gegen verschiedene Tumorzelllinien (1, 2, 3). Wird der TNF im Serum bei  $-70^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt, so ist er dort innerhalb weniger Tage nicht mehr nachweisbar. Mittels vier Enzymimmunoassays (EIA) und einem Radioimmunoassay bestimmten wir bei 100 Patienten den TNF-Gehalt jeweils im Serum als auch im Plasma sowohl mit als auch ohne Zusatz von Aprotinin (Trasylo<sup>®</sup>, Proteaseinhibitor). Dabei gingen wir folgendermaßen vor:

1. Messung: Tag 0, unmittelbar nach Blutentnahme,
2. Messung: Tag 1, Lagerungstemperatur  $+20^{\circ}\text{C}$
3. Messung: Tag 1, Lagerungstemperatur  $+4^{\circ}\text{C}$
4. Messung: Tag 3, Lagerungstemperatur  $+4^{\circ}\text{C}$
5. Messung: Tag 7, Lagerungstemperatur  $-20^{\circ}\text{C}$
6. Messung: Tag 7, Lagerungstemperatur  $-70^{\circ}\text{C}$

Wir konnten folgendes feststellen: Wird Plasma bei  $+4^{\circ}\text{C}$  gelagert, ist der TNF-Gehalt schon nach 3 Tagen unter die Nachweisgrenze gesunken ( $10\text{ pg/ml}$ ). Bei Lagerungstemperaturen von  $-20^{\circ}\text{C}$  bzw.  $-70^{\circ}\text{C}$  war es uns auch nach 7 Tagen noch möglich, TNF im Plasma auch ohne Aprotininzusatz zu messen, wobei bei  $-20^{\circ}\text{C}$  ein Gehaltverlust von 38% gegenüber Tag 0 zu verzeichnen war. Die restlichen Messungen ergaben einen Gehaltverlust von 44–81,5%. Dies läßt uns annehmen, daß die Stabilität des TNF im Plasma bei einer Aufbewahrungstemperatur von  $-20^{\circ}\text{C}$  am höchsten zu sein scheint. Die Zugabe eines Proteaseinhibitors hatte bei den bisherigen Messungen keinen Einfluß auf die Stabilität des Proteins. Die Stabilitätsuntersuchungen des TNF sind noch nicht abgeschlossen. Weitere Ergebnisse werden bekanntgegeben.

P 41

## Die Aktivität des Angiotensin Converting Enzyme (ACE) im Serum und Plasma – ein Methodenvergleich

G. M. Oremek, U. B. Seiffert, R. Kirsten und M. Zirker  
Zentrallabor – Zentrum der Inneren Medizin; Universitätsklinik Frankfurt, Theodor-Stern-Kai 7, 6000 Frankfurt/M.

Zur Zeit sind fünf Methoden zur Bestimmung des ACE mit unterschiedlichen Testprinzipien kommerziell verfügbar: Es sind kinetische, radiochemische und fluorimetrische Methoden.

Als Referenzmethode diente die radiochemische Methode, mit dieser wurden alle anderen Methoden verglichen.

Die unterschiedlichen Normbereiche der verschiedenen Methoden wurden verglichen.

# PROGEN

Kompetent für Diagnostika

## Pneumocystis carinii IFT

- Positive Kontrolle
- 1-Schritt-Methode
- Monoklonale Antikörper
- Detektion aller Zystenstadien und Trophozoiten

## Unsere wichtigsten Parameter

### ... in der Infektionsserologie

- Borrelia burgdorferi quantitativer ELISA IgG/IgM und IFT
- Candida - AK - IFT und ELISA
- Hantavirus - AK - IFT
- Parvovirus B 19 ELISA IgG/IgM
- Chlamydia-Direkt-IFT

### ... bei Autoimmunkrankheiten

- c-ANCA - ELISA **(neu)** quantitativ/Screening
- Anti ds-DNA ELISA
- Scl - 70 ELISA **(neu)**
- C3a desArg ELISA

PROGEN Biotechnik GmbH  
Im Neuenheimer Feld 519  
Technologiepark  
D-6900 Heidelberg  
Telefon: 06221/4035-0  
Telefax: 06221/403535  
Telex: 461124