

Kapitel 7

**Diagnostik für das kleine
klinische Laboratorium**

O. SONNTAG

unter Mitarbeit von A. RÖSENER

1 Allgemeiner Teil

In dem nachfolgenden Kapitel sollen die im kleinen Labor durchführbaren einfachen Teste beschrieben werden. Die im großen Laboratorium durchführbaren Untersuchungen sind nicht aufgeführt. Die Analytik im kleinen Labor kann und soll das große Labor nicht ablösen. Trotz dieser Einschränkungen wird auf die besonderen Schwierigkeiten, die bei den labormedizinischen Untersuchungen auftreten können, eingegangen. Neben den Problemen bei der Durchführung der Analyse, erfolgt die Angabe zur medizinischen Indikation für die entsprechende Untersuchung. Auf pathobiochemische Vorgänge wird verzichtet. Das Literaturverzeichnis am Ende des Kapitels verweist auf weiterführende Schriften, die die Pathobiochemie, die Diagnose und die Labordiagnostik intensiver behandeln.

1.1 Klinische Chemie

In einer Definition der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) wurde das Aufgabengebiet der Klinischen Chemie wie folgt festgelegt:

„Die Klinische Chemie umfaßt die Erforschung chemischer Aspekte des menschlichen Lebens in Gesundheit und Krankheit und die Anwendung chemisch-analytischer Methoden zur Diagnose, Therapiekontrolle und Verhinderung von Krankheit“.

Neben der Hämatologie wird auch die Hämostaseologie im weitesten Sinne zur Klinischen Chemie zugeordnet. Hingegen erfolgt eine Abgrenzung zur Bakteriologie, Virologie, Serologie, Histologie und Zytologie. Eine scharfe Trennung läßt sich jedoch nicht vollziehen, da zum Berufsfeld des Labormediziners auch diese Nachbarfachgebiete gehören können. Die zentrale Aufgabe der klinischen Chemie ist die Messung physikalischer, chemischer und biochemischer Eigenschaften von menschlichem Untersuchungsmaterial. Die erhaltenen Ergebnisse sind dem in der Patientenbehandlung tätigen Arzt ein sehr wichtiges Hilfsmittel bei der Erstellung der Diagnose und Überwachung der Therapie. Da das medizinische Laboratorium eine wesentliche Vorleistung und Unterstützung der Patientenversorgung liefert, ist ein ständiger Dialog zwischen dem Labor und dem behandelnden Arzt notwendig und unumgänglich. Um diesen Dialog führen zu können, muß eine einheitliche Sprache benützt werden. Aus diesem Grund sollen Definitionen von Begriffen der Laboratoriumsmedizin sowie Möglichkeiten und Grenzen des kleinen Labors aufgezeigt werden.

1.2 Definitionen

Klinisch-chemische Analysen dienen der Identifizierung und/oder zur Beschreibung der quantitativen Zusammensetzung eines Stoffgemisches. Hierbei handelt es sich überwiegend um Bestandteile des menschlichen Körpers. Die qualitative Analyse identifiziert die Art des Bestandteiles, während die quantitative Analyse deren Menge ermittelt. Die nachfolgenden Sprachregeln sollten deshalb eingehalten werden:

- Die Probe, als Specimen bezeichnet, wird analysiert.
- Ionen, Elemente, Verbindungen werden identifiziert oder bestimmt.
- Die Komponente, die identifiziert oder bestimmt werden soll, ist der Analyt.

1.3 Maßeinheiten

Trotz der Empfehlung verschiedener Organisationen hat sich bis heute eine einheitliche Regelung der Verwendung von Maßeinheiten nicht durchsetzen können. Die International Organisation for Standardisation (ISO) hat in Zusammenarbeit mit der International Union of Pure and Applied Physics (IUPAP) und der International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) ein Meßsystem definiert, das unter der Bezeichnung System International d'Unites (SI) allmählich weltweit Eingang und Anwendung in Wissenschaft und Technik findet.

In dem vorliegenden Kapitel wird aus praktischen Gründen sowohl die konventionelle als auch die SI-konforme Einheit angegeben.

1.4 Gewinnung von Untersuchungsmaterial

Die Gewinnung des Untersuchungsmaterials nimmt den ersten Schritt auf dem Weg zu einem klinisch-chemischen Befund ein. Die Art und die Bedingungen unter der die Materialgewinnung stattfindet, hat bereits einen deutlichen Einfluß auf die später folgende Analytik. Aus diesem Grunde wird bereits die Probengewinnung mit in die präanalytische Phase gerechnet. Die Abbildung 7.1 soll einen Einblick in die Probleme der präanalytischen Phase geben.

Die präanalytische Phase schließt die Entnahme des Materials, den Transport des Materials vom Patienten in das Labor, die Vorverarbeitung des Specimens, die Möglichkeit der Aufbewahrung und die Präparation der Probe zur Untersuchung ein.

Als häufigstes Untersuchungsmaterial wird Blut in das klinisch-chemische Labor eingesendet. Für die anschließende Analytik muß das Blut überwiegend zentrifugiert werden, um das für die Messung benötigte Serum oder Plasma zu erhalten. Über die Technik der Blutentnahme gibt es inzwischen ausreichende Empfehlungen.

Vorbereitung des Patienten

Vor der Entnahme von Probenmaterial sollte der Patient über das Vorgehen genau unterrichtet werden. Eine gründliche Aufklärung hilft dem Patienten gewisse Notwendigkeiten zu verstehen und fördert die Bereitschaft zur Zusammenarbeit und Mithilfe (Compliance).

Allgemeine Hinweise zur Vorbereitung

Da die Entnahme den ersten Schritt zum Analysenergebnis darstellt, ist es notwendig bestimmte Punkte einzuhalten, damit die Qualität des Untersuchungsmaterials kein Hindernis für die Analytik bedeutet. Das Untersuchungsmaterial soll in korrekten, dicht verschlossenen und nicht verschmutzten Behältern in das Labor transportiert werden. Jedes Gefäß muß vor

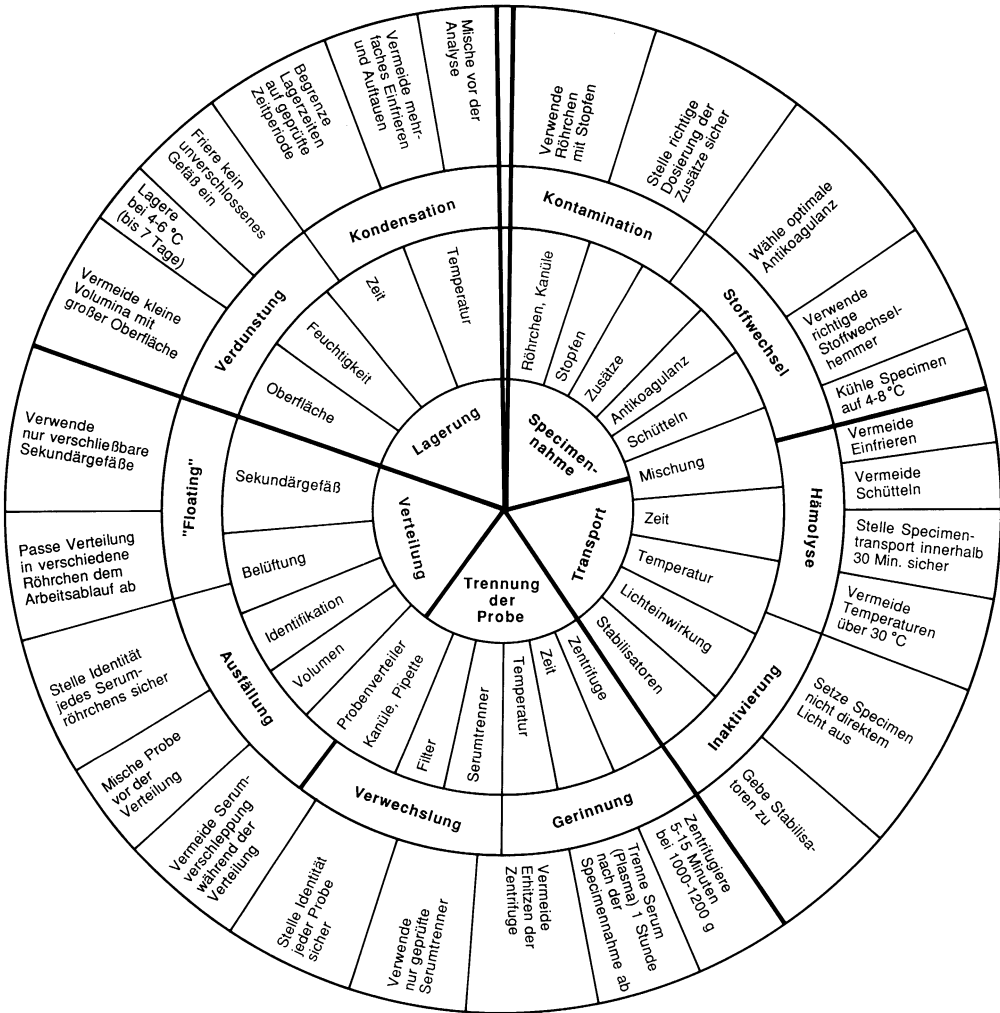


Abb. 7.1 Teilschritte der präanalytischen Phase, Ursachen möglicher Störfaktoren und Maßnahmen zu ihrer Vermeidung, nach Guder (1983)

dem Einfüllen des Untersuchungsmaterials mit nachfolgenden Angaben versehen sein:

- Name und Vorname des Patienten
- Geburtsdatum
- Angaben zum Geschlecht (der Vorname läßt nicht immer auf das Geschlecht schließen)
- Entnahmedatum und -zeit
- Einsender (sofern von anderen Stellen Proben angenommen werden)

Für jedes Material ergeben sich unterschiedliche Maßnahmen zur Gewinnung. Aus diesem Grund muß auf die jeweils notwendige Entnahmetechnik oder Besonderheiten der Patientenvorbereitung geachtet werden.

1.5 Blut als Untersuchungsmaterial

Für die Entnahme von Blut ist besonders auf folgende Punkte hinzuweisen:

- Falls eine spezielle Diät verordnet war, muß hinterfragt werden, ob diese eingehalten wurde.
- Starke körperliche Aktivität, insbesondere wenn sie ungewohnt ist, sollte möglichst vermieden werden. Es können sich die Aktivitäten von Enzymen zum Teil erheblich verändern (Creatin-Kinase, Lactat-Dehydrogenase etc.). Bei Probanden nach Marathonläufen wurde eine leichte Hämolyse beobachtet, die ebenfalls zur Freisetzung verschiedener Substanzen aus den Erythrozyten in das Serum führt (siehe „Hämolyse“ → Interferenz, 1.14).
- Die Körperposition des Patienten während der Entnahme und dem Zeitraum vor der Entnahme ist

ebenfalls von großer Bedeutung auf das Endergebnis. Es ist seit langer Zeit bekannt, daß der Übergang von der senkrechten in die horizontale Körperlage innerhalb von einer halben Stunde zu einer Verdünnung des Serums um etwa 10 % führt. Bei umgekehrtem Vorgehen aus der liegenden in die senkrechte Position kann eine Aufkonzentrierung in noch kürzerem Zeitabstand beobachtet werden. Es kann die Konzentration des Proteins von z. B. 68 auf 75 g/l ansteigen, bei Patienten mit Ödemneigung kann die Veränderung teilweise bis zu 30 % betragen. Die Zunahme der Konzentration im Stehen bzw. die Abnahme im Liegen betrifft besonders

- a) alle zellularen Bestandteile des Blutes,
 - b) alle hochmolekularen Bestandteile wie Proteine einschließlich der Enzyme und der Proteohormone,
 - c) alle niedermolekularen Bestandteile, die an hochmolekulare assoziiert sind wie z. B. Calcium, Cholesterin, Triglyceride, Bilirubin etc.
- Der Patient sollte nüchtern sein, wenn die zu untersuchende Meßgröße durch Nahrungsaufnahme verändert wird, wie z. B. Glucose, Lipide, Eisen, Phosphat. Für die Bestimmung der Lipide, insbesondere der Triglyceride, wird eine 12-stündige Nahrungskarenz vor der Entnahme des Blutes empfohlen. Außerdem kann eine erhöhte Konzentration an Lipiden zu Problemen bei der photometrischen Bestimmung einiger Enzyme bzw. zu einem Volumenverdrängungseffekt bei der flammenphotometrischen Natrium-Bestimmung führen (→ Triglyceride, 2.9).
 - Auch Biorhythmen führen zu einer Veränderung der Analyt-Konzentrationen. In der Regel sind die angegebenen Referenzintervalle bzw. Normalbereiche auf die Abnahme des Blutes von 7:00 bis 8:00 Uhr bezogen. Aus diesem Grund sollte die Blutentnahme zu diesem Zeitpunkt erfolgen.
 - Die Einnahme von Arzneimitteln kann zu einer Interferenz bei der Durchführung der Bestimmung einiger Analyte führen (Arzneimittel-Interferenzen → 1.14). In diesen Fällen sollte der Patient nach Einnahmezeitpunkt und Dosis befragt werden. Eventuell muß das Arzneimittel für einen gewissen Zeitraum abgesetzt werden.
 - Bei Messungen der Arzneimittel-Konzentration sollte das korrekte Intervall zwischen der Applikation und der Blutentnahme Beachtung finden.

1.6 Venenblut als Untersuchungsmaterial

In der Regel stellt das Venenblut das Material der Wahl dar. Als Entnahmeort wird normalerweise eine Kubitalvene der Ellenbeuge vorgesehen.

Material zur Entnahme von Venenblut

- Kissens
- Tropfschutz
- Staubbinde
- Desinfektionslösung
- Tupfer
- Abfallbehälter

- beschriftetes Entnahmeröhrchen
- Kanüle
- Schnellverband
- Schutzhandschuhe

Durchführung der Venenblutentnahme

1. Die entnehmende Person soll Einmalhandschuhe tragen. Zur Entnahme wird die Einstichstelle bestimmt. Man sucht eine gut gefüllte Vene aus. Bei gleichzeitiger intravenöser Infusion den freien Arm wählen.
2. Zur Stauung wird die Staubbinde etwa 10 cm oberhalb der Ellenbeuge angelegt.
3. Der radiale Puls muß noch fühlbar sein. Eine zu starke Stauung behindert den arteriellen Zufluß.
4. Die Vene wird ein letztes Mal betastet und anschließend mit 70%igem Isopropanol oder 70- bis 80%igem Ethanol desinfiziert. Danach sollte die desinfizierte Stelle nicht wieder berührt werden.
5. Die Kanüle mit der Schutzhülle auf das Entnahmegefäß setzen, danach die Schutzhülle entfernen.
6. Den Patienten informieren, daß jetzt die Punktion erfolgt.
7. Venenpunktion ausführen, hierbei die Haut mit dem Daumen der freien Hand gegen die Stichrichtung spannen. Die Schlißrichtung der Kanüle soll nach oben zeigen. Für das Schmerzempfinden des Patienten ist nicht der Durchmesser der Kanüle, sondern allein ihre Schärfe entscheidend. Mit der Kanüle in Richtung der Vene stechen, hierbei einen Winkel von etwa 30 Grad einhalten. Es darf nicht tiefer eingestochen werden, als der Durchmesser der Vene beträgt.
8. Sobald das Blut fließt, wird die Stauung geöffnet und mittels eines leichten Unterdrucks das Blut in das Aufnahmegefäß überführt.
9. Nachdem das gewünschte Volumen an Blut erreicht ist, wird ein Tupfer oberhalb der Einstichstelle auf die Vene gepreßt und die Kanüle rasch herausgezogen.
10. Der Tupfer wird noch für eine kurze Zeit weiter angepreßt, anschließend kann ein Schnellverband (Pflaster) angelegt werden. Den Arm nicht beugen lassen, da sonst der Wundschluß gestört ist.

Hinweis

Enthält das Abnahmeröhrchen ein Antikoagulationsmittel, dann muß das Röhrchen mehrmals gekippt werden. Dies ist notwendig, um eine gute Durchmischung des Antikoagulationsmittels mit dem Blut zu erreichen.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Bei der Entnahme sind unbedingt Vorsichtsmaßnahmen für die entnehmende Person zu treffen. Zum Schutz vor möglichen Infektionen (Hepatitis, AIDS etc.) sollten Einmalhandschuhe getragen werden.
2. Nach der Entnahme sollte die Kanüle in speziell hierfür vorgesehene Behälter gesammelt und ent-

sorgt werden. Auf keinen Fall die Kanüle in den Papierkorb werfen. Auch das Wiederaufsetzen der Schutzkappe ist nicht ratsam, da die Verletzungsgefahr zu groß ist.

3. Aus hygienischen und präanalytischen Gründen sollte die Abnahme von Blut mit wiederverwendeten Glasspritzen der Vergangenheit angehören. Oftmals ist die Sterilität der wiederverwendbaren Spritze nicht gewährleistet. Reste von Reinigungsmitteln können das Analysenergebnis stark verändern.

Probleme bei der Entnahme

Wenn nach dem Einstechen kein Blut aspiriert werden kann, versucht man, die Kanüle ein wenig zu verschieben. Oft genügt es, wenn der Winkel nur leicht verändert wird. Nach zweimaligem Scheitern sollte eine erfahrene Person hinzugezogen werden, die die Punction vornimmt.

Fehlerquellen

Folgende Fehlerquellen können zu einer nachteiligen Veränderung der qualitativen oder quantitativen Zusammensetzung der Venenblutprobe führen:

1. Zur besseren Füllung der Venen wird oftmals der Patient zum mehrmaligen Öffnen und Schließen der Faust aufgefordert. Damit soll erreicht werden, daß mehr Blut in die Vene „gepumpt“ wird. Diese Maßnahme hat jedoch eine beträchtliche Steigerung der Kalium-Konzentration im austretenden Venenblut zur Folge.
2. Durch Desinfektion der Einstichstelle kann es zu einer Kontamination zwischen Desinfektionsmittel und dem Venenblut kommen. Hierdurch kann unter Umständen das Analysenergebnis beeinflusst werden. Alkoholische Desinfektionsmittel dürfen nicht eingesetzt werden, wenn aus der Probe die Ethanol-Konzentration bestimmt wird.
3. Zu einer Kontamination mit Hautbakterien (*Staphylococcus epidermidis* und *aureus*, *Corynebakterien*, *Micrococccen* und *Sporenbildnern*) kommt es, wenn die Entnahmeperson nicht sorgfältig arbeitet.
4. Häufig wird aus Gründen der Bequemlichkeit das Blut über einen bereits verlegten Katheter oder einer Infusionskanüle entnommen. In diesem Fall gelangen Reste und Spuren von Infusionslösungen in das Venenblut. Diese Proben liefern unsinnige Resultate und sind nicht verwertbar. Fehler dieser Art treten vorzugsweise im stationären Bereich auf.
5. Die Dauer der venösen Stauung hat den gleichen Effekt wie der Positionswechsel von der Horizontalen in die Vertikale. Bei einer 10minütigen Stauung muß mit einer Erhöhung der Proteinkonzentration von etwa 30 % gerechnet werden. Eine kurze Stauungszeit von bis zu 2 Minuten hat nur einen unwesentlichen Einfluß. Problematisch und von großer Bedeutung ist die Stauung bei Patienten mit ödematös geschwollenen Armen.
6. Bei Zusatz von Antikoagulantien muß auf die korrekte Füllmenge des Blutes geachtet werden.

Gefäße für die Aufnahme des Venenblutes

Für die Aufnahme des Venenblutes stehen mehrere verschiedene Gefäße zur Verfügung. Es kommen überwiegend folgende Techniken bzw. Gefäße zum Einsatz:

1. Die schonendste Technik für zelluläre Bestandteile ist das freie Abfließen des Blutes aus der Kanüle in ein Gefäß aus Glas oder Kunststoff mit oder ohne Zusätze. Bei dieser Technik reicht eine minimale Stauung aus.
2. Mit einer Spritze aus Glas oder Kunststoff wird das Blut aus der Vene entnommen. Die Spritze kann bereits Zusatzstoffe (z. B. Citrat-Lösung) enthalten. Bei dieser häufig angewendeten Technik sollte kein großer Sog ausgeübt werden, da es sonst zu einer Schaumbildung und zu einem Zusammenklaffen der Vene kommen kann. Das Aufziehen des Spritzenstempels muß langsam und gleichmäßig erfolgen. Nach der Entnahme wird das Material in ein anderes Gefäß (Zentrifugenröhrchen aus Glas oder Kunststoff) überführt. Dieses Gefäß kann Zusätze (Antikoagulantien, Zentrifugierhilfen, Separatoren) enthalten. Beim Überführen ist ein langsames aber zügiges Ausleeren der Spritze (ohne Kanüle) wichtig, damit keine Schaumbildung stattfinden kann. Achtung – Gefahr der Hämolyse.
3. Heute werden überwiegend vorgefertigte Entnahmegefäße aus Glas oder Kunststoff verwendet. Diese Gefäße können zum Teil bereits vorevakuiert sein und einen Zusatz zur Gerinnungshemmung und/oder zur Unterstützung der Zentrifugation enthalten. Diese Entnahmesysteme haben sich weltweit bewährt und führen deshalb zu einer gewissen Standardisierung der Entnahmetechnik für Venenblut. Aber auch bei diesen Systemen treten Probleme auf. Vorevakuierte Gefäße müssen das Vakuum für einen gewissen Zeitraum gewährleisten, sollen sie ihre Funktion über eine längere Zeit erfüllen können. Hierzu werden Gummistopfen auf Glasgefäße gesetzt und die Röhrchen evakuiert. Die Gummistopfen müssen chemisch inert sein, d. h. sie dürfen keine Bestandteile enthalten, die eventuell mit dem Blut in Reaktion treten.
4. Die Specimengefäße müssen absolut sauber (frei von Detergenzien) und steril sein. Wiederverwendbare Glasspritzen können hier ein Problem sein, wenn das Reinigungs- und Desinfektionsmittel nicht vollständig entfernt wurde. Aus Gründen der Hygiene und der Vorsichtsmaßnahmen gegen Infektionen sollten nach Möglichkeit nur noch geschlossene Blutentnahmesysteme verwendet werden, bei denen ein Umfüllen der Probe nicht mehr notwendig ist.

1.7 Serum oder Plasma

Eine oft gestellt und nie zufriedenstellend beantwortete Frage ist die nach der Verwendung von Plasma oder Serum als Untersuchungsmaterial. Gleichgültig ob das primäre Specimen durch Zusätze chemisch oder durch entsprechende Behandlung physikalisch verändert wird oder nicht, in jedem Fall ist es nicht mehr in einem Zustand, der mit dem im lebenden Or-

ganismus identisch ist. Enthält das Specimen lebendes, zelluläres Material, so verändert es sich nach dem Entnahmezeitpunkt kontinuierlich weiter, wenn diese Prozesse nicht durch chemische Zusätze oder physikalische Maßnahmen gebremst werden. Bei der Gerinnung des Blutes im Entnahmegefäß findet eine physikalische Trennung in Serum und im Fibrinnetz eingeschlossener zellulärer Bestandteile statt. Bei diesem Vorgang werden Kalium, Hämoglobin und Gerinnungsfaktoren in das Serum entlassen, zugleich steigen die Enzymaktivitäten von saurer Phosphatase, Lactat-Dehydrogenase und Aspartat-Aminotransferase an. Die nachfolgende Tabelle soll die Differenzen der Konzentration einiger Bestandteile zwischen Serum und Plasma aufzeigen.

Tabelle 7.1 Konzentrationsunterschiede zwischen Serum und Plasma (aus gleicher Blutprobe)

Analyt	Änderungen im Heparin-Plasma (im Vergleich zu Serum)	im Serum (im Vergleich zu Heparin-Plasma)
Kalium	↓	↑
Protein	↑	↓
Posphat	↓	↑
Glucose	↑	↓

Serum als Ausgangsmaterial für klinisch-chemische Analysen

Sobald das Blut vom Patienten entnommen wurde, setzt der Gerinnungsvorgang ein. Die Geschwindigkeit der Gerinnung wird von der Oberfläche des Entnahme- und Aufnahmegefäßes mitbestimmt. Bei der Berührung des Blutes mit der Glaswand erfolgt eine Aktivierung der Gerinnung. Das Material aus Kunststoff kann jedoch die Gerinnung unterschiedlich beeinflussen. Das Blut sollte nach der Entnahme etwa 30 bis 45 Minuten bei Raumtemperatur in einem lichtgeschützten, verschlossenen Behälter stehenbleiben. Nach diesem Zeitraum ist im allgemeinen der Gerinnungsvorgang beendet. Bei Patienten mit einem Gerinnungsdefekt kann sich der Gerinnungsprozeß verzögern. Einige Hersteller haben die innere Oberfläche der Entnahmesysteme präpariert, um den Gerinnungsvorgang zu aktivieren. Auch der Zusatz von gerinnungsfördernden Granulaten hat sich als hilfreich erwiesen.

Plasma als Ausgangsmaterial für klinisch-chemische Analysen

Eine Anzahl von Argumenten sprechen für den Einsatz von Plasma anstelle von Serum. Blut, das mit gerinnungshemmenden Stoffen versetzt wurde, kann sofort abzentrifugiert werden. Auf die Beendigung der Gerinnung muß nicht gewartet werden. Die Gefahr einer Hämolyse ist wesentlich geringer als bei Serum. Beim Gerinnungsvorgang kommt es zum Austritt erythrozyteneigener Stoffe. Soll statt des Serums Plasma als sekundäres Specimen eingesetzt werden, dann muß das Entnahmegefäß für Blut gerinnungshemmende Stoffe (Antikoagulanzen) enthalten. Die-

se werden meist in Form von Kristallfilmen auf die Innenfläche des Entnahmesystems aufgebracht, so daß keine Volumenfehler entstehen. In der Anwendung für die meisten klinisch-chemischen Analysen hat sich Heparin bewährt. Der Zusatz von Antikoagulanzen verändert aber die chemische Zusammensetzung des Materials, außerdem kann der Gerinnungshemmer die Bestimmung teilweise sehr stark stören. (→ Tab. 7.2)

Für gerinnungsphysiologische Tests muß z. B. Citratlösung in das Entnahmeröhrchen gefüllt sein, bevor das Blut abgenommen wird. In diesem Fall ist auf eine exakte Füllung zu achten, da sonst Verdünnungsfehler entstehen.

Heparin als Antikoagulations-Mittel

Das Heparin ist ein physiologisches Antikoagulationsmittel, das in geringen Konzentrationen im Blut vorhanden ist. Seine Aufgabe besteht in der Aktivierung des Prothrombins zum Thrombin sowie der Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin. Es stabilisiert außerdem die Thrombozyten. Heparin ist ein Polysaccharid, das aus Sulfonylaminoglucose und Schwefelsäure-Estern der Glucuronsäure aufgebaut ist. Für das klinisch-chemische Labor stehen verschiedene Heparinsalze zur Verfügung. In der Praxis wird das Lithium- und Ammonium-Heparinat bevorzugt. Daneben sind Natrium- und Kalium-Heparinat erhältlich. Welches Heparin verwendet werden soll, hängt von der Fragestellung und der einzusetzenden Methode ab. Ein Zusatz von Natrium-Heparinat (143 USP Einheiten pro 10 ml Blut) bewirkt bei der Bestimmung der Natrium-Konzentration einen Anstieg von ca. 0,4 %, wenn die Entnahme vorschriftsmäßig in Bezug auf das Füllvolumen durchgeführt worden ist. Dieser Fehler ist bei den meisten klinischen Fragestellungen irrelevant und kann deshalb vernachlässigt werden. Heparin ist das Antikoagulationsmittel der Wahl. Zur Gerinnungshemmung sind 75 Einheiten Heparin pro ml Blut ausreichend.

EDTA als Antikoagulations-Mittel

Ethylendiamintetra-Essigsäure (EDTA) führt durch Komplexbildung mit Calcium zu einer Gerinnungshemmung des Blutes. Es wird entweder das Dikalium- oder das Dinatriumsalz der EDTA verwendet. Das Dikaliumsalz soll eine etwas bessere Löslichkeit als das Dinatriumsalz besitzen. Die eingesetzten Konzentrationen betragen 1 bis 2 mg pro ml Blut. Aus EDTA-Blut hergestellte Blutaustrieche eignen sich besonders gut für verschiedene Anfärbungen. Für die klinisch-chemischen Methoden ist das EDTA-Plasma nicht bei allen Methoden geeignet. So wird die Bestimmung von Calcium und einiger Enzyme durch EDTA gestört. Für die Lipoprotein-Analytik wird das EDTA-Plasma empfohlen, da es neben dem Calcium auch mit anderen Metallionen Komplexbindungen eingeht. Hierdurch kann die Autoxidation der ungesättigten Fettsäuren und des Cholesterols unterbunden werden.

Fluorid als Antikoagulations-Mittel

Der Einsatz von Fluorid kann zwei Funktionen erfüllen. Fluorid ist durch Bindung von Calcium Antikoagulationsmittel, außerdem hemmt Fluorid die Glykolyse. Vollblut, das mit Natriumfluorid versetzt worden ist, kann für die Bestimmung der Glucose bis zu 60 Minuten aufbewahrt werden. Bei Lagerung im Kühlschrank ist die Glucose bis zu 6 Stunden stabil. Ohne Zusatz ist der Glucosewert schon nach 30 Minuten, selbst bei Kühlschranklagerung, verändert. Da das Fluorid aber eine Reihe von Störungen, wie z. B. eine Hemmung der Urease bei der Harnstoff-Bestimmung, in der Analytik verursacht, findet es nur eingeschränkt Verwendung.

Citrat als Antikoagulations-Mittel

Citrat wird in Form von Lösung zur Bestimmung der Geschwindigkeit der Blutkörperchensenkung eingesetzt. Hierfür wird eine 3,8%ige Lösung, 38 g/l, benötigt. Da das Citrat zu einem Schrumpfungseffekt der Erythrozyten führt, kann es bei einer Reihe von Untersuchungen nicht verwendet werden. Zur vollständigen Antikoagulation des Blutes werden Konzentrationen bis zu 5 mg · ml⁻¹ Blut empfohlen.

Oxalat als Antikoagulations-Mittel

Durch Bindung des Calciums verhindern Lithium-, Natrium- und Kaliumoxalat die Blutgerinnung. Als Konzentration zur Plasmagewinnung werden 2 bis 3 mg Oxalat pro ml Blut empfohlen. Die Konzentration von 3 mg · ml⁻¹ darf auf keinen Fall überschritten werden, da es sonst zu einer Hämolyse und zu einer starken Schrumpfung der Erythrozyten kommt. Die Verwendung von Oxalat bringt zahlreiche Nachteile mit sich, deswegen ist der Einsatz sehr eingeschränkt. Für das klinisch-chemische Labor kann die Verwendung von Oxalat nicht empfohlen werden.

Tabelle 7.2 Übersicht der Antikoagulations-Mittel und deren empfohlene Konzentration. Die Reihenfolge stellt eine Bewertung des Gerinnungshemmers dar.

Antikoagulations-Mittel	Konzentration zur Antikoagulation im Blut [g l ⁻¹]	Störungen bei
Ammoniumheparinat	7500 IE l ⁻¹	
Natriumheparinat	entspr. ca. 0,75	
Lithiumheparinat		
Dinatrium-EDTA	2	Eisen, Glucose, Creatinin, AP
Dikalium-EDTA		
Natriumfluorid	2	Harnstoff, Cholesterol
Natriumcitrat	5	
Natriumoxalat	3	Creatinin,
Kaliumoxalat		Eisen, Fibrinogen, LDH
Lithiumoxalat		

Hinweis: Die Tabelle dient der ersten Orientierung. Detaillierte Angaben zum Ausmaß der Störung finden sich in den Methodenbeschreibungen.

1.8 Kapillarblut

Das mittels einer Kapillare anstatt einer Spritze oder einem Entnahmesystem entnommene Blut wird als Kapillarblut bezeichnet. Das Kapillarblut liefert schlechter reproduzierbare Werte als das Venenblut, da es sich in seiner Zusammensetzung zu inkonstant verhält und die Fehler bei der Probenahme erheblich sind. Die Kapillarblut-Entnahme wird heute überwiegend zur Gewinnung von Probenmaterial für die Bestimmung der Glucose gemäß der Empfehlung der WHO eingesetzt. Aber auch in der Geriatrie und Pädiatrie, besonders bei Neugeborenen, wird diese Art der Probenahme bevorzugt.

Material zur Entnahme von Kapillarblut

1. Papiertupfer
2. 70%igen Ethanol zur Desinfektion
3. sterile Einweglanzetten
4. Pipetten, Kapillaren, Röhrchen, Objektträger entsprechend der durchzuführenden Analyse
5. eventuell Kitt (Hämatokrit)
6. Schnellverband (Pflaster)
7. Einmalhandschuhe

Durchführung der Kapillarblutentnahme

1. Die Entnahme erfolgt aus dem Ohrläppchen (unempfindlich aber schlecht durchblutet), seitlich an der Fingerkuppe (in der Regel des Ringfingers) oder bei Neugeborenen an der medialen Fersenkante.
2. Da die Einstichstelle gut durchblutet sein soll, muß bei kalten oder schlecht durchbluteten Extremitäten die Entnahmestelle hyperämisiert werden. Hierzu kann mit Hilfe feucht-warmer Umschläge oder trockener Wärme die Durchblutung gefördert werden.
3. Die Entnahmestelle wird mit 70%igem Ethanol desinfiziert.
4. Die Entnahmestelle kann ggf. mit einer hydrophoben Salbe eingerieben werden.
5. Durch Druck wird die Haut angespannt und mit einer Lanzette oder besser mit Punktionshilfen punktiert. Der Einstich sollte je nach Beschaffenheit der Haut „dosiert“ sein. Beim Neugeborenen soll die Einstichtiefe 2,5 mm nicht überschreiten. Spezielle Hinweise am Ende des Durchführungsschemas sind zu beachten!
6. Da der erste Tropfen Flüssigkeit aus dem Gewebe enthält, sollte er weggewischt werden.
7. Die Blutentnahme ist mit den entsprechenden Kapillaren oder Gefäßen vorzunehmen. Hierbei darf das Blut nicht durch Quetschen herausgefordert werden. Es soll frei fließen und große Tropfen bilden. Wird Blut für mehrere Untersuchungen verwendet, muß die Einstichstelle nach jeder Entnahme gut gereinigt werden, um eventuell Gerinnsel zu entfernen.
8. Nach Beendigung der Abnahme wird die Einstichstelle mit einem Tupfer gereinigt und die Blutung durch Kompression mit dem Tupfer gestillt. Die Einstichstelle ist mit einem Schnellverband, z. B. einem Pflaster, abzudecken.

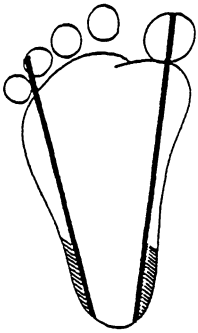


Abb. 7.2 Empfohlene Punktionsstelle beim Neugeborenen (schraffiert) zur Gewinnung von Kapillarblut, um Calcaneusverletzungen zu vermeiden.

Hinweis

Bei der Entnahme von Kapillarblut von Neugeborenen sind einige Besonderheiten zu beachten. Die Entnahme erfolgt vorzugsweise in der Fersenregion. Damit nicht der Calcaneus punktiert wird, sollte die Haut außerhalb von den in der Abbildung dargestellten Linien punktiert werden. Die Linien reichen vom großen Zeh zur lateralen Seite des Calcaneus und vom Zwischenraum zwischen dem 4. und 5. Zeh zur lateralen Seite (Abb. 7.2).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Bei der Entnahme sind unbedingt Vorsichtsmaßnahmen für die entnehmende Person zu treffen. Zum Schutz vor möglichen Infektionen (Hepatitis, AIDS etc.) sollten Einmalhandschuhe getragen werden.
2. Nach der Entnahme sollte die Lanzette in speziell hierfür vorgesehenen Behältern gesammelt und entsorgt werden. Auf keinen Fall die Lanzetten in den Papierkorb werfen.

Fehlermöglichkeiten

1. Bei der Entnahme von Kapillarblut besteht eine große Gefahr der Hämolyse („Hämolyse“ → Interferenzen, 1.14).
2. Die Konzentration der Glucose ist höher als im Venenblut, niedriger sind Calcium, Kalium und Protein.
3. Gerinnungsanalysen einschließlich der Thrombozytenzählung aus Kapillarblut sind unzulässig.
4. Bei starkem Pressen, Drücken und Quetschen während der Entnahmeprozedur tritt eine Hämodilution (Verdünnung des Blutes) durch Interstitialflüssigkeit ein.

1.9 Probenbehandlung

Vorbereitungen für den Probentransport

Der Transport der Probe vom Patienten zum Labor spielt eine wesentliche Rolle in der präanalytischen Phase. Nur wenn die Entnahme von Blut im Labor selbst erfolgt, ist eine Überwachung des Transportwe-

ges vom Laborpersonal möglich. Für Serum als Untersuchungsmaterial soll das Blut nach der Entnahme bei Zimmertemperatur, am besten im Dunkeln, aber auf keinen Fall in direktem Sonnenlicht stehen. Nach 30 bis 45 Minuten ist der Gerinnungsvorgang abgeschlossen; danach erfolgt sofort die Zentrifugation. Der maximal zulässige Zeitraum zwischen der Entnahme des Blutes und der Zentrifugation darf nicht mehr als 2 Stunden betragen. Selbst in diesem Zeitraum kann z. B. die Konzentration des Kaliums ansteigen. Erhalten Patienten aufgrund ihrer Erkrankung ein gerinnungshemmendes Arzneimittel, kann sich der Gerinnungsvorgang verzögern.

Heparinisieretes Blut soll sofort nach der Abnahme zentrifugiert werden. Die Blutzellen sind nicht von einem Fibrinnetz umspinnen, dadurch können sie ihren Metabolismus ungehindert aufrechterhalten und verändern das Specimen vom Moment der Blutentnahme an ununterbrochen. Das heparinisierte Blut muß deshalb baldigst zur Zentrifugation in das Labor transportiert werden.

Transport

Der Transport sollte grundsätzlich nur mit verschlossenen Gefäßen stattfinden. Hierdurch kann Kontamination und Infektion des Personals auf ein Minimum reduziert werden. Während des Transportes von Nativblut oder antikoaguliertem Blut müssen Erschütterungen, direkte Sonneneinstrahlung und Temperatureinflüsse unterbunden werden, da es sonst zu einer Veränderung des Probenmaterials kommt, die wiederum negative Auswirkungen auf das Endresultat haben.

Tabelle 7.3 Auswirkungen auf das Analysenergebnis bei falscher Behandlung der Probe (Nativ- oder antikoaguliertes Blut) während des Transportes.

Art des Fehlers	Auswirkung
zu hohe Temperatur	Instabilität einiger Bestandteile, z. B. Enzyme, Verdunstung
zu niedrige Temperatur	Hämolyse
starke Erschütterung	Hämolyse
direkte Sonneneinstrahlung	Photooxidation des Bilirubins

Probenvorbereitung im Labor

Da Stoffwechselfvorgänge nach der Entnahme des Blutes weiterlaufen können und somit die Zusammensetzung des Probenmaterials verändern, ist für die klinisch-chemische Untersuchung die Trennung der zellularen von den nichtzellularen Bestandteilen notwendig. Antikoaguliertes Blut oder Nativblut soll mindestens 5 bis 15 Minuten bei 1000 bis 2000*^g zentrifugiert werden. Eine höhere Umdrehungszahl kann zu einer Hämolyse führen. Um eine schonende Fraktionierung zu erreichen, sollten für die Zentrifugation die Hinweise des Zentrifugen-Herstellers beachtet werden. Zur besseren Trennung sind Zentrifugierhilfen erhältlich. Diese sind entweder mit Kaolin beschichtete Kunststoffgranulate bzw. -kugeln oder hochviskose Flüssigkeiten auf Silikonbasis, die vor

dem Zentrifugieren in die Monovette oder das Zentrifugierrohrchen gegeben werden. Die höhere Dichte der Materialien ergibt eine Wanderungsgeschwindigkeit während der Zentrifugation, die eine bessere Trennung von Serum bzw. Plasma und den übrigen Zellbestandteilen ermöglicht. Auch bei der Zentrifugation sollen die Entnahme- oder Transportgefäße verschlossen bleiben, damit eine Aerosolbildung vermieden wird. Da die Temperatur in den Zentrifugen infolge der hohen Luftreibung während des Laufens ansteigt, ist es zweckmäßig, geeignete Kühlvorrichtungen zu installieren. Die Temperatur im Zentrifugeninnenraum darf nicht über 30 °C ansteigen und sollte auch nicht tiefer absinken, auf keinen Fall darf das Material gefrieren.

Um nach der Zentrifugation ein Diffundieren von Inhaltsstoffen der Erythrozyten in das Serum bzw. Plasma zu verhindern, muß unverzüglich eine räumliche Trennung von Serum bzw. Plasma und dem zellularen Sediment erfolgen. Für diesen Zweck wurde früher das Abgießen oder Abhebern empfohlen. Heute verwendet man spezielle Kunststofffilter, die in die Monovette oder das Zentrifugierrohrchen eingedrückt werden. Das Filter besteht aus einem Kunststoffrohrchen, welches am Boden durch ein Plättchen aus porösem Material verschlossen ist. Über ein Steigrohr an der Seitenwand des Filterrohrchens kann das Serum bzw. Plasma aufsteigen und in dem Filter aufgefangen werden. Die Zentrifugationshilfen aus flüssigem Silikon können für kurze Zeit auch die Aufgaben des o. g. Filters übernehmen. Die Lagerfähigkeit des Serums bzw. Plasmas ist aber nur für 2 bis 3 Tage gewährleistet. Das Silikon erspart einen Arbeitsgang, da es sich während der Zentrifugation zwischen Serum bzw. Plasma und die zellularen Bestandteile lagert. Außerdem erhöht es die Ausbeute an Serum bzw. Plasma.

Aufbewahrung und Stabilität des Probenmaterials Serum bzw. Plasma

Eine Grundregel ist, daß natives und antikoaguliertes Blut nicht für den Postversand geeignet ist, wenn anschließend klinisch-chemische Analysen durchgeführt werden sollen. Ebenso darf Blut nicht länger als 2 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden. Bereits während dieser Zeit kann Glykolyse stattfinden. Der glykolytische Abbau im Zytoplasma kann durch die Inhaltsstoffe der Erythrozyten bewirkt werden. Glykolysehemmer verhindern diesen Vorgang. Aus diesem Grund ist das Blut sofort bzw. nach Abschluß der Gerinnung (30 bis 45 Minuten) zu zentrifugieren. Eine Lagerung von Blut im Kühlschrank erhöht nicht die Stabilität, sondern führt häufig zu einer Hämolyse.

Dagegen kann Serum oder Plasma kurzfristig bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Eine wesentlich höhere Stabilität erzielt man bei Aufbewahrung im Kühlschrank bei +4 bis +8 °C. In beiden Fällen muß das Probengefäß fest verschlossen sein.

Die Aufbewahrung der Proben ist oftmals notwendig:

- wenn Analysen aus organisatorischen Gründen nicht am Entnahmetag durchführbar sind,
- wenn eine Wiederholungsanalyse aufgrund eines unplausibel erscheinenden Befundes angezeigt ist,
- wenn aus Gründen der Diagnostik von der einsendenden Stelle zusätzliche Bestimmungen nachgefordert werden.

Werden Proben über einen längeren Zeitraum unverschlossen aufbewahrt, dann konzentrieren sich alle nichtflüchtigen Bestandteile auf. Die Aufkonzentrierung ist abhängig von der Umgebungstemperatur, Luftfeuchtigkeit, Oberfläche der Gefäßöffnung, Luftströmungen und der Stabilität des Analyten.

Tabelle 7.4 Haltbarkeit einiger ausgewählter Analyten nach der Probennahme in fest verschlossenen Gefäßen

Analyt	Lagerung bei		
	+20 bis +25 °C	+4 bis +8 °C	-20 °C
Amylase (S)	7 Tage	7 Tage	7 Tage
(U)	2 Tage	10 Tage	-
Bilirubin (S)	nur frische Proben verwenden		
Cholesteroll (S)	6 Tage	6 Tage	6 Monate
Creatin-Kinase (S)	2 Tage	2 Tage	-
Creatinin (S)	2 Tage	2 Tage	6 Monate
Glucose (S)	3 Tage	7 Tage	3 Tage
(U)	nur frische Proben verwenden		
τ-GT (S)	7 Tage	7 Tage	7 Tage
GOT (S)	3 Tage	3 Tage	7 Tage
GPT (S)	2 Tage	3 Tage	-
Hämoglobin (B)	innerhalb von 24 Stunden bestimmen		
Harnsäure (S)	5 Tage	5 Tage	6 Monate
Harnstoff (S)	1 Tage	3 Tage	6 Monate
Kalium (S)	2 Wochen	2 Wochen	-
Natrium (S)	2 Wochen	2 Wochen	-
Triglyceride (S)	nur frische Proben verwenden		

S = Serum, B = Blut, U = Urin, - = keine Angaben

Veränderungen in der Probe des Serums oder Plasmas während der Lagerung

Unter der Wirkung von endogenen Lipasen kann die Konzentration der Triglyceride absinken, während die Konzentration des freien Glycerols ansteigt. Dieser Effekt kann eine Veränderung der Glycerol-Konzentration bis zum Doppelten des Ausgangswertes betragen; unabhängig von der Lagerungstemperatur. Die Konzentration des Creatinins kann ebenfalls methodenabhängig durch Bildung von unspezifischen Chromogenen ansteigen. Neue enzymatische Methoden zeigen diese Probleme jedoch nicht; lediglich die unspezifische Jaffe-Methode unterliegt diesem Anstieg.

Durch Photooxidation kann das Bilirubin oxidiert werden. Bei direkten photometrischen Messungen resultieren erniedrigte Werte.

1.10 Urin als Untersuchungsmaterial

Die Gewinnung von Urin als Untersuchungsmaterial kann auf verschiedene Weisen erfolgen. Die Art der Gewinnung ist abhängig von der nachfolgend durchzuführenden Untersuchung. Für die im kleinen Labor durchführbaren Analysen kommt Spontanurin, Mittelstrahlurin oder Sammelurin in Betracht. Für weitergehende Untersuchungen (mikrobiologisch oder zytologisch) werden unter Umständen eine Katheterung oder Punktion der Blase notwendig sein. Für die meisten qualitativen Untersuchungen stellt der Mittelstrahlurin, wenn er unter den richtigen Bedingungen (Tab. 7.5) gewonnen wurde, das Probenmaterial der Wahl dar. Das Probengefäß für den Spontan- oder Mittelstrahlurin muß mit folgenden Angaben versehen werden:

- Name und Vorname des Patienten
- Geburtsdatum

Tabelle 7.5 Mittelstrahlurin: Anweisungen für Patienten

Lesen Sie diese Instruktionen vor dem Wasserlassen!

Fragen Sie, wenn Sie etwas nicht verstehen!

Nur durch richtiges Sammeln des Harns ist eine sichere Unterscheidung zwischen Harnwegsinfektionen und Verunreinigung möglich.

Männer	Frauen
1. 2 Gläser Wasser oder Tee 30 Minuten vor dem Wasserlassen trinken.	1. 2 Gläser Wasser oder Tee 30 Minuten vor dem Urinsammeln trinken.
2. Hände mit Seife waschen und mit Einmalhandtuch trocknen.	2. Hände mit Seife waschen und mit Einmalhandtuch trocknen.
3. Sammelbehälter öffnen, dessen Deckel mit Innenseite nach oben ablegen, ohne die Innenseite zu berühren. (Fällt der Behälter auf den Boden oder wurde die Innenseite berührt, lassen Sie sich einen neuen geben!)	3. Sammelbehälter öffnen, dessen Deckel mit Innenseite nach oben ablegen, ohne die Innenseite zu berühren. (Fällt der Behälter aus den Boden oder wurde die Innenseite berührt, lassen Sie sich einen neuen geben!)
4. Mit gespreizten Beinen über der Toilette stehen.	4. Rittlings auf die Toilette setzen.
5. Vorhaut über die Eichel zurückstreifen.	5. Beine möglichst weit spreizen. Diese Stellung wird bis zur Beendigung des Sammelns beibehalten. Mit der linken Hand die Schamlippen spreizen. Diese während der ganzen Sammelperiode gespreizt halten!
6. Die Eichel mit einem seifenge tränkten Tupfer ausgiebig waschen, danach mit einem feuchten Tuch oder Seife nachwaschen.	6. Den Harnröhreneingang 2mal mit jeweils einem der vorbereiteten seifenge tränkten Tupfer langsam von vorn nach hinten (je Tupfer nur einmal diese Bewegung) waschen.
7. Harnröhrenöffnung mit einem seifenge tränkten Tupfer und anschließend mit einem feuchten Tupfer ohne Seife in einer Bewegung säubern. Nicht abtrocknen! Gebrauchte Tupfer in die Toilette fallen lassen.	7. Den Harnröhreneingang 2mal mit jeweils einem der vorbereiteten Tupfer ohne Seife langsam von vorn nach hinten waschen. Nicht abtrocknen! Gebrauchte Tupfer in die Toilette fallen lassen.
8. Lassen Sie eine kleine Urinmenge, welche die Harnröhre reinigt, in die Toilette fließen. Harnstrahl stoppen!	8. Lassen Sie eine kleine Urinmenge, welche die Harnröhre reinigt, in die Toilette fließen. Harnstrahl stoppen!
9. Sammelbehälter von außen anfassen und unter die Harnröhrenöffnung halten, ohne die Behälterinnenseite zu berühren. Urinstrahl in den Behälter fließen lassen.	9. Lassen Sie jetzt den weiteren Harnstrahl in den Sammelbehälter fließen. (Außen anfassen, die Behälteröffnung nicht mit dem Körper berühren!)
10. Deckel auf Sammelbehälter.	10. Deckel auf Sammelbehälter.

- Angaben zum Geschlecht (der Vorname läßt nicht immer auf das Geschlecht schließen)
- Entnahmedatum und -zeit
- Einsender (sofern von anderen Stellen Proben angenommen werden)

Für die quantitativen Untersuchungen, wenn u. a. bilanzierende Berechnung erfolgen müssen, sollte Sammelurin das Probenmaterial sein. Die Gewinnung des Sammelurins (gesammelt über einen definierten Zeitraum, meistens 24 Stunden) erfordert die Mitarbeit des Patienten. Exakte Auskünfte über das 24-Stunden-Volumen sind jedoch beim stationären, als auch beim ambulanten Patienten nur schwerlich zu erhalten. Auch auf die Frage nach der Flüssigkeitsaufnahme, die entscheidend für die Bilanzierung ist, werden ungenügende Antworten geben. Für die Sammlung des 24-Stundenurins sollte folgendes Vorgehen gewählt werden:

1. Dem Patienten wird ein geeignetes Sammelgefäß mit einer Volumengraduierung überreicht. Als Sammelgefäß sollte ein Einmalgefäß aus Kunststoff verwendet werden. Bei wiederverwertbaren Gefäßen besteht die Gefahr der Kontamination mit Desinfektions- und Reinigungsmitteln.
2. Je nach geplanter Untersuchung muß der Sammelurin eventuell konserviert werden (Tab. 7.6). Das Konservierungsmittel soll sich bereits vor Abgabe an den Patienten in dem Gefäß befinden.
3. Das Sammelgefäß muß beschriftet sein mit:
 - Name und Vorname des Patienten
 - Geburtsdatum
 - Angaben zum Geschlecht (der Vorname läßt nicht immer auf das Geschlecht schließen)
 - Entnahmedatum und -zeit
 - Angaben zum Konservierungsmittel
 - Einsender (sofern von anderen Stellen Proben angenommen werden)
4. Dem Patienten ist in schriftlicher Form eine Anweisung zur Sammlung des Urins auszuhändigen. Die Anweisung muß das Sammeln exakt und verständlich beschreiben. Vor allen Dingen muß die Zeitspanne der Sammeldauer genau definiert werden; z. B. beginnend mit der Entleerung des Morgenurins am ersten Tag und endend mit der Entleerung des Morgenurins zur gleichen Zeit des nachfolgenden Tages. Diese letzte Portion, sowie alle dazwischenliegenden, müssen in den Behälter gegeben

werden. Ein Vermerk muß darauf hinweisen, daß sich im Behälter eine ggf. ätzende Konservierungslösung befindet. Der Urin sollte möglichst kühl und vor Sonneneinstrahlung geschützt aufbewahrt und nach Beendigung der Sammelperiode unverzüglich dem Untersucher übergeben werden.

Lagerung und Transport von Urin

Für alle mikroskopischen Untersuchungen und für das Sediment muß der Urin frisch sein. Untersuchungen können sofort nach Erhalt der Probe durchgeführt werden. Eine Aufbewahrung über eine Stunde hinaus führt zur Lysierung von Zellen oder Zellbestandteilen und ggf. zur Kristallisierung. Für die chemische Analyse von 24-Stundenurin soll das Sammelgefäß dunkel und kühl (+4 bis +8 °C) aufbewahrt werden. Hierbei läßt sich eine Kristallisierung und Sedimentation von Bestandteilen nicht verhindern. Vor der Analyse den Behälter gut schütteln. Im Sediment häufen sich proteinartige Substanzen an.

1.11 Normalbereich oder Referenzintervall

Der Begriff Normalbereich oder Normalwert hat sich bis heute im Wortgebrauch der Diskussion von Laborresultaten behaupten können. Dies ist um so mehr verwunderlich, da der Begriff Normalwert zu Mißverständnissen und Zweideutigkeit führt. Alle Autoren, die sich mit der Problematik der physiologischen Normalität beschäftigt haben, kommen zu dem Schluß, daß die Begriffe Normalwert oder Normalbereich für das Resultat einer Laboruntersuchung nicht befriedigend genug definiert werden können. Die Bedeutung des Ausdrucks „normal“ kann in drei Gruppen unterteilt werden:

1. In der klinischen Auslegung wird normal synonym für gesund verwendet.
2. Der Statistiker versteht unter normal eine Gauß'sche Verteilung.
3. Im volkstümlichen Sprachgebrauch wird normal mit ideal, konventionell oder gewohnt gleichgesetzt.

In der Medizin werden Individuen, die als frei von Krankheit gelten, also gesund sind, als normal bezeichnet. Weichen jedoch die Ergebnisse der medizinischen Untersuchung von denen bei sogenannten gesunden Individuen erstellten Werte ab, so wird die Person als krank oder nicht normal definiert.

Hierbei spielen auch emotionale Gesichtspunkte eine Rolle, da alles, was oder wer nicht normal ist, abnormal bzw. schlecht ist und aus diesem Grund eliminiert werden muß.

Da es den Zustand der absoluten Gesundheit nicht gibt, haben Gräsbeck und Dybkaer den Begriff des Referenzwertes, reference value, eingeführt. Bei diesem Konzept geht man davon aus, daß Referenzwerte von einem Kollektiv gewonnen werden, das sich so ähnlich wie möglich und unzweideutig definiert ist. Bei der Erstellung von Referenzwerten muß demnach die Untersuchungstechnik, die klinisch-chemische Methode, die Größe und Zusammensetzung des Kollektivs und die Art der statistischen Berechnung der Resultate exakt angegeben werden.

Tabelle 7.6 Konservierungsmittel für Urine

Untersuchung von	Konservierung mit	Haltbarkeit bis
Sediment	keine	etwa 1 Stunde
Elektrolyte	konz. HCL (25- oder 32%ig) 10 ml im Sammelgefäß vorlegen	1 Woche
Metabolite	einfrieren oder 5 ml Gemisch aus 1 Teil Thymol + 3 Teile Isopropanol	

Die International Federation of Clinical Chemistry hat folgende Nomenklatur vorgeschlagen:

Referenzindividuum. Ein Referenzindividuum ist eine Person, die ausgewählt wurde, weil sie bestimmten Kriterien entspricht.

Referenzpopulation. Eine Referenzpopulation setzt sich aus Referenzindividuen zusammen.

Referenzgruppe. Eine Referenzgruppe ist eine Anzahl von Referenzindividuen, die so groß gewählt wurde, daß sie als repräsentativ für die Referenzpopulation gelten kann.

Referenzwert. Ein Referenzwert wird aus der quantitativen Analyse von Untersuchungsmaterialien gewonnen, das von einem Referenzindividuum stammt.

Referenzverteilung. Eine Referenzverteilung stellt die Verteilung aller vorliegenden Referenzwerte dar. Die Art dieser Verteilung kann durch geeignete statistische Verfahren definiert werden.

Referenzlimit. Referenzlimits werden aus der Referenzverteilung gewonnen und im allgemeinen so gewählt, daß eine definierte Fraktion der Referenzwerte unterhalb, eine zweite oberhalb und alle übrigen innerhalb der Grenzen liegen.

Referenzintervall. Ein Referenzintervall liegt zwischen zwei Referenzlimits. Dieser Begriff wird auch von der Bundesärztekammer als Ersatz für den Begriff Normalbereich in den neuen Richtlinien zur Qualitätssicherung verwendet.

Beobachtungswert. Ein Beobachtungswert ist das analytische Resultat einer quantitativen Bestimmung einer Komponente, das mit Referenzwerten, Referenzverteilungen, Referenzlimiten oder Referenzintervallen verglichen werden kann. Im weiteren Text werden trotz der Empfehlungen der Bundesärztekammer und der International Federation of Clinical Chemistry die Begriffe Normalbereich und Referenzintervall nebeneinander benutzt.

1.12 Kalibration

Die Kalibration, das Ausrichten auf ein genaues Maß, stellt einen wichtigen, nicht zu vernachlässigenden Schritt in der klinisch-chemischen Analytik dar. In kürzeren und längeren Abständen müssen klinisch-chemische Verfahren und alle hierfür benötigten Module kalibriert werden. Da in den letzten Jahren wiederholt von seiten der Industrie versucht worden ist, den Vorgang der Kalibration aus dem Labor in die Produktion zu verlagern, muß an dieser Stelle die Bedeutung dieser Prozedur hervorgehoben und erklärt werden, zumal die Kalibration die Basis aller Qualitätskontrollmaßnahmen ist.

Man unterscheidet zwei Arten von Kalibration:

1. Technische Kalibration

- a) der meßtechnischen Komponenten z. B. Wellenlänge, Zählrate, Dunkelstrom etc.,

- b) der verfahrenstechnischen Komponenten z. B. Volumen, Meßtemperatur, Inkubationszeit etc.

2. Methodologische Kalibration

- a) mit primären Standard,
- b) mit sekundären Standard,
- c) mit arbiträren Standard.

Die technische Kalibration bezieht sich auf die einzelnen Einheiten, die für die Durchführung eines Verfahrens gebraucht werden, wie z. B. Pipetten oder Photometer.

Die methodologische Kalibration greift in das Verfahren selbst ein. Unter der Voraussetzung, daß die technische Kalibration innerhalb der gegebenen Toleranzgrenzen einwandfrei ist, soll durch die methodologische Kalibration erreicht werden, daß der ermittelte Wert innerhalb enger Toleranzgrenzen um den Zielwert streut.

Die Güte der Kalibration ist entscheidend für die Qualitätskontrolle und die Maßnahme der Qualitätssicherung. Falsche oder oberflächliche Kalibrierung führt zu falschen oder zu weit vom Zielwert abweichenden Ergebnissen. Selbst wenn für die Kalibration und Kontrolle der Qualität ähnliche Materialien verwendet werden, ist hieraus nicht der Schluß zu ziehen, daß Kalibration und Qualitätskontrolle identisch sind. Kalibratoren dürfen auf keinen Fall für Qualitätskontrollmaßnahmen verwendet werden. Das gilt im umgekehrten Fall auch für die Qualitätskontrollproben, die nicht zum Vorgang der Kalibration eingesetzt werden dürfen.

Kalibratoren

1. Für die technische Kalibration: Als technische Kalibratoren werden solche Einrichtungen bezeichnet, die dazu dienen, bestimmte physikalische oder verfahrenstechnische Eigenschaften festzulegen; z. B.
 - a) Holmiumoxid-Glasfilter zur Kalibration der Wellenlänge
 - b) oder durch Wägung festgelegte Volumina von Pipetten oder Dosierern.
2. Für die methodologische Kalibration: Methodenbezogene Kalibratoren dienen der Justierung von Methoden, sie werden auch als Kalibrationsstandards bezeichnet.

Es müssen drei Arten von Standards unterschieden werden:

- a) Im optimalen Fall, ist der primäre Standard als Kalibrator einzusetzen. Exakt abgewogene Reinstsubstanzen, die in reinem Lösungsmittel gelöst sind, bezeichnet man als Primärstandard. Als Beispiel sei Natriumchlorid pro analysi in hochreinem Wasser genannt. Wann immer ein analytisches Verfahren die Verwendung des primären Standards zuläßt, ist dieser Kalibrator als optimal anzusehen. Der Primärstandard kann jederzeit in gleicher Art und Weise wieder hergestellt werden. Im Bereich der Laboratoriumsmedizin ist dieser Standard nicht immer einsetzbar. In diesen Fällen muß auf einen in einer Matrix gelösten Standard zurückgegriffen werden. Hierbei soll die Matrix dem Untersuchungsmaterial näherkommen. In

dem genannten Beispiel wäre das der Ersatz des reinen Lösungsmittels Wasser durch eine Albuminlösung. Das Albumin muß ebenfalls von höchster Reinheit sein, es darf auf keinen Fall noch Natriumionen enthalten.

- b) Wenn es nicht möglich ist den Analyt in reiner Form zu isolieren und in einer definierten Lösung aufzulösen, dann muß auf sogenannte sekundäre Standards ausgewichen werden. Sie enthalten den oder die gesuchten Analyten von vorne herein, möglicherweise auch angereichert oder durch entsprechende Maßnahmen vermindert. Die Konzentration des gesuchten Analyten muß sekundär durch chemische, enzymatische oder immunologische Analysen, auf jeden Fall mit der besten zur Verfügung stehenden Methode, ermittelt worden sein.
- c) In manchen Fällen ist der Analyt nur unzureichend beschrieben wie beim Tumormarker oder er liegt in nur schlecht definierten Reinheitsgraden vor. In diesen Fällen sind Kalibrationspräparate einzusetzen, die mit arbiträren Einheiten versehen sind. Sie werden meist von nationalen und internationalen Körperschaften zur Verfügung gestellt.

1.13 Qualitätskontrolle

Aufgrund der Verabschiedung des Eichgesetzes durch den Bundesminister für Wirtschaft unter Zustimmung des Bundestages unterliegen alle im klinisch-chemischen Bereich erstellten Analysen der Qualitätssicherung. Hierzu hat die Bundesärztekammer Richtlinien beschlossen. Die „Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien“ aufgrund der Beschlüsse des Vorstandes der Bundesärztekammer vom 16.01.1987 und 16.10.1987 wurden im Deutschen Ärzteblatt im März 1988 veröffentlicht. Am 1. Juli 1989 sind sie in Kraft getreten. Die Bedeutung soll im Zusammenhang mit einer allgemeinen Beschreibung der Qualitätssicherung erfolgen. An dieser Stelle können nicht die gesamten Richtlinien aufgeführt werden. Jeder analytisch tätige Mitarbeiter, besonders der Laborleiter, ist verpflichtet, die Richtlinien genau einzuhalten. Die im nachfolgenden Text aufgeführten Hinweise können, dürfen und sollen die Richtlinien nicht erset-

zen. Sie haben aus diesem Grund auch keinen rechtsverbindlichen Charakter, sondern sollen nur Hilfestellung bei der täglichen Arbeit geben.

Einführung in die statistischen Grundlagen der Qualitätskontrolle im klinisch-chemischen Laboratorium

Die Resultate aus quantitativer chemischer Analytik sind wie alle Messungen grundsätzlich mit geringen Fehlern behaftet. Das gilt in besonderem Maße auch für die biochemische und klinisch-chemische Analytik. Dem Analytiker, der die Analyse durchführt und deren Ergebnisse bewertet und insbesondere dem Kliniker, der die aufgrund der erhaltenen Analyseergebnisse erhobenen Befunde bei seinen Entscheidungen verwertet, müssen die Art und das Ausmaß dieser Fehler bekannt sein.

Für die Fehler und deren Ausmaß sind verschiedene Ursachen verantwortlich. Die Fehler werden in drei verschiedene Arten eingeteilt, man unterscheidet grobe, zufällige und systematische Fehler. Zu ihrer Aufdeckung und Behebung dienen die Longitudinalbeobachtungen, die Richtigkeitskontrolle und die statistische Qualitätskontrolle.

Grobe Fehler können durch die Verwechslung der Proben, Pipetten, Reagenzien, Meßwellenlänge etc. verursacht werden. Die gemessenen Werte erscheinen in der Regel als unplausibel (z. B. mit negativen Vorzeichen) und sind somit sofort zu erkennen. Allerdings muß auf eine Verwechslung der Probe durch Longitudinalbeobachtungen (Vergleich zu Vorwerten des gleichen Patienten) geachtet werden. Ist nur eine einzelne Probe betroffen, von der keine Vorwerte existieren, kann es zu dramatischen Folgen für den Patienten kommen. Probenverwechslungen können bereits bei der Blutentnahme, durch mangelnde Aufmerksamkeit und falsche Beschriftung verursacht werden. Das Risiko eines groben Fehlers ist durch eine gute Organisation der Probenahme und der Durchführung der Analytik im Laboratorium reduzierbar.

Der zufällige Fehler kommt durch technische Mängel während der Analyse zustande. Er bewirkt Abweichungen vom Sollresultat nach oben und nach unten. Beispielsweise verursachen ein ungenaues Pipettie-

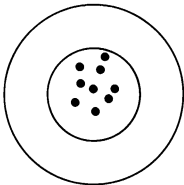
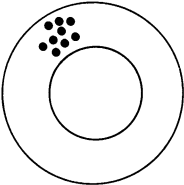
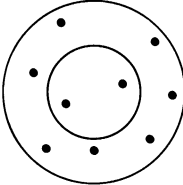
Fehlertyp		grobe Fehler	systematische Fehler	zufällige Fehler
				
		falsche Scheibe benutzt		
Präzision	optimal	—	gut	schlecht
Richtigkeit	optimal	—	schlecht	gut

Abb. 7.3 Büttners Schießscheiben

ren, geringfügige Temperaturschwankungen während der Inkubationsphase oder durch Änderung in der Netzspannungsversorgung hervorgerufene Photometerschwankungen diese Fehler. Diese Streuung ist nie vollständig zu vermeiden, sie kann jedoch durch sorgfältiges Arbeiten und Verwendung hochwertiger Reagenzien und Geräten auf ein Minimum reduziert werden.

Systematische Fehler bewirken, daß sie alle Analysenresultate in eine Richtung vom wahren Wert entfernen. Sie werden meist durch mangelhafte Pipetten, geringfügige Abweichungen der Meßtemperatur, verdorbene Reagenzien und Standardlösungen oder defekte Photometer hervorgerufen.

Die Abbildung 7.3 (Büttners Schießscheiben) verdeutlicht nochmals die oben beschriebenen Fehler.

Mit den zufälligen und systematischen Fehlern sind zwei weitere Begriffe eng verwandt, die bei der klinisch-chemischen Analytik eine große Rolle spielen, es sind die Präzision und die Richtigkeit.

Präzision

Die Präzision (Unpräzision) ist auf die zufallsbedingten Variationen (zufällige Fehler) jedes mit größter Sorgfalt durchgeführten Teilschrittes einer Analyse zurückzuführen. Die zufälligen Fehler sind vermeidbar. In der klinisch-chemischen Analytik unterscheidet man zwischen vier verschiedenen Präzisionsarten:

- Präzision in der Serie
- Präzision von Serie zu Serie
- Präzision von Tag zu Tag
- Präzision zwischen Laboratorien

Die verschiedene Präzisionsarten unterscheiden sich in ihrer Größe. Die beste Präzision wird üblicherweise innerhalb von einer Meßserie erzielt, da bei unmittelbarer Wiederholung des Tests meist die gleichen Fehler auftreten und diese sich dadurch bei jedem Meßwert gleichartig auswirken. Die schlechteste Präzision wird beobachtet, wenn eine Probe mehrfach in verschiedene Laboratorien analysiert wird. Dies liegt daran, daß neben den normalen Streuungen, die durch zufällige Fehler verursacht werden, auch die systematische Abweichung von Labor zu Labor eine Rolle spielt. Die Angabe der Präzision in der Serie und von Tag zu Tag sind die am häufigsten verwendeten. Die Größe der Präzision wird über die Standardabweichung (s) und die der relativen Standardabweichung (rs) angegeben.

$$s = \sqrt{\frac{\text{Summe der quadrierten Abweichungen vom Mittelwert}}{\text{Anzahl der Werte minus 1}}}$$

bzw.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

hieraus läßt sich die relative Standardabweichung (rs) errechnen

$$rs = \frac{\text{Standardabweichung (s)} \cdot 100}{\text{Mittelwert } (\bar{x})}$$

Die relative Standardabweichung wurde früher als Variationskoeffizient bezeichnet, die Angabe erfolgt in Prozent. Je kleiner die relative Standardabweichung umso besser die Präzision.

Richtigkeit

Die Richtigkeit von Analysen hängt in erster Linie vom Ausmaß der systematischen Fehler im Analysengang ab. Sie wird durch die Maßnahme, die die systematischen Fehler einschränken, erhöht. Die richtige Durchführung der Analyse wird mit Hilfe von Richtigkeitskontrollserien überprüft. In diesen Kontrollserien sind die Konzentrationen bzw. Aktivitäten der einzelnen Substanzen als sogenannte Sollwerte deklariert. Die Sollwerte werden durch Messungen in ausgewählten Referenzlaboratorien ermittelt. Seit kurzem gilt hier eine Veränderung. Wo es möglich ist, tritt der Referenzmethodenwert an die Stelle des Sollwertes.

Richtigkeit = Meßergebnis minus erwarteter Wert
oder besser in prozentualer Angabe

$$\text{Richtigkeit} = \frac{\text{Meßwert} \cdot 100}{\text{erwarteter Wert}}$$

(erwarteter Wert = Referenzmethodenwert bzw. Sollwert)

Spezifität

Als Spezifität einer Methode bezeichnet man die Fähigkeit dieser Methode, nur diejenige(n) Komponente(n) zu bestimmen, die sie vorgibt zu messen. Da aber die Spezifität eines Tests im Zusammenhang mit diagnostischen Entscheidungen im Gebrauch ist, sollte der Terminus *analytische Spezifität* besser durch den Ausdruck *Selektivität* ersetzt werden, der auch semantisch zutreffender ist.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze stellt die untere Grenze des Meßbereiches einer Methode dar. Sie wird definiert als das sicher vom Untergrund verschiedene Meßergebnis. Die Nachweisgrenze kann praktisch ermittelt werden, indem zu dem gesamten Reagenz an Stelle der Probe deren Lösungsmittel (z. B. Natriumchloridlösung) gegeben wird. Diese Proben werden in 10 bis 15 Ansätzen z. B. gegen Wasser gemessen. Man berechnet aus den erhaltenen Meßwerten den Mittelwert \bar{x} und die Standardabweichung (s). Die Nachweisgrenze wird aus dem Mittelwert der Meßwerte für den Probenleerwert plus drei Standardabweichungen dieser Meßwerte errechnet.

$$\text{Nachweisgrenze} = \bar{x} + 3s$$

Analysenserie

Eine Analysenserie ist eine Folge von gleichartigen Analysen, die mit denselben kontinuierlich betriebenen Geräten, derselben Kalibration von demselben Untersucher in kurzen Zeitabständen durchgeführt

werden. Die kleinste Serie umfaßt eine Einzelprobe, dagegen erstreckt sich die längste Serie über eine Arbeitsschicht, sofern das Analysensystem stabil ist. Lange Serien sollten trotzdem in Segmenten von 10 bis 20 Proben unterteilt werden, in denen eine Kontrollprobe mitgeführt wird.

**Normalverteilung
(Gauß'sche Glockenkurve)**

Die zufällige Streuung besitzt eine Regelmäßigkeit, die mit Hilfe der Gauß'schen Glockenkurve beschrieben werden kann. Durch die mathematischen Eigenschaften dieser Kurve ist die Berechnung des Mittelwertes und der Standardabweichung recht einfach und schon relativ wenig Werte erlauben eine sichere Berechnung.

Wird die Konzentration einer Substanz in der gleichen Probe unter nahezu identischen Bedingungen mehrfach gemessen, dann erhält man bei der graphischen Darstellung der Verteilung dieser Werte meist ein Bild, das einer Glocke ähnelt (Abb. 7.4). Diese Kurve wird nach ihrem Entdecker Gauß'sche Glockenkurve genannt. Die drei wichtigsten Punkte in dieser Kurve sind das Maximum (höchster Punkt der Kurve) und die beiden sogenannten Wendepunkte. Aus dem Maximum läßt sich der Mittelwert \bar{x} ablesen. Der Abstand der Wendepunkte entspricht der Standardabweichung (s). Aus der Standardabweichung und dem Mittelwert können die Warn- und die Aktionsgrenze berechnet werden.

Warngrenze

Innerhalb des Bereiches $\bar{x} \pm 2s$ sind etwa 95 % der gemessenen Werte zu erwarten. Die Grenze $\bar{x} + 2s$ bzw. $\bar{x} - 2s$ werden als Warngrenze definiert. Sie signalisieren, daß die Methode außer Kontrolle geraten kann. Zu diesem Zeitpunkt müssen zwar noch keine Aktivitäten getätigt werden, jedoch wird höchste Aufmerksamkeit gefordert.

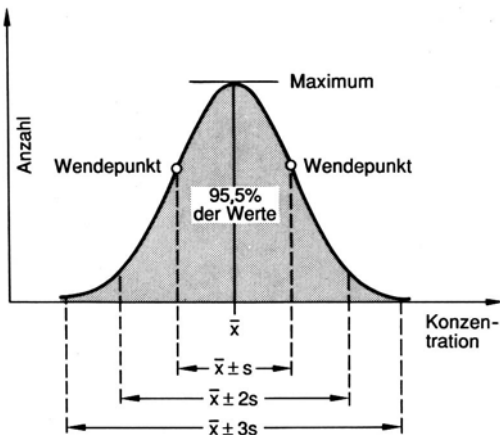


Abb. 7.4 Gauß'sche Glockenkurve, \bar{x} : Mittelwert, s: Standardabweichung

Kontroll- oder Aktionsgrenze

Liegen die Werte außerhalb des Bereiches $\bar{x} \pm 3s$, dann ist die Methode außer Kontrolle geraten. Die Grenze $\bar{x} + 3s$ bzw. $\bar{x} - 3s$ werden als Kontroll- oder Aktionsgrenze bezeichnet, da hier vom Untersucher Maßnahmen erwartet werden müssen, um die Methode wieder unter Kontrolle zu bringen.

Unsymmetrische Verteilung

Nicht alle Meßwerte folgen der vorgenannten Regel, es werden teilweise Häufigkeitsverteilung beobachtet, die unsymmetrisch sind.

Bei den unsymmetrischen oder auch schiefen Verteilungen fällt das Maximum nicht mehr mit dem Mittelwert zusammen wie bei der Gauß'schen Glockenkurve. Auch die Wendepunkte verlieren hier ihre Bedeutung für die Berechnung der Standardabweichung (Abb. 7.5). Bei der unsymmetrischen Verteilung spielt der Median sowie der sogenannte Interpercentilbereich eine Rolle.

Median

Der Median (Abb. 7.5) ist der Wert, der genau in der Mitte einer Werteverteilung liegt.

Interpercentilbereich

Als Interpercentilbereich (Abb. 7.5) wird der Bereich, der zwischen zwei verschiedenen Percentilen liegt, bezeichnet. Dieser 98%ige Bereich entspricht in etwa dem bekannten 2s-Bereich der Gauß'schen Glockenkurve.

Durchführung der Qualitätssicherung

Das Qualitätssicherungssystem soll folgende Aufgaben erfüllen:

1. Überwachung der zufälligen Meßabweichungen = Präzisionskontrolle. Meßwertabweichungen wurden früher als „Fehler“ bezeichnet.
2. Überwachung der systematischen Meßabweichung = Richtigkeitskontrolle

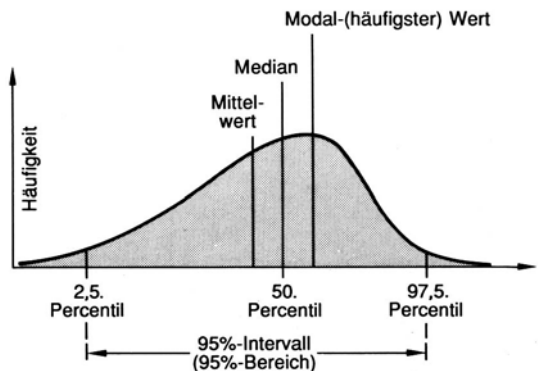


Abb. 7.5 Unsymmetrische Verteilung und Kenngrößen

3. Kontrolle der Matrixeinflüsse auf Präzision, Richtigkeit und Spezifität
4. Erkennung von Trends

Das Qualitätssicherungssystem muß bei der Durchführung folgenden Anforderungen genügen:

1. Kontrolle über den gesamten klinisch relevanten Meßbereich
2. Kontinuierliche Anwendbarkeit
3. Sofortige Erkennbarkeit von Meßabweichungen
4. Anwendbarkeit auch für mechanisierte Analysensysteme
5. Anwendbarkeit des Basisprogramms vom Praxislabor bis zum Zentrallabor

In den neuen Richtlinien zur Qualitätssicherung wird ausdrücklich auf die Verpflichtung der Meldung an die zuständige Ärztekammer verwiesen, sobald quantitative Laboruntersuchungen im Bereich der Medizin durchgeführt werden. Dies gilt nicht nur für Ärzte, sondern auch für Angehörige anderer naturwissenschaftlicher Berufe.

Laborinterne Qualitätskontrolle

Die laborinterne statistische Qualitätskontrolle erfolgt mit einem Kontrollprobensystem. Hierfür werden zwei verschiedene Versuchsanordnungen benötigt:

- a) Präzisionskontrolle
- b) Richtigkeitskontrolle

Präzisionskontrolle

Die Präzisionskontrolle ist eine offene Arbeitsplatzkontrolle, die von der die Analysen durchführende Person selbst erfolgt. Hierzu werden Proben aus Abfüllungen derselben Kontrollprobe in jeder Analysenserie mit Patientenproben eingefügt. Die für die Kontrollproben erhaltenen Resultate werden unverzüglich einem graphisch-statistischen Test unter Benutzung einer Kontrollkarte unterzogen. Hierdurch kann der Untersucher sofort erkennen, ob sein analytisches System unter den vorgegebenen Grenzen stabil ist.

Richtigkeitskontrolle

Die Richtigkeit der Resultate quantitativer Bestimmungen wird innerhalb des Rahmens der laborinternen Qualitätskontrolle mit Hilfe von Richtigkeitskontrollproben geprüft. Die Richtigkeitskontrollproben sollen durch einen Referenzmethodenwert gekennzeichnet sein. Falls keine geeigneten Referenzmethoden zur Verfügung stehen oder die mit Routinemethoden erzielten Meßergebnisse erhebliche, medizinisch relevante Abweichungen von den Referenzmethodenwerten zeigen, so kann in einer Übergangsphase die Kontrolle der Richtigkeit mit methodenabhängigen Sollwerten erfolgen.

Dokumentationspflicht

Die nach Meßgrößen und Analysenmethoden geordneten Meßergebnisse der Präzisions- und Richtigkeitskontrolle werden in Listen eingetragen. Diese Li-

Tabelle 7.7 Gegenüberstellung von Präzisionskontrolle und Richtigkeitskontrolle (gemäß der in den Richtlinien gemachten Angaben) aus: Deutsches Ärzteblatt 85, B-519 bis B 532 (1988)

	Präzisionskontrolle	Richtigkeitskontrolle
Häufigkeit	bei jeder Analysenserie	bei jeder 4. Analysenserie
Hilfsmittel		
a) Kontrollprobe	eine Präzisionskontrollprobe über möglichst lange Zeitspanne Konzentration an der häufigsten Entscheidungsgrenze	Analyse jeweils einer Kontrollprobe von vielen verschiedenen bereitgehaltenen Richtigkeitskontrollproben mit Referenzmethodenwerten oder Sollwerten im Normalbereich und in pathologischen Bereichen
b) statistisches Testinstrument	Kontrollkarte	Testbogen zur Prüfung der Richtigkeit
Untersucher	erkennt Kontrollprobe kennt Konzentration	erkennt Kontrollprobe im allgemeinen soll Konzentration nicht kennen Laborleiter kennt Konzentration
Ziele	offene Arbeitsplatzkontrolle 1. Erkennen zu großer zufälliger Meßabweichungen 2. Erkennen von Trends	Blindkontrolle 1. Erkennen systematischer Meßabweichungen 2. Kontrolle über den klinisch-relevanten Untersuchungsbereich 3. Erkennen der Einflüsse von Nebenbestandteile (Matrixeinflüsse) 4. Ausschalten von bewußten und unbewußten Täuschungen des Untersuchers

Tabelle 7.8 Meßgrößen für die die Verfahrenskontrolle nach den Richtlinien der Bundesärztekammer vorgeschrieben sind (verkürzte Darstellung, bezogen nur auf die Meßgrößen, die auch im analytischen Teil beschrieben werden)

Analyt	Systeme	Größenart	Lageparameter	maximal zulässige relative zufällige Meßabweichung (%)	maximal zulässige relative Meßabweichung vom Lageparameter (%)
Bilirubin (gesamt)	Plasma Serum	S + M	Sollwerte	7	21
Cholesterol (gesamt)	Plasma Serum	S + M	Referenzmethodenwert	6	18
Creatinin	Plasma Serum Urin	S + M	Referenzmethodenwert	6	18
Creatin-Kinase (CK)	Plasma Serum	E	Sollwert	8	24
γ -Glutamyl-Transferase (γ -GT)	Plasma Serum	E	Sollwert	7	21
Glucose	Blut Liquor Serum Plasma Urin	S + M	Referenzmethodenwert	5	15
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT bzw. AST)	Serum Plasma	E	Sollwert	7	21
Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT bzw. ALT)	Serum Plasma	E	Sollwerte	7	21
Harnsäure	Plasma Serum Urin	S + M	Referenzmethodenwert	6	18
Harnstoff	Plasma Serum Urin	S + M	Sollwerte	8	24
Kalium	Plasma Serum Urin	S + M	Referenzmethodenwert	2,7	8
Natrium	Plasma Serum Urin	S + M	Referenzmethodenwert	2	6
Protein	Liquor Plasma Serum Urin	S + M	Referenzmethodenwert oder Sollwert	3	9
Triglyceride	Plasma Serum	S + M	Referenzmethodenwert	7	21

S = Stoffmengenkonzentration, M = Massenkonzentration, E = Enzymaktivitäts-Konzentration

Hinweis: In den Richtlinien der Bundesärztekammer werden für die Bestimmung der Amylaseaktivität und Hämoglobin-Konzentration keine Angaben gemacht.

sten werden gemeinsam mit den entsprechenden Berechnungen und Kontrollkarten über einen Zeitraum von mindestens 5 Jahren aufbewahrt.

Ringversuche

Die Ringversuche sollen dazu dienen, die Richtigkeit der Laborresultate unter Vergleichsbedingungen einfach zu überprüfen. Hierbei werden die Resultate des Labors mit den sogenannten Referenzmethodenwerten bzw., wenn nicht vorhanden, mit methodenbezogenen Sollwerten, die in speziellen Referenzlaboratorien bzw. Sollwertlaboratorien erstellt werden, verglichen. Die Bewertungsgrenzen sind der Lageparameter, Referenzmethodenwert oder Sollwert, plus maximal zulässige Abweichung und minus maximal zulässige Abweichung.

Nach erfolgreicher Teilnahme am Ringversuch erhält das Labor ein Zertifikat, das eine Voraussetzung dafür ist, Laborleistungen bei der Kassennärztlichen Vereinigung (KV) abzurechnen. Die Ringversuche sollten aber nicht allein als Überwachungsinstrument verstanden werden, sondern vielmehr als eine Möglichkeit, die Vergleichbarkeit der Resultate verschiedener Laboratorien zu verbessern. An Hand der Daten, die seit Beginn der Ringversuchsdurchführung gesammelt wurden, konnte eine ständig steigende Erfolgsquote aufgezeigt werden. Welches wiederum als Beweis einer laufend wachsenden Zuverlässigkeit der Laborresultate angesehen werden kann.

Praktische Durchführung der Qualitätskontrolle

Im nachfolgenden Text soll die praktische Durchführung der Qualitätskontrolle näher erläutert werden.

Präzisionskontrolle

Die quantitative Zusammensetzung der Präzisionskontrollprobe kann unbekannt sein. Es werden überwiegend solche Kontrollproben angeboten, die sich im gefriergetrockneten Zustand befinden. Diese Proben müssen vor der Messung mit einer exakt festgelegten Menge Lösemittel, z. B. deionisiertes Wasser, aufgelöst werden. Die Benutzungsdauer der Kontrollprobe ist abhängig von der Haltbarkeit der einzelnen Bestandteile in der gelösten Probe. Die Präzisionskontrolle kann im gefriergetrocknetem Zustand solange verwendet werden, bis der auf der Verpackung deklarierte Zeitpunkt der Haltbarkeit erreicht ist. Es empfiehlt sich immer eine größere Menge einer Charge zu bestellen (→ Kontrollmaterial, 1.13).

Zur Ermittlung des arithmetischen Mittelwertes (\bar{x}) und zur Berechnung der Standardabweichung (s) soll die Präzisionskontrollprobe zunächst an mindestens 20 verschiedenen Arbeitstagen analysiert werden (Abb. 7.6). Die aus dieser, als Vorperiode bezeichneten, Zeit ermittelten Daten, Mittelwert und Standardabweichung, werden in die Kontrollkarte eingetragen (Abb. 7.7). Die Kontrollgrenze wird aus dem Mittelwert zuzüglich der dreifachen Standardabweichung bzw. Mittelwert abzüglich der dreifachen Standardabweichung (Abb. 7.4; 7.5) berechnet. Die

Präzisionskontrolle soll hierbei eine ausreichende Präzision des kontrollierten Analysenverfahrens aufweisen. Sie ist in einer Anlage der Richtlinien für jeden Analyt festgelegt (Tab. 7.8). Der einmal festgelegte Bereich soll in bestimmten Abständen (Kontrollperiode) kontrolliert, neu berechnet und gegebenenfalls korrigiert werden.

Orientierende Präzisionskontrolle

Bei weniger oder selten angeforderten Analysen ist das vorgenannte Verfahren sehr umständlich, da es zu lange dauern würde, bis an mindestens 20 Arbeitstagen, an denen die Analyse durchgeführt wird, die erforderlichen Daten zusammengetragen wären. In diesem Fall muß man sich mit einer sogenannten „orientierenden Präzisionskontrolle“ behelfen. Aus den Analysendaten von 5 Arbeitstagen wird eine vorläufige Kontrollkarte (wie zuvor beschrieben) angelegt. Die Beurteilung (Standardabweichung) muß allerdings den Richtlinien der Bundesärztekammer entsprechen.

Interpretation der Präzisionskontrollwerte

In jeder Analysenserie muß mindestens eine Präzisionskontrolle mitgeführt werden, selbst wenn die Serie aus nur einer Patientenprobe besteht. Das für die Präzisionskontrolle erhaltene Meßergebnis wird in die Kontrollkarte (Abb. 7.7) eingetragen. Wenn dieses Ergebnis nicht innerhalb der berechneten Kontrollgrenzen liegt, muß die Ursache festgestellt und behoben werden. Anschließend ist die gesamte Analysenserie mit den entsprechenden Kontrollmaßnahmen zu wiederholen. Liegen einzelne Werte außerhalb der Warngrenzen, aber noch innerhalb der Kontrollgrenzen, so kann dies eine Signalwirkung sein, daß diese Methode außer Kontrolle geraten könnte. In diesen Fällen sollte die gesamte Durchführung der Analyse nochmals sorgfältig geprüft werden. Zu diesem Zeitpunkt muß aber noch nichts unternommen werden.

Ein Analysenverfahren muß dann überprüft werden, wenn sieben aufeinanderfolgende Meßresultate

- über oder unterhalb dem auf der Kontrollkarte eingetragenen Mittelwert liegen,
- eine steigende oder fallende Tendenz zeigen.

Die Kontrollkarte in der Abbildung 7.7 zeigt musterhaft diese Situationen an.

Richtigkeitskontrolle

Mit Hilfe von Richtigkeitskontrollproben muß die Richtigkeit der Ergebnisse quantitativer Bestimmungen im Rahmen der laborinternen Qualitätskontrolle überprüft werden. Die Richtigkeitskontrollproben sind durch die Angabe der Referenzmethodenwerte bzw., dort wo diese Werte noch nicht ermittelt sind, durch die methodenbezogenen Sollwerte gekennzeichnet. Die Richtigkeitskontrolle wird durchgeführt um systematische Fehler zu erkennen. Sie erfolgt in jeder vierten Serie. Es sollen verschiedene Kontrollproben mit unterschiedlichen Konzentrationen über den gesamten medizinisch relevanten Meßbereich Ver-

Präzisionskontrolle

Bestandteil	Maßeinheit	Kontrollprobe
Methode	Vorperiode/Kontrollperiode	Chargen-Nr.

Datum	Anzahl d. Best. n	Einzelwerte x_j	Abweichungen vom Mittelwert $x_j - \bar{x}$	Abweichungsquadrat $(x_j - \bar{x})^2$
	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	9			
	10			
	11			
	12			
	13			
	14			
	15			
	16			
	17			
	18			
	19			
	20			
	21			
	22			
	23			
	24			
	25			
	n =	Summe der Einzelwerte $\sum x_j =$		Summe der Abweichungsquadrate $\sum (x_j - \bar{x})^2 =$

Berechnung

1. Mittelwert \bar{x} :

$$\bar{x} = \frac{\text{Summe d. Einzelwerte}}{\text{Anzahl d. Bestimmungen}} = \frac{\sum x_j}{n}$$

$$\bar{x} = \text{_____} = \text{_____}$$

2. Standardabweichung s:

$$s = \sqrt{\frac{\text{Summe d. Abweichungsquadr.}}{(\text{Anzahl d. Bestimmung}) - 1}} = \sqrt{\frac{\sum (x_j - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$s = \sqrt{\text{_____}} = \sqrt{\text{_____}}$$

$$s = \pm \text{_____}$$

3. Variationskoeffizient VK:
(relative Standardabweichung)

$$VK = \pm \frac{\text{Standardabweichung} \cdot 100}{\text{Mittelwert}} = \frac{s \cdot 100}{\bar{x}}$$

$$VK = \pm \text{_____}$$

$$VK = \pm \text{_____} \%$$

4. Warngrenzen 2 s = _____

obere: $\bar{x} + 2 s =$ _____

untere: $\bar{x} - 2 s =$ _____

5. Kontrollgrenzen 3 s = _____

obere: $\bar{x} + 3 s =$ _____

untere: $\bar{x} - 3 s =$ _____

Berechnung am: _____	Unterschrift _____	Unterschrift des Arztes _____
----------------------	--------------------	-------------------------------

Abb. 7.6 Schema für die Dokumentation von Resultaten der Präzisionskontrolle zur Erstellung der Kontrollkarte (Abb. 7.7)

wendung finden. Es ist also sowohl der Normal- bzw. Referenzbereich als auch der pathologische Bereich, hoch und tief, zu prüfen. Die Richtigkeitskontrollen nach den Richtlinien der Bundesärztekammer sollen mit solchen Kontrollproben erfolgen, bei denen von

Referenzinstitutionen der Lageparameter, Referenzmethodenwert oder Sollwert, ermittelt worden ist. Die erhaltenen Meßwerte für die Richtigkeitskontrollprobe können ebenfalls in eine Kontrollkarte eingetragen werden (Abb. 7.8)

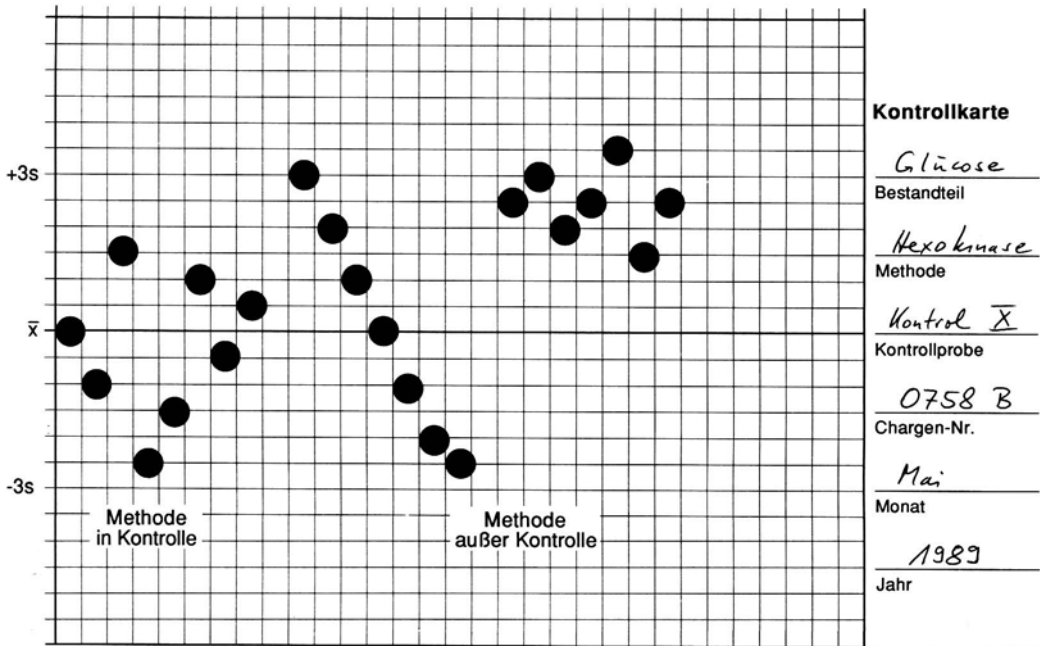


Abb. 7.7 Kontrollkarte

Hinweise für die Benutzung der Abb. 7.8

Das Analysenergebnis des Kontrollserums wird durch den zugehörigen Sollwert (Kontrollserum-Begleitzettel) dividiert und mit 100 multipliziert. Das Resultat wird in das Rasterfeld eingetragen.

Beispiel:

Sollwert: 2,5 mmol/l, Meßwert: 2,4 mmol/l

$$X_R = \frac{\text{Meßwert}}{\text{Sollwert}} \cdot 100 = \frac{2,4 \text{ mmol/l}}{2,5 \text{ mmol/l}} \cdot 100 = 96\%$$

Bei 96 % wird ein Kreuz gemacht. Die Meßwerteinheiten kürzen sich durch Quotientenbildung.

Aus der graphischen Darstellung läßt sich auch unmittelbar die prozentuale Abweichung des Analysenergebnisses vom Sollwert ablesen:

$$X_R - 100\% = 96\% - 100\% = -4\%$$

Die Abweichung des Analysenergebnisses beträgt in unserem Beispiel - 4 %.

Die Spalte Bemerkungen ist für folgende Zwecke eingerichtet:

- Zur Aufnahme von Hinweisen, unter welchen Kennzeichen die Probe geführt wurde.
- Hinweise ob an dem Gerät, an der Methode, am Serum Auffälliges geändert oder beobachtet wurde.
- Protokollierung von Maßnahmen, die sich aus der Begutachtung der Richtigkeitskontrolle ergeben.

Im übrigen sind die Vorschriften der Qualitätskontrolle zu beachten.

Interpretation der Richtigkeitskontrollwerte

Die in den Richtlinien der Bundesärztekammer festgelegte maximal zulässige Meßabweichung darf nicht überschritten werden. Liegt eine Abweichung außerhalb der vorgegebenen Grenzen, so muß der systematische Fehler gesucht und behoben werden. Anschließend ist die gesamte Analysenserie mit den entsprechenden Kontrollmaßnahmen, einschließlich der Richtigkeitskontrollprobe, zu wiederholen.

1.14 Kontrollmaterial

Die Erteilung von Richtlinien zur Durchführung der statistischen Qualitätskontrolle durch die Bundesärztekammer zwingt klinisch-chemische Laboratorien, Kontrollseren für die Erfüllung dieser Aufgaben zu verwenden. Für viele Untersuchungsmethoden und -arten stehen inzwischen geeignete Kontrollmaterialien zur Überprüfung der Präzision und Richtigkeit zur Verfügung.

Kontrollseren

Ein Kontrollserum ist in den meisten Fällen eine Serumpräparation, oft aus Humanserum gewonnen, das über einen längeren Zeitraum unveränderte Analysenergebnisse liefert. Der Aggregatzustand ist abhängig von der Art des Serums und seines Verwendungszwecks. Heute werden sowohl flüssige wie auch gefriergetrocknete (lyophilisierte) Produkte angeboten. Man unterscheidet zwischen

- Präzisionskontrollserum (Ermittlung des Mittelwertes im eigenen Laboratorium) und

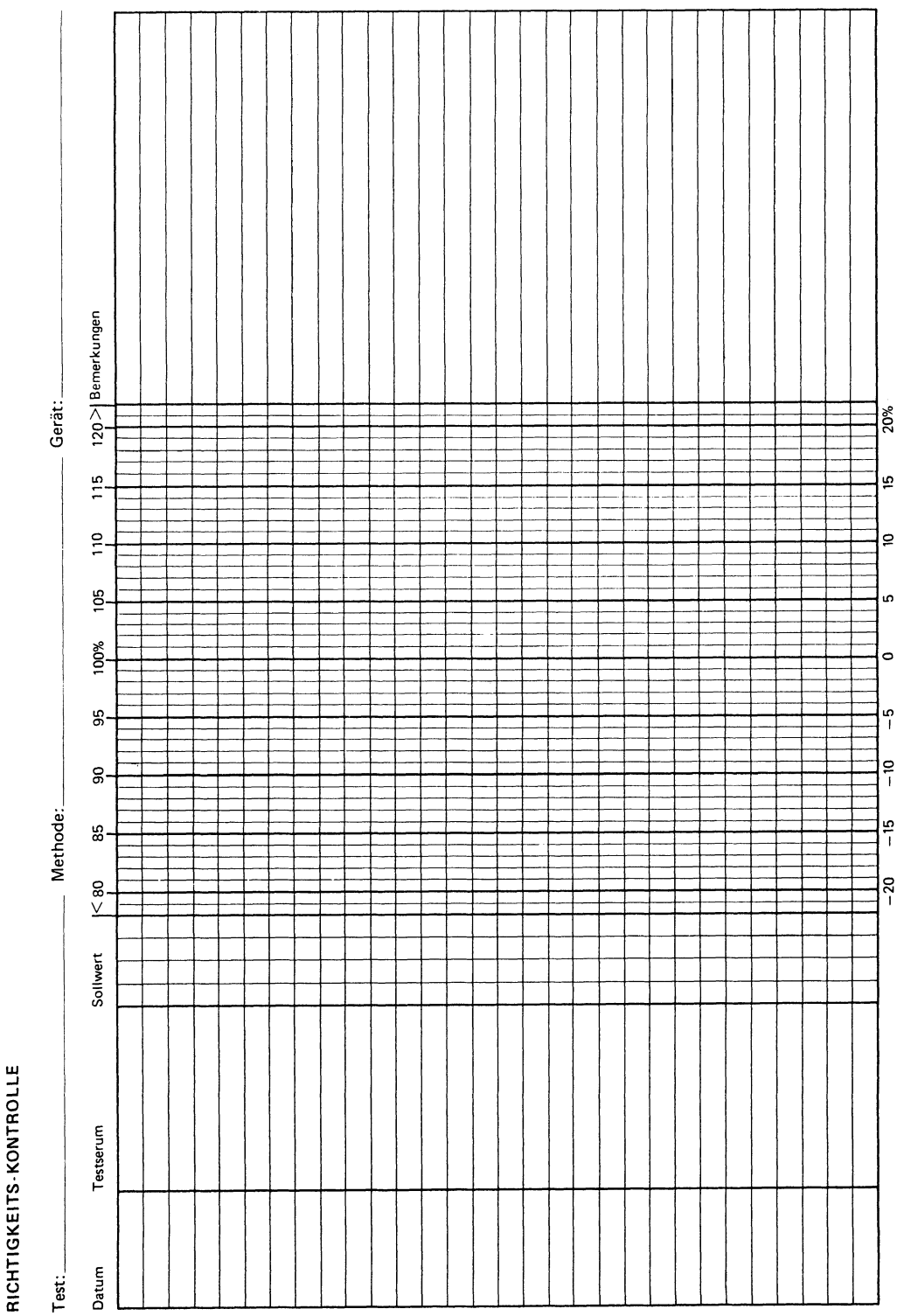


Abb. 7.8 Richtigkeits-Kontrollkarte

- Richtigkeitskontrollserum (Ermittlung von Referenzmethodenwert und methodenbezogenem Sollwert durch ausgewählte Referenzinstitutionen und Sollwertlaboratorien).

Eigenschaften von Kontrollseren

Das Serum muß sich wie ein Humanserum verhalten, d. h., es darf sich in der Reaktionsweise, Spezifität und Beeinflußbarkeit nicht von diesem unterscheiden. Es soll eine Homogenität und lange Haltbarkeit der Bestandteile innerhalb einer Charge garantieren. Vom Kontrollserum sollte nur ein sehr geringes (wenn möglich) kein Infektionsrisiko ausgehen. Es muß den Anforderungen der Qualitätskontrolle nach den Richtlinien der Bundesärztekammer Rechnung tragen.

Herstellung von Kontrollseren

In den meisten Fällen wird für die Herstellung Serum humanen Ursprungs verwendet, das von ausgewählten Spendern stammen sollte. Obwohl das Spendermaterial einem Test auf Hepatitis-B- und HIV-Virus unterzogen und für negativ befunden worden ist, kann man nicht ausschließen, daß das Kontrollmaterial frei von diesen Viren ist. Auch eine Behandlung des Serums während der Produktion mit verschiedenen Verfahren kann eine Abtötung der Viren nicht absolut garantieren. Alle bisher bekannten Nachweisverfahren können eine potentielle Infektiosität nicht ausschließen.

Kontrollseren sollten deshalb immer mit der gleichen Vorsicht wie Patientenproben behandelt werden.

Nach der Zentrifugation des Spenderblutes und Abtrennung des Serums erfolgt die Mischung für eine Charge. Es wird nur Serum verwendet, welches frei von Chromogenen ist. Anschließend wird der Serumpool analysiert, falls notwendig werden Aufstocksubstanzen synthetischen oder tierischen Ursprungs hinzugefügt, um den gewünschten Bereich zu erhalten. Zur besseren Haltbarkeit werden verschiedene Substanzen wie Natriumazid, Gentamycin, Amphotericin B, Sorbinsäure, Ethylenglycol etc. zugesetzt. Flüssige Kontrollseren können sofort abgefüllt werden. Seren, die gefriergetrocknet in den Handel kommen sollen, sind einem Gefrier Trocknungsvorgang zu unterziehen. Hierbei wird eine definierte Menge an Serum unter ständigem Rühren in ein Fläschchen eingefüllt und in einer Vacuumanlage getrocknet. Im Anschluß an die fast vollständige Trocknung wird das Fläschchen innerhalb der Vacuumanlage verschlossen. Nach der Erteilung der Chargennummer ist das Kontrollserum für den Verkauf freigegeben. Je nach geplantem Verwendungszweck kann sich jetzt noch eine Referenzmethodenwert- bzw. Sollwertermittlung anschließen.

Auflösen von gefriergetrockneten Kontrollseren

Beim Öffnen der Flasche ist darauf zu achten, daß kein Lyophilisat verloren geht. Da in der Flasche ein Unterdruck besteht, kann durch zu schnelles und un-

achtsames Entfernen des Stopfens Material herausgeschleudert werden. Der Inhalt der Flasche wird nun mit der vom Hersteller auf dem Flaschenetikett angegebenen Menge deionisierten Wasser versetzt. In einigen Fällen wird Hydrogencarbonatlösung hinzugefügt. Die Zugabe erfolgt mit einer geeichten Vollpipette. Nach sorgfältigem Verschließen der Flasche wird etwa 30 Minuten lichtgeschützt bei +20 bis +25 °C stehengelassen, danach werden die noch ungelösten Bestandteile durch vorsichtiges Umschwenken, Kippen und Drehen vollständig in Lösung gebracht. Eine Schaumbildung ist zu vermeiden, aus diesem Grund darf das Serum nicht geschüttelt werden. Rollenmischer, wie sie im hämatologischen Labor Verwendung finden, haben sich für die schonende Mischung des Kontrollserums bewährt. In den meisten Fällen ergeben sich Probleme mit Enzymen, sie benötigen zum Teil längere Zeit für die Reaktivierung. So steigt die alkalische Phosphatase an und braucht in manchen Fällen bis zu 24 Stunden bevor der Endwert erreicht ist. Einige Enzyme besitzen eine mangelnde Stabilität wie die Creatin-Kinase, die manchmal bereits nach zwei Stunden deutlich abfällt. Aber auch Lichteinflüsse wirken negativ auf das gelöste Kontrollserum, besonders wenn es nicht in dunklen Flaschen oder lichtgeschützt aufbewahrt wird. So kann eine Oxidation von Bilirubin erfolgen. Nach längerem Stehen des gelösten Kontrollserums bei +2 bis +8 °C ist der Inhalt der Flasche vor der Entnahme kurz umzuschwenken. Durch Ausgießen von benötigten Teilmengen in entsprechende andere Gefäße kann eine Kontamination des gesamten Flascheninhaltes durch Mikroorganismen weitgehend vermieden werden.

Flüssige Kontrollseren

Seit einigen Jahren stehen auch Kontrollseren zur Verfügung, die in flüssiger Form Verwendung finden. Durch den Zusatz von Ethylenglycol ist eine Stabilisierung der Enzyme und der anderen Bestandteile erreicht worden.

Der Zusatz von Ethylenglycol bewirkt:

- Erhöhung der Osmolalität, dadurch Hemmung des Bakterienwachses.
- Oxydierbare Bestandteile im Serum werden durch den antioxidativen Effekt geschützt.
- Gefrierpunktniedrigung („Frostschutzmittel“) hält das Serum bis ca. -20 °C flüssig.

Informationen zum Kontrollserum über Packungsbeilage

Auf dem Etikett der Flasche oder auf der dazugehörigen Packungsbeilage sollten folgende Angaben zu finden sein:

1. Bezeichnung des Präparates (Präzisions- oder Richtigkeitskontrollserum)
2. Bereich des Kontrollserums (normal oder pathologisch)
3. Chargenbezeichnung
4. Inhalt mit Mengenkennzeichnung
5. Referenzmethodenwerte mit Streuungsbereich nach Richtlinie der Bundesärztekammer

Tabelle 7.9 Eigenschaften, Vor- und Nachteile von flüssigen und gefriergetrockneten Kontrollseren

	Kontrollserum			
	flüssig		gefriergetrocknet	
	human	synthetisch	human	synthetisch
Gefahr der Virenkontamination	+	-	+	-
Verwendung von chromogenfreiem Material	+	+	+	+
Sammelperiode für eine Charge muß kurz gehalten werden	+	-	+	+
pH-Wert Verschiebung durch Stabilisatoren	+	++	+	+
Änderung der Osmolalität durch Stabilisatoren	+	+	-	-
gute Mischung vor und während der Abfüllung	+	+	+	+
Trübung durch Lipide etc. nach Auflösung	-	-	+	+
Auflösefehler	-	-	+	+
Reaktivierungszeit notwendig (z. B. für Enzyme)	-	-	++	++
Probleme durch Zusatz von tier. oder syn. Material	+	+	+	+
Bakterienkontamination nach Öffnen der Flasche	-	-	+	+
sofort einsetzbar	++	++	--	--
Verwendbarkeit nach Öffnung der Flasche	4 Wochen	1 Woche	24 Stunden	24 Stunden
Substanzverlust durch unvorsichtiges Öffnen der Flasche	-	-	+	+
Lösungsmittel notwendig	-	-	+	+

+ = ja (++ = besonderes Merkmal)

- = nein (-- = besonderes Merkmal)

Die Zeichen - oder + stellen keine Wertung des jeweiligen Kontrollserums dar.

6. ggf. methodenbezogene Sollwerte mit Streubereich nach Richtlinie der Bundesärztekammer
7. Verfallsdatum
8. Menge und Art des Lösungsmittels
9. Haltbarkeitsdaten nach der Auflösung des Materials
10. Aufbewahrungshinweise

1.15 Interferenzen

Die Qualität klinisch-chemischer Labordaten hängt von einer Vielzahl von verschiedenen Faktoren ab. Einer dieser Faktoren, die zu erniedrigten, falsch niedrigen, oder zu erhöhten, falsch erhöhten, Werten führt, ohne daß eine Erkrankung des Patienten vorliegt, ist die Interferenz durch Arzneimittel, ihren Metaboliten oder ihren Hilfsstoffen. Interferenzen werden aber auch durch Probenbestandteile verursacht, die nicht mit dem Analyt identisch sind. Sie wirken auf die Bestimmung der Konzentration oder der katalytischen Aktivität dieses Analyten und führen dadurch zu Meßfehlern. Interferenzen sind diejenigen Phänomene, bei denen ein unerwartetes Laborresultat nicht auf systematische oder zufällige Laborfehler, Interaktionen oder Nebenwirkungen von Arzneimitteln oder durch reale Zustandsänderungen des Patienten, sondern auf eine Beeinflussung der analytischen Methode durch ein Arzneimittel oder eine andere nicht dem Analyt entsprechende Substanz zurückzuführen ist.

Einflußgröße

Einflußgrößen (Tab. 7.10) führen in vivo zu Veränderungen der klinisch-chemischen Meßgröße. Der Einfluß ist abhängig von der Spezifität der Analysenmethode und ist auf den jeweiligen Patienten bezogen. So kann die pharmakologische Wirkung eines Pharmakons auf einen bestimmten Analyten zu einer in vivo Arzneimittelinterferenz führen.

Störfaktoren

Faktoren, die nach der Entnahme des Untersuchungsmaterials vom Patienten das Ergebnis in vitro verändern, bezeichnet man als Störfaktoren. Diese werden in zwei Gruppen eingeteilt:

1. Störfaktoren, die die Konzentration der zu messenden Meßgröße in vitro verändern, wie die Erhöhung der Kalium-Konzentration durch Hämolyse infolge eines Fehlers bei der Blutentnahme.
2. Störfaktoren, die von der zu messenden Meßgröße verschieden sind. Störungen der Analytik durch Arzneimittel führen z. B. zu einer in vitro Arzneimittel-Interferenz. Durch entsprechende Verbesserung der Analytik kann diese Störung beseitigt werden.

Tabelle 7.10 Einflußgrößen

permanente Einflußgrößen	{ Geschlecht Rasse }	} Individual- faktoren
langfristige Einflußgrößen		
kurzfristige Einflußgrößen	{ Defekte Krankheiten Arzneimittel }	
Entnahmebedingungen	{ Tageszeit Lage Stauung Hämolyse }	
		} beeinflussbar, veränderlich

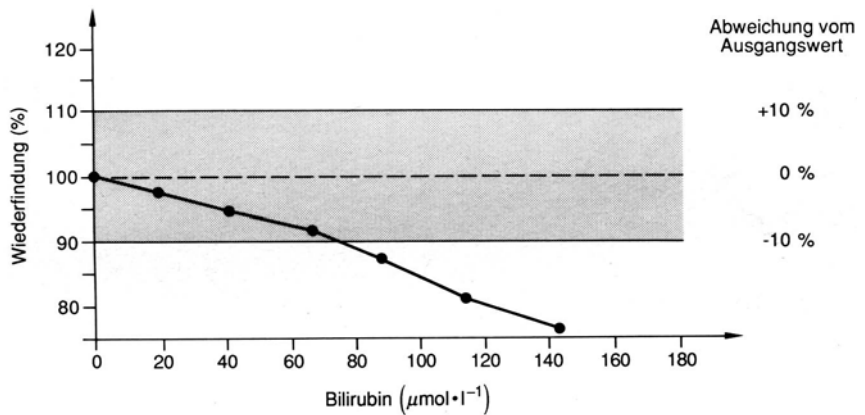


Abb. 7.9 Interferogramm. Beispiel einer Interferenz durch Bilirubin bei einer Creatinin-Methode

Interferenzen durch Chromogene

Verschiedene Erkrankungen führen zu einer erhöhten Ausschüttung von sogenannten Chromogenen (Bilirubin, Hämoglobin, Lipämie und Trübungen in die Blutbahn). Durch falsche Handhabung kann auch in der präanalytischen Phase in der Probe eine Hämolyse erfolgen. Das hat zur Folge, daß eine große Anzahl der im medizinischen Laboratorium durchgeführten Analysen durch dieses Chromogen gestört werden kann. Chromogene können bereits durch Betrachtung der Probe vom Anwender prima vista erkannt werden. Eine quantitative Aussage ist jedoch auf diese Art und Weise nicht möglich. Durch Farbstoffüberlagerungen kann das menschliche Auge eine Differenzierung nicht mehr durchführen. Allenfalls kann man von einer ausgeprägten oder weniger ausgeprägten Färbung sprechen, welche je nach Ausmaß bisher als +, ++ oder +++ angegeben wurde. Erst in den letzten Jahren wurden Anstrengungen un-

ternommen, das Ausmaß der Störung durch Chromogene näher zu quantifizieren. Mit Hilfe von Interferogrammen (Abb. 7.9) wurde erstmals eine ausführliche Beschreibung von Interferenzen durch Serum- bzw. Plasmachromogenen bei verschiedenen Analysemethoden und -verfahren gegeben. Der Nachteil der Interferogramme liegt in der Art der Detektion des Chromogens, da jede Probe vom Anwender betrachtet und bewertet werden muß.

Lipämie

Eine Serumprobe erscheint lipämisch, wenn die Konzentration an Triglyceriden und Lipoproteinen erhöht ist. Der Normalbereich bzw. das Referenzintervall für Triglyceride wird mit bis zu 1,71 mmol·l⁻¹, bzw. 150 mg·dl⁻¹, angegeben. Bei einer Fettstoffwechselstörung kann es aber zu einem Anstieg der Lipoproteine um ein Vielfaches dieses Wertes kommen. Der Untersucher kann die Probe durch deren Trü-

bung bzw. milchige Farbe erkennen. Bei photometrisch-analytischen Methoden, bei denen das Serum in der Reaktionsmischung vorliegt, kann durch die Trübung der Lipämie ein enormer Anstieg des photometrischen Signals beobachtet werden. Abhängig von der Methode, können erhöhte Werte gemessen werden, z. B. bei Protein-Bestimmung. Eine mögliche Korrektur ist durch die Berücksichtigung eines Probenleerwertes möglich. Das Ausschütteln mit frigenhaltigen Lösungsmitteln oder einem enzymatischen Abbau der Lipide vor der photometrischen Messung, ist ein Weg zur Verminderung des Lipämie-Effektes. Bei der flammenphotometrischen Messung wird durch die Verdünnung der Probe ein Volumenver-

drängungseffekt beobachtet, der besonders beim Natrium zu einer deutlichen Erniedrigung des Meßwertes führt.

Hämolyse

Die Hämolyse ist eine der Hauptursachen für unplausible Laborbefunde. Schon die Vielzahl der Möglichkeiten, die eine Hämolyse verursachen können, zeigen den Stellenwert dieser Interferenz an (Tab. 7.11 und 7.12). Bei einer erhöhten Konzentration von Hämoglobin im Serum oder Plasma kommt es zu einer rötlichen Verfärbung des Probenmaterials. Das menschliche Auge kann die Hämolyse erst bei einer Hämoglobin-Konzentration von $> 0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ wahrnehmen. Bei gleichzeitigem Vorliegen von erhöhten Bilirubin-Konzentrationen, also einem ikterischen Serum, kann dieser Wert um etwa den Faktor 2 bis 3 höher liegen, bevor ein menschliches Auge die Hämolyse erkennt. Zu einer intravasalen Hämolyse kann es aufgrund einer Erkrankung des Patienten kommen. Fehler bei der Probenahme, beim Transport oder bei der Bearbeitung der Blutprobe im Labor, führen zu einer artefiziellen Hämolyse (Tab. 7.11). Durch Hämolyse werden aus den Erythrozyten Inhaltsstoffe freigesetzt, die zu einer veränderten Zusammensetzung des Serums oder Plasmas führen (Tab. 7.13). Auch der Zellmetabolismus kann Umsetzungen im Serum (Plasma) bewirken, welches ebenfalls zu einer starken Beeinträchtigung der Meßgrößen führen kann.

Tabelle 7.11 Ursachen einer artefiziellen Hämolyse

- intravasale Hämolyse durch Stauung, zu starkes Aspirieren, Mischen oder Ausspritzen des Blutes
- Kontamination durch Detergentien, Wasser, falsche Zusätze oder Infusionslösungen
- zu langes Stehenlassen des Blutes
- zu starkes Abkühlen oder Erwärmen des Blutes
- zu starkes Zentrifugieren
- keine ausreichende Trennung von Plasma bzw. Serum vom Blutsediment nach der Zentrifugation
- Kapillarblutentnahme
- starke mechanische Belastung beim Transport des Blutes

Tabelle 7.12 Maßnahmen zur Vermeidung der Hämolyse

- Verwendung von Einmalartikeln zur Entnahme des Blutes
- Vermeidung von Aspiration und Druck während der Entnahme bzw. Umfüllprozedur
- Verwendung von Plasma statt Serum
- Abtrennung der Blutzellen innerhalb einer Stunde nach Abnahme
- Vermeidung von Blutversand
- Vermeidung von Gefrieren und Überwärmung von Blut
- Verwendung von Serum- bzw. Plasma-Filtern zur Trennung von Überstand und Sediment nach der Zentrifugation

Ikterus

Als Ikterus, einer Lebererkrankung, wird der Zustand bezeichnet, bei dem Gallenfarbstoffe aus dem Blut in das Körpergewebe dringen. Es kommt hierbei zu einer gelblichen Verfärbung der Haut und der Schleimhäute. Im Serum können erhöhte Bilirubin-Konzentrationen gemessen werden. Spricht man bei Bilirubinwerten $> 2 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. $> 35 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ von einem hyperbilirubinämischen Serum, so kann bei Konzentrationen $> 5,8 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw.

Tabelle 7.13 Konzentrationsgradienten einiger wichtiger klinisch-chemischer Analyte zwischen Plasma und Erythrozyten

Analyt	Konzentration bzw. Aktivität		Verhältnis Erythrozyten/ Plasma
	im Plasma	in Erythrozyten	
Lactatdehydrogenase, U/l	165	26400	160,0
Saure Phosphatase, U/l	8	536	67,0
Aspartataminotransferase, U/l	9	360	40,0
Kalium, mmol/l	4,4	100,0	22,7
Alaninaminotransferase, U/l	7	47	6,7
Magnesium, mmol/l	2,2	5,5	2,4
Creatinin, $\mu\text{mol/l}$	97	159	1,6
Glucose, mmol/l	50	4,1	0,8
Harnstoff, mmol/l	6,5	5,2	0,8
Phosphat, anorg., mmol/l	1,03	0,81	0,8
Bicarbonat, mmol/l	26	19	0,7
Cholesterol, mmol/l	5,0	3,6	0,7
Harnsäure, $\mu\text{mol/l}$	274	149	0,5
Chlorid, mmol/l	104	52	0,5
Natrium, mmol/l	140	16	0,1
Calcium, mmol/l	2,50	0,25	0,1

> 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ von ikterischen Proben gesprochen werden, da erst diese Konzentration zu einem sichtbaren Ikterus führen. Die erhöhte Bilirubin-Konzentration kann das photometrische Signal erhöhen oder selbst in die chemische Reaktion eines Nachweisverfahrens eingreifen und so das Signal der gesuchten Meßgröße beeinträchtigen.

Interferenz durch Arzneimittel

Störungen von analytischen Verfahren durch in vitro Arzneimittel-Interferenzen sind heute relativ selten, wenn spezifische Verfahren eingesetzt werden. In vivo Arzneimittel-Interferenzen sind sehr häufig und durch die Fülle an vorliegenden Publikationen und Daten nicht mehr überschaubar. Ihre Verallgemeinerung ist nicht unproblematisch, da oft nur Einzelbeobachtungen publiziert worden sind. Ihre klinische Relevanz kann nicht ohne die Prüfung der Besonderheiten jedes einzelnen Falles und der klinischen Diagnose pauschaliert werden.

In den letzten Jahren wurden wiederholt Anstrengungen unternommen, die Analytik zu vereinfachen (\rightarrow Präsenzdiagnostik, 1.18), teilweise unter Verwendung von obsoleten Methoden. Bei diesen Verfahren ist auf mögliche Interferenzen besonders zu achten, da sehr oft nicht genügende Unterlagen über Interferenzstudien vorliegen.

An dieser Stelle sind nicht alle möglichen Interferenzen abhandelbar, deshalb wurde eine Kurzübersicht in Form einer Tabelle erstellt. Die Tabelle 7.14 nimmt keinen Bezug zu einer bestimmten Methode. Aus diesem Grund hat die Tabelle auch keine Allgemeingültigkeit. In den Methodenbeschreibungen (\rightarrow 2) steht für jede Methode ein entsprechender Hinweis auf eine klinisch relevante Interferenz. Für ein weitergehendes Studium sind im Literaturverzeichnis entsprechende Publikationen erwähnt.

Ökobiologische Einflüsse

Die nachfolgend aufgelisteten Größen führen zu einer Veränderung des Analysenergebnisses in bezug auf das Referenzintervall. Ihre Kenntnis ist bei der Befundinterpretation teilweise von großer Bedeutung. Bedingt durch die genetische Konstellation und der

vielfältigen exogenen Einflüsse müssen diese Größen beachtet werden.

1. Geschlecht
2. Alter
3. Körpergewicht
4. Ernährungsgewohnheiten
5. aktuelle Nahrungsaufnahme
6. Biorhythmen
7. biochemische Individualität
8. geographische Besonderheiten (Rasse)

1.16 Schnellteste

Nach einer Definition von Kutter sind Schnellteste Laboruntersuchungen, die mit Hilfe von vorgefertigten Reagenzien in kürzester Zeit auf extrem einfache Weise qualitative, groborientierte, halbquantitative oder quantitative Ergebnisse liefern. Es muß an dieser Stelle der Begriff halbquantitativ eliminiert werden. Entweder ist ein Test quantitativ oder qualitativ, ein Mixtum aus beiden gibt es nicht. Als Schnelltest wird sowohl ein Teststreifen, der etwa einen Glucosewert (Blutzucker) nach 1 Minute durch Vergleich mit einer Farbskala abschätzen läßt, als auch ein ähnlicher Streifen, der in einem geeigneten Meßgerät ausgewertet wird, bezeichnet. Diese Verfahren können am Krankenbett durchgeführt werden. Aber auch aus größeren Laboratorien ist der Teststreifen für die Urinanalytik nicht mehr wegzudenken.

Da die Schnelltests sehr vereinfacht sind, sollten an den Anwender keine größeren technischen Erfahrungen gestellt werden. Somit sind diese Schnelltests in Bereiche vorgedrungen, die nicht mehr der Qualitätskontrolle des Laboratoriums unterliegen. Die Tests werden heute von Ärzten, Apothekern, Pflegepersonal, paramedizinischen Hilfskräften oder sogar vom Patienten selbst durchgeführt. Es muß darauf hingewiesen werden, daß die Handhabung eines noch so einfachen Tests eine exakte Einarbeitung und die ständige Nachschulung bedarf. Wie schnell kann sich ein Fehler einschleichen, der zu fatalen Folgen führen kann. Dies mag ein Grund für die Einführung von Meßgeräten gewesen sein, ist doch das visuelle Farbempfinden jedes Anwenders unterschiedlich (\rightarrow Analytik mit trägergebundenen Reagenzien, 1.17).

1.17 Teststreifen

Die Teststreifen gestatten durch ihre einfache Handhabung eine schnelle und überwiegend zuverlässige Aussage über pathologische Veränderungen im Urin oder in einzelnen Fällen auch im Blut. Ihre Bedeutung, klammert man die Analytik mit trägergebundenen Reagenzien aus, liegt überwiegend im Bereich der Vorfelddiagnostik. Die Teststreifen werden deshalb auch für die Vorsorgeuntersuchungen eingesetzt.

Auf die Teststreifen für die Analytik von Blut soll an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden, hierzu wird auf die Kapitel 1.17 Analytik mit trägergebundenen Reagenzien und 1.18 Präsenzdiagnostik verwiesen.

Fällt bei der Untersuchung des Urins das Ergebnis positiv aus, so wird in den meisten Fällen eine detail-

Tabelle 7.14 Übersicht einiger wichtiger (klinisch relevanter) Arzneimittel-Interferenzen.

Arzneimittel	Interferenz bei der Bestimmung von (Richtung)
Ampicillin	Cholesterol (\downarrow), Harnsäure (\uparrow)
Ascorbinsäure	Glucose (\downarrow), Harnsäure (\downarrow), Harnstoff (\downarrow)
Calciumdobesilat	Creatinin (\downarrow)
Methyldopa	Harnsäure (\downarrow)
Oxyphenbutazon	Glucose (\downarrow)
Paracetamol	Glucose (\downarrow)
D-Penicillamin	Cholesterol (\downarrow)
Procainamid	Kalium (\uparrow)

\downarrow = führt zu einer Erniedrigung

\uparrow = führt zu einer Erhöhung

lierte quantitative klinisch-chemische Untersuchung angeschlossen, um eine Abklärung der Diagnose zu bekommen. Heute werden Teststreifen für die Urinanalytik angeboten, die bis zu zehn verschiedene Meßgrößen gleichzeitig erfassen können. Sie bestehen aus einem Kunststoffträger, der auf dem Papier aufgeklebt ist, das zuvor mit einem Reagenz getränkt und anschließend getrocknet wurde. Durch eine Nylonnetzabdeckung kann ein Abrieb, Berührung oder Verunreinigung des Streifens bzw. des Testpapiers verhindert werden. Außerdem bewirkt das Netz eine gleichmäßige Verteilung des Urins auf dem Testpapier. Für die Reaktionen bzw. die Reagenzien wurden solche ausgewählt, die auch in der konventionellen klinisch-chemischen Analytik ihren Einsatz finden oder fanden. Die mit dem Teststreifen erzielten Resultate werden als qualitativ angesehen, wobei ggf. eine Abstufung erfolgt, etwa Angabe der Farbtiefe oder durch Verwendung der Zeichen \emptyset , +, ++ oder +++.

Empfindlichkeit und Spezifität von Teststreifen

Bei der quantitativen Untersuchung können die bei einer Methode erzielten Resultate durch Angabe der Präzision und Richtigkeit deren Zuverlässigkeit beschreiben. Bei dem Einsatz der Teststreifen in der Urinanalytik stehen jedoch die Empfindlichkeit und die Spezifität im Vordergrund, da die Ergebnisse qualitativ sind. Durch die Anwendung von Enzymen und neueren Testprinzipien konnten weitgehend spezifische Nachweise von pathologischen Bestandteilen ermöglicht werden. Die Empfindlichkeit eines Teststreifens ist als optimal anzusehen, wenn seine Nachweisgrenze bei der pathologischen Grenzkonzentration ansetzt, ohne im nennenswerten Ausmaß fälschlich positive Befunde zu liefern. Ein wichtiges Bewertungsmerkmal des Urinesteststreifens ist deshalb die praktische Nachweisgrenze. Sie wird definiert als die Konzentration des gesuchten Stoffes, bei der der Test in 90 von 100 verschiedenen Proben positive Resultate liefert. Die Abbildung 7.10 verdeutlicht diese

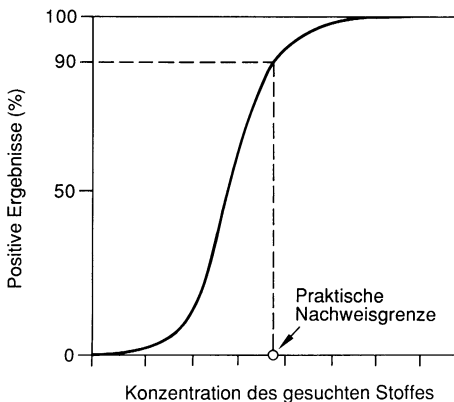


Abb. 7.10 Darstellung der praktischen Nachweisgrenze von Teststreifen

Definition. Die maximale Nachweisgrenze ist jene Konzentration, bei der 10 % aller Resultate positiv ausfallen. Im Normalfall ist das Testfeld des Streifens so ausgelegt, daß bereits geringfügige pathologische Veränderungen im Urin durch einen deutlichen Farbwechsel angezeigt werden (\rightarrow Qualitative Untersuchung, 4).

1.18 Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

Zielsetzung und Einsatzgebiet der Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

Ohne große Aufwendung sollen einige klinisch-chemische Meßgrößen mit einer sehr komplizierten Technik, jedoch mit relativ einfacher Durchführung, von ungeschultem Personal gemessen werden können. Wenn möglich sollte das sogar in Gegenwart des Patienten geschehen. Von der Industrie wurden die produzierten Geräte für den Einsatz im kleinen Labor des niedergelassenen Arztes entwickelt. Auf dieser Basis konnte aber, wie in der Zwischenzeit gezeigt wurde, keine absolut fehlerfrei arbeitende Analytik entwickelt werden (\rightarrow Präsenzdiagnostik, 1.18).

Historischer Hintergrund

Die erste Anwendung von Teststreifen bzw. -papier erfolgte bereits im Jahre 23 durch Plinius den Jüngeren, der Papyrusstücke in Galläpfelextrakte tauchte und diese dann trocknete. Mit diesem ersten Teststreifen konnte der Nachweis von Eisen neben Kupfer in wässriger Lösung geführt werden. Ausgehend von den Teststreifen, die für die Urinanalytik eingesetzt werden, sollte gleiches auch für die Blutanalyse möglich sein. Vor etwa 20 Jahren wurden Teststreifen zur Bestimmung der Glucose-Konzentration dem Diabetiker in die Hand gegeben. Hiermit konnte jeder Patient seinen „eigenen Glucosewert“ ermitteln und somit seine Menge an Insulin selbst festlegen. Da aber der Teststreifen prima vista abgelesen werden mußte und jeder Untersucher ein individuell unterschiedliches Farbempfinden hat, kam es zu Fehlergebnissen und deshalb auch zu einer falschen Dosierung der Medikation. Dies war der Grund zur Einführung der Reflektometrie, um das Ablesen des Teststreifens nicht vom Menschen, sondern von einem Gerät ausführen zu lassen.

Theorie der Reflektometrie bzw. Reflexionsspektroskopie

Für die heutige moderne Diagnostik werden Reflektometer zur Auswertung der Farbreaktionen, die in den trägergebundenen Reagenzien ablaufen, eingesetzt. Der Begriff Reflexion stammt aus dem Lateinischen und bedeutet: „das Zurückbeugen“. Läßt man Licht auf eine gefärbte Fläche (Reaktionszone des Teststreifens) strahlen, dann können die Lichtstrahlen von dort zurückgeworfen, reflektiert, werden. Bei Oberflächen, die glatt sind wie Spiegel, wird das Licht in dem gleichen Winkel, wie es eingestrahlt worden

ist, reflektiert. In diesem Fall spricht man von der regulären bzw. spiegelnden Reflexion. Beide Arten der Reflexion sind in der Abb. 7.11 dargestellt. Bei den Teststreifen ist die Oberfläche sehr rau, die hieraus resultierende Reflexion wird als diffus bezeichnet. Anstelle von diffuser Reflexion kann hier auch von Remission gesprochen werden.

Die mathematischen-physikalischen Grundlagen zur Berechnung der diffusen Reflexion sind bis heute nicht exakt darstellbar. Es gibt jedoch zwei Ansätze zur mathematischen Beschreibung. Für die Systeme, die im Aufstrahlverfahren (Abb. 7.12) arbeiten z. B. Reflotron und Seralyzer liegt die Kubelka-Munk-Funktion zugrunde.

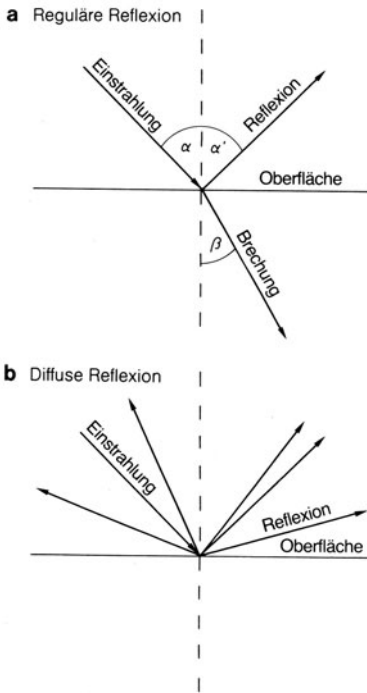


Abb. 7.11 Darstellung der Reflexion, a. Reguläre Reflexion, b. diffuse Reflexion

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R_{diff})^2}{2 \cdot R_{diff}}$$

K = Absorptionskoeffizient, S = Streukoeffizient, R_{diff} = gemessene Reflexionsdifferenz (Differenz zwischen Testfeld und Referenzstrahl)

Im praktischen Gebrauch wird diese Formel jedoch nach der Konzentration aufgelöst

$$c = -\frac{S}{\epsilon} + \frac{S}{2 \cdot \epsilon} \cdot R_{\infty} + \frac{S}{2 \cdot \epsilon} \cdot R_{\infty}^{-1}$$

ϵ = Extinktionskoeffizient

Man erkennt, daß es sich hierbei im wesentlichen um eine mathematische Beschreibung einer Hyperbel handelt, wobei das 1. Glied der Gleichung eine Konstante darstellt, das 2. Glied eine Gerade und das 3. Glied eine Hyperbel. Die Gerätehersteller setzen jedoch noch ein Korrekturglied ein, um mittels eines iterativ mit Hilfe eines Computers ermittelten Ausdrucks den Vergleich zu anderen Technologien (z. B. Photometrie) zu bekommen.

Für die komplexere Mehrschichtenfilmttechnologie (Ektachem), bei der neben der Reflexion auch Absorptionseffekte auftreten, muß die Funktion von Williams und Clapper herangezogen werden. Außerdem unterscheidet sich dieses Verfahren in der Führung des Lichtstrahles (Abb. 7.13), der von unten auf den gebildeten Farbstoff gesendet wird, und somit Farbstoffinterferenzen der Probe nicht unterliegt. Dieses Verfahren wird deshalb auch als Unterstrahlverfahren bezeichnet.

$$D_T = -0,194 + 0,469 \cdot D_R + \frac{0,422}{1 + 1,179 \exp(3,379 \cdot D_R)}$$

D_T = Transmissionsdichte der Schichten, D_R = Reflexionsdichte

Auf beide mathematische Ableitungen wird hier nicht weiter eingegangen, da in beiden Fällen mit zusätzlichen Korrekturen gearbeitet wird, die bisher nicht mit Hilfe von Formeln beschrieben wurden.

Einzelheiten zu den einzelnen Gerätesystemen sind

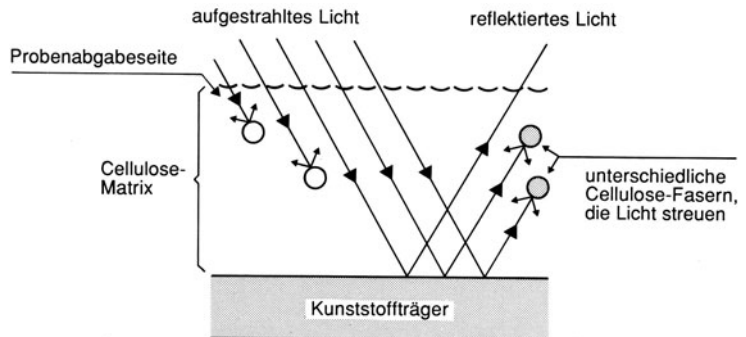


Abb. 7.12 Aufstrahlverfahren

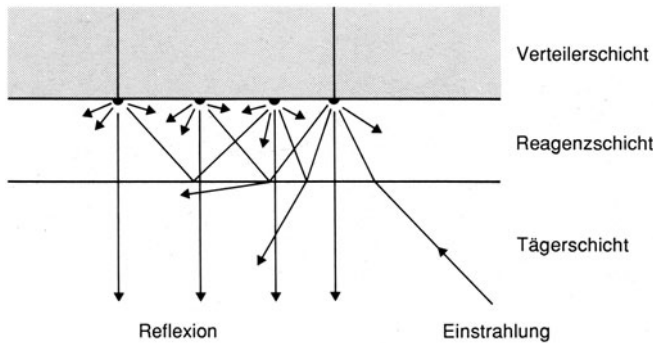


Abb. 7.13 Unterstrahlverfahren

im Kapitel Präsenzdiagnostik beschrieben. (→ 1.19). Dort wird auch auf allgemeine Probleme dieser Technologie eingegangen.

1.19 Präsenzdiagnostik

In den letzten Jahren hat ein neues Wort Einzug in den Bereich des niedergelassenen Arztes gehalten. Präsenzdiagnostik heißt das neue Schlagwort. Man versteht darunter eine gewisse Nähe des Labors zum Patienten; gemeint ist primär das kleine Labor des niedergelassenen Arztes. Thomas definiert die Präsenzdiagnostik als: „Erbringung von Laborbefunden in einer dem Krankheitszustand des Patienten angemessenen Zeit unter wirtschaftlichen Bedingungen“. Nachdem vermehrt Laborgemeinschaften gegründet worden waren, wurde das kleine Labor des niedergelassenen Arztes vernachlässigt. Ebenso war die Qualität der hier erstellten Laborbefunde oft fraglich, was an der mangelnden Ausbildung der Arzthelferin im Bereich der Laboratoriumsmedizin lag. Durch Einführung von Ringversuchen mit externen Qualitätskontrollen wurde versucht, die Qualität des kleinen Labores besser in den Griff zu bekommen. Dieses hatte zur Folge, daß sich die niedergelassenen Ärzte zusammenschlossen und Laborgemeinschaften gründeten. Nur sehr wenige dieser Laborgemeinschaften standen unter der Leitung eines erfahrenen Labormediziners, eines Biochemikers oder eines anderen Naturwissenschaftlers.

Lediglich die Entnahme der Proben erfolgt noch beim niedergelassenen Arzt. Ein spezieller Transportdienst holt die Probe ab und liefert sie ins Labor. Am nächsten Tag können die Resultate zugestellt werden. Bei Beschreiten des Postweges kann sich der Zeitraum bis zur Übermittlung des Befundes enorm verlängern. Das aber bedeutet einen erheblichen Zeitverlust für die frühzeitige Diagnosestellung. Der Patient muß tagelang auf seinen Befund warten oder muß zu einer zweiten Probenahme in die Praxis bestellt werden. Die Effizienz der ärztlichen Leistung kann durch diese Situation gemindert werden. Genau in diese Lücke soll die Präsenzdiagnostik greifen und den Zeitverlust verringern. Der Laborwert ist in Gegenwart des Patienten bestimmbar. Wichtige therapeutische Maßnahmen können sofort eingeleitet werden.

Doch die Systeme haben Grenzen, da den oft unbefangenen Anwender, infolge seiner Unkenntnis von

Problemen in der Analytik, unrichtige Informationen zu falschen Befunden und Diagnosen verleiten. Es soll auf die Bedingungen der Präsenzdiagnostik im Labor des niedergelassenen Arztes mit ihren Fehlerquellen eingegangen werden. Zu diesem Zweck erfolgt eine Beschreibung der einzelnen Systeme:

1.20 Ektachem DT-60

Für das Ektachem-System von Kodak wurden sogenannte Vielschichtenfilmelemente in Analogie zur Farbfilmtechnologie, wie es bei der Sofortbildkamera bekannt ist, entwickelt. Ein als Slide bezeichneter Reagenzträger besteht aus mindestens drei verschiedenen Filmschichten, die unterschiedliche Funktionen erfüllen. Die oberste Schicht wird als Verteilerschicht bezeichnet, da hier das aufgetragene Probenmaterial durch die Kapillarwirkung des Films gleichmäßig auf die Filmfläche verteilt wird. In diese erste Schicht können auch Substanzen eingebracht werden, die die störenden Stoffe aus dem Probenmaterial zerstören können. Gleichzeitig dient diese Schicht als Reflektor, da sie Titandioxid enthalten kann. Nachdem sich die Probe gleichmäßig verteilt hat, diffundiert sie in die zweite Schicht, in der sich das Reagenz befindet. Diese Schicht besteht bei den meisten Slides aus Gelatine- oder Agarosegel. In der Reagenzschicht kann nun die chemische Reaktion ablaufen, damit sich der gewünschte Farbstoff bildet. Die dritte und unterste Schicht ist die eigentliche Trägerschicht. Sie besteht aus einer durchsichtigen Kunststoff-Folie. Bei der anschließenden reflektometrischen Messung wird das Slide von unten mit Licht angestrahlt. Die Lichtstrahlen durchwandern die einzelnen Schichten bis zur Verteilerschicht, von der sie zurückreflektiert werden. Die physikalisch-mathematische Beschreibung dieses Vorgangs ist sehr komplex, da hier sowohl Absorptions- als auch Reflektionseffekte verschiedener Art auftreten. Neben den erwähnten Slides für die reflektometrische Auswertung, stehen auch Slides für die potentiometrische Bestimmung der Elektrolyte zur Verfügung. Der Aufbau dieser Slides ähnelt dem von ionenselektiven Elektroden (ISE). Mit diesen Trägern können Natrium, Kalium, Chlorid und Kohlendioxid bestimmt werden. Entsprechend dem Gerätekonzept sind diese Slides nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt. Zur Messung stehen drei unterschiedliche Geräte zur Verfü-

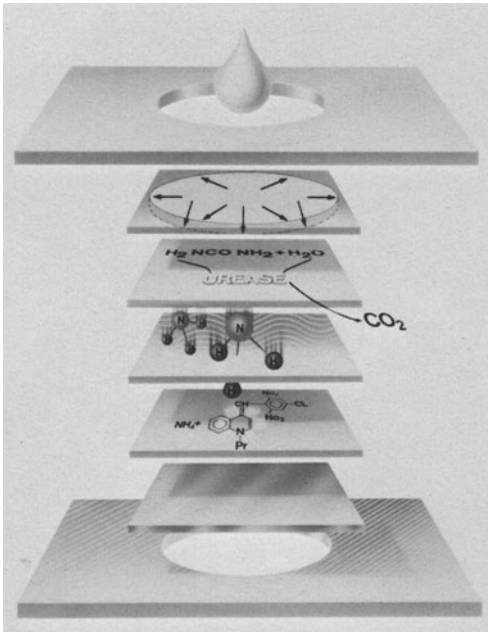


Abb. 7.14 Ektachem-System

gung, die jedoch über das Hauptgerät gesteuert werden. Das Ektachem DT-60-System ist in der Lage bis zu 110 Bestimmungen in der Stunde durchzuführen, davon sind 70 reflektometrische Substrat-, 15 potentiometrische Elektrolyt- und 24 reflektometrische Enzymbestimmungen. Für die Kalibration des Systems stehen drei bzw. vier verschiedene Kalibratoren zur Verfügung. Eine Kalibration muß alle drei Monate und bei jedem Chargenwechsel durchgeführt werden (Abb. 7.14).

1.21 Reflotron

Das Reflotron-System wird von der Firma Boehringer Mannheim hergestellt und vertrieben. Das System besteht aus dem Reflektometer, den Teststreifen und einer 32 µl Pipette. Für jeden Analyten steht ein spezieller Teststreifen zur Verfügung. Der prinzipielle Aufbau der Teststreifen ist bei allen Methoden, bis auf den zur Bestimmung von Hämoglobin, identisch. Mittels der Pipette kann das Probenmaterial auf den Teststreifen gebracht und sofort in das Reflektometer eingeschoben werden. Über einen Lesekopf ist die auf der Rückseite des Teststreifens gespeicherte Information ablesbar. Der Magnetcode enthält alle für die Bestimmung notwendigen Daten, die Wellenlänge, die Inkubationszeit etc. Das Schutznetz des Teststreifens verhindert beim Auftragen des Blutes das Verkleben durch grobe korpuskulare Blutbestandteile wie Gerinnsel. Unter dem Schutznetz befindet sich die Separationsschicht aus einer Glasfasermatrix, in der das Plasma von den übrigen Blutbestandteilen wie Erythrozyten, Leukozyten etc. abgetrennt wird. Unter dieser Trennschicht kann bereits eine erste Reagenzschicht angeordnet sein, die entweder Störsubstanzen

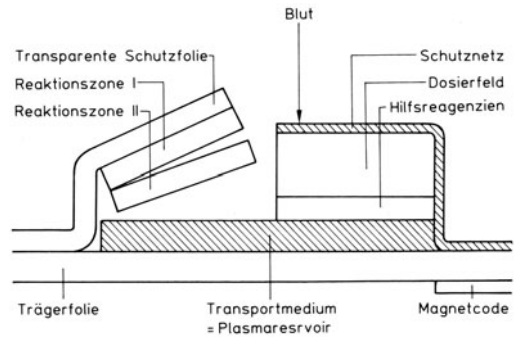


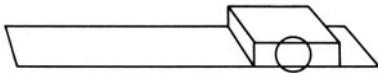
Abb. 7.15 Reflotron-System

(z.B. die Ascorbatoxidase zur Zerstorung der Ascorbinsäure) entfernt oder Aktivierungsaufgaben übernimmt. Das separierte Plasma diffundiert nun in das Transportvlies, um unter die Reagenzschichten gebracht zu werden. Die Reagenzschichten enthalten alle für die Reaktion benötigten Komponenten. Die Reaktion wird gestartet, indem die Reagenzfolien durch die Ulbrichtsche Kugel in das Plasmareservoir gedrückt werden. Nachdem sich der Farbstoff gebildet hat, erfolgt die reflektometrische Messung und anschließend die Berechnung. Das Ergebnis erscheint auf einem Anzeigefeld oder kann zusätzlich an einem Drucker ausgegeben werden. Eine Kalibration ist bei diesem System nicht möglich, da alle hierfür benötigten Schritte vom Hersteller übernommen werden. Die Aufbewahrung der Teststreifen kann bei Raumtemperatur erfolgen (Abb. 7.15).

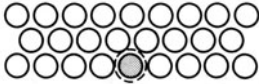
1.22 Seralyzer

Das Seralyzer-System von Ames/Miles-Bayer ist eines der ersten Geräte, das mit trägergebundenen Reagenzien arbeitet. Es besteht aus den Einzelkomponenten: Reflektometer, Teststreifen, Pipettiereinheit und den Testmodulen für die verschiedenen Analyten. Mittels einer 30 µl Pipette wird die verdünnte, bei einigen Methoden auch unverdünnte Probe auf das Testfeld des Streifens gegeben. Das Testfeld des Streifens besteht aus einer mit Reagenz imprägnierten Zellosegeschicht (Abb. 7.16). Die einzelnen Reagenzien sind in verschiedenen Kompartimenten auf die Zellose aufgebracht, damit sie sich im getrockneten Zustand nicht gegenseitig beeinflussen oder miteinander reagieren können. Unmittelbar nach der Probenapplizierung muß der Teststreifen auf einem Transportchlitten in das Gerät eingeschoben werden. Die reflektometrische Meßung erfolgt in genau definierten Zeitabständen. Die Steuerung und die Auswertung wird über das sogenannte Testmodul vorgenommen. Für jede Methode muß ein anderes Testmodul in das Reflektometer eingeschoben werden. Das Testmodul beinhaltet das Filter für die Selektion der Wellenlänge und einen Mikrochip für die Steuerung der Messung wie Zeitintervalle, Anzahl der Meßpunkte sowie die Speicherung der Kalibrationsdaten. Das System muß vom Anwender kalibriert werden, hierzu stehen zwei Kalibratoren zur Verfügung. Mit diesen Flüssigkeiten, Matrix wie einem Kontrollserum, muß

Cellulose-Matrix (Testzone)
auf Kunststoffstreifen



Cellulose-Fasern, die mit trockenen
Reagenzien imprägniert sind



Einzelne Cellulose-Fasern mit
verschiedenen Reagenzschichten

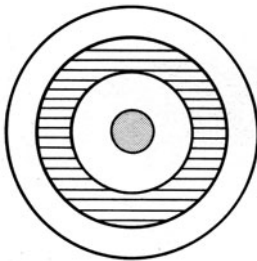


Abb. 7.16 Aufbau des Teststreifens für das Seralyzer-System

das System alle 7 bzw. 30 Tage abhängig von der Methode kalibriert werden. Die Teststreifen sind überwiegend bei Raumtemperatur lagerbar.

1.23 Vision

Das Vision-System von Abbott gehört nicht in die Gruppe der mit trägergebundenen Reagenzien arbeitenden Analysengeräte. Das Kernstück dieses Analysators ist eine Einweg-Reagenzkassette in der sich zwei flüssige, im unbenutzten Zustand räumlich voneinander getrennte, Reagenzkomponenten befinden. Vom Anwender müssen lediglich 50 µl antikoaguliertes Blut in die Aufnahmeposition der Kassette gegeben werden. Danach ist die Kassette in den Rotor des Analysengerätes einzusetzen. Der Analysator vereint in sich die Eigenschaften einer Laborzentrifuge zur Gewinnung von Plasma und die eines exakt temperierten Zentrifugalanalysators. Während in dem einen Teil der Kassette das Plasma gewonnen wird, kann das Reagenz aus seiner Verweilposition herausbewegt und gemischt werden. Durch Drehbewegung der labyrinthartig gekammerten Kassette während der Rotation, mischen sich schließlich die abgemessenen Volumina von Reagenz und Plasma. Über eine Vordetektion der Plasmaprobe kann geprüft werden, ob das Probenmaterial durch Hämolyse, Lipämie oder hohe Bilirubin-Konzentrationen verändert sein kann. Bei entsprechenden Veränderungen wird dem

Anwender kein Ergebnis ausgegeben, sondern ein Hinweis auf die veränderte Zusammensetzung der Probe. Nachdem Reagenz und Plasma vereint sind, findet die gewünschte Reaktion statt. Der gebildete Farbstoff ist durch eine bichromatische Absorptionsphotometrie auswertbar.

Im Gerät können bis zu zehn verschiedene Kassetten eingelegt und simultan bearbeitet werden; somit sind entweder kleine Serien oder aber auch Profile von Analyten aus der gleichen Patientenprobe möglich. Das Endresultat wird nach etwa 8 Minuten ausgedruckt. Eine Kalibration ist bei erster Inbetriebnahme des Gerätes und beim Chargenwechsel der Kassette notwendig. Geeignete Kalibratoren sind vom Hersteller erhältlich. Die Reagenzpackungen für das Vision-System müssen im Kühlschrank aufbewahrt werden.

1.24 Probleme bei der Durchführung der Analyse mit Systemen der Präsenzdiagnostik

Probevolumen

Das Probevolumen spielt in der konventionellen Analytik eine bedeutende Rolle. Werden bei der Dosierung von Reagenz oder Probe Fehler begangen, dann verändern diese unmittelbar das erhaltene Endresultat. So kann ein Fehler in der Dosierung von 10 % eine Veränderung des Endergebnisses von ebenfalls 10 % ausmachen. In der Analytik mit trägergebundenen Reagenzien kann aber dieser Fehler das Resultat um bis zu 40 % variieren, etwa bei der Bestimmung der Glucose am Reflotron. Besser gegen diesen Fehler sind die anderen Systeme geschützt, wobei vom Vision-System noch keine Publikationen zu diesem Thema vorliegen. Das Ektachem-System kann Fehler in der Probendosierung bis zu 40 % kompensieren.

Fehler bei der Probendosierung entstehen bei falscher Handhabung oder durch eine ungenügend gewartete Pipette. Aber auch das Probenmaterial selbst kann zu diesen Fehlern führen. So bekommt der Hämatokritwert eine große Bedeutung bei den Systemen, die mit Blut arbeiten. Ein hoher Hämatokritwert führt zu einer verminderten Ausbeute von Plasma oder Serum. Aber auch bei Patienten mit Leukämie kann es zu Problemen kommen, da die große Menge von Leukozyten z. B. das Trennvlies beim Reflotron-Teststreifen verstopfen kann. Dieser Fehler kann vom Anwender nicht mit dem Auge erkannt werden.

Paraproteinämie führt zu einer veränderten Fließeigenschaft von Blut, Plasma und Serum. Dieses bewirkt ebenfalls einen Einfluß auf die Durchführung mit trägergebundenen Reagenzien; für das Vision-System fehlen hier ebenfalls Erfahrungen.

Probenmaterial

Dort wo Blut eingesetzt wird, muß es antikoaguliert werden, da sonst die Gefahr der Gerinnung besteht. Nur beim Reflotron kann man auf das Antikoagulieren verzichten, wenn sehr zügig pipettiert wird. Zu beachten ist, das nicht jedes Antikoagulansmittel geeignet ist, da es eventuell die chemische Nachweis-

reaktion stören und somit das Ergebnis verfälschen kann. Ein weiteres Problem bei der Verwendung von Blut ist der fehlende Normalbereich bzw. Referenzintervall für dieses Material.

Chromogene im Probenmaterial

Systeme, die Blut als Ausgangsmaterial für die Pipettierung einsetzen, müssen eine Detektionsmöglichkeit für Chromogene haben. Als Chromogene im Probenmaterial sind Hämoglobin (Hämolyse), Bilirubin (Ikterus) und Trübungen (Lipämie) bekannt. Bei der konventionellen Analytik können die Chromogene prima vista vom Anwender erkannt und das Ergebnis entsprechend kommentiert werden.

Beim Vision-System, das Blut als Probenmaterial verwendet, existiert ein gut funktionierender Detektionsmechanismus. Wie experimentell gezeigt werden konnte, können durch Chromogene verfälschte Analysenresultate nicht unerkannt bleiben. Das Reflotron hat keine Detektionsmöglichkeiten, aus diesem Grund ist die Verwendung von Blut nicht unproblematisch.

Interferenzen durch Arzneimittel

Nach ersten Untersuchungen und Bewertungen sind die trägergebundenen Reagenzien genauso viel oder wenig durch Arzneimittel-Interferenzen belastet wie die konventionelle Analytik. Lediglich beim Seralyzer-System werden vermehrt Störungen durch Arzneimittel beobachtet. Für das Vision-System liegen zu wenig Daten vor, um hier eine abschließende Bewertung geben zu können.

Kalibration

Die Kalibration ist aus Sicht des Klinischen Chemikers ein großes Problem bei den Geräten für die Präsenzdiagnostik, da sie nur statistisch erfolgen kann. Der Anwender hat somit keine oder nur sehr eingeschränkte Möglichkeiten direkt in die Kalibration einzuwirken. Beim Reflotron entfällt die Kalibration vollständig, da sie vom Hersteller übernommen wird, der die Daten auf der Rückseite des Teststreifens speichert. Die Art und der Hintergrund der Kalibration bleibt dem Anwender verborgen.

Tabelle 7.15 Charakteristika der vorgestellten Systeme

Gerät	Ektachem DT-60	Reflotron	Seralyzer	Vision
Hersteller, bzw. Vertrieb in Deutschland	Kodak	Boehringer Mannheim	Ames/Miles Bayer	Abbott
Methodenspektrum	groß	klein	mittel	mittel
Probenmaterial	Serum, Plasma, Urin, Liquor	Blut, Serum, Plasma	Serum, Plasma	Blut, Plasma, Serum
Probevolumen, µl	10 bis 11	32	30	50
Plasmagewinnung im System	nein	ja	nein	nein
Detektionssystem zur Erkennung von Hämolyse, Lipämie oder Bilirubin	nein	nein	nein	ja
Empfindlich gegen Dosierproblem	nein	ja	ja	keine Angaben
Aufwand für Kalibration	alle 3 Monate	nicht möglich	alle 7 bis 30 Tage	3 Wochen
Informationen zu Arzneimittel-Interferenzen vorhanden	ja, ausführlich	ja, ausreichend	ja, ausreichend	ja, sehr wenig
Interferenzanfälligkeit (Arzneimittel)	gering	mäßig	hoch	zu wenig Daten

Tabelle 7.16 Vor- und Nachteile der für die Präsenzdiagnostik einsetzbaren Systeme

Vorteil
- optimale Verfügbarkeit
- geringer Arbeitsplatzbedarf
- Reagenzien sofort gebrauchsfertig
- Reagenzienlagerung überwiegend unproblematisch
- (scheinbar) einfache Durchführung
- Resultate innerhalb von Minuten verfügbar
- kein Proben-, Material- oder Datentransport
- kleines Probevolumen
Nachteil
- geschlossenes System = vollständige Abhängigkeit vom Hersteller
- Kalibration nur mit Material vom Hersteller oder unmöglich
- Primärstandard nicht als Kalibrator einsetzbar
- Konzentrations-Signal-Beziehung ist statistisch ermittelt
- wahrscheinlich höhere Interferenzanfälligkeit
- Matrixeinflüsse häufiger
- externe Qualitätskontrolle nur beschränkt möglich
- „Black-box“, Prinzip läßt möglicherweise systematische Fehler unerkannt bleiben
- teilweise kleines Methodenspektrum

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle hat auch für die Präsenzdiagnostik einen großen Stellenwert, wenn sie auch nicht einfach durchzuführen ist. Das Hauptproblem sind nicht die chemischen Methoden mit denen die Analyte bestimmt werden können, vielmehr stellt jeder Teststreifen oder Kassette eine Einheit dar. Im Gegensatz zur konventionellen Technologie, bei der eine Flasche mit Reagenz verwendet wurde, aus der ein Aliquot entnehmbar war, ist das bei der neuen Technologie nicht mehr möglich. Das Gesetz der Serie ist hier nicht mehr gültig. Neue Überlegungen zu dieser Problematik müssen angestellt werden, denn auch diese Technologie kann und darf nicht auf die Qualitätskontrolle verzichten.

1.25 Photometrie

Für die Bestimmung der Konzentration von Substraten, Metaboliten etc. und zur Bestimmung der Enzymaktivität wird bevorzugt die Spektralphotometrie eingesetzt.

Aufbau des Photometers

Das Photometer wird zur Messung von Lichtabsorptionen im ultravioletten, sichtbaren oder infraroten Bereich eingesetzt. Hierbei erzeugt eine im Photometer eingebaute Lichtquelle das für die Messung notwendige Licht. Aus dem polychromatischen Licht wird die benötigte Meßwellenlänge oder ein schmales Wellenlängenband durch geeignete Bauteile, selektiert. Beim Photometer wirken Farbfilter, das Spektralphotometer benutzt Prismen oder Gitter. Das erzeugte monochromatische Licht durchstrahlt, meist in Form eines parallelen Bündels, eine Küvette, welche das Meßgut enthält. Die aus der Küvette austretende Lichtenergie wird über ein Detektionssystem gemessen.

Das Photometer besteht im wesentlichen aus der Lichtquelle, Wellenlängenselektor, Küvette und Empfänger. Zur entsprechenden Bündelung des Lichtes sind in der Regel Blenden und Linsen eingebaut, die den Lichtstrahl soweit als möglich parallelisieren und die die Lichtausbeute am Empfänger erhöhen sollen. Die Abb. 7.17 zeigt den schematischen Aufbau eines Photometers.

Lambert-Beer-Bouguer'sches Gesetz

Zur quantitativen Bestimmung einer Substanz mißt man in einem Photometer oder Spektralphotometer die Intensität des einfallenden (I_0) und des durchgelassenen also nichtabsorbierten Lichtes (I) nach Passieren der Meßküvette. Der gebildete Quotient

$$T = \frac{I}{I_0}$$

stellt die Transmission (T) dar, deren Wert maximal 1 sein kann. Wird diese Zahl mit 100 multipliziert, so erhält man den Transmissionsgrad in Prozent.

Die Extinktion (E) steht in logarithmischer Abhängigkeit zur Transmission. Hierunter versteht man den Logarithmus des Verhältnisses der Intensität des eingestrahelten Lichts (I_0) zur Intensität des nach Passage der Schichtdicke der Küvette austretenden Lichtes (I). Die Extinktion ist eine dimensionslose Größe.

$$E = -\lg T = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{I_0}{I}$$

Wenn bei einer definierten Wellenlänge gemessen wird, dann besteht zwischen der Extinktion und der Konzentration der gemessenen Substanz sowie zwischen der Extinktion und der Schichtdicke eine direk-

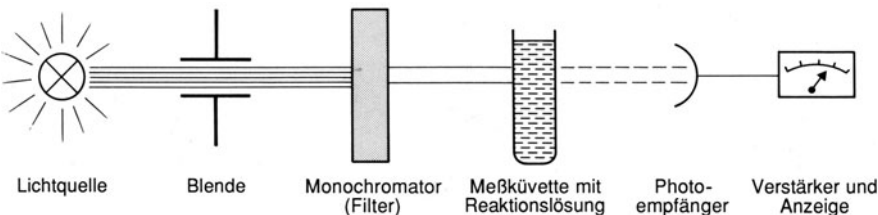


Abb. 7.17 Aufbau eines Photometers

te Proportionalität, es gilt das Lambert-Beer-Bouguer'sche Gesetz:

$$E = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

E = Extinktion, ε = der für eine bestimmte Substanz ermittelter molarer Extinktionskoeffizient. (Er entspricht der Extinktion, die man in einmolarer Lösung dieser Substanz bei 1 cm Schichtdicke der Küvette mißt. Die Dimension ist: $1 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), c = Konzentration ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$), d = Schichtdicke der Küvette (cm)

Für die Berechnung der Konzentration im $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ wird die Formel nach c umgestellt, es ergibt sich:

$$c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d} \cdot \frac{EV}{PV}$$

EV = Endvolumen (ml), PV = Probevolumen (ml)

Das Verhältnis von Endvolumen und Probevolumen stellt das Verdünnungsverhältnis dar.

Das Lambert-Beer-Bouguer'sche Gesetz gilt nur für monochromatisches Licht und stark verdünnte Lösungen.

1.26 Flammenphotometrie

Die Flammenphotometrie wird im medizinischen Labor überwiegend für die Bestimmung der Konzentration von Natrium und Kalium eingesetzt. Daneben können auch Calcium oder Lithium mit Hilfe dieser Technik bestimmt werden. In den letzten Jahren wurde die Flammenphotometrie mehr und mehr von den ionenselektiv messenden Elektroden verdrängt (\rightarrow Ionenselektive Elektroden, 1.27).

Prinzip

Die Messung der von thermisch angeregten Atomen oder Molekülen ausgehenden charakteristischen Emissionsstrahlung ist Grundlage der Flammenphotometrie. Die korrekte Bezeichnung wäre deshalb auch: Emissionsflammenphotometrie. Ursache für die Flammenfärbung sind die Quantensprünge der Metall-Valenzelektronen, die durch thermische Energiezufuhr durch eine Propan-Luft- bzw. Acetylen-Luft-Flamme hervorgerufen werden. Bei der sponta-

nen Rückkehr der Elektronen auf die ursprüngliche Bahn nach Verlassen der hohen Temperatur der Flamme wird die zur Anregung aufgenommene Energie in Form von Emissionsstrahlung als Färbung wieder abgegeben.

Im Flammenphotometer (Abb. 7.18) wird die verdünnte Probe in die Flamme eingesprüht. Damit die thermischen Veränderungen möglichst gleichmäßig ablaufen, soll das Aerosol sehr kleine, uniforme Tröpfchen enthalten und die Flamme möglichst ruhig brennen. Aus diesem Grund verfügen die modernen Flammenphotometer über Zerstäuberkamern, in denen die größeren Tröpfchen abgeschieden werden und nur ein feiner, gleichmäßiger Nebel in den Brenner gelangt. Anschließend wird die in Abhängigkeit von der Alkali-Konzentration emittierte Strahlung bei definierter Wellenlänge, Natrium bei 589 nm, Kalium bei 767 nm, über ein Detektorsystem in elektrische Energie umgewandelt. Diese Energie kann über eine entsprechende Anzeige abgelesen oder über einen Drucker ausgegeben werden. Der Aufbau des optischen Systems des Flammenphotometers ähnelt dem des Photometers.

Da die Intensität der Lichtemission von der zerstäubten Lösung, der Brennergasmischung (Flammentemperatur), der Anwesenheit von Lösungspartnern und der ebenfalls in der Flamme ablaufenden Ionisation der Metalle abhängt und schließlich die Intensität der Lichtstrahlung keine lineare Funktion der Konzentration ist, stellt die Flammenphotometrie keine Absolutmethode dar. Der Gehalt einer Analysenlösung wird entweder mit Hilfe einer Kalibrationskurve oder mit einem inneren Standard ermittelt.

Beim Vorliegen einer geringen Kaliumkonzentration wird diese überwiegend in der Flamme ionisiert, daraus resultiert eine gekrümmte Kalibrationskurve. Das Ausmaß der Krümmung hängt auch von den in der Lösung vorhandenen Natrium- und Lithiumatomen ab. Durch sie kann die Ionisation des Kaliums zurückgedrängt und die Kalibrationskurve der Kaliumemission begradigt werden. Ein weiterer Vorteil des Lithiumzusatzes ist seine konstante Konzentration, die als Referenz für den Detektor dienen kann und Schwankungen der Flamme kompensiert. Allerdings darf das Untersuchungsmaterial selbst kein Lithium enthalten. Eine Bestimmung des Lithiums ist in dieser Version nicht möglich. Man nennt diese Art der Durchführung, bei der die Probe mit einer entspre-

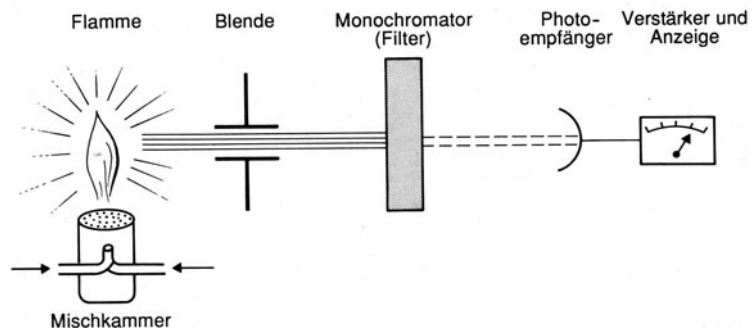


Abb. 7.18 Meßanordnung in der Flammenphotometrie

chenden Lithiumlösung verdünnt wird, auch Flammenphotometrie mit Lithium-Leitlinie.

1.27 Ionenselektive Elektroden

Durch die Einführung der ionenselektiven Elektroden steht dem klinisch-chemischen Labor ein Analysenverfahren für die Bestimmung der Aktivität bzw. Konzentration von Elektrolyten zur Verfügung, das dem herkömmlichen flammenphotometrischen Verfahren ebenbürtig und zum Teil überlegen ist. Unter ionenselektiven Elektroden, Abkürzung ISE, werden nur potentiometrische Elektroden verstanden, an denen sich eine Gleichgewichtsspannung einstellt, die ohne Stromverbrauch gemessen wird. Eine ionenselektive Elektrode enthält immer eine Membran, innerhalb der sich die zu messende Ionenart und möglichst nur diese, mehr oder weniger frei bewegen kann. Unter diesen Bedingungen bildet sich an der Phasengrenze Membran/Meßlösung eine Spannung aus.

Prinzip

Das potentiometrische Meßverfahren basiert auf der stromlosen Messung von Elektrodenpotentialen. Der unterschiedliche Aufbau der verschiedenen Analysatoren mit ionenselektiven Elektroden geht auf ein gemeinsames Prinzip zurück. Einer Referenzelektrode mit einem konstanten Potential steht eine Meßelektrode gegenüber, deren Potential von der Ionenaktivi-

tät der umgebenden Lösung abhängt (Abb. 7.19). Die meist sehr kleinen Potentialunterschiede werden von einer elektronischen Anordnung in einem Stromkreis mit sehr hohem Widerstand nach dem Prinzip des galvanischen Elements gemessen. Für die Bestimmung des Natriums werden natriumselektive Glaselektroden, wie sie bei der pH-Wert Messung bekannt sind, eingesetzt.

Zur Bestimmung der anderen Elektrolyte werden Elektroden benutzt, die als aktive Elektrodenphase einen mit dem betreffenden Ion spezifisch reagierenden Ionenaustauscher besitzen. Dieser Ionenaustauscher ist meist kovalent an eine polymere Kunststoffmembran gebunden. Für die Kaliumbestimmung wird heute überwiegend das Antibioticum Valinomycin als Ionenaustauscher verwendet (Abb. 7.20).

Das an der Phasengrenze zwischen Ionenaustauscher-Kunststoffmembran und Probe entstehende Potential kann mit Millivoltmetern gemessen werden. Es folgt über einen weiten Aktivitäts- bzw. Konzentrationsbereich der Nernst'schen Gleichung.

$$E(\text{mV}) = 2,303 \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \cdot \lg \frac{a_1}{a_2} + E_0$$

E = gemessenes Potential, E_0 = Grundpotential der gesamten Meßkette, R = allgemeine Gaskonstante, T = absolute Temperatur, z = Ladungszahl, F = Faraday'sche Konstante, a_1 = Aktivität des Ions in der zu untersuchenden Probe, a_2 = Aktivität des Ions in der Referenzlösung

Nur in sehr verdünnten Lösungen kann die Aktivität einer Ionenart mit der Konzentration gleichgesetzt werden. Bereits bei Konzentrationen $> 10^{-3}$ mol/l treten größere Differenzen auf, die es notwendig machen, beide Begriffe zu unterscheiden. Über die Formel

$$a = c \cdot \gamma$$

a = Aktivität, c = Konzentration, γ = Aktivitätskoeffizient kann zwar ein Beziehung hergestellt werden, die jedoch eine unbekannte Größe, das γ enthält.

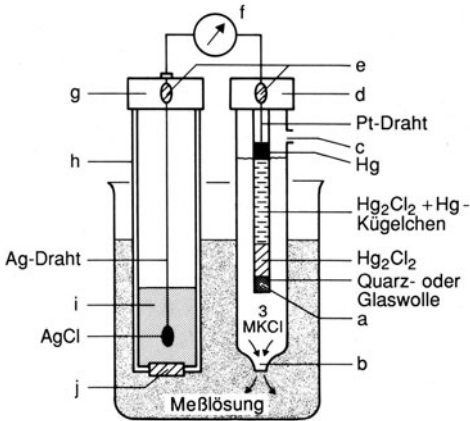


Abb. 7.19 Ionenselektive Meßkette, im Falle eines speziellen pH-sensitiven Glases als Membran j in der linken Meßelektrode spricht man von der elektrometrischen pH-Wert-Messung, sie ist heute sehr verbreitet; bei anderen Membranen ergeben sich entsprechend Selektivitäten für andere Ionen. a Asbestfaden, Metalleinschmelzung, Fritte, Schliff als Diaphragma, b Öffnung, c Einfüllöffnung für KCL-Lösung (≈ 3 mol/l), d Kalomel-Bezugselektrode, e Lötstellen: Übergang auf Kupfer-Kabel, f Elektrometer ($\approx 10^{13} \Omega$ Eingangsimpedanz), g ionenselektive Meßelektrode, h Elektrodenkörper, i Innenlösung ($\approx 0,01$ molar Meßionenchlorid, bei Anionen Cl^-), j Ionenselektive Membran (Glas, polykristalliner Preßkörper aus einer schwerlöslichen (Niederschlag) Verbindung, Einkristall, PVC mit elektroaktiver Verbindung), M molar.

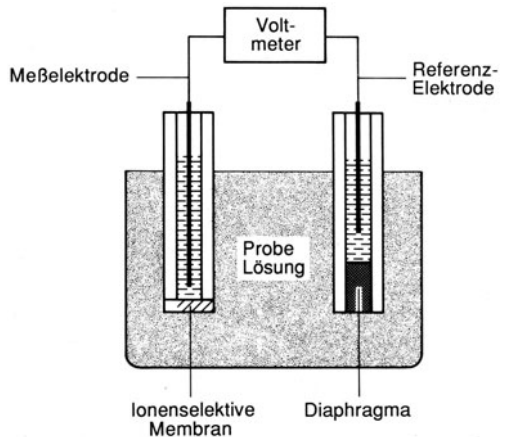


Abb. 7.20 Schematischer Aufbau einer Valinomycin-Elektrode zur Messung von Kalium-Ionenaktivitäten

In dieser Formel ist der Aktivitätskoeffizient allerdings nicht genau bekannt, denn er hängt von der Konzentration aller in der Lösung vorhandenen Ionenarten ab. Grundsätzlich können mit potentiometrischen Messungen nur Aktivitäten und nicht Konzentrationen gemessen werden. Die Gerätehersteller haben entsprechende Umrechnungsformeln teilweise in ihre Analytoren eingegeben, so daß der Anwender annäherungsweise die mit der Flammenphotometrie vergleichbaren Konzentrationen erhält.

An dieser Stelle muß auf zwei zur Zeit verfügbare Meßsysteme hingewiesen werden. Das eine System arbeitet ohne Verdünnung der Probe, deshalb auch als direkte Messung bezeichnet. Bei dem anderen System muß die Probe verdünnt werden, dieses wird indirekte Messung genannt. Der Nachteil der indirekten Messung ist der Fehler durch Volumenverdrängung bei stark proteinhaltigen oder lipämischen Proben. Natrium wird in diesem Fall zu niedrig gemessen. Direkt messende ionenselektive Elektroden haben dieses Problem nicht.

Einige Vorteile potentiometrischer Analysemethoden mit ionenselektiven Elektroden sind:

1. Messung in allen Körperflüssigkeiten, Blut, Serum, Plasma, Liquor, Urin etc.
2. keine Probenvorbereitung und -aufarbeitung, d. h. keine Gerinnung, kein Zentrifugieren, kein Verdünnen, kein Zusatz von Reagenzien
3. großer Meßbereich
4. geringer Zeitaufwand
5. breites Anwendungsgebiet
6. einfache Bedienung der Meßgeräte
7. keine Zusatzanschlüsse für Wasser oder Gas

1.28 Theorie des enzymatischen Tests

Bestimmung der Aktivität von Enzymen

Enzyme sind Proteine mit spezifischen katalytischen Funktionen. Die Enzyme haben als Katalysatoren folgende Eigenschaften:

- Sie wirken in kleinsten Mengen.
- Sie gehen aus der Reaktion unverändert hervor.
- Innerhalb weiter Aktivitätsgrenzen haben sie keinen Einfluß auf die Lage des Reaktionsgleichgewichtes, sondern beschleunigen lediglich dessen Einstellung.

Die Enzyme besitzen alle charakteristischen Eigenschaften von Proteinen. Von diesen Eigenschaften ist die Labilität der Enzym-Eiweiß-Struktur für die Enzymologie von besonderer Bedeutung. Demnach sind Veränderungen der Struktur oder eine Denaturierung gleichbedeutend mit einem Enzymaktivitätsverlust. Die Stabilität der Enzyme ist durch die Temperatur, den pH-Wert und der Salzkonzentration beeinflussbar.

Enzyme in der klinischen Diagnostik

Je nach ihrer Herkunft und ihrem Wirkungsort unterscheidet man im höheren Organismus Enzyme, die nach ihrer Synthese aus der Zelle ausgeschleust werden, und zellständige Enzyme im zytoplasmatischen

Zellraum, in den Zellmembranen und in den Mitochondrien. Die zellständigen Enzyme sind oft als organspezifische Enzyme typisch für ein bestimmtes Organ. Die Zellen der einzelnen Organe wie z. B. Herz, Pankreas, Muskel oder Leber produzieren bestimmte Enzyme gleicher Art aber nicht der gleichen Menge und Zusammensetzung. Sie weisen untereinander ein unterschiedliches Enzymmuster auf. Eine auf ein bestimmtes Organ bezogene Erkrankung, führt je nach Schweregrad der Schädigung zu einem Übertritt der organspezifischen Enzyme in die Blutbahn. Für die klinische Diagnostik sind diese veränderten Enzym-Aktivitäten im Blut bzw. Serum oder Plasma von wegweisender Bedeutung.

Normalerweise schwanken die Enzymaktivitäten beim Gesunden in engen Grenzen. Bei einer Vielzahl von Erkrankungen ist der Austritt von Enzymen aus den Zellen des erkrankten Organs gesteigert. Dies liegt an der erhöhten Permeabilität der Zellmembranen oder an einer mehr oder weniger vollständigen Auflösung der Zellstruktur. Die Veränderungen der Enzymaktivitäten zeigen nicht nur Erkrankungen an, sondern sind ein sehr wertvolles Hilfsmittel bei der Differentialdiagnostik, Prognose und in der Beurteilung des therapeutischen Effekts.

Definition der Enzymaktivität

Die Enzymkommission der Internationalen Union für Biochemie hat 1961 eine Vereinheitlichung der Definition der Enzymeinheit vorgeschlagen. In den Jahren davor waren willkürlich verschiedene Definitionen und Einheiten angegeben worden, die den Vergleich von Ergebnissen enorm erschwerten. Nach den gültigen Empfehlungen wird die Enzymaktivität wie folgt definiert: Eine Einheit (U) entspricht der Enzymaktivität, die die Umwandlung von 1 Mikromol Substrat pro Minute unter genau festgelegten Versuchsbedingungen katalysiert. Die Einheit wird angegeben in $U \cdot l^{-1}$. Sie wird auch als Internationale Einheit oder Volumenaktivität bezeichnet.

Nach einer Empfehlung der Enzymkommission der International Federation of Clinical Chemistry soll die Maßeinheit für die katalytische Aktivität in Zukunft als Katal angegeben werden.

Ein Katal entspricht der katalytischen Aktivität, die in einem definierten Testsystem eine katalysierte Geschwindigkeit einer Reaktion von 1 Mol pro Sekunde erzeugt, d. h. ein Mol Substrat pro Sekunde umwandelt. Das Symbol heißt: kat, Einheit: $mol \cdot s^{-1}$.

Beziehung zwischen U und kat:

$$1 \text{ kat} = 1 \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1} = 60 \text{ mol} \cdot \text{min}^{-1} = 60 \cdot 10^6 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} = 6 \cdot 10^7 \text{ U}$$

oder

$$1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} = 0,01667 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} = 0,01667 \mu\text{kat} = 16,67 \text{ nkat}$$

Unter genau festgelegten bzw. definierten Testbedingungen ist zu verstehen:

Die für die Bestimmung der Enzymaktivität benötigten Reagenzien, deren Konzentration, das Probevolumen sowie Einzelheiten der Versuchsdurchführung wie Temperatur, Inkubationszeit sind exakt von der

Enzymkommission festgelegt, diese ist zu befolgen.

Bisher hat jede internationale Organisation für Klinische Chemie ihre eigenen Empfehlungen zur Bestimmung der Enzymaktivität publiziert. Diese Empfehlungen waren auf eine Temperatur von 25 °C ausgerichtet (ca. 1961). Schon bald wurde die Temperaturfrage zu einem lebhaften Diskussionspunkt auf jeder Sitzung von Enzymkommissionen. Bereits 1974 wurde eine Änderung auf 30 °C vorgeschlagen und empfohlen. Seit 1988 gilt von der IFCC die Temperaturempfehlung von 37 °C.

Dies hat zur Folge, daß in der nächsten Zukunft die Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie, die sogenannten „optimierten Standardmethoden der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie“ im Hinblick auf eine bessere internationale Vergleichbarkeit abgelöst werden sollen. Es ist voraussichtlich 1992 mit den neuen internationalen Empfehlungen zu rechnen.

Hinweis

Die Beschreibungen der Methoden zur Bestimmung der Enzymaktivität in diesem Kapitel ist noch nach den alten Empfehlungen erfolgt, da die neuen noch nicht verabschiedet sind und mit einer längeren Übergangszeit gerechnet werden muß.

Meßverfahren

Die Bestimmung der Enzymaktivität wird vorzugsweise im kinetischen Test durchgeführt. Dies setzt voraus, daß ein z. B. photometrisch erfaßbarer Reaktionspartner sich proportional zur vorliegenden Enzymaktivität quantitativ verändert. Seine Extinktionsänderung pro Zeiteinheit kann zur Berechnung herangezogen werden.

Der sogenannte optische Test wurde 1936 von Warburg eingeführt. Der Test basiert auf der Tatsache, daß reduzierte Nicotinamid-adenin-dinucleotide,

NADH und NADPH, Licht mit einem Maximum zwischen 338,5 und 340,5 nm absorbieren, während die oxydierten Formen, NAD und NADP, keine Absorption zwischen 300 und 400 nm zeigen. Jede Dehydrogenase-Reaktion, bei der entweder NAD oder NADP reduziert oder NADH oder NADPH oxydiert wird, kann durch Registrierung der Extinktionszunahme bzw. -abnahme bei 340 nm oder einer naheliegenden Wellenlänge z. B. von 334 oder 365 nm gemessen werden.

Die Abbildung 7.21 zeigt die Absorptionsspektren von NADH und NAD. Die Konzentration der NADH- und NAD-Lösung beträgt $c = 0,05 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Bei 340 nm und einem Lichtweg von $d = 1,0 \text{ cm}$ ist die gemessene Extinktion der NADH-Lösung $E = 0,315$. Bei konstanter Konzentration läßt sich hieraus nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz der molare Extinktionskoeffizient (ϵ) berechnen.

$$E = \epsilon \cdot c \cdot d$$

oder

$$\epsilon = \frac{E}{c \cdot d}$$

$$\epsilon = \frac{E}{c} \quad (\text{für } d = 1,0)$$

$$\epsilon_{340 \text{ nm}} = \frac{0,315}{0,05} = 6,3 (1 \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$$

$$\epsilon_{334 \text{ nm}} = \frac{0,309}{0,05} = 6,18 (1 \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$$

$$\epsilon_{365 \text{ nm}} = \frac{0,170}{0,05} = 3,4 (1 \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$$

Ist ϵ für eine Substanz bekannt, so kann aus der gemessenen Extinktion die Konzentration berechnet werden. Für $d = 1,0 \text{ cm}$ ist

$$c = \frac{E}{\epsilon}$$

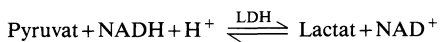
Es läßt sich weiter ableiten, daß die Menge von NADH, die in einer Reaktion oxydiert, oder die Menge von NAD, die in einer Reaktion reduziert wird, aus der gemessenen Änderung der Extinktion (ΔE) errechnet werden kann.

$$\Delta E_{340 \text{ nm}} = 1,000 = 0,159 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

$$\Delta E_{334 \text{ nm}} = 1,000 = 0,162 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

$$\Delta E_{365 \text{ nm}} = 1,000 = 0,294 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

Die Lactat-Dehydrogenase (LDH) katalysiert die reversible Reaktion



Zur Aktivitätsbestimmung wird die LDH enthaltene Lösung entweder mit Pyruvat und NADH bei pH 7.5 oder mit Lactat und NAD bei pH 8.9 inkubiert. Im er-

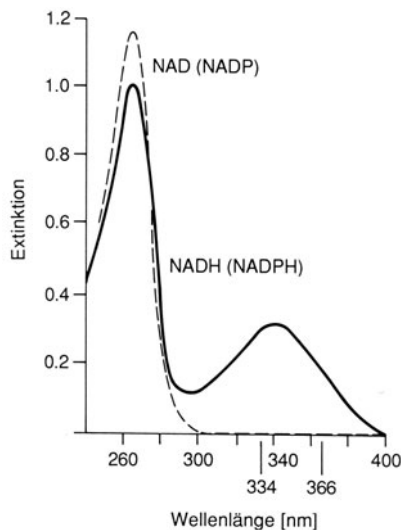


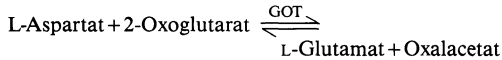
Abb. 7.21 Absorptionsspektrum von NAD bzw. NADH

sten Fall wird die Abnahme und in zweiten Fall die Zunahme der Extinktion ein Maß der Aktivität.

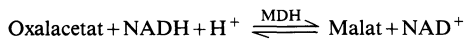
Durch Kopplung mit einem Dehydrogenasesystem können auch solche Enzymreaktionen, die von Nicotin-adenin-dinucleotiden unabhängig sind, mit dem optischen Test gemessen werden.

Die Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transferase (GOT) ist ein Beispiel für diesen Fall.

Die GOT katalysiert die nachfolgende Reaktion.



Um im optischen Test die Aktivität bestimmen zu können, werden NADH und ein Überschuß an Malatdehydrogenase (MDH) dem Reaktionsgemisch zugeführt; die Reaktion läuft dann weiter



Für jedes Mol Aspartat, das in der GOT-Reaktion in Oxalacetat umgewandelt wird, entsteht in der MDH-Reaktion (Indikatorreaktion) ein Mol NAD. Die Abnahmegeschwindigkeit der Extinktion wird somit ein Maß für die GOT-Reaktion.

Berechnung der Enzymaktivität

Wie schon im vorhergehenden Abschnitt erwähnt, kann die Aktivität eines Enzyms über den molaren Extinktionskoeffizienten (ϵ) berechnet werden. Entweder wird die Extinktionsdifferenz pro Zeiteinheit (ΔE pro Minute) oder der Winkel α , der sich zwischen der Papiervorschubrichtung und der von ihr abweichenden Extinktion ergibt, zur Berechnung herangezogen. Demnach ergibt sich:

$$\text{Aktivität} = \text{tg } \alpha \cdot F \cdot (\text{U} \cdot \text{l}^{-1})$$

der Faktor F wird berechnet nach:

$$F = \frac{EV \cdot v \cdot 10^6 \cdot 10^3}{PV \cdot \epsilon \cdot b \cdot d}$$

oder

$$\text{Aktivität} = \frac{\Delta E}{\Delta t} \cdot F \cdot (\text{U} \cdot \text{l}^{-1})$$

der Faktor F wird berechnet nach:

$$F = \frac{EV \cdot 10^6 \cdot 10^3}{PV \cdot \epsilon \cdot d}$$

EV = Endvolumen (ml), PV = Probevolumen (ml), v = Papiertransportgeschwindigkeit ($\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$), b = Papierbreite (cm), ϵ = molarer Extinktionskoeffizient ($\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), d = Schichtdicke der Küvette (1 cm)

Durch die Umrechnung auf Mikromol = 10^{-6} Mol ergibt sich der Faktor 10^6 . Da die von einer molaren Lösung verursachte Extinktion immer um den Betrag 10^3 kleiner ist als der zugehörige molarer Extinktionskoeffizient, muß schließlich noch mit diesem Faktor multipliziert werden.

Faktoren die einen Einfluß auf die Bestimmung haben

Bei einer Temperaturerhöhung bzw. -erniedrigung um 1°C kann es zu einem Anstieg bzw. Abfall des Meßsignals kommen. Die hieraus resultierende Aktivität des Enzyms kann eine Änderung von 4 bis 10 % erfahren (abhängig vom Enzym). Die anderen Faktoren (pH-Wert, Menge und Art des Substrates, Coenzym, Stabilisatoren, Aktivatoren und Inhibitoren) sind im allgemeinen nicht so häufige Fehler, wenn die Lösungen entsprechend der Empfehlungen hergestellt werden.

1.29 Bestimmung der Glucosekonzentration im Blut mit Hilfe von Teststreifen und Reflektometern

Selbstkontrolle der Glucosekonzentration im Blut

Als ein wirksames Mittel zur Überwachung und Steuerung der Therapie beim juvenilen Diabetes und labiler Stoffwechsellage z. B. in der Schwangerschaft hat sich die Bestimmung der Glucosekonzentration erwiesen. Die populär verwendete Bezeichnung "Blutzucker" ist semantisch nicht richtig, da mit Hilfe der nachfolgend beschriebenen Methode nur die Glucose und nicht andere Zucker bestimmt werden können. Der Grad der Erkrankung des Diabetes mellitus wird über den Zucker "Glucose" beschrieben. Es ist deshalb besser den Ausdruck "Blutglucose" oder noch besser "Glucose" zu verwenden.

Eine gute Einstellung des Stoffwechsels, bei der die Konzentration der Glucose möglichst innerhalb des Referenzintervalls bzw. des Normalbereichs liegen soll, ist die beste Voraussetzung für die Vermeidung von Akut- oder Spätkomplikationen des Diabetes mellitus. Auf Grund dieser Erkenntnis sollte die Ermittlung der Glucosekonzentration obligatorisch für den Diabetiker sein. Im Alltagsleben scheitert aber oft die Bereitschaft zur Zusammenarbeit an dem Problem, sich selbst Blut abzunehmen. Um diesem Problem entgegenzuwirken, wurde ein spezielles Gerät zur Gewinnung des Blutes für die Analyse entwickelt. Stellvertretend für andere Geräte soll hier das Autoclix-Gerät vorgestellt werden.

Autoclix. Das Autoclix-Gerät von Boehringer Mannheim hilft die Hemmschwelle vor dem Sichselbststechen abzubauen. Durch einen extrem schnellen Stich und der individuell wählbaren Einstichtiefe ist das Stechen praktisch schmerzfrei. Das zentrale Element des Gerätes ist der Auslösehebel, der durch einen Spannkноп in die Spannposition gebracht wird. Über eine Andruckplatte und einen Stößel wird der Auslösehebel freigegeben, sobald die Andruckplatte berührt wird. Sofort schnellert der Halter mit der vorher eingelegten Nadel (Lanzette) nach unten und bewirkt den Einstich. Ein Schutzmechanismus verhindert, daß das Gerät nicht wieder gespannt werden kann, solange die gebrauchte Nadel nicht entfernt wurde.

Technische Daten:

Stichdauer: ca 1/60 sec.; Stichtiefe: weiße Andruckplatte: 1,5 mm; gelbe Andruckplatte: 2 mm; orange Andruckplatte: 3 mm

Autoclix-Lancet. Die Autoclix-Lancet ist eine sterile dreifach angeschliffene Lanzette, die in einem Kunststoffmantel aus Schaft und Kappe eingebettet ist. Der Schaft trägt eine spezielle Einkerbung, diese rastet in der Halterung des Autoclix-Gerätes ein und vermittelt somit eine exakte Führung der Nadel während des Stechens. Die Kappe schützt die sterile Nadelspitze vor Kontamination und Verletzungsgefahren. Sie wird erst unmittelbar vor dem Gebrauch entfernt.

Bedienung und Handhabung des Autoclix-Gerätes:

1. Nach Drücken des Spannknopfes bis zum hörbaren Einrasten, kann die Autoclix-Lancet eingeschoben werden. Durch Drehen wird die Schutzkappe von der Nadelspitze entfernt und danach der Spanknopf losgelassen.
2. Das Autoclix-Gerät wird jetzt mit der Andruckplatte seitlich an der Fingerbeere oder dem Ohrfläppchen aufgesetzt.
3. Ein leichter Druck gegen die Andruckplatte löst automatisch den Stich aus.
4. Durch kurzes, leichtes Zusammendrücken der Fingerbeere bzw. Ohrfläppchen, das nicht massiert oder gequetscht werden darf, kann der Blutropfen gewonnen werden.
5. Das Auswerfen der Nadel kann durch kurzes Drücken des Spannknopfes erreicht werden. (→ Kapitel Krankenpflegeartikel)

Hinweis

Wenn die nachfolgenden Hinweise beachtet werden, kann mit dem Autoclix-Gerät problemlos ein Blutropfen gewonnen werden.

1. Alle Finger sind für die Gewinnung des Blutes geeignet, bevorzugt werden jedoch der Ring- und Kleinfinger.
2. Schlecht durchblutete Finger sind vor der Blutgewinnung unter warmen Wasser zu massieren.
3. Die Hautstelle sollte vor dem Stechen mit Alkohol 70% (V/V) desinfiziert werden. Danach gut an der Luft abtrocknen lassen; so kann sich ein kompakter Blutropfen bilden und das Gefühl einer brennenden Stichwunde wird vermieden.
4. Mit dem Autoclix-Gerät sollte immer seitlich des Fingers die Gewinnung des Blutropfens ausgeführt werden. Die Blutversorgung ist hier am stärksten und die Schmerzempfindung am geringsten. Die Mitte der Fingerbeere ist weniger geeignet.
5. Die Einstichstelle sollte mit einem Pflaster vor Nachbluten oder Verunreinigungen geschützt werden.
6. Einmal benutzte Nadeln dürfen nicht wiederverwendet werden. Eine abgestumpfte Nadel verletzt stärker und verzögert das Heilen. Außerdem ist die gebrauchte Nadel nicht mehr steril und wird somit zum Infektionsrisiko. Eine abgestumpfte Nadel verursacht beim Einstechen einen größeren Schmerz.

Diatek-Gerät. Das Diatek-Gerät von Boehringer Mannheim ist ein kleines Reflektometer zur Bestimmung der Glucosekonzentration im Blut. Das Gerät ist so ausgelegt, daß Glucosekonzentrationen im Bereich von 40 bis 400 mg/dl bestimmt werden können.

Meßprinzip:

Mit Hilfe des Diatek-Gerätes kann die Farbtiefe der Diatek-Glucose-Teststreifen reflektometrisch gemessen werden. Als Lichtquelle dient hierbei eine Leuchtdiode, die Licht der Wellenlänge 665 nm aussendet. Von einer Empfängerdiode wird das vom Testfeld diffus reflektierte Licht erfaßt. Der gemessene Reflektionswert wird für die Berechnung der Glucosekonzentration herangezogen. Mittels des im Gerät eingebauten Mikro-Computers kann mit Hilfe der eingegebenen Code-Zahlen und der gespeicherten Datenpunkte die Berechnung ausgeführt werden.

Das Testfeld des Teststreifens enthält u. a. auch biologische Rohstoffe, die naturgemäß in ihren Eigenschaften voneinander abweichen können. Zwischen verschiedenen Teststreifen-Chargen werden deshalb unterschiedliche Farbtiefenentwicklungen bei gleicher Glucosekonzentration beobachtet. Diese würden ohne Veränderungen am Gerät zu unterschiedlichen Meßergebnissen und somit zu verschiedenen Glucosekonzentrationen führen. Durch die Eingabe der sogenannten Code-Zahlen kann dieses Problem eingeschränkt werden. Die optimalen Code-Zahlen werden von der Firma Boehringer Mannheim für jede neue Teststreifen-Charge neu ermittelt. Zur richtigen Auswertung des Teststreifens müssen diese Zahlen in das Diatek-Gerät eingegeben werden. Die Angabe der Code-Zahlen erfolgt auf dem Teststreifenröhrchen.

Technische Daten:

Größe des Gerätes: 130 · 63 · 16 mm; Gewicht: 95 g incl. Batterie; Meßwellenlänge: 665 nm; Stromversorgung: 6 V Batterie, IEC-Nr. 4LR44, 4G13 oder A544; Nennstromstärke: max. 30 mA; Umgebungsbedingungen:

- 18 bis 35 °C
- bis 85 % Luftfeuchtigkeit
- Nicht bei direkter Sonneneinstrahlung messen.
- Mindestens zwei Meter Abstand von Mikrowellen-, Diathermie- und CB-Funk-Geräten halten.

Durchführung einer Messung:

1. Durch Drücken der roten Ein/Aus-Taste das Gerät einschalten. Damit ein richtiges Ergebnis erzielt wird, muß vor der Messung überprüft werden, ob die Code-Nummer identisch ist. Falls dies nicht der Fall sein sollte, muß die Code-Nummer entsprechend der Bedienungsanweisung eingegeben werden, da sonst fehlerhafte Messungen resultieren.
2. Aus der geöffneten Teststreifenröhre wird ein frischer Teststreifen entnommen.
3. Das Testfeld nicht mit den Fingern berühren.
4. Die Teststreifenröhre sofort wieder mit dem Stopfen verschließen.
5. Den Teststreifen in der Mitte anfassen, Testfeld nach unten zeigend, und bis zum Anschlag der Aufnahmeeinrichtung einschieben. Das Testfeld soll hierbei den drei blauen Pfeilen zugewandt sein.

6. Blaue Start-Taste drücken.
7. Warten bis die Anzeige 000 erscheint. Bei einer anderen Anzeige muß in der Bedienungsanleitung das Kapitel „Funktions- und Kontrollanzeigen“ zu Rate gezogen werden, da eventuell eine Fehlbedienung oder Fehlfunktion des Gerätes vorliegt.
8. Den Teststreifen wieder dem Gerät entnehmen.
9. Die Fingerbeere seitlich z. B. mit Autoclix einstecken.
10. Den ersten Tropfen Blut mit einem Wattebausch abwischen. Den zweiten Tropfen Blut so mitten auf das Testfeld setzen, daß das gesamte Feld bedeckt werden kann. Das Blut jedoch nicht verstreichen.
11. Sofort die blaue Start-Taste drücken.
12. Bei der Anzeige 57, 58, 59 und 60 (Sekunden) gibt das Diatek-Gerät ein akustisches Signal.
13. Nach dem ertönen des letzten Summtones (Anzeige 60) muß das Blut sorgfältig mit einem Wattebausch mit mäßigem Druck vom Testfeld abgewischt werden. Es sollte nur Verbandwatte, keine Watte für kosmetische Zwecke oder Zellstoff (Papiertaschentücher) eingesetzt werden.
14. Mit einem sauberen Teil der Watte zweimal leicht nachwischen und anhand der Verfärbung des Testfeldes prüfen, ob der Blutropfen das gesamte Testfeld bedeckte.
15. Eventuell am Testfeld anhaftende Wattereste entfernen, da sonst die Gefahr von Fehlmessungen besteht.
16. Sofort nach dem Abwischen des Blutropfens den Teststreifen bis zum Anschlag (Testfeld nach unten zeigend) so in die Teststreifenaufnahme einschieben, daß das Testfeld den drei blauen Pfeilen zugewandt ist.
17. 120 Sekunden nach dem Aufbringen des Blutropfens auf das Testfeld ertönt erneut ein Summton. Kurz darauf wird die Glucosekonzentration in der Einheit mg/dl am Display angezeigt.
18. Den Teststreifen herausziehen, ggf. die Farbentwicklung mit der Farbskala des Teststreifenröhrchens überprüfen und verwerfen.
19. Soll das Ergebnis nicht im Diatek-Gerät gespeichert werden, kann das Gerät mit der roten Ein/Aus-Taste abgeschaltet werden. Das Gerät schaltet sich auch von selbst nach ca. 5 Minuten aus.

Nachfolgend sind einige Fehlermöglichkeiten aufgezeigt, die bei der Durchführung der Messung mit dem Diatek-Gerät auftreten können. Für weitergehende Informationen wird auf die Bedienungsanleitung verwiesen.

1. Code-Zahlen am Gerät stimmen nicht mit Code-Zahlen am Teststreifenröhrchen überein.
2. Durch Berührung des Testfeldes des Teststreifens kann die Oberfläche beschädigt oder Verunreinigungen verursacht werden.
3. Unsachgemäße Lagerung des Teststreifenröhrchens z. B. auf der Heizung, unverschlossene Röhrchen, Sonneneinstrahlung oder Feuchtigkeit führen zum Verderben des Inhaltes.
4. Bereits verwendete Teststreifen dürfen nicht wieder zur Messung benutzt werden.

5. Bei der Gewinnung von Blut darf die Fingerbeere bzw. das Ohrfläppchen nicht massiert oder gequetscht werden. Es treten sonst Zellinhaltsstoffe aus, die die Glucosekonzentration verändern können.
6. Das Zeitschema der Analyse muß eingehalten werden.
7. Blutreste dürfen nicht mit dem Teststreifen in das Gerät transportiert werden. Verschmutzungen und Fehlmessungen sind die Folge.
8. Wattereste nicht in die Teststreifenaufnahme des Diatek-Gerätes gelangen lassen.
9. Das Diatek-Gerät nicht in direktem Sonnenlicht benutzen.
10. Während der Messung mindestens 2 Meter Abstand zu Mikrowelle- und CB-Funk-Geräten.

Hinweis

Das Diatek-Gerät ist primär für den Diabetes-Patienten gedacht. Aus diesem Grund muß eine einfache Bedienung und Wartung des Gerätes gewährleistet sein. Das von der Firma Boehringer Mannheim vertriebene Diatek-Gerät scheint diesen Anforderungen am besten zu genügen. Erste Untersuchungen zeigen überwiegend gute Ergebnisse. Trotz dieser positiven Aspekte soll an dieser Stelle nochmals auf die gesamte Problematik der Selbstdiagnostik verwiesen werden, wobei Vor- und Nachteile nebeneinander aufgelistet sind.

1. Der Patient ist nicht analytisch geschult.
2. Die Reflektometer arbeiten nur bei fehlerfreier Bedienung zuverlässig.
3. Ein Qualitätskontrollmechanismus existiert nicht.
4. Die Hersteller können keine Gewähr für falsche Handhabung übernehmen.
5. Die Glucosekonzentration kann innerhalb von 3 bis 5 Minuten ermittelt werden.
6. Der Patient wird zur besseren Zusammenarbeit angeregt.
7. Falsche Dosierung der Medikation können bei sachgemäßer Messung vermindert werden.
8. Durch ständige Kontrolle können Spätfolgen gemindert werden.
9. Eine ständige Nachschulung des Patienten ist notwendig.
10. Die Geräte müssen durch Fachpersonal in bestimmten Zeitabschnitten überprüft werden.
11. Der behandelnde Arzt muß mit einbezogen sein.
12. Einfache Bedienung des Gerätes ist notwendig.
13. Teststreifen sind nicht unbegrenzt lagerbar.
14. Die Bedingungen für eine zuverlässige Analyse (Probennahme, Teststreifen, Meßgerät) müssen exakt eingehalten werden.

1.30 Entsorgung von Reagenzien und Untersuchungsmaterialien im Labor

Die Entsorgung von Reagenzien und nicht mehr benötigten Untersuchungsmaterialien stellen für das Labor nicht erst seit heute ein Problem dar. Auch die Patienten, die ihren Teststreifen für die Bestimmung der Glucose bzw. des Blutzuckers verwenden, fragen sich, ob sie diesen sorglos in den normalen Hausmüll geben dürfen. Da in der Literatur und auch von den

entsprechend verantwortlichen Stellen nur sehr wenig Information zu diesem speziellen Problem des Umweltschutzes vorhanden sind, soll hier versucht werden Anregungen zu geben.

Abfälle im Labor

Als Untersuchungsmaterial fällt im kleinen Labor üblicherweise nur Urin, Faeces, Blut, Serum und Plasma an. Neben diesen Körperflüssigkeiten sammeln sich auch benutzte Abnahmebestecke, bestehend aus Kanüle, Spritze bzw. Monovette o. ä. und Tupfer, an. Für die Laboruntersuchungen sind Reagenzien, Teststreifen, Pipettenspitzen, Papiertücher, Objektträger, Deckgläser, Küvetten und Kunststoffröhrchen notwendig.

Infektiöser, flüssiger und fester Abfall

Jedes infektiöse Material stellt für seine Umgebung eine Gefahr dar. Schon allein aus diesem Grund darf der Abfall nicht in den normalen Hausmüll oder die Abwasserversorgung gegeben werden. Das Material ist in verschließbaren Behältern zu sammeln und ist als Sondermüll zu entsorgen. Flüssigkeiten sollten nicht mit festen Bestandteilen vermischt werden. Deshalb müssen flüssige Reagenzien in geeigneten säure-, laugen- und lösungsmittelstabilen Behältern gesammelt werden. Es muß jedoch darauf geachtet werden, daß die Reagenzien nicht miteinander reagieren. Reaktionen die Wärme oder Gas erzeugen, können den Behälter, wenn er verschlossen ist, zum Bersten bringen. Ggf. sind solche Reagenzien getrennt zu sammeln. Leicht entzündliche Stoffe sind grundsätzlich von anderen zu trennen. Teststreifen und andere feste Abfallstoffe sind gemeinsam in Kunststofftüten zu verwerfen. Die Verletzungsgefahr für das Personal und die Entsorgungskräfte ist hoch, wenn Kanülen ohne jeglichen Schutz in den Abfall gegeben werden. Sie sollen in den dafür vorgesehenen Behältern gesammelt werden.

Damit die Lösungen und der feste Abfall fachgerecht entsorgt werden, muß die Inhaltsangabe wahrheitsgemäß mit der ungefähren Zusammensetzung und dem Hinweis auf infektiöses Material erfolgen. Dies spart Zeit, senkt Kosten und hilft dem Umweltschutz.

Entsorgung

Abfall, der nicht infektiös und nicht umweltgefährlich ist, wird mit dem normalen Hausmüll vernichtet. Jeder andere Abfall sollte von einer auf diesem Gebiet erfahrenen Abfallbeseitigungsfirma entsorgt werden. In allen Zweifelsfragen kann das Gewerbeaufsichtsamt, Ordnungsamt oder die öffentliche Müllentsorgung hierzu Antwort geben.

Entsorgung beim Patienten

Beim Patienten ist die Situation eine andere als im Labor. Außerhalb des Labors werden überwiegend nur Teststreifen für die Bestimmung der Glucose im Blut oder Urin eingesetzt. Aber auch Nachweise, die keine direkte ärztliche Indikation haben, können von Personen außerhalb der Praxis durchgeführt werden, z. B.

Schwangerschaftstests. Die Zusammensetzung der Teststreifen und Reagenzien für die vorgenannten Untersuchungen ist überwiegend unproblematisch. Die Entsorgung kann durch den Hausmüll erfolgen, sofern der Reagenzhersteller keine anderen Hinweise gibt.

Hinweis

Da entsprechende Richtlinien noch nicht erarbeitet sind, bleibt es dem Personal im Labor überlassen im Sinne des Umweltschutzes zu entsorgen. Arbeitsweisen zu durchdenken und von vornherein Müllanfall zu vermeiden, ist der einfachste und umweltschonendste Weg. Aus diesem Grund empfiehlt sich eine sparsame Verwendung von Reagenzien und Verbrauchsmaterial.

2 Analytischer Teil

Klinisch-chemische Analysen

Die Durchführung verschiedener Methoden zur Bestimmung einiger Bestandteile im Serum, Plasma oder Urin wird nachfolgend beschrieben, wobei ein einheitliches Schema die Benutzung erleichtern soll. Informationen zur Photometrie, enzymatischer Analyse, Flammenphotometrie, Analytik mit trägergebundenen Reagenzien Reflektometrie und ionenselektiver Elektroden finden sich im allgemeinen Teil.

Hinweise zur Benutzung

1. *Indikation.* Unter dem Stichwort Indikation finden sich die häufigsten Erkrankungen, bei denen der in der Überschrift genannte Analyt bestimmt werden sollte, da er pathologisch verändert sein kann. Die Auflistung ist nicht vollständig, nennt aber die wichtigsten Indikationen.

2. *Haltbarkeit des Analyten in der Probe.* Soweit Angaben aus der Literatur vorhanden sind, finden sie sich hier wieder. Die Angaben sind ausführlich mit Hinweisen zur Lagerung versehen.

3. *Analytik.* Hier sind alle verfügbaren Methoden für die Bestimmung des entsprechenden Analyten aufgeführt, wobei obsoleete Methoden entfallen. Ein Verfahren wird ausführlich beschrieben, so daß mit Hilfe dieser Angaben die Analyse nachvollziehbar ist. Die Methodenbeschreibung wurde so gewählt, daß alle notwendigen Reagenzien auch von Diagnostika-Herstellern bezogen werden können. Entsprechende Produkte können u. a. bei den nachfolgenden Firmen bezogen werden. Die Auflistung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit:

Behringwerke AG
Postfach 1140
3550 Marburg 1

Boehringer Mannheim GmbH
Sandhofer Str. 116
6800 Mannheim 31

E. Merk
Frankfurter Str. 250
6100 Darmstadt

Hoffmann-La Roche AG
Emil-Barell-Str.
7889 Grenzach-Wyhlen

Komplette Systeme (Reagenzien und Photometer mit Zubehör) für das kleine Labor liefert z. B. die Firma:

Dr. Bruno Lange GmbH
Königsweg 10
1000 Berlin 37

4. *Praktische Durchführung.* Diese Angaben listen exakt die nachvollziehbare Durchführung eines Verfahrens auf.

5. *Reagenzien.* Alle für die Durchführung notwendigen Reagenzien sind in der entsprechend erforderlichen Konzentration angegeben. Es sollten, soweit möglich, nur reinste Reagenzien pro analysi verwendet werden.

6. *Probenmaterial.* Das für das vorgestellte Verfahren notwendige Probenmaterial ist hier aufgelistet.

7. *Probenvorbereitung.* Falls eine Vorbereitung der Probe erforderlich ist, wird an dieser Stelle darauf eingegangen.

8. *Bestimmungsansatz.* Der Bestimmungsansatz nennt alle für die Messung erforderlichen Bedingungen wie Temperatur, Wellenlänge, Küvette, Pipettierschema, Inkubationszeit etc.

9. *Berechnung.* Mit Hilfe der angegebenen Formeln oder Faktoren kann das Resultat aus dem Meßsignal errechnet werden.

10. *Linearität.* Die Linearität nennt den Bereich in dem eine lineare Beziehung zwischen dem Meßsignal und der Konzentration des zu messenden Analyten vorliegt. Wird der lineare Bereich verlassen, muß die Probe entsprechend verdünnt und mit dieser verdünnten Probe die Analyse wiederholt werden. Bei der anschließenden Berechnung ist die Verdünnung über einen Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen.

11. *Referenzintervall bzw. Normalbereich.* Bezogen auf die vorgestellte Methode finden sich hier Angaben aus der Literatur zum Referenzintervall bzw. Normalbereich. Da die SI-Einheiten noch nicht überall verwendet werden, erfolgt zusätzlich die Angabe in konventionellen Einheiten.

12. *Hinweis.* Unter diesem Punkt sind für die Durchführung wichtige Informationen enthalten. Es finden sich hier Angaben zu Störungen durch Arzneimittel oder Chromogene.

13. *Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien.* In diesem Abschnitt werden auch die vorhandenen Methoden der Gerätesysteme Kodak Ektachem DT-60, Boehringer Mannheim Reflotron und Bayer Diagnostic Seralyzer beschrieben. Die einzelnen Unterpunkte entsprechen denen unter Punkt 4 bis 12 angegebenen Informationen. Die Durchführung ist einfacher, da Reagenzien nicht vorbereitet werden müssen. Beschreibungen der Gerätesysteme finden sich im Kapitel 1.18 Analytik mit trägergebundenen Reagenzien und 1.19 Präsenzdiagnostik.

2.1 Bilirubin

Indikation

Die Bestimmung der Bilirubin-Konzentration dient zur Diagnose, Differentialdiagnose und Verlaufskontrolle des Ikterus.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Bei intensiver Bestrahlung durch Sonnenlicht kann ein Abfall der Ausgangskonzentration von bis zu 30 % nach einer Stunde beobachtet werden. Bei normaler Raumtemperatur und Abdunkelung ist das Bilirubin bis zu 8 Stunden stabil.

Analytik

1. Jendrassik-Grof-Methode

Das Bilirubin wird durch Zugabe von Coffein, einem Akzelerator, aus seiner Albuminbindung freigesetzt. Anschließend wird es durch diazotierte Sulfanilsäure zu einem Azopigment überführt. Dieses hat eine Indikatoreigenschaft, die in alkalischer Lösung photometrisch ausgenutzt wird. Für die Bestimmung des direkten Bilirubins wird auf den Zusatz von Coffein verzichtet, es wird nur das nicht an Protein gebundene Bilirubin erfaßt.

Praktische Durchführung: Reagenzien

Lösung 1:	
Sulfanilsäure	29 mmol·l ⁻¹
Salzsäure	0,17 N
Lösung 2:	
Nariumnitrit	25 mmol·l ⁻¹
Lösung 3:	
Coffein	0,26 mol·l ⁻¹
Natriumbenzoat	0,52 mol·l ⁻¹
Lösung 4:	
Tatrat	0,93 mol·l ⁻¹
Natronlauge	1,9 N
Natriumchlorid	0,9%

Probenmaterial:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge für Gesamtbilirubin: Hg 578 (560 bis 600 nm); Wellenlänge für direktes Bilirubin: Hg 546 nm (530 bis 555 nm); Küvette: 1 cm Schichtdicke; Inkubationstemperatur: 20 bis 25 °C; Messung gegen Proben-Leerwert.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

Gesamt-Bilirubin		
	Proben-Leerwert µl	Probe µl
Lösung 1	200	200
Lösung 2	-	1 Tropfen
Lösung 3	1000	1000
Probe	200	200

mischen, 10 bis 60 Minuten
bei 20 bis 25 °C stehenlassen

Lösung 4	1000	1000
----------	------	------

Mischen, 5 bis 30 Minuten bei 20 bis 25 °C stehenlassen, Extinktion der Probe gegen Proben-Leerwert messen (E_{GB}).

Direktes Bilirubin		
	Proben-Leerwert µl	Probe µl
Lösung 1	200	200
Lösung 2	-	1 Tropfen
Natriumchlorid-lösung	2000	2000
Probe	200	200

Mischen, genau 5 Minuten (Stoppuhr) bei 20 bis 25 °C stehenlassen, Extinktion der Probe gegen Proben-Leerwert messen (E_{DB}).

Berechnung:

Bilirubin-Konzentration = E · Faktor (s. u.)

	Gesamt-Bilirubin	Direktes Bilirubin
Faktor	10,8 · E _{GB} 185 · E _{GB}	14,4 · E _{DB} [mg · dl ⁻¹] 246 · E _{DB} [µmol · l ⁻¹]

Linearität:

bis 25 mg · dl⁻¹ bzw. 430 µmol · l⁻¹

Bei höheren Konzentrationen muß die Probe 1 + 4 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 5 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Gesamt-Bilirubin: bis 1 mg · dl⁻¹ bzw. 17 µmol · l⁻¹
Direktes Bilirubin: bis 0,25 mg · dl⁻¹ bzw. 4 µmol · l⁻¹

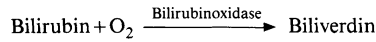
Hinweis

Hämolytische Proben sind ungeeignet für die Bestimmung, da erniedrigte Bilirubin-Konzentrationen gemessen werden. Ursache hierfür ist die Hemmung der Diazotierung.

II. DPD-Methode

Das Bilirubin bildet mit 2,5-Dichlorbenzoldiazoniumsalz in Salzsäure Azofarbstoffe, die photometrisch gemessen werden können.

III. Enzymatische Methode



Biliverdin wird weiter oxidiert zu einem purpurfarbenen Pigment.

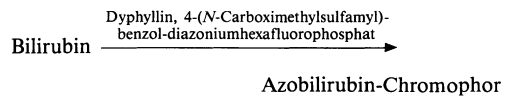
IV. Direkte spektrometrische Messung

Bei Serum von Neugeborenen kann die Bilirubinkonzentration direkt photometrisch bei 455 nm gemessen werden, wenn eine Kompensation für freies Hämoglobin und Trübung bei 575 nm berücksichtigt wird. Für den Einsatz dieser Methode ist jedoch das Lebensalter entscheidend. Demzufolge dürfen nur Proben von Neugeborenen bis zum 21. Lebenstag gemessen werden, da diese eine niedrige Konzentration an Carotinoiden enthalten.

V. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem

Gesamt-Bilirubin



Probenmaterial:

Serum, EDTA-, Oxalat-, Citrat-, Heparin- oder Fluorid-Plasma

Meßbereich:

0,1 bis 27,0 mg · dl⁻¹ bzw. 2 bis 462 µmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

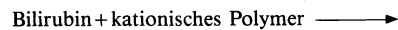
0,1 bis 1,3 mg · dl⁻¹ bzw. 2 bis 22 µmol · l⁻¹

Interferenzen:

4-Aminosalicylsäure und Sulfathiazol können in höheren Konzentrationen zu einer erhöhten Wiederfindung führen. Hämolytische Proben sollten nicht mit dem Verfahren untersucht werden, da erniedrigte Werte resultieren.

b) Ektachem

konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin



Bilirubin-Polymer-Komplex

Durch Messung bei zwei verschiedenen Wellenlängen kann jeweils unkonjugiertes und konjugiertes Bilirubin bestimmt werden.

Probenmaterial:

Serum, EDTA-, Oxalat-, Citrat-, Fluorid- oder Heparin-Plasma

Meßbereich:

0,1 bis 27,0 mg · dl⁻¹ bzw. 2 bis 462 µmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Erwachsene

- unkonjugiertes Bilirubin: 0,1 bis 1,1 mg · dl⁻¹ bzw. 2 bis 19 µmol · l⁻¹
- konjugiertes Bilirubin: ≤ 0,1 mg · dl⁻¹ bzw. ≤ 2 µmol · l⁻¹

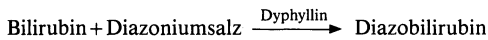
Neugeborene

- unkonjugiertes Bilirubin: 0,6 bis 10,5 mg · dl⁻¹ bzw. 10 bis 180 µmol · l⁻¹
- konjugiertes Bilirubin: 0,0 bis 11,1 mg · dl⁻¹ bzw. 0 bis 190 µmol · l⁻¹
- neonatales Bilirubin: 0,0 bis 11,1 mg · dl⁻¹ bzw. 0 bis 190 µmol · l⁻¹

Interferenzen:

Nitrofurantoin, Rifampicin und Sulfasalazin können in höheren Konzentrationen stören. Hämolyse stört nicht bei der Bestimmung des neonatalen Bilirubin.

c) *Reflotron*



Probenmaterial:

Blut, Serum oder Plasma

Meßbereich:

0,5 bis 15 mg · dl⁻¹ bzw. 9 bis 257 µmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

bis 1,0 mg · dl⁻¹ bzw. bis 17 mmol · l⁻¹

Interferenzen:

Hämolyse führt zu einer erhöhten Wiederfindung. Dopamin und Phenazopyridin führen bei therapeutischen Konzentrationen zu erhöhten Bilirubin-Werten.

d) *Seralyzer*

Bilirubin + diazotiertes 2,4-Dichloranilin



Probenmaterial:

Serum und Heparin-Plasma

Probenverdünnung:

nicht erforderlich

Meßbereich:

0,4 bis 7,5 mg · dl⁻¹ bzw. 7 bis 130 µmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

0,1 bis 1,2 mg · dl⁻¹ bzw. 2 bis 21 µmol · l⁻¹

Interferenzen:

Amikacin führt zu einer erniedrigten Wiederfindung. Hämolytische Seren, Phenazopyridin und Rifampicin führen zu einer Erhöhung des Bilirubinwertes.

2.2 Cholesterol

Indikation

Die Bestimmung des Cholesterols wird eingesetzt zur

- Suche einer primären oder sekundären Hypercholesterolemie,
- Therapiekontrolle bei Hypercholesterolemie.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Serum oder Plasma kann mehrere Tage im Kühlschrank gelagert werden. Für längere Aufbewahrung wird eine Lagerung bei -20 °C empfohlen.

Hinweis

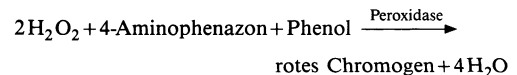
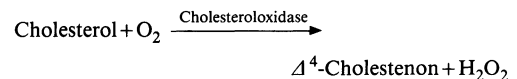
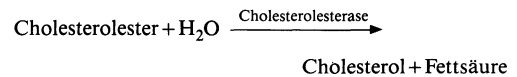
Da das Risiko für eine atherogene Erkrankung weniger von der Gesamtmenge an Cholesterol abhängt, ist es zur weiteren Abklärung notwendig die Cholesterolfractionen zu ermitteln. Es sollten die HDL-, LDL- und VLDL-Fractionen bestimmt werden.

HDL = High Density Lipoprotein, LDL = Low Density Lipoprotein, VLDL = Very Low Density Lipoprotein

Analytik

Für die Bestimmung des Cholesterols stehen enzymatische Verfahren zur Verfügung, wobei hauptsächlich die sogenannte PAP-Methode, *p*-Aminophenazon-Probe, zum Einsatz kommt. Historisch und sehr unspezifisch ist die Liebermann-Buchard-Reaktion, bei der mit Eisessig und Schwefelsäure gearbeitet wird.

I. Vollenzymatische PAP-Methode.



Praktische Durchführung:

Reagenzien

Reaktionslösung:

Phosphat-Puffer, pH 6,7	67 mmol · l ⁻¹
Phenol	16 mmol · l ⁻¹
4-Aminophenazon	0,73 mmol · l ⁻¹
Cholesterol-Esterase	≥ 240 U · l ⁻¹
Cholesterol-Oxidase	≥ 48 U · l ⁻¹
Peroxidase	≥ 20 kU · l ⁻¹

Die Haltbarkeit der Lösung beträgt 4 Wochen bei Aufbewahrung im Kühlschrank (+4 bis +8 °C) bzw. 1 Woche bei Lagerung zwischen +20 bis +25 °C. Lichtgeschützt aufbewahren.

Probenmaterial:
Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:
Wellenlänge: Hg 546 oder 500 nm; Küvette: 1 cm
Schichtdicke; Inkubationstemperatur: +20 bis 25 °C
oder 37 °C; Messung gegen Reagenz-Leerwert.

In Reagenzgläsern werden pipettiert:

Probe	Reagenz- Leerwert µl	Probe µl
Probe	-	10
Reagenz	1000	1000

Mischen, 15 bis 35 Minuten bei +20 bis +25 °C oder
10 bis 30 Minuten bei +37 °C inkubieren. Extinktion
der Probe (Ep) und des Reagenz-Leerwertes (ERL)
messen.

Berechnung:

$$E = E_P - E_{RL}$$

Cholesterolkonzentration = E · Faktor (s.u.)

Wellenlänge [nm]	Hg	546	500
Faktor	855	585 [mg · dl ⁻¹]	15,1 [mmol · l ⁻¹]

Linearität:

bis 500 mg · dl⁻¹ bzw. 12,9 mmol · l⁻¹.

Bei höheren Konzentrationen muß die Probe 1 + 2
mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt wer-
den. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestim-
mung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 3 multi-
pliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Unter dem Gesichtspunkt der Früherkennung von
Risikofaktoren der Arteriosklerose gelten folgende
Grenzbereiche:

- unauffällig: bis 220 mg · dl⁻¹ bzw. 5,7 mmol · l⁻¹
- verdächtig: 220 bis 260 mg · dl⁻¹
bzw. 5,7 bis 6,7 mmol · l⁻¹
- erhöht: ab 260 mg · dl⁻¹ bzw. 6,7 mmol · l⁻¹

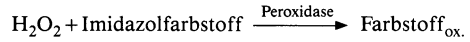
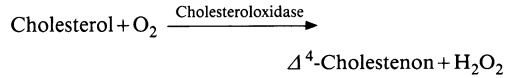
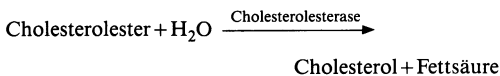
Aus verschiedenen Untersuchungen, besonders aus
den USA, werden Cholesterolkonzentrationen bis
200 mg · dl⁻¹ bzw. 5,2 mmol · l⁻¹ als unauffällig ange-
sehen. Höhere Werte sind als verdächtig einzustufen
und ggf. behandlungsbedürftig. Abschließend kann
hier jedoch kein allgemein gültiges Referenzintervall
bzw. Normalbereich angegeben werden.

Hinweis

Hämoglobin bis 2 g · l⁻¹ und Bilirubin bis 20 mg ·
dl⁻¹ bzw. 340 µmol · l⁻¹ stören den Test nicht.

II. Analytik mit trägergebundenen Reagenzien.

a) Ektachem



Probenmaterial:
Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma

Meßbereich:
50 bis 550 mg · dl⁻¹ bzw. 1,3 bis 14,2 mmol · l⁻¹

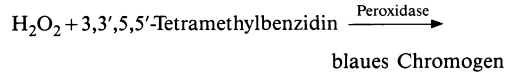
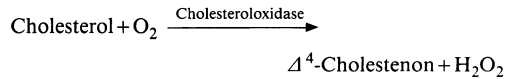
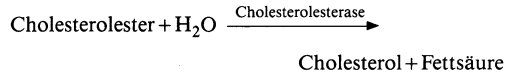
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Alter (Jahren)	Gesamt-Cholesterol	
	mg · dl ⁻¹	mmol · l ⁻¹
0 bis 19	120 bis 230	3,1 bis 6,0
20 bis 29	120 bis 240	3,1 bis 6,2
30 bis 39	140 bis 270	3,6 bis 7,0
40 bis 49	150 bis 310	3,9 bis 8,0
50 bis 59	160 bis 330	4,1 bis 8,5

Interferenzen:

Sehr stark hämolytische Proben verursachen eine er-
niedrigte Wiederfindung. Dextran und Triglyceride
in hohen Konzentrationen können eine Erhöhung
vortäuschen. Natriumcitrat, Natriumfluorid, Kalium-
oxalat und Thymol eignen sich nicht zur Plasma-Ge-
winnung.

b) Reflotron



Probenmaterial:
Blut, EDTA-, Heparin-Blut, Serum, EDTA- oder He-
parin-Plasma

Meßbereich:
100 bis 500 mg · dl⁻¹ bzw. 2,6 bis 12,9 mmol · l⁻¹

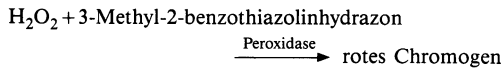
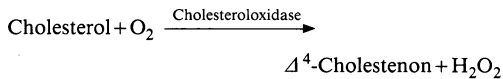
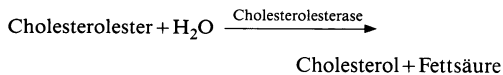
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Cholesterolkonzentration	Behandlungsbedürftig
< 200 mg · dl ⁻¹ bzw. < 5,2 mmol · l ⁻¹	nein
200 bis 300 mg · dl ⁻¹ bzw. 5,2 bis 7,8 mmol · l ⁻¹	abhängig von HDL- bzw. LDL-Cholesterolverwert
> 300 mg · dl ⁻¹ bzw. > 7,8 mmol · l ⁻¹	ja

Interferenzen:

Sehr stark ikterische und sehr stark hämolytische Pro-
ben führen zu einer Erniedrigung des Cholesterolver-
wertes.

c) Seralyzer



Probenmaterial:
Serum

Probenverdünnung:
1 Teil Serum + 8 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:
50 bis 450 mg · dl⁻¹ bzw. 1,3 bis 11,6 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
150 bis 250 mg · dl⁻¹ bzw. 3,9 bis 6,5 mmol · l⁻¹

Interferenzen:

α-Methyldopa und Piperacillin führen in therapeutischen Konzentrationen zu einer erhöhten Wiederfindung. Allopurinol, Amikacin und hämolytische Proben verursachen eine Erniedrigung der Cholesterol-Werte.

2.3 Creatinin

Indikation

Die Bestimmung des Creatinins wird eingesetzt zur

- Überprüfung der Nierenfunktion,
- Verlaufsbeobachtung bei Nierenkranken (Dialysepatienten),
- Kontrolle bei Gabe von nephrotoxischen Arzneimitteln,
- Überwachung nach Nierentransplantation.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Das Serum oder das Plasma kann mehrere Tage bei Lagerung im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Hinweis

Zur Beurteilung der Nierenfunktion wird auch die Berechnung der Creatinin-Clearance herangezogen. Als renale Clearance einer Substanz, z. B. bei endogenem Creatinin, wird die Menge Plasma definiert, aus der die betreffende Substanz in einer Minute durch die Nierentätigkeit vollständig eliminiert wird. Das Creatinin wird beim Gesunden frei durch die Glomeruli filtriert und von den Tubuli weder sezerniert noch rückresorbiert. Aus diesem Grund eignet sich das Creatinin zur Beurteilung der Clearance.

Bei der Durchführung der Ermittlung der Clearance sollten die Patienten alle Pharmaka, wenn klinisch möglich, absetzen, die die Nierenfunktion beeinträchtigen können. Die Sammlung des Urins muß nach genauen Kautelen durchgeführt werden (→ Proben-gewinnung). In der Mitte oder am Ende der Sammel-

periode soll die Blutentnahme erfolgen. Die gesammelte Menge Urin und die Blutprobe werden auf deren Creatinin-Konzentration untersucht. Die Berechnung der Clearance erfolgt nach der Formel:

$$\text{Clearance} = \frac{\text{Urin-Creatinin} \cdot \text{Urinvolumen}}{\text{Serum- oder Plasma-Creatinin}} \quad (\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})$$

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: 95 bis 160 ml · min⁻¹, Männer: 98 bis 156 ml · min⁻¹

Eine exaktere Berechnung ist unter der Beachtung der Körperoberfläche möglich. Hierfür gilt die nachfolgende Formel:

Creatinin-Clearance =

$$\frac{\text{Urinvolumen (ml)} \cdot \text{Urincreatinin (mmol/l)} \cdot 1000}{\text{Sammeldauer (min)} \cdot \text{Serumcreatinin (μmol/l)}} \cdot \frac{1,73 (\text{m}^2)}{\text{Körperoberfläche (m}^2)}$$

Körperoberfläche =

$$0,1672 \sqrt{\text{Körpergewicht (kg)} \cdot \text{Körpergröße m}}$$

Hinweis

Mit der Bestimmung der Creatinin-Clearance kann man Nierenfunktionsstörungen noch früher erfassen als mit der Bestimmung der Konzentration von Creatinin und Harnstoff, bei deren gemeinsamer Erhöhung bereits eine Niereninsuffizienz vorliegt.

Analytik

Für die Bestimmung des Creatinins im Serum und Urin stehen eine große Anzahl an Bestimmungsverfahren zur Verfügung. Erstaunlich scheint, daß bis heute die Jaffe-Methode nicht endgültig von einer vollenzymatischen Methode abgelöst worden ist. Die Jaffe-Methode wurde bereits 1886 beschrieben.

I. Jaffe-Methode

Creatinin reagiert mit Pikrinsäure in stark alkalischer Lösung zu einem orange-roten Farbstoff. Neben dem Creatinin werden auch eine Vielzahl anderer Substanzen, die entweder endogenen oder exogenen Ursprungs sind, mit erfaßt. Durch eine Modifikation der Methode, etwa der kinetischen Verfolgung des Umsatzes, kann eine Reduktion der Störung erzielt werden. Die Spezifität der Jaffe-Methode kann verbessert werden, wenn die Proteine ausgefällt und das Creatinin an Fullererde, einem Aluminiumsilikat, absorbiert wird. Dieses Verfahren ist jedoch extrem zeitaufwendig und hat sich in der Routine nur in wenigen Laboratorien durchsetzen können.

Praktische Durchführung:
Reagenzien

1. Creatinin-Standard	2 mg · dl ⁻¹ bzw. 177 μmol · l ⁻¹
2. Pikrinsäure	35 mmol · l ⁻¹
3. Natronlauge	1,6 N
4. Pikrat-Lösung (Reaktionsgemisch aus 2 und 3 im Verhältnis 1 + 1). Die Haltbarkeit beträgt bei +15 bis 25 °C etwa 5 Stunden	(17,5 mmol · l ⁻¹ Pikrinsäure + 0,8 N Natronlauge)
5. Trichloressigsäure	1,2 N

Probenmaterial:
Serum, Plasma und Urin

Probenvorbereitung:
Enteiweißung: 1,0 ml Serum oder Heparinplasma mit 1,0 ml Trichloressigsäure gut mischen anschließend 10 Minuten zentrifugieren.
Urin 1 + 49 mit deionisiertem Wasser verdünnen.

Bestimmungsansatz:
Wellenlänge: Hg 546 oder 520 nm; Küvette: 1 cm Schichtdicke; Inkubationstemperatur: 25 °C; Messung gegen Leerwert.
Für jede Meßserie ist ein Standard- und ein Reagenz-Leerwert ausreichend.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

	Leerwert	Standard	Probe Überstand	Probe Urin (1 + 49)
	μl	μl	μl	μl
Deionisiertes Wasser	500	-	-	-
Standard	-	500	-	-
Trichloressigsäure	500	500	-	500
Überstand	-	-	1000	-
Urin (1 + 49)	-	-	-	500
Pikrat-Lösung	1000	1000	1000	1000

Mischen, 20 Minuten bei 25 °C stehenlassen. Extinktion der Probe (E_P) und Extinktion des Standards (E_{St}) gegen Reagenz-Leerwert messen.

Berechnung:
für Serum oder Plasma

$$c = 2.0 \cdot \frac{E_P}{E_{St}} \quad (\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1})$$

für Urin

$$c = 100 \cdot \frac{E_P}{E_{St}} \quad (\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1})$$

Linearität:
für Serum oder Plasma bis 6 mg · dl⁻¹ bzw. 531 μmol · l⁻¹; für Urin bis 300 mg · dl⁻¹ bzw. 26,6 mmol · l⁻¹.

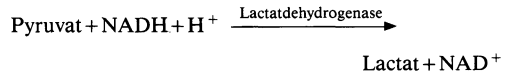
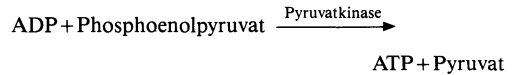
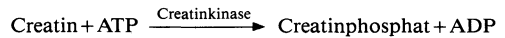
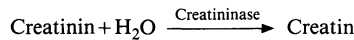
Bei höheren Konzentrationen muß der Überstand bzw. der verdünnte Harn 1 + 4 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 5 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Serum oder Plasma:
Frauen: 0,5 bis 0,9 mg · dl⁻¹ bzw. 44 bis 80 μmol · l⁻¹
Männer: 0,6 bis 1,1 mg · dl⁻¹ bzw. 53 bis 97 μmol · l⁻¹
Urin:
1 bis 1,5 g · 24h⁻¹ bzw. 8,84 bis 13,3 mmol · 24h⁻¹

Hinweis

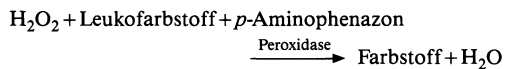
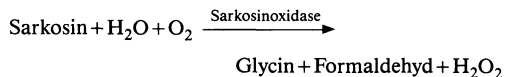
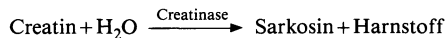
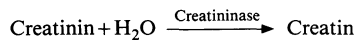
Das vorgestellte Verfahren ist nicht spezifisch, da eine große Anzahl von Arzneimitteln und endogenen Substanzen stören kann. Auf das Verfahren ohne Enteiweißung wird nicht eingegangen, da diese Methode neben den Arzneimitteln auch durch lipämische und hämolytische Proben gestört wird.

II. Enzymatische UV-Methode 1



Das Creatinin wird durch Creatininamidohydrolase zu Creatin hydrolysiert. Erstes beschriebenes Verfahren zur enzymatischen Bestimmung des Creatinins; hat sich aber wegen der Kosten und der unständlichen Pipettierfolge nicht etablieren können.

IIIa. Creatinin-PAP-Methode

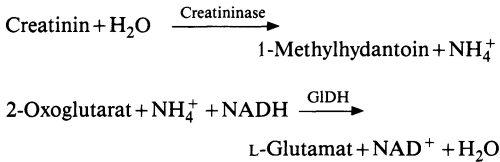


Durch Creatininamidohydrolase wird das Creatinin zu Creatin hydrolysiert. Das Creatin wird mit Creatinamidohydrolase in Sarkosin und Harnstoff gespalten. Die Indikatorreaktion stellt eine modifizierte Trinder-Reaktion dar. Dieser Reaktionsschritt gab den Namen für diese Methode, PAP = p-Aminophenazon. Da dieses Verfahren anfällig gegen die Interferenz durch Bilirubin und einiger Arzneimittel ist, wurde sehr bald nach einem verbesserten Farbkuppler gesucht.

IIIb. Creatinin-PAP-MPA-Methode

Die Reaktionsfolge ist mit der in II beschrieben identisch. Lediglich die Indikatorreaktion ist modifiziert. Durch den Einsatz eines anilinischen Kupplers konnte die Bilirubin-Interferenz beseitigt werden. Bei diesem Verfahren stört Hämoglobin und eine Reihe von Arzneimitteln.

IV. Enzymatische UV-Methode 2



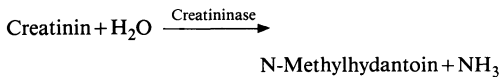
Bei dieser enzymatischen UV-Methode wird das Creatinin durch eine Creatininiminohydrolase hydrolysiert. Bilirubin stört bei diesem Verfahren nicht, jedoch muß auch hier mit Problemen durch Arzneimittel und trüben, lipämischen Proben gerechnet werden.

Als spezifische Verfahren haben sich auch die HPLC-Methoden erwiesen, die jedoch wegen des geringen Probendurchsatzes nicht für die Routine eingesetzt werden können. Aus preislichen Gründen werden heute überwiegend die kinetische Jaffe-Methode und einige PAP-Methoden eingesetzt.

V. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem

1. Zwei-Slide-Methode



$\text{NH}_3 + \text{Bromphenolblau} \rightarrow \text{blauer Farbstoff}$

Für die Umsetzung des Creatinins wird Creatininiminohydrolase verwendet. Da bei diesem Slide endogenes NH_3 miterfaßt wird, muß eine Differenzmessung durchgeführt werden. Hierbei wird zuerst mit dem Creatinin-Slide und anschließend mit dem Ammoniak-Slide gemessen. Im Rechner wird automatisch die Differenzbildung vollzogen. Der Anwender erhält den korrigierten Creatininwert.

Probenmaterial:
Serum oder Natriumheparin-Plasma

Meßbereich:
0,05 bis 16,5 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 5 bis 1460 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

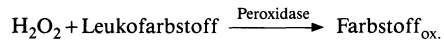
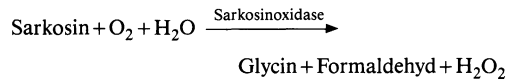
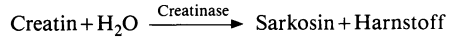
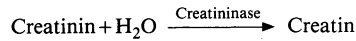
Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: 0,6 bis 1,2 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 53 bis 106 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
Männer: 0,9 bis 1,5 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 80 bis 133 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Interferenzen:

Die Reaktion wird durch Flucytosin ($> 5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$!) und Glucose ($> 33,3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ bzw. $> 600 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$!) gestört. Ammoniumheparinat, Kalium-

EDTA, Natriumcitrat, Natriumfluorid und Thymol sollten nicht als Antikoagulans-Mittel benutzt werden.

2. Single-Slide-Methode



Durch Creatininamidohydrolase wird Creatinin hydrolysiert. Creatininamidohydrolase hydrolysiert das entstandene Creatin. Als Farbstoff wird 2-(3,5-Dimethoxy-4-hydroxyphenyl) - 4,5 - bis (4-dimethylamino-phenyl)imidazol eingesetzt.

Probenmaterial:

Serum, EDTA-, Natriumfluorid/Kaliumoxalat- oder Lithiumheparin-Plasma

Meßbereich:

0,05 bis 16,5 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 4 bis 1459 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

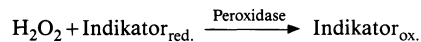
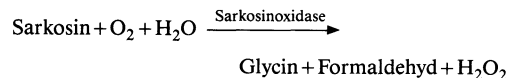
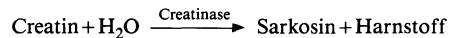
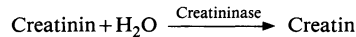
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: 0,6 bis 1,2 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 53 bis 106 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
Männer: 0,9 bis 1,5 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 80 bis 133 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Interferenzen:

Bisher nicht bekannt. Natriumcitrat und Thymol werden nicht zur Plasma-Gewinnung empfohlen.

b) Reflotron



Probenmaterial:

Blut, Heparin-Blut, Heparin-Plasma, Serum oder verdünnter Harn

Meßbereich:

0,5 bis 10 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 44 bis 884 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

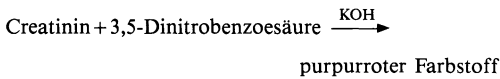
Frauen: 0,5 bis 0,9 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 44 bis 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
Männer: 0,5 bis 1,1 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 44 bis 97 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Interferenzen:

Sichtbar hämolytische Proben führen zu einer erhöhten Wiederfindung. Bilirubin stört ab 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bzw. 8 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$, es werden ebenfalls erhöhte Werte

gemessen. Hämatokritwerte bis 50 % haben keinen Einfluß auf das Ergebnis.

c) Seralyzer



Probenmaterial:
Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Probenverdünnung:
nicht notwendig

Meßbereich:
0 bis 15 mg · dl⁻¹ bzw. 0 bis 1320 μmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
0,7 bis 1,5 mg · dl⁻¹ bzw. 62 bis 133 μmol · l⁻¹

Interferenzen:

Bei diesem Verfahren sind eine Reihe von Interferenzen bekannt. Amikacin, Azlocillin, Hämoglobin und Indometacin können einen erniedrigten Creatininwert vortäuschen. Amoxicillin, Bilirubin, Cefamandol, Cefotiam, Cefoxitin, Glucose, Harnsäure, α-Methyl dopa, Piperacillin, Rifampicin und AKE können einen erhöhten Creatininwert vortäuschen.

2.4 Glucose

Indikation

Die Bestimmung der Glucose wird eingesetzt bei

- Diagnostik, Verlaufs- und Therapiekontrolle des Diabetes mellitus,
- Diagnostik nicht diabetischer Hyperglykämie,
- Verdacht auf Hypoglykämie durch Fehlernährung bei Neugeborenen, erhöhter Insulinfreisetzung, gestörtem Glykogenstoffwechsel.

Untersuchungsmaterial

Als Ausgangsmaterial wird sehr häufig das arterialisierte Kapillarblut, welches mit antikoagulierenden und glykolysehemmenden Stoffen versetzt werden muß, eingesetzt. Die Entnahme erfolgt aus dem Ohrläppchen oder aus der Fingerbeere. Zwischen der Glucose aus dem arteriellen und dem venösen Blut bestehen Konzentrationsgefälle. Auch differieren die Glucosekonzentrationen im Plasma und in den Erythrozyten. Die arterio-venöse und die Plasma-Erythrozyten Differenz wird mit ca. 10 % und mehr angegeben. Von der WHO wird zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse die Kapillarblutentnahme (→ 1.8) für die Glucosebestimmung empfohlen.

Glykolysehemmer

Zur Vermeidung der Glykolyse (→ 1.9) wird der Zusatz von Natriumfluorid, Monoiodacetat oder Maleinimid in das entnommene Blut empfohlen.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

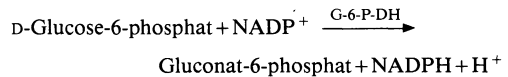
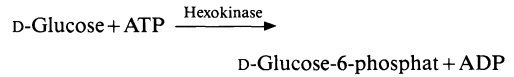
Wenn die Zellen von der Probe getrennt sind oder die Glykolyse mit entsprechenden Substanzen unterbunden worden ist, kann das Material etwa 24 Stunden im

Kühlschrank aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung der Probe ist nicht empfehlenswert.

Analytik

Zur Bestimmung der Glucose stehen mehrere enzymatische Verfahren zur Verfügung.

I. Bestimmung mit Hilfe der Hexokinase



Die Spezifität des Verfahrens hängt von dem zweiten Reaktionsschritt ab, da die Glucose-6-phosphat-dehydrogenase nur Glucose-6-phosphat oxidiert. Hingegen führt die Hexokinase auch D-Fructose, D-Mannose und D-Glucosamin in das entsprechende Phosphat. Für die Photometrie wird der Extinktionsanstieg, der bei der Reduktion von NADP zu NADPH entsteht, gemessen.

Praktische Durchführung:

Reagenzien

Reaktionsgemisch:	
Tris-Puffer, pH 7,6	50 mmol · l ⁻¹
Adenosintri-phosphat	0,55 mmol · l ⁻¹
NADP	0,5 mmol · l ⁻¹
Hexokinase	≥ 2 kU · l ⁻¹
Glucose-6-phosphat-dehydrogenase	≥ 2 kU · l ⁻¹
Magnesiumionen	7,4 mmol · l ⁻¹

Die Haltbarkeit der Lösung beträgt 7 Tage bei Aufbewahrung bei Raumtemperatur (+20 bis +25 °C) bzw. 4 Wochen bei Aufbewahrung im Kühlschrank bei +4 bis +8 °C.

Für die Enteiweißung:

Perchlorsäure (p. a.) 0,33 mol · l⁻¹

Probenmaterial:

Blut, Serum oder Plasma

Probenvorbereitung:

In ein geeignetes Reagenzröhrchen werden pipettiert: 50 μl Probe (Blut, Serum oder Plasma) und 500 μl Perchlorsäure.

Gut mischen und anschließend zentrifugieren (5 Minuten bei 3000 U · min⁻¹ oder 2 Minuten bei 10000 bis 15000 U · min⁻¹).

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Hg 334, Hg 365 oder 340 nm; Küvette: 1 cm Schichtdicke; Inkubationstemperatur: +20 bis 25 °C; Messung gegen Reagenz-Leerwert.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

	Reagenz- Leerwert μl	Probe μl
klarer Überstand aus der enteweißten Probe	-	20
Perchlorsäure	20	-
Reaktionsgemisch	500	500

Mischen, 15 bis 30 Minuten bei +20 bis +25°C stehen lassen. Extinktion der Probe (E_P) und Extinktion des Reagenz-Leerwertes (E_{RL}) messen.

Berechnung:

$$E = E_P - E_{RL}$$

Glucose-Konzentration = $E \cdot$ Faktor

Wellenlänge [nm]	Hg 334	Hg 365	340
Faktor	833	1471	817 [mg · dl ⁻¹]
	46,3	81,7	45,4 [mmol · l ⁻¹]

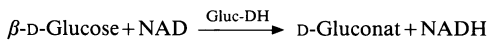
Linearität:

bis 1230 mg · dl⁻¹ bzw. 67,7 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

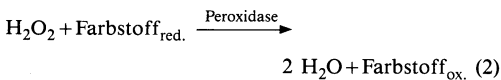
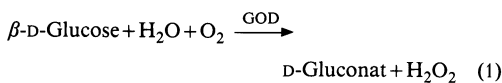
Blut: 70 bis 100 mg · dl⁻¹ bzw. 3,9 bis 5,6 mmol · l⁻¹
Serum: 75 bis 115 mg · dl⁻¹ bzw. 4,2 bis 6,4 mmol · l⁻¹

II. Bestimmung mit Hilfe der Glucosedehydrogenase



Da die Glucosedehydrogenase direkt mit Glucose reagiert und unmittelbar NAD zu NADH reduziert, ist eine Indikatorreaktion nicht notwendig.

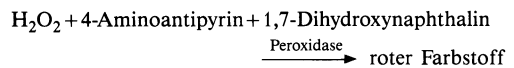
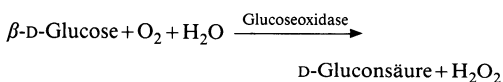
III. Bestimmung mit Hilfe der Glucoseoxidase



Die Glucoseoxidase oxidiert die Glucose unter Verbrauch von Sauerstoff und Wasser zu D-Gluconat. Hierbei wird Wasserstoffperoxid freigesetzt (1). Die enzymatische Oxidation kann direkt gemessen werden, indem der Verbrauch von Sauerstoff mit Hilfe einer Clark-Elektrode registriert wird. Ebenso kann die Farbstoffänderung mittels eines Photometers erfaßt werden (2).

IV. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem



Probenmaterial:

Serum, Natriumfluorid/Kaliumoxalat-, Heparin- oder Thymol-Plasma

Meßbereich:

20 bis 625 mg · dl⁻¹ bzw. 1,1 bis 34,7 mmol · l⁻¹

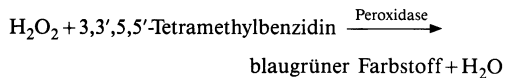
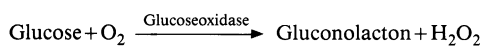
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

75 bis 110 mg · dl⁻¹ bzw. 4,2 bis 6,1 mmol · l⁻¹

Interferenzen:

Amidotrizoesäure, Dextran 40 und Mannose können zu erniedrigten Werten führen. Eine Erhöhung wurde durch Galactose beobachtet. EDTA, Natriumcitrat und Thymol sind zur Plasma-Gewinnung ungeeignet.

b) Reflotron



Probenmaterial:

Blut, EDTA-, Heparin-Blut, Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma

Meßbereich:

10 bis 600 mg · dl⁻¹ bzw. 0,6 bis 33,3 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

76 bis 110 mg · dl⁻¹ bzw. 4,2 bis 6,1 mmol · l⁻¹

Interferenzen:

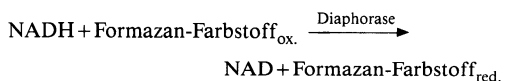
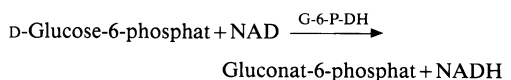
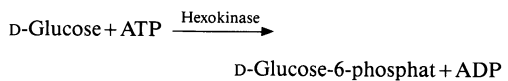
Bilirubin > 170 μmol · l⁻¹ bzw. > 10 mg · dl⁻¹ führt zu erniedrigten Werten. Sehr stark hämolytische Proben täuschen einen erhöhten Glucosewert vor.

Hinweis

Die Durchführung ist volumenabhängig. Aus diesem Grund muß auf eine exakte Pipettierung geachtet werden, da sonst falsche Glucosewerte resultieren.

c) Seralyzer

Es werden zwei Glucose-Methoden angeboten, wobei die Glucoseoxidase-Methode wegen ihrer hohen Anfälligkeit gegenüber Interferenzen nicht mehr eingesetzt werden sollte. Aus diesem Grund wird sie hier nicht mehr beschrieben.



Probenmaterial:
Serum, EDTA-, Heparin-, Oxalat-, Citrat-, Fluorid-, Fluorid/Oxalat- oder Iodacetat-Plasma

Probenverdünnung:
1 Teil Probe + 8 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:
15 bis 500 mg · dl⁻¹ bzw. 0,8 bis 27,8 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
70 bis 110 mg · dl⁻¹ bzw. 3,9 bis 6,1 mmol · l⁻¹

Interferenzen:
Hämolytische Proben sind ungeeignet. Dieser Test ist für die Prüfung auf neonatale Hypoglycämie ungeeignet.

V. Bestimmung der Glucosekonzentrationen im Blut mit Hilfe von Teststreifen und Reflektometern → 1.29

2.5 Harnsäure

Indikation

Die Bestimmung der Harnsäure-Konzentration dient zur

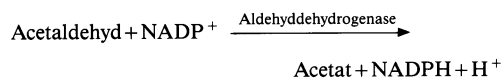
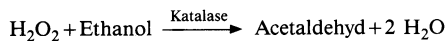
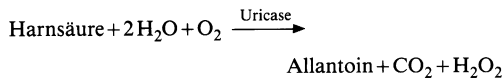
- Aufdeckung einer Gicht,
- Kontrolle der Gichtbehandlung,
- Kontrolle bei zytostatischer Therapie.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Bei Raumtemperatur ist eine leichte Abnahme zu verzeichnen. Bei Lagerung im Kühlschrank (+4 °C) kann sowohl Serum wie auch Plasma eine Woche in verschlossenen Behältern aufbewahrt werden.

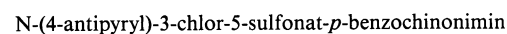
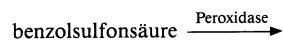
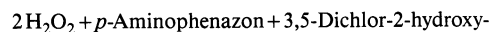
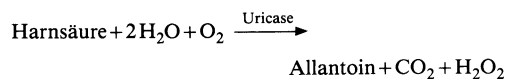
Analytik

I. Vollenzymatische UV-Methode



Die Zunahme der Extinktion (Bildung von NADPH) wird photometrisch bei 340 nm erfaßt.

II. Uricase-PAP-Methode



Dieses auf der Basis der Trinder-Reaktion ablaufende Verfahren mißt bei 546 nm die entstehende Extinktion.

Praktische Durchführung: Reagenzien

1. Harnsäure-Standard	8 mg · dl ⁻¹ bzw. 476 µmol · l ⁻¹
2. Reaktionslösung:	
Phosphatpuffer, pH 7,0	50 mmol · l ⁻¹
3,5-Dichlor-2-hydroxy-benzolsulfonsäure	4,2 mmol · l ⁻¹
4-Aminophenazon	0,3 mmol · l ⁻¹
Peroxidase	≥ 900 U · l ⁻¹
Uricase	≥ 150 U · l ⁻¹

Probenmaterial:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma
Urin (1 + 10 mit deion. Wasser verdünnen)

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Hg 546 nm oder 510 nm; Küvette: 1 cm Schichtdicke; Inkubationtemperatur: 20 bis 25 °C.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

Probe bzw. Standard (Urin 1 + 10 verdünnt)	200 µl
Reaktionslösung	1000 µl

mischen und inkubieren. Danach innerhalb von 30 Minuten die Extinktion der Probe (E_P) und ggf. des Standards (E_{St}) gegen Reagenzleerwert messen.

Berechnung:

a) mit Faktor

$$\text{Harnsäure-Konzentration} = E_P \cdot \text{Faktor}$$

Wellenlänge [nm]	Hg 546	Hg 520
Faktor:		
Serum oder Plasma	52,5	34,2 [mg · dl ⁻¹]
	3124	2035 [µmol · l ⁻¹]
Urin	577	376 [mg · dl ⁻¹]
	34364	22385 [µmol · l ⁻¹]

b) mit Standard

Serum bzw. Plasma

$$\text{Harnsäure-Konzentration [mg · dl}^{-1}] = E_P \cdot \frac{8}{E_{St}}$$

$$[\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}] = E_P \cdot \frac{476}{E_{St}}$$

Urin

$$\text{Harnsäure-Konzentration [mg · dl}^{-1}] = E_P \cdot \frac{88}{E_{St}}$$

$$[\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}] = E_P \cdot \frac{5234}{E_{St}}$$

Linearität:

bis $20 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. $1200 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Bei höheren Konzentrationen muß die Probe 1 + 4 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 5 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

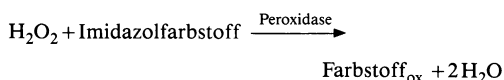
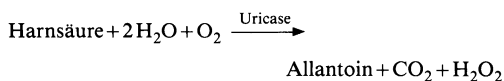
Serum bzw. Plasma: Männer: $3,4$ bis $7,0 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 200 bis $420 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$; Frauen: $2,4$ bis $5,7 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 140 bis $340 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$; Urin: 250 bis $700 \text{ mg} \cdot 24\text{h}^{-1}$ bzw. $1,5$ bis $4,5 \text{ mmol} \cdot 24\text{h}^{-1}$.

Hinweis

Hämoglobin bis zu einer Konzentration von $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ und Bilirubin bis zu einer Konzentration von $20 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. $340 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ stören den Test nicht.

III. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem



Probenmaterial:

Serum oder Heparin-Plasma

Meßbereich:

$0,5$ bis $17,0 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 30 bis $1010 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

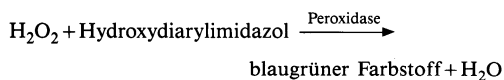
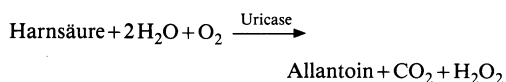
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: $2,6$ bis $6,0 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 155 bis $357 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
Männer: $3,5$ bis $7,2 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 208 bis $428 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Interferenzen:

Sehr stark hämolytische Proben verursachen eine Erniedrigung der Harnsäure-Konzentration. Bei Patienten mit einer Leukämie und Nierenversagen, die mit Allopurinol behandelt werden, kann die Xanthin-Konzentration auf Werte zwischen 85 und $230 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ansteigen. In diesem Fall muß bei Anwendung dieser Methode mit erniedrigten Harnsäure-Konzentrationen gerechnet werden.

b) Reflotron



In der Vorreaktion werden mit Hilfe von Iodat reduzierende Probenbestandteile oxidativ zerstört.

Probenmaterial:

Blut, Heparin-Blut, Serum oder Heparin-Plasma

Meßbereich:

$2,0$ bis $20,0 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 120 bis $1190 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

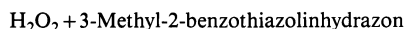
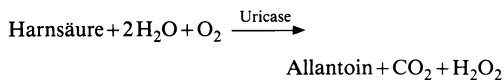
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: bis $5,7 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. bis $340 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
Männer: bis $7,0 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. bis $420 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Interferenzen:

Sehr stark hämolytische und sehr stark ikterische Proben können für die Messung nicht verwendet werden.

c) Seralyzer



Probenmaterial:

Serum

Probenverdünnung:

1 Teil Serum + 2 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:

1 bis $10 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 60 bis $600 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: $2,5$ bis $6,8 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 150 bis $410 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
Männer: $3,6$ bis $7,7 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ bzw. 215 bis $460 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Interferenzen:

Erhöhte Werte werden durch Ampicillin, Sulfonamide und hämolytische Proben verursacht. Eine erniedrigte Wiederfindung wird durch Ascorbinsäure, Intralipid und Levodopa beschrieben.

2.6 Harnstoff

Indikation

Die Bestimmung des Harnstoffes wird benötigt für die

- Diagnose und Verlaufsbeurteilung der Niereninsuffizienz,
- Überwachung der Diät bei konservativer Therapie der chronischen Niereninsuffizienz,
- Differentialdiagnose komatöser Zustände,
- zur Bestimmung der Anionenlücke.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Das Serum kann 2 Tage bei Raumtemperatur bis 22°C oder 1 Woche im Kühlschrank ($+4^\circ\text{C}$) aufbewahrt werden.

Analytik

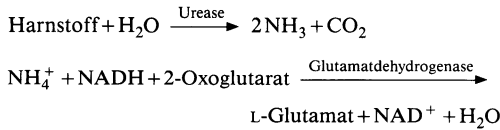
I. Berthelot-Reaktion

Harnstoff wird durch das Enzym Urease quantitativ in Ammoniumcarbonat überführt. Die gebildeten Ammoniumionen reagieren mit Phenol und Natriumhypochlorit zu einem blauen Farbstoff.

II. *Diacetylmonoxim-Methode*

In Gegenwart von Thiosemicarbazid und Eisen(III)-chlorid bildet Harnstoff mit Diacetylmonoxim einen rosa Farbstoff.

III. *Vollenzymatischer UV-Test*



Praktische Durchführung:
Reagenzien

Reaktions-Lösung:	
Tris-Puffer, pH 7,5	60 mmol · l ⁻¹
Urease	≥ 4 kU · l ⁻¹
2-Oxoglutarat	17 mmol · l ⁻¹
NADH	0,23 mmol · l ⁻¹
Glutamat-Dehydrogenase	≥ 7,5 kU · l ⁻¹
Adenosindiphosphat	1,3 mmol · l ⁻¹
EDTA	5,7 mmol · l ⁻¹

Bei + 2 bis + 8 °C 7 Tage, bei + 15 bis 25 °C 32 Stunden haltbar.

Probenmaterial:
Serum oder Plasma (kein Ammoniumheparinat-Plasma verwenden)
frischer Urin

Probenvorbereitung:
Serum bzw. Plasma 1 + 50 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnen.
frischer Urin, 1 + 500 mit deionisiertem Wasser verdünnen.

Bestimmungsansatz:
Wellenlänge: 334, 340 oder 365 nm; Küvette: 1 cm Schichtdicke; Inkubationstemperatur: + 20 bis + 25 °C; Messung gegen Reagenz-Leerwert.

In Reagenzgläser werden pipetiert:

	Reagenz-Leerwert µl	Probe µl
Serum bzw. Plasma (1 + 50 verdünnt)		
Urin (1 + 500 verdünnt)	-	100
Reaktions-Lösung	500	500

Mischen und inkubieren lassen. Nach 10 Minuten die Extinktion der Probe (*E_p*) und die Extinktion des Reagenz-Leerwertes (*E_{RL}*) gegen Wasser messen.

Berechnung:
Harnstoff-Konzentration = (*E_p* - *E_{RL}*) · Faktor

Wellenlänge [nm]	334	340	365
Faktor:			
Serum oder Plasma	148,5 24,8	146 24,3	270 [mg · dl ⁻¹] 45,0 [mmol · l ⁻¹]
Urin	146,1 2432	143,3 2386	265,5 [g · l ⁻¹] 4421 [mmol · l ⁻¹]

Linearität:
Serum bzw. Plasma: bis 180 mg · dl⁻¹ bzw. 30,0 mmol · l⁻¹; Urin: bis 180 g · l⁻¹ bzw. 3000 mol · l⁻¹.

Bei höheren Harnstoff-Konzentrationen im Urin muß die vorverdünnte Probe 1 + 1 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 2 multipliziert.

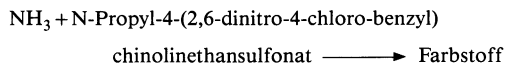
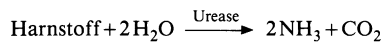
Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Serum bzw. Plasma: 10 bis 50 mg · dl⁻¹ bzw. 1,7 bis 8,3 mmol · l⁻¹; Urin: 20 bis 36 g · 24h⁻¹ bzw. 333 bis 600 mmol · 24h⁻¹.

Hinweis

Trübes, ikterisches oder hämolytisches Serum bzw. Plasma ist ungeeignet für diesen Test.

IV. *Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien*

a) *Ektachem*



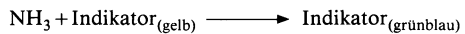
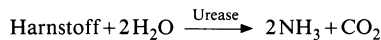
Probenmaterial:
Serum oder Heparin-Plasma, jedoch nicht Ammonium-Heparin-Plasma

Meßbereich:
2 bis 120 mg · dl⁻¹ bzw. 0,7 bis 42,7 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: 7 bis 18 mg · dl⁻¹ bzw. 2,5 bis 6,4 mmol · l⁻¹
Männer: 9 bis 21 mg · dl⁻¹ bzw. 3,2 bis 7,5 mmol · l⁻¹

Interferenzen:
Lediglich Tetracyclin führt in sehr hohen Konzentrationen, weit oberhalb des therapeutischen Bereiches, zu einer Erhöhung der Harnstoff-Konzentration.

b) *Reflotron*



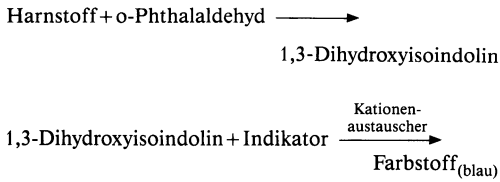
Probenmaterial:
Blut, EDTA-, Heparin-Blut, Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma, jedoch nicht Ammonium-Heparin als Antikoagulansmittel verwenden.

Meßbereich:
20 bis 300 mg · dl⁻¹ bzw. 3,3 bis 50,0 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
10 bis 50 mg · dl⁻¹ bzw. 1,7 bis 8,3 mmol · l⁻¹

Interferenzen:
Stark ikterische oder lipämische Proben verursachen eine erhöhte Wiederfindung.

c) Seralyzer

**Probenmaterial:**

Serum oder Plasma, jedoch nicht Ammonium-Heparin-Plasma

Probenverdünnung:

1 Teil Probe + 2 Teile Wasser

Meßbereich:

3 bis 28 mg · dl⁻¹ bzw. 0,5 bis 4,7 mmol · l⁻¹.

Da der Meßbereich sehr klein ist, wird bei höheren Konzentrationen eine weitere (4fach) Verdünnung erforderlich.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

8 bis 26 mg · dl⁻¹ bzw. 1,3 bis 4,3 mmol · l⁻¹.

Interferenzen:

Amikacin führt zu einer erniedrigten Wiederfindung. Sehr stark hämolytische Proben verursachen eine Erhöhung der Harnstoff-Werte. Bei Patienten, die mit Sulfonamiden bzw. mit Cotrimoxazol-Sulfamethoxazol behandelt wurden, konnten ebenfalls erhöhte Harnstoff-Konzentrationen beobachtet werden.

2.7 Kalium

Indikation

Die Bestimmung der Kalium-Konzentration wird benötigt für

- Überwachung von Infusionstherapien, Schock, Herz-Kreislaufinsuffizienz,
- Kontrolle des Säure-Basen-Haushaltes,
- Überwachung einer diuretischen Therapie und alle Formen einer Niereninsuffizienz,
- Kontrolle des Elektrolythaushaltes bei Durchfällen und Laxantienabusus.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

In verschlossenen Gefäßen ist das Kalium im Serum oder Plasma bei Raumtemperatur und im Kühlschrank über 2 Wochen stabil.

Analytik

I. *Flammenphotometrische Bestimmung: Flammenphotometrie, Theorie* → 1.26

II. *Ionenselektive Elektrode: ionenselektive Elektrode, Theorie* → 1.27

III. Photometrische Bestimmung

Nach der Enteiweißung des Serums wird das Kalium mit Tetraphenylborat-Natrium ausgefällt. Die resultierende Suspension ist stabil. Die Konzentration des Kaliums ist der Trübungszunahme proportional.

**Praktische Durchführung:
Reagenzien**

Kalium-Standard-Lösung	5,00 mmol/l ⁻¹
Reagenzlösung:	
Tetraphenylborat-Natrium	10,00 mmol/l ⁻¹
Natriumhydroxid	0,50 mmol/l ⁻¹

Die gebrauchsfertige Lösung ist bei Raumtemperatur einen Monat stabil. Bei Aufbewahrung im Kühlschrank (+4 bis +8°C) erhöht sich die Haltbarkeit auf zwei Monate.

Lösung zum Enteiweißen:

Trichloressigsäure 0,3 mol/l⁻¹

Probenmaterial:

Serum

Probenvorbereitung:

100 µl Serum mit 1000 µl Trichloressigsäure gut mischen. Anschließend etwa 10 Minuten zentrifugieren.

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Hg 578 nm; Schichtdicke: 1 cm; Temperatur: +20 bis +25 °C; Messung gegen Reagenz-Leerwert.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

	Reagenz-Leerwert ml	Standard µl	Probe µl
Gebrauchsfertige Lösung	2000	2000	2000
Standard	-	200	-
Probe (klarer Überstand)	-	-	200

Standard und Überstand vorsichtig oberhalb in der Mitte der Oberfläche tropfenweise zugeben. Hierbei vorsichtig mischen. Innerhalb 1 Stunde messen.

Berechnung:

Von der Extinktion der Probe und des Standards wird die Extinktion des Reagenz-Leerwertes abgezogen. Kalium-Konzentration [mmol · l⁻¹] =

Kalium-Konzentration [mmol · l⁻¹]

$$= \frac{\text{Extinktion der Probe}}{\text{Extinktion des Standards}} \cdot 5$$

mmol · l⁻¹ = mval · l⁻¹ (gilt nur für Kalium)

Referenzintervall bzw. Normbereich:

Serum: 3,7 bis 5,6 mmol/l⁻¹

Interferenzen:

Hämolytisches Serum ist für die Bestimmung nicht geeignet.

Hinweis

Die Verwendung von Einmalartikel wird dringend empfohlen, da bereits geringe Verunreinigungen die Bestimmung stören können. Bei Zugabe des Überstandes bzw. des Standards muß die Pipettenspitze direkt oberhalb über der Mitte der Oberfläche stehen.

Probe tropfenweise zugeben. Hierdurch wird eine reproduzierbare Trübung erreicht. Spuren von Detergenzien ergeben ebenfalls Trübungen und müssen deshalb vermieden werden. Das Verfahren ist nicht spezifisch. Die Handhabung und Durchführung erfordern hohe Aufmerksamkeit. Besser sind flammenphotometrische Bestimmungen oder der Einsatz von ionenselektiven Elektroden.

IV. Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem

Potentiometrische Bestimmung mit ionenselektiver Elektrode ohne Probenverdünnung

Probenmaterial:

Plasma, Serum oder Urin (5fache Verdünnung), Lithiumheparinat und Kaliumoxalat/Natriumfluorid werden nicht als Antikoagulansmittel zur Plasma-Gewinnung empfohlen.

Meßbereich:

1,0 bis 14,0 mmol/l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

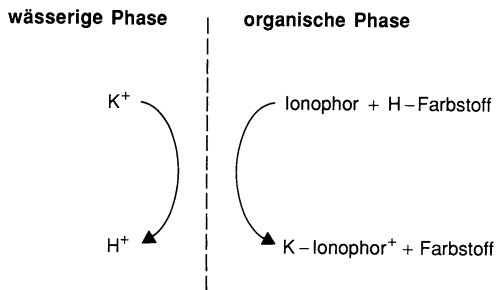
3,6 bis 5,0 mmol·l⁻¹ (Serum); 25 bis 120 mmol·l⁻¹ (Urin).

Interferenzen:

Hämolytische Proben ergeben eine erhöhte Kalium-Konzentration. Es sollte geprüft werden, ob eine intravasale Hämolyse durch Entnahmefehler vorliegt. Hohe Konzentrationen von IgM (Immunglobulin M) und CRP (C-reaktives Protein) sollen eine erhöhte bzw. erniedrigte Wiederfindung verursachen.

Bei der Konservierung von Urin dürfen Eisessig, konzentrierte Salzsäure, Toluol, Thymol, Hexamethylen-tetramin und Borsäure nicht verwendet werden.

b) Seralyzer



Dem Test liegt eine ionenselektive Reaktion zugrunde. Die Reaktion findet in der Cellulose-Matrix statt, in die eine organische Phase und die Substanzen der wäßrigen Phase eingebracht sind. Durch das Auftragen der Probe rekonstituiert sich die wässrige Phase. Das kaliumselektive Ionophor vermittelt den Transport des Kalium-Ions aus der wässrigen in die organische Phase. Die Ladungsneutralität der organischen Phase wird durch den gleichzeitigen Verlust eines Protons aus dem Farbstoff-Indikator gewährleistet. Die Protonen-Abgabe führt zu einer Absorptionsveränderung des Farbstoffes, die bei 640 nm in 5-Sekunden-Intervallen reflektometrisch gemessen werden kann.

Probenmaterial:

Serum, Natriumheparin-, Lithiumheparin- oder Dinatrium-EDTA-Plasma

Probenverdünnung:

1 Teil Probe + 2 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:

2 bis 10 mmol·l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Erwachsene: 3,5 bis 5,0 mmol·l⁻¹; Neugeborene: 5,0 bis 7,5 mmol·l⁻¹; Säuglinge (2 Tage bis 3 Monate): 4,0 bis 6,2 mmol·l⁻¹; Kinder und Jugendliche: 3,8 bis 5,0 mmol·l⁻¹

Interferenzen:

Hämolytische Seren sind ungeeignet. Hohe Proteinkonzentrationen können zu einer erhöhten Wiederfindung führen. IgA, IgM und IgG bewirken in hohen Konzentrationen erhöhte Kalium-Konzentrationen. CRP (C-reaktives Protein) in hohen Konzentrationen sowie eine stark positive Anti-Streptolysin-Reaktion, ASR, erhöht um etwa 10 % die Kalium-Werte

2.8 Natrium

Indikation

Die Bestimmung der Natrium-Konzentration ist angezeigt bei

- Störungen des Wasserhaushaltes,
- Infusionstherapien,
- Verbrennungen,
- Durchfällen,
- Herz- oder Niereninsuffizienz,
- zentralem oder renalem Diabetes insipidus,
- endokrinologischen Störungen des Salzhaushaltes, z. B. Hyperaldosteronismus.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Serum oder Plasma kann in verschlossenen Gefäßen über eine Woche im Kühlschrank aufbewahrt werden ohne Veränderung der Natrium-Konzentration.

Analytik

I. *Flammenphotometrische Bestimmung: Flammenphotometrie, Theorie* → 1.26

II. *Ionenselektive Elektrode: ionenselektive Elektrode, Theorie* → 1.27

III. Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem

Potentiometrische Bestimmung mit ionenselektiver Elektrode ohne Probenverdünnung

Probenmaterial:

Plasma, Serum oder Urin in 5facher Verdünnung Natriumheparinat und Kaliumoxalat/Natriumfluorid werden nicht als Antikoagulansmittel zur Plasma-Gewinnung empfohlen.

Meßbereich:

75 bis 250 mmol·l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Serum oder Plasma: 136 bis 143 mmol·l⁻¹; Urin:

1 bis 50 mmol·l⁻¹ bzw. 40 bis 220 mmol·h⁻¹ bzw. 27 bis 287 mmol·24h⁻¹.

Interferenzen:

Kohlendioxid > 30 mmol·l⁻¹ kann eine erniedrigte Wiederfindung verursachen. Über den Einfluß von Triglyceriden liegen unterschiedliche Angaben vor. Teilweise wird eine verminderte Wiederfindung ab 800 mg·dl⁻¹ angegeben, andere Untersucher haben bis 3000 mg·dl⁻¹ keine Störung beobachtet. Die Bestimmung ist abhängig vom pH-Wert der Probe. Im pH-Bereich 6,6 bis 8,6 wird keine Störung angegeben. Der Normalbereich liegt zwischen 7,35 bis 7,42. Bei der Konservierung von Urin dürfen Eisessig, konzentrierte Salzsäure, Toluol, Thymol, Hexamethylen-tetramin und Borsäure nicht verwendet werden, sie führen zu erhöhten Natriumwerten. Hohe Calcium-Werte > 50 mg·dl⁻¹ ergeben ebenfalls eine Erhöhung.

2.9 Triglyceride

Indikation

Die Bestimmung der Triglyceride wird eingesetzt zur

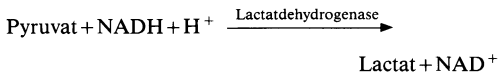
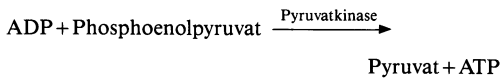
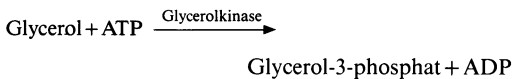
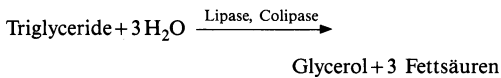
- Früherkennung eines Arteriosklerosisrisikos,
- Klassifikation einer Hyperlipoproteinämie,
- Kontrolle diätetischer und medikamentöser lipid-senkender Therapie.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Möglichst nur frische Proben verwenden, da endogene Lipasen die Triglyceride abbauen können.

Analytik

I. Vollenzymatische UV Methode



Praktische Durchführung: Reagenzien

Reagenz A:	
Phosphatpuffer, pH 7,6	100 mmol·l ⁻¹
NADH	0,18 mmol·l ⁻¹
Pyruvatkinase	≥ 2 kU·l ⁻¹
Lactatdehydrogenase	≥ 1,5 kU·l ⁻¹
Mg ²⁺	1,3 mmol·l ⁻¹
Lipase	≥ 1 kU·l ⁻¹
Phosphoenolpyruvat	0,3 mmol·l ⁻¹
Rinderalbumin	1,6 g·l ⁻¹
Adenosintriphosphat	0,35 mmol·l ⁻¹

Die Haltbarkeit beträgt bei +15 bis 25 °C etwa 32 Stunden, bei Aufbewahrung im Kühlschrank (+2 bis +8 °C) 5 Tage.

Reagenz B:
Glycerolkinase ≥ 20 kU·l⁻¹

Probenmaterial:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Hg 334 nm, 340 oder Hg 365 nm; Küvette: 1 cm Schichtdicke; Inkubationstemperatur: 25 °C; Messung gegen Proben-Leerwert.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

	Proben-Leerwert µl	Probe µl	Reagenz-Leerwert µl
Probe	20	20	-
Wasser	-	-	20
Reagenz A	1000	1000	1000
Reagenz B	-	10	10

Mischen und 10 Minuten bei 25 °C inkubieren lassen. Extinktion von Proben-Leerwert (E_{PL}), Reagenz-Leerwert (E_{RL}) und Probe (E_P) gegen deionisiertes Wasser messen.

Berechnung:

$$E_P - E_{PL} = E_1$$

$$E_1 - E_{RL} = E$$

$$\text{Triglycerid-Konzentration} = E \cdot \text{Faktor}$$

Wellenlänge [nm]	334	340	365
Faktor	737 8,33	723 8,17	1341 [mg·dl ⁻¹] 15,15 [mmol·l ⁻¹]

Linearität:

bis 550 mg·dl⁻¹ bzw. 6,2 mmol·l⁻¹

Bei höheren Konzentrationen muß die Probe 1 + 2 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 3 multipliziert.

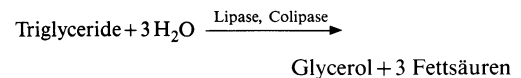
Referenzintervall bzw. Normalbereich:

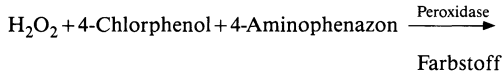
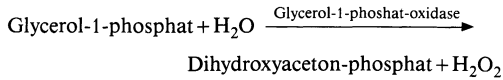
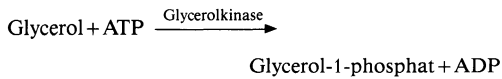
Zur Erkennung des Risikofaktors Hypertriglyceridämie werden folgende Grenzbereiche empfohlen: verdächtig ab 150 mg·dl⁻¹ bzw. 1,71 mmol·l⁻¹ erhöht ab 200 mg·dl⁻¹ bzw. 2,29 mmol·l⁻¹

Hinweis

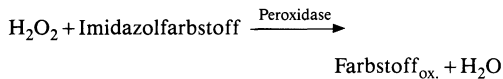
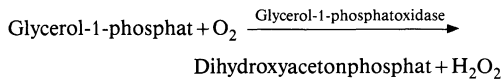
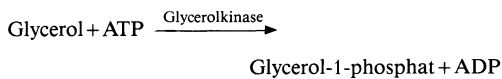
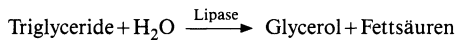
Häufig werden vom berechneten Wert für Triglyceride 10 mg·dl⁻¹ für das sogenannte freie Glycerol abgezogen. Dieses vereinfachte Vorgehen ist für Kontrollseren nicht zulässig.

II. GPO-PAP-Methode





III. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien
a) Ektachem



Probenmaterial:
Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma

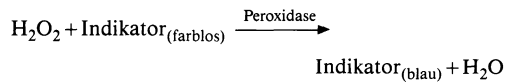
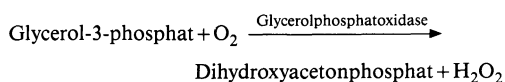
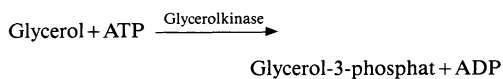
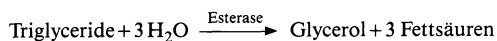
Meßbereich:
10 bis 575 mg · dl⁻¹ bzw. 0,1 bis 6,6 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
35 bis 160 mg · dl⁻¹ bzw. 0,4 bis 1,8 mmol · l⁻¹

Interferenzen:
Stark lipämische Proben sollten vor der Analyse verdünnt werden. Diese Seren zeigen sonst eine verlangsamte Bildung des gewünschten Farbstoffes. Hieraus würde eine erniedrigte Triglycerid-Konzentration folgen.

Hinweis
Diese Methode erfaßt auch das freie Glycerol.

b) Reflotron



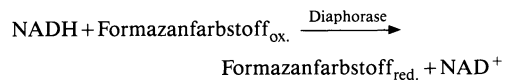
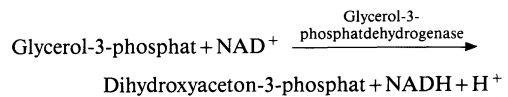
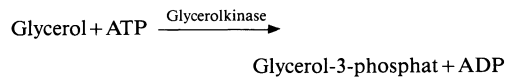
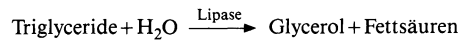
Probenmaterial:
Blut, EDTA-, Heparin-Blut, Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma

Meßbereich:
70 bis 600 mg · dl⁻¹ bzw. 0,8 bis 6,9 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
< 200 mg · dl⁻¹ bzw. < 2,3 mmol · l⁻¹

Interferenzen:
Stark hämolytische Seren können eine erhöhte Wiederfindung verursachen.

c) Seralyzer



Probenmaterial:
Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma

Probenverdünnung:
1 Teil Probe + 8 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:
40 bis 500 mg · dl⁻¹ bzw. 0,45 bis 5,7 mmol · l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
20 bis 180 mg · dl⁻¹ bzw. 0,2 bis 2,1 mmol · l⁻¹

Interferenzen:
Hämolytische Seren verursachen eine Erhöhung des Meßwertes.

2.10 Enzyme

2.10.1 α-Amylase

Indikation
Die Bestimmung der Amylase-Aktivität wird benötigt

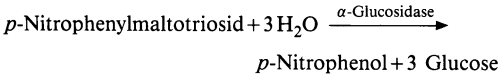
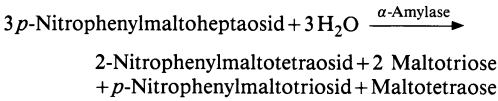
- zum Nachweis und Ausschluß einer akuten Pankreatitis bei akuten Oberbauchschmerzen,
- beim Rezidiv einer chronischen Pankreatitis,
- bei der obstruktiven chronischen Pankreatitis,
- bei der Parotitis und zwar bei P. epidemica, marantischer oder alkoholinduzierter Parotitis.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

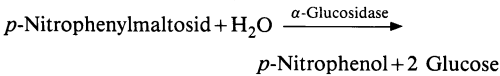
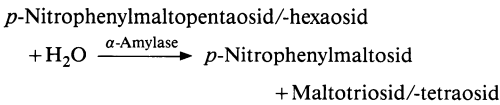
Kein Aktivitätsverlust im Serum oder Plasma innerhalb von einer Woche bei Lagerung im Kühlschrank bei +2 bis +8 °C oder bei +15 bis +25 °C. Die Haltbarkeit im Urin wird mit 10 Tagen bei Lagerung bei +15 bis +25 °C angegeben.

Analytik

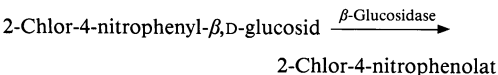
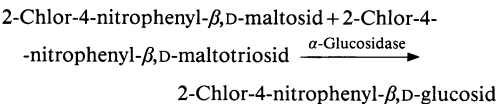
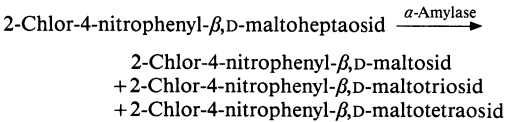
I. *Kontinuierlich messendes Verfahren, Substrat: p-Nitrophenylmaltoheptaosid*



II. *Kontinuierlich messendes Verfahren, Substrat: p-Nitrophenylmaltopentaosid/-hexaosid*



III. *Kontinuierlich messendes Verfahren, Substrat: 2-Chlor-4-Nitrophenyl-β, D-maltoheptaosid*



Praktische Durchführung:
Reagenzien

Reaktions-Lösung:	
Phosphat-Puffer, pH 6,8	51 mmol·l ⁻¹
Kaliumchlorid	51 mmol·l ⁻¹
α-Glucosidase	± 81,6 kU·l ⁻¹
2-Chlor-4-Nitrophenyl-β, D-maltoheptaosid	1,53 mmol·l ⁻¹
β-Glucosidase	± 2,55 kU·l ⁻¹

Bei +2 bis +7 °C 36 Stunden, bei +15 bis +25 °C 8 Stunden haltbar.

Probenmaterial:

Serum, Heparin-Plasma, Urin (EDTA-Plasma ist ungeeignet)

Probenvorbereitung:

Urin 1 + 2 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnen.

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: 405 nm; Schichtdicke: 1 cm; Meßtemperatur: 25, 30 oder 37 °C.

In eine Küvette werden pipettiert:

	25 °C, 30 °C	37 °C
Probe (Urin 1 + 2 verdünnen)	20 µl	10 µl
Reaktionslösung	1000 µl	1000 µl

Mischen und nach 5 Minuten die Extinktionszunahme jede Minute, 3 Minuten lang, messen.

Berechnung:

$$\text{Enzymaktivität [U} \cdot \text{l}^{-1}] = (\Delta E \cdot \text{min}^{-1}) \cdot F$$

Temperatur	25, 30 °C	37 °C
Faktor		
Serum, Plasma	4595	9099
Urin	13785	27297

Linearität:

Serum oder Plasma: bis 735 U·l⁻¹ (25 °C, 30 °C) bzw. bis 1455 U·l⁻¹ (37 °C); Urin: bis 2205 U·l⁻¹ (25 °C, 30 °C) bzw. bis 4367 U·l⁻¹ (37 °C).

Bei höheren Aktivitäten muß die Probe 1 + 10 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnter Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 11 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

	25 °C	30 °C	37 °C
Serum oder Plasma	bis 120 U·l ⁻¹	bis 160 U·l ⁻¹	bis 195 U·l ⁻¹
Spontanurin	bis 600 U·l ⁻¹	bis 825 U·l ⁻¹	bis 1050 U·l ⁻¹
Sammelurin (12 h)	bis 46 U·h ⁻¹	bis 60 U·h ⁻¹	bis 77 U·h ⁻¹

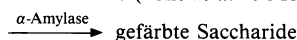
Hinweis

Speichel und Schweiß enthalten α-Amylase. Deshalb unter keinen Umständen mit dem Mund pipettieren und jeden Hautkontakt mit dem Reagenz vermeiden.

IV. *Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien*

a) *Ektachem*

gefärbte Stärke (hohe relative Molekülmasse)



(niedrige relative Molekülmasse)

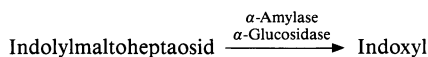
Probenmaterial:
Serum und Urin

Meßbereich:
5 bis 1200 U·l⁻¹ (37 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Serum: 30 bis 110 U·l⁻¹ (37 °C); Urin: 32 bis 641 U·l⁻¹ (37 °C).

Interferenzen:
Bisher nicht bekannt. Speichel-oder Schweiß-Kontamination führt zu einer Erhöhung der Amylase-Aktivität.

b) Reflotron



Indoxyl + Diazoniumsalz → lila Farbstoff

Probenmaterial:
Serum, Blut oder Heparinplasma

Meßbereich:
17 bis 1050 U·l⁻¹ (25 °C)
22 bis 1330 U·l⁻¹ (30 °C)
60 bis 1800 U·l⁻¹ (37 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
bis 120 U·l⁻¹ (25 °C)
bis 160 U·l⁻¹ (30 °C)
bis 220 U·l⁻¹ (37 °C)

Temperaturumrechnungsfaktoren:
U·l⁻¹ (25 °C) = 0,58 · U·l⁻¹ (37 °C)
U·l⁻¹ (30 °C) = 0,74 · U·l⁻¹ (37 °C)

Interferenzen:
Bisher nicht bekannt.

Hinweis

Es stehen auch Teststreifen zur Verfügung, die nur die pankreasspezifische Amylase erfassen. Amylase, die aus Speichel stammt wird durch entsprechende monoklonale Antikörper gehemmt.

Die Referenzintervalle bzw. Normalbereiche der pankreasspezifischen Amylase werden mit bis 67 U·l⁻¹ (25 °C), bis 85 U·l⁻¹ (30 °C) und bis 115 U·l⁻¹ (37 °C) angegeben.

2.10.2 Creatin-Kinase (CK)

Indikation

Die Aktivität der Creatin-Kinase wird bestimmt bei

- Verdacht auf Herzinfarkt,
- Verdacht auf Skelettmuskelerkrankungen.

Bei Verdacht auf Herzinfarkt sollte bei erhöhter Gesamt-CK-Aktivität zusätzlich die Aktivität des Isoenzym CK-MB ermittelt werden.

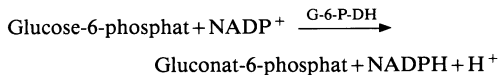
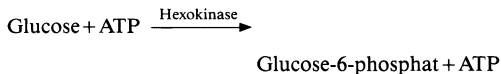
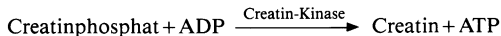
Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Die Aktivität der CK sinkt bei Lagerung rasch ab, auch wenn die Probe eingefroren ist. Hierbei sind die einzelnen Isoenzyme unterschiedlich empfindlich.

Durch den Zusatz von N-Acetylcystein kann jedoch die CK zu 98% reaktiviert werden.

Analytik

I. *Optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie*



Als Aktivator der Creatin-Kinase befindet sich N-Acetylcystein (NAC) im Testansatz. Es müssen die Bedingungen der Empfehlungen exakt eingehalten werden.

Praktische Durchführung:
Reagenzien

Reaktions-Lösung:	
Imidazol-Acetat-Puffer, pH 6,7	104 mmol·l ⁻¹
Creatinphosphat	31,2 mmol·l ⁻¹
Glucose	20,8 mmol·l ⁻¹
N-Acetylcystein	20,8 mmol·l ⁻¹
Magnesiumacetat	10,4 mmol·l ⁻¹
EDTA	2,08 mmol·l ⁻¹
Adenosindiphosphat	2,08 mmol·l ⁻¹
NADP	2,08 mmol·l ⁻¹
Adenosinmonophosphat	5,2 mmol·l ⁻¹
Adenosin(5')pentaphosphat(5')-adenosin	10,4 µmol·l ⁻¹
Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	≥ 1,6 kU·l ⁻¹
Hexokinase	≥ 2,6 kU·l ⁻¹

Bei +2 bis +7 °C 7 Tage, bei +15 bis +25 °C 12 Stunden haltbar.

Probenmaterial:
Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:
Wellenlänge: Hg 334 nm, Hg 365 nm oder 340 nm;
Schichtdicke: 1 cm; Meßtemperatur: 25 °C.

In eine Küvette werden pipettiert:

Probe	20 µl
Reaktions-Lösung	500 µl

Mischen und 3 Minuten temperieren. Danach die Extinktionszunahme jede Minute, 3, 4 oder 5 Minuten lang, messen.

Berechnung:

Enzymaktivität [U·l⁻¹] = (ΔE · min⁻¹) · F

Wellenlänge [nm]	334	340	365
Faktor	4207	4127	7429

Linearität:
bis $1040 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$.

Bei höheren Aktivitäten muß die Probe 1 + 10 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 11 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

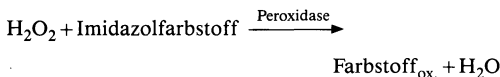
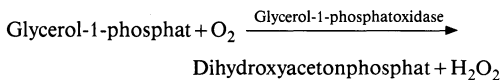
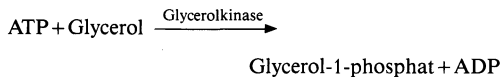
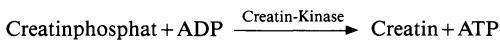
Frauen: $< 70 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$; Männer: $< 80 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$; Säuglinge (2. bis 12. Monat): $< 136 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$; Kinder (nach 12. Monat): $< 94 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$.

Hinweis

Der Test wird durch Hämolyse bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ nicht gestört. Die Reaktions-Lösung enthält N-Acetylcystein (NAC) als Reaktivator der CK in Nativserum. Intramuskuläre Injektionen von Pharmaka und geringgradige Muskeltraumen können, ebenso wie ungewohnte körperliche Anstrengung, zu einem Anstieg der CK-Aktivität führen.

II. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem



Als Farbstoff wird 2-(3,5-Dimethoxy-4-hydroxyphenyl)-4,5-bis(4-dimethylaminophenyl)-imidazol verwendet. Die Creatin-Kinase wird in der Verteilerschicht durch N-Acetylcystein aktiviert.

Probenmaterial:
Serum oder Heparin-Plasma

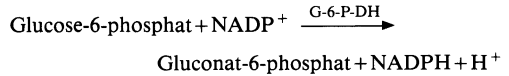
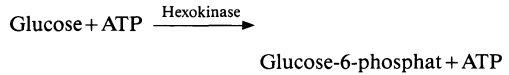
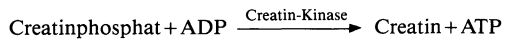
Meßbereich:
20 bis $1800 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37°C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: 35 bis $230 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37°C); Männer: 57 bis $374 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37°C).

Interferenzen:

Es wird eine Störung durch Hämolyse ab $3 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ beschrieben; andere Autoren berichten keine Störung bis $10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. EDTA, Kaliumoxalat und Natriumfluorid sind zur Plasmagewinnung ungeeignet. Die Makro-CK wird mit diesem Test nur unvollständig erfaßt.

b) Seralyzer



Als Aktivator der Creatin-Kinase befindet sich N-Acetylcystein (NAC) im Teststreifen. Myokinase-Inhibitoren verhindern eine Störung der Bestimmung durch dieses Enzym.

Probenmaterial:
Serum oder Heparinplasma

Probenverdünnung:
1 Teil Probe + 8 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:
10 bis $1000 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37°C) bzw. 4 bis $400 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (25°C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
32 bis $204 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37°C) bzw. 13 bis $82 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ (25°C)

Interferenzen:

Hämolytische Seren sind ab einer Hämoglobin-Konzentration $> 3 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ungeeignet, es resultieren erniedrigte Creatin-Kinase-Werte. Myokinase stört erst ab $1000 \text{ U} \cdot \text{l}^{-1}$ und verursacht eine erhöhte Wiederfindung. EDTA ist als Antikoagulans-Mittel zur Plasma-Gewinnung ungeeignet.

2.10.3 γ -Glutamyl-Transpeptidase (γ -GT)

Indikation

Die Bestimmung der γ -Glutamyl-Transpeptidase-Aktivität erfolgt bei

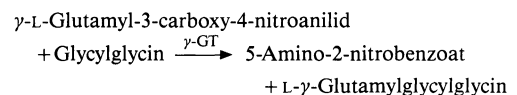
- Leber- und Gallenwegserkrankungen,
- chronischer Mißbrauch von Medikamenten und Alkohol,
- arbeitsmedizinischer Untersuchung auf längere Exposition von Lösungsmitteln.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Die Lagerung von Serum in verschlossenen Gefäßen über 7 Tage bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank führt zu keiner meßbaren Abnahme der Ausgangsaktivität.

Analytik

1. Kinetischer Test nach Szasz



**Praktische Durchführung:
Reagenzien****Reaktions-Lösung:**

Tris-Puffer, pH 8,25	110 mmol·l ⁻¹
Glycylglycin	110 mmol·l ⁻¹
L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid	4,44 mmol·l ⁻¹

Bei +2 bis +7 °C 10 Tage, bei +15 bis +25 °C 3 Tage haltbar.

Probenmaterial:
Serum oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:
Wellenlänge: 405 nm; Schichtdicke: 1 cm; Meßtemperatur: 25 °C; Temperierung der Reagenzien auf +25 °C.

In eine Küvette werden pipettiert

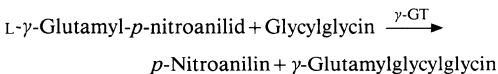
Probe	50 µl
Reaktions-Lösung	500 µl

Mischen und nach etwa 1 Minute die Extinktionszunahme jede Minute, 3 Minuten lang, messen.

Berechnung:
Enzymaktivität [U·l⁻¹] = (E·min⁻¹)·1158

Linearität:
bis 230 U·l⁻¹. Bei höheren Aktivitäten muß die Probe 1 + 5 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 6 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: 4 bis 18 U·l⁻¹
Männer: 6 bis 28 U·l⁻¹

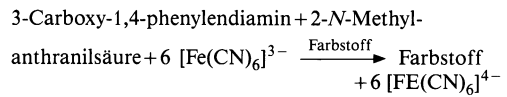
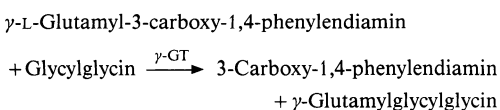
II. Analytik mit trägergebundenen Reagenzien**a) Ektachem**

Probenmaterial:
Serum, EDTA oder Heparin-Plasma

Meßbereich:
5 bis 1400 U·l⁻¹ (37 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
8 bis 78 U·l⁻¹ (37 °C)

Interferenzen:
Hämolytische Proben mit einer Hämoglobin-Konzentration > 1,5 g·l⁻¹ führen zu erniedrigten γ-GT-Aktivitäten. Kaliumoxalat und Natriumfluorid werden nicht zur Plasmagewinnung empfohlen

b) Reflotron

Probenmaterial:
Blut, EDTA-, Heparin-Blut, Serum, EDTA- oder Heparin-Plasma

Meßbereich:
2,8 bis 2000 U·l⁻¹ (25 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: 4 bis 18 U·l⁻¹ (25 °C)
Männer: 6 bis 28 U·l⁻¹ (25 °C)

Interferenzen:
Hämatokritwert > 55 % ergeben erniedrigte γ-GT-Aktivitäten, Hämolytische Proben, Hämoglobin > 2,5 g·l⁻¹, und ikterische Proben, Bilirubin > 5 mg·dl⁻¹, verursachen eine erniedrigte Wiederfindung.

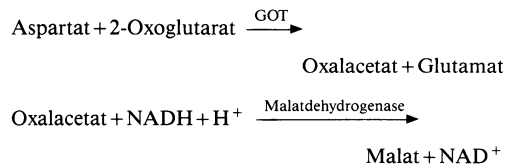
**Glutamat-Oxalacetat-Transferase (GOT)
bzw. Aspartat-Aminotransferase (AST)****Indikation**

Die Bestimmung der GOT-Aktivität wird durchgeführt bei

- akuten und chronischen Lebererkrankungen,
- Herzinfarkt,
- Muskelerkrankungen.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Die GOT-Gesamtaktivität bleibt im Serum bei +4 °C mindestens 4 Tage stabil, wenn das Probenmaterial in verschlossenen Gefäßen aufbewahrt wird. Bei Lagerung im Gefrierschrank (-20 °C) ist sie über einen Monat stabil.

Analytik**I. Optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie****Praktische Durchführung:
Reagenzien****Reaktions-Lösung:**

Phosphat-Puffer, pH 7,4	96 mmol·l ⁻¹
L-Aspartat	240 mmol·l ⁻¹
2-Oxoglutarat	14,4 mmol·l ⁻¹
NADH	0,216 mmol·l ⁻¹
Lactat-Dehydrogenase	≥ 1,44 kU·l ⁻¹
Malat-Dehydrogenase	≥ 0,72 kU·l ⁻¹

Bei +15 bis +25 °C 6 Stunden haltbar.

Probenmaterial:
Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:
Wellenlänge: Hg 334 nm, Hg 356 nm oder 340 nm;
Schichtdicke: 1 mm; Meßtemperatur: 25 °C;
Temperierung der Reaktions-Lösung auf +25 °C.

In eine Küvette werden pipettiert

Probe	100 µl
Reaktions-Lösung	500 µl

Mischen und nach etwa 1 Minute die Extinktionsabnahme jede Minute, 3 Minuten lang, messen.

Berechnung:
Enzymaktivität [$\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$] = $(\Delta E \cdot \text{min}^{-1}) \cdot F$

Wellenlänge [nm]	334	340	365
Faktor	971	952	1765

Linearität:
bis 152 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$

Bei höheren Aktivitäten muß die Probe 1 + 10 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 11 multipliziert.

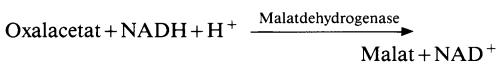
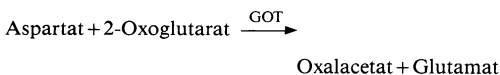
Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: 5 bis 15 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$; Männer: 5 bis 17 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$.

Hinweis

Hämolyse täuscht erhöhte Werte vor, da die GOT-Aktivität in den Erythrozyten etwa 40fach höher ist als im Serum. Bei hochaktiven Seren kann durch vorzeitigen NADH-Verbrauch eine sehr geringe oder kleine Aktivität vorgetäuscht werden. Wenn das eingesetzte Serum nicht lipämisch ist, zeigen derartige Testansätze eine geringe Anfangsextinktion. Zur Kontrolle sollte in diesem Fall die Analyse mit verdünnter Probe wiederholt werden.

II. Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem



Es erfolgt eine Aktivierung mit Pyridoxal-5-Phosphat.

Probenmaterial:
Serum oder Heparin-Plasma

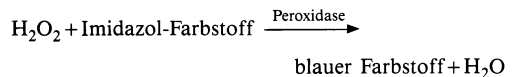
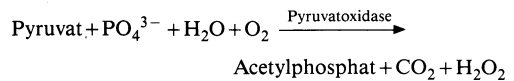
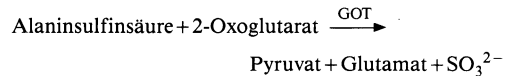
Meßbereich:
3 bis 1000 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
5 bis 35 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$ (37 °C)

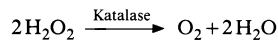
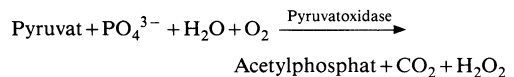
Interferenzen:

Hämolytische Proben mit einer Hämoglobin-Konzentration $> 2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ führen zu erhöhten GOT-Aktivitäten. EDTA, Kaliumoxalat und Natriumfluorid werden nicht zur Plasma-Gewinnung empfohlen. Proben von Patienten mit multiplen Myelom, deren Gesamt-Protein $> 120 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ist, können erhöhte GOT-Werte mit diesem Verfahren aufweisen. In diesem Fall muß die Probe 1 + 1 mit physiologischer Kochsalz-Lösung oder mit 7%iger Albumin-Lösung verdünnt werden.

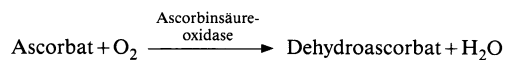
b) Reflotron



Pyruvat-Eliminationsreaktion



Ascorbinsäure-Eliminationsreaktion



Probenmaterial:
Blut, Heparin-Blut, Serum oder Heparin-Plasma

Meßbereich:
2,7 bis 1060 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$ (25 °C)

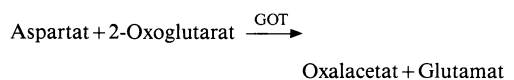
Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: bis 15 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$ (25 °C); Männer: bis 18 $\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$ (25 °C).

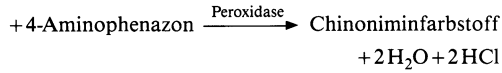
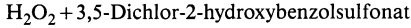
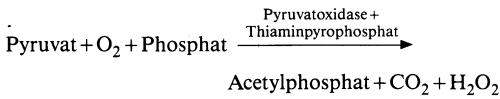
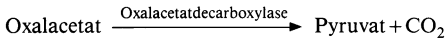
Temperaturumrechnungsfaktoren:
von 25 °C auf 37 °C: 2,22; von 37 °C auf 25 °C: 0,45.

Interferenzen:

Hämolytische Proben, deren Hämoglobin-Konzentration $> 0,2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ist, zeigen eine erhöhte Wiederfindung. Methyl dopa in sehr hohen Konzentrationen (außerhalb des therapeutischen Bereiches) kann zu einer Erniedrigung der GOT-Aktivität führen.

c) Seralyzer





Probenmaterial:

Serum, EDTA oder Heparinplasma

Probenverdünnung:

1 Teil Probe + 2 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:

20 bis 250 U·l⁻¹ (37°C) bzw. 9 bis 116 U·l⁻¹ (25°C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: bis 43,5 U·l⁻¹ (37°C); Männer: bis 44,5 U·l⁻¹ (37°C); (Werte für 25°C sind nicht angegeben).

Interferenzen

Hämolytische Seren sind ab einer Hämoglobin-Konzentration > 0,2 g·l⁻¹ ungeeignet, es resultieren erhöhte GOT-Aktivitäten. Ascorbinsäure kann schon in niedrigen Konzentrationen (5 mg·l⁻¹) zu erniedrigten Werten führen.

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) bzw. Alanin-Aminotransferase (ALT)

Indikation

Die Bestimmung der GPT-Aktivität wird durchgeführt bei

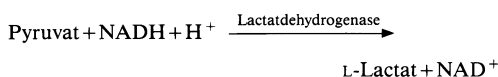
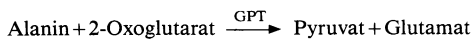
- akuten und chronischen Lebererkrankungen,
- Herzinfarkt.

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Bei Lagerung im Kühlschrank (+4°C) bleibt die Aktivität im Serum mindestens 3 Tage voll erhalten. Das Einfrieren kann nicht empfohlen werden.

Analytik

I. Optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie



Praktische Durchführung:
Reagenzien

Reaktions-Lösung:

Phosphat-Puffer, pH 7,4	96 mmol·l ⁻¹
L-Alanin	960 mmol·l ⁻¹
2-Oxoglutarat	21,6 mmol·l ⁻¹
NADH	0,216 mmol·l ⁻¹
Lactat-Dehydrogenase	≥ 1,44 kU·l ⁻¹

Bei 15 bis 25°C 6 Stunden haltbar.

Probenmaterial:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Hg 334 nm, Hg 365 nm oder 340 nm;
Schichtdicke: 1 cm; Meßtemperatur: 25°C; Temperaturierung der Reaktions-Lösung auf +25°C.

In eine Küvette werden pipettiert:

Probe	100 µl
Reaktions-Lösung	500 µl

Mischen und nach etwa 1 Minute die Extinktionsaufnahme jede Minute, 3 Minuten lang, messen.

Berechnung:

$$\text{Enzymaktivität [U·l}^{-1}] = (\Delta E \cdot \text{min}^{-1}) \cdot F$$

Wellenlänge [nm]	334	340	365
------------------	-----	-----	-----

Faktor	971	952	1765
--------	-----	-----	------

Linearität:

bis 152 U·l⁻¹.

Bei höheren Aktivitäten muß die Probe 1 + 10 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt werden. Mit diesem verdünnten Material ist die Bestimmung zu wiederholen. Das Ergebnis wird mit 11 multipliziert.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

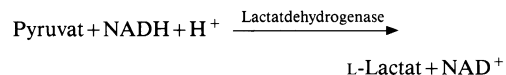
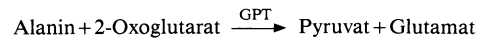
Frauen: 5 bis 19 U·l⁻¹; Männer: 5 bis 23 U·l⁻¹.

Hinweis

Hämolyse täuscht erhöhte Werte vor, da die GPT-Aktivität in den Erythrozyten etwa 7fach höher ist als im Serum. Bei hochaktiven Seren kann durch vorzeitigen NADH-Verbrauch eine sehr geringe oder keine Aktivität vorgetäuscht werden. Wenn das eingesetzte Serum nicht lipämisch ist, zeigen derartige Testansätze eine geringe Anfangsextinktion. Zur Kontrolle sollte in diesem Fall die Analyse mit verdünnter Probe wiederholt werden.

II. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem



Es erfolgt eine Aktivierung mit Pyridoxal-5-phosphat.

Probenmaterial:
Serum oder Heparin-Plasma

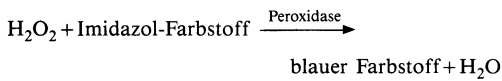
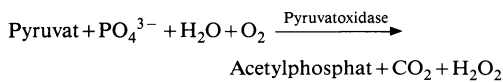
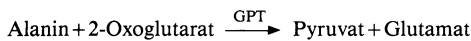
Meßbereich:
3 bis 1000 U·l⁻¹ (37 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
7 bis 56 U·l⁻¹ (37 °C)

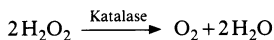
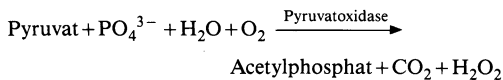
Interferenzen:

Hämolytische Proben mit einer Hämoglobin-Konzentration > 0,5 g·l⁻¹ führen zu erniedrigten GPT-Aktivitäten. EDTA, Kaliumoxalat und Natriumfluorid werden nicht zur Plasma-Gewinnung empfohlen. Proben von Patienten mit multiplem Myelom, deren Gesamt-Protein > 120 g·l⁻¹ ist, können erhöhte GPT-Werte mit diesem Verfahren aufweisen. In diesem Fall muß die Probe 1 + 1 mit physiologischer Kochsalz-Lösung oder mit 7%iger Albumin-Lösung verdünnt werden.

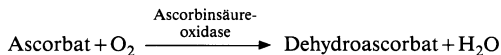
b) *Reflotron*



Pyruvat-Eliminationsreaktion



Ascorbinsäure-Eliminationsreaktion



Probenmaterial:
Blut, Heparin-Blut, Serum oder Heparin-Plasma

Meßbereich:
2,7 bis 1060 U·l⁻¹ (25 °C)

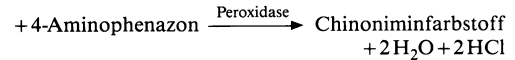
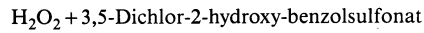
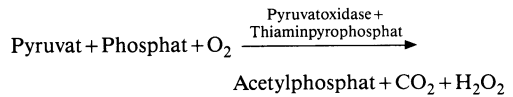
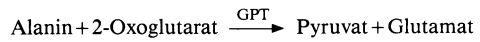
Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: bis 17 U·l⁻¹ (25 °C); Männer: bis 22 U·l⁻¹ (25 °C).

Temperaturumrechnungsfaktoren:
von 25 °C auf 37 °C: 1,9; von 37 °C auf 25 °C: 0,53.

Interferenzen:

Hämatokritwerte > 50% ergeben erniedrigte GPT-Resultate. Hämolytische Proben, deren Hämoglobin-Konzentration > 2 g·l⁻¹ ist, zeigen eine erniedrigte Wiederfindung. Methyl dopa in sehr hohen Konzentrationen, außerhalb des therapeutischen Bereiches, kann zu einer Erniedrigung der GPT-Aktivität führen. EDTA ist zur Plasma-Gewinnung ungeeignet.

c) *Seralyzer*



Probenmaterial:
Serum oder Heparinplasma

Probenverdünnung:
1 Teil Probe + 2 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:
10 bis 400 U·l⁻¹ (37 °C) bzw. 5 bis 200 U·l⁻¹ (25 °C)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
Frauen: bis 35 U·l⁻¹ (37 °C); Männer: bis 40 U·l⁻¹ (37 °C); (Werte für 25 °C sind nicht angegeben).

Interferenzen:

Hämolytische Seren ab einer Hämoglobin-Konzentration > 0,2 g·l⁻¹ und Proben, die Metamizol, EDTA, Gentsisinsäure oder mit lipidklärenden Mitteln versetzt worden sind, dürfen nicht am Seralyzer für die Bestimmung der GPT-Aktivität eingesetzt werden. Über eine mögliche Störung durch Ascorbinsäure liegen nicht genügend Daten vor, jedoch sollten solche Proben nicht analysiert werden. Bei Proben mit erhöhten Pyruvat-Konzentrationen kann es zu Fehlmessungen kommen, die jedoch vom Gerät erkannt werden. Diese Proben sollten dann mit einem anderen Verfahren analysiert werden. Eingefrorene Plasmaproben eignen sich ebenfalls nicht zur Bestimmung am Seralyzer.

3 Hämatologische Blutuntersuchungen

Die hämatologische Bewertung des Blutes beruht auf Zellzählungen, Bestimmung der Konzentration von Hämoglobin und des Hämatokritwertes sowie der Beurteilung des gefärbten oder zytochemisch behandelten Blutaussstriches.

Es werden hier nur die Bestimmungen eines Minimalprogrammes beschrieben, welches die Zählung von Erythrozyten und Leukozyten, das Differentialblutbild, den Hämatokritwert und die Konzentration des Hämoglobins beinhalten soll. Der Kliniker bezeichnet die Kombination aus der Konzentrationsbestimmung des Hämoglobins, die Ermittlung des Hämatokritwertes und die Bestimmung der Leukozyten- und Erythrozytenzahl als „Kleines Blutbild“. Wird zu den vorgenannten Untersuchungen noch das Differentialblutbild gewünscht, spricht man vom „Großen Blutbild“.

3.1 Zellzählungen

Für die Zellzählung stehen heute vollmechanisierte Analysengeräte zur Verfügung. Diese kommen jedoch nicht im kleinen Labor zum Einsatz, da der Anschaffungspreis noch sehr hoch ist und die Anzahl der Bestimmungen sich in einem Rahmen bewegt, der den Kauf eines vollmechanisierten Analysengerätes nicht rechtfertigt. Aber auch im großen Labor, insbesondere bei pathologischen Befunden, muß auf das Zellzählverfahren mittels Mikroskop und Zählkammer zurückgegriffen werden.

Kammerzählung

Prinzip der Kammerzählung:

Als erste Stufe muß das Blut verdünnt werden. Hierbei erfolgt eine Konservierung der zu zählenden Zellen. Andere Zellen, die nicht ausgezählt werden sollen, können sich in dieser Lösung zum Teil auflösen. Die zweite Stufe beschreibt die Füllung der Kammer, während in einer dritten Stufe die Zellen in einem definierten Volumen ausgezählt werden können. Als vierte Stufe erfolgt die Berechnung nach der Formel

$$\frac{\text{Zahl der gezählten Zellen} \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Volumen der Auszählung}}$$

Die berechnete Zellzahl wird auf 1 µl bzw. auf 1 l bezogen.

Probenmaterial:

Zur Durchführung der Zellzählung wird EDTA-Venenblut oder Kapillarblut empfohlen. Da die Abnahmetechnik des Kapillarblutes nicht einfach ist (→ 1.8), sollte das mit EDTA antikoagulierte Venenblut vorgezogen werden. Entsprechende Röhrchen sind käuflich zu erwerben. Das Blut ist gut mit dem EDTA zu vermischen, damit keine Gerinnsel entstehen können.

Probenvorbereitung:

EDTA-Blut ist grundsätzlich vor der Untersuchung, gut mindestens 5 Minuten, auf einem Rollenmischer zu mischen, da sonst nicht reproduzierbare Werte erhalten werden.

Verdünnung des Blutes:

Für die Verdünnung des Blutes zur Zählung der Erythrozyten und Leukozyten werden verschiedene Lösungen und speziell geeichte Pipetten verwendet (Abb. 7.22).

Zuerst wird das Blut bis zur Marke 0,5 in der Pipette aufgenommen, danach erfolgt die Füllung mit Ver-

dünnungslösung bis zur Marke 11 bei Leukozyten bzw. bis zur Marke 101 bei Erythrozyten. Durch kräftiges Schütteln z. B. auf einem Rüttler können die Zellen in die Mischkammer, d. h. zwischen der Marke 1 und 11 bei der Leukozytenpipette bzw. 1 und 101 bei der Erythrozytenpipette gemischt werden. Im Auslauf der Pipette befindet sich bis zur Marke 1 reines Verdünnungsmittel. Für die Berechnung des Verdünnungsfaktors muß deshalb der Verteilungsraum, bei der Leukozytenpipette das Volumen 10 bzw. bei der Erythrozytenpipette das Volumen 100, berücksichtigt werden.

Neubauer-Zählkammer

Die Messung des Volumens in der Zählkammer basiert auf dem Zählnetz des Kammerbodens und einem präzise eingehaltenen Abstand zwischen dem Deckglas und dem Boden der Kammer. Der Abstand zwischen dem Deckglas und dem Boden der Kammer ist nur garantiert, wenn ein völlig planes d. h. geschliffenes Deckglas eingesetzt wird und das Deckglas auf den Stegen beiderseits gut haftet. Das Anhaften ist an den Newtonschen Farbringen zu erkennen. Zu diesem Zweck muß das Deckglas gut gereinigt sein. Die Stege werden leicht angefeuchtet. Das Deckglas wird mit einer Schiebebewegung angedrückt. Das Netz für die Zählung ist in der Abb. 7.23 dargestellt.

Füllung der Zählkammer:

Vor der Befüllung der Zählkammer muß die Verdünnung gut gemischt sein, indem in Längsrichtung der Pipette geschüttelt wird. Die ersten 2 bis 3 Tropfen, die blutfreie Verdünnungsflüssigkeit enthalten, müssen verworfen werden. Danach setzt man die Pipettenspitze am Rand des Deckglases auf den Boden der Kammer auf, und die Flüssigkeit kann in die Kammer einfließen. Die Kammer soll mindestens 3 Minuten stehen gelassen werden. Die Zeit ist notwendig, damit die Zellen auf den Boden der Kammer sedimentieren können.

Durchführung der Zählung:

Für jede Zellsorte werden bestimmte Quadrate gezählt. Damit die Auszählung einem bestimmten Volumen entspricht, soll folgendermaßen vorgegangen werden:

Alle Zellen, die sich vollständig innerhalb des ausgezählten Quadrates befinden, ohne Berührung der Begrenzungslinien, sollen gezählt werden. Zusätzlich werden alle Zellen, die zwei aneinanderstoßende Begrenzungslinien berühren, gezählt. Die Abb. 7.24 gibt eine Hilfestellung und Muster einer Zählung wieder.

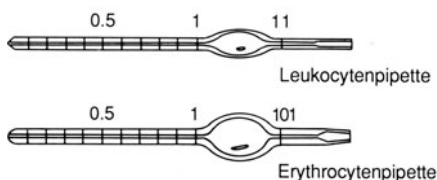


Abb. 7.22 Pipetten für die Blutzählung

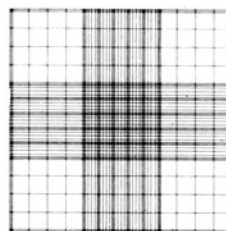


Abb. 7.23 Zählnetz

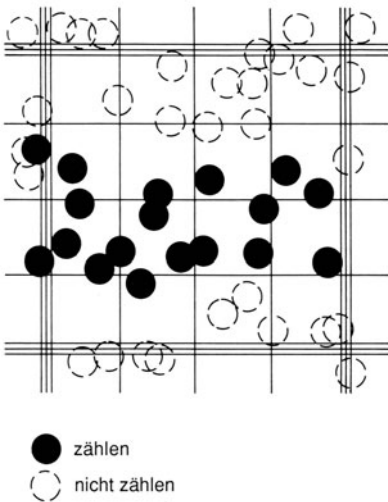


Abb. 7.24 Zählung der Blutzellen in der Zählkammer. Ausgezählt wird das Feld der beiden mittleren Querreihen. Bei der Zählung werden die Zellen, die völlig innerhalb der Grenzen liegen, sowie alle Zellen, die die linke und untere Begrenzungslinie (bei der dreifachen Linie die mittlere) berühren, berücksichtigt. Sämtliche Zellen, die die obere und rechte Begrenzungslinie berühren, wurden weggelassen.

3.2 Erythrozytenzahl

Indikation

Die Bestimmung der Erythrozytenzahl wird zur Diagnostik oder Verlaufskontrolle von

- Anämien und Polyzythämie,
- bei hämatologischen und Tumorerkrankungen,
- Vorsorgeuntersuchungen eingesetzt.

Prinzip

Die Bestimmung der Erythrozytenzahl wird heute überwiegend mit elektronischen Zählgeräten durchgeführt. Es ist wesentlich schneller und genauer als das alte Zählkammerverfahren. Da für das kleine Labor der Kauf eines Hämatologie-Gerätes oft zu teuer ist, soll hier das Zählkammerverfahren kurz beschrieben werden.

Das Blut wird mittels einer geeichten Erythrozytenpipette (Abb. 7.22) aufgenommen und mit Hayemischer-Lösung verdünnt. Die Erythrozytenverdünnung wird in eine Neubauer-Zählkammer (Abb. 7.25) gefüllt. Man zählt in einem definierten Volumen die Erythrozyten aus.

Probenmaterial:

EDTA-Blut, vorzugsweise Venenblut

Probenvorbereitung:

Vor der Untersuchung müssen die Erythrozyten resuspendiert werden.

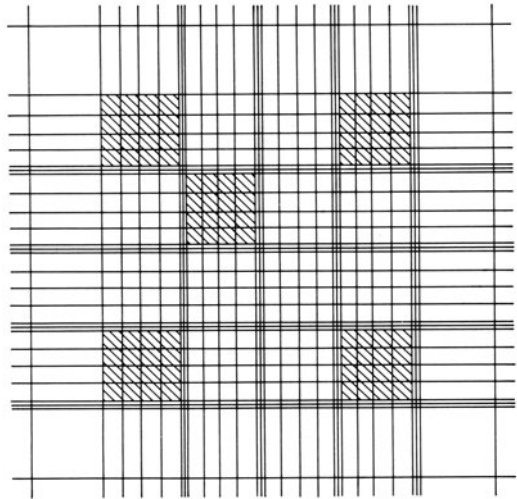


Abb. 7.25 Inneres Achsenkreuz der Zählkammer nach Neubauer. Die 5 Gruppenquadrate mit je 6 Grundquadraten, über denen die Erythrozyten ausgezählt werden sollen, sind schräg schraffiert.

Reagenzien:

Hayemische-Lösung → Kapitel Alte Reagenzien

Quecksilber(II)-chlorid	0,25 g
Natriumsulfat	2,5 g
Natriumchlorid	0,5 g
Deionisiertes Wasser	zu 100,0 ml

Geräte:

1. Geeichte Erythrozytenpipette
2. Neubauer-Zählkammer
3. Geschliffenes Deckglas

Praktische Durchführung:

Das EDTA-Blut wird mit einer geeichten Erythrozytenpipette bis zur Marke 0,5 aufgenommen. Anschließend wird mit Hayemischer-Lösung bis zur Marke 101 nachgefüllt. Nach kräftigem Schütteln sind die ersten Tropfen des Pipetteninhalts zu verwerfen und danach sofort in die vorbereitete Zählkammer zu füllen. Bei der Vorbereitung der Zählkammer ist darauf zu achten, daß auf den Haftstellen des Deckglases beiderseits der eigentlichen Kammer Newton-Ringe zu sehen sind. Bei einer etwa 250fachen Vergrößerung ist 2 bis 3 Minuten nach der Befüllung der Kammer mit der Auszählung zu beginnen. Man zählt 5 Gruppen à 16 kleinste Quadrate der Neubauer-Kammer aus (Abb. 7.25).

Die Abb. 7.26 zeigt einige typische Formen der Erythrozyten auf.

Berechnung:

Zählergebnis · 10000 = Erythrozyten · μl^{-1} .

Aus der Erythrozytenzahl, der Konzentration des Hämoglobins und dem Hämatokritwert lassen sich die Erythrozytenindices errechnen.

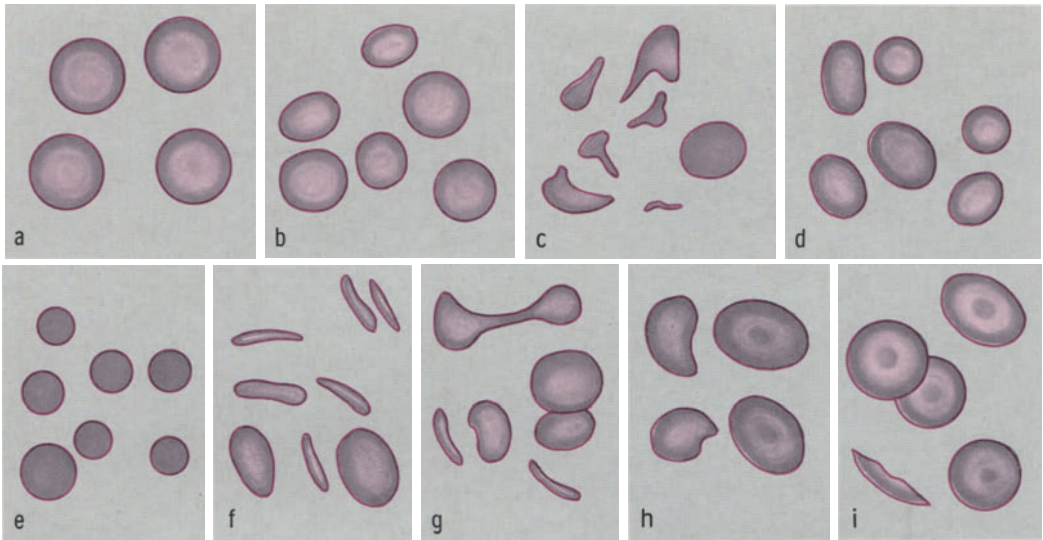


Abb. 7.26 Normale und pathologische Formen der Erythrozyten, a) Normale Erythrozyten, b) Anisozytose, c) Poikilozytose, d) Anulozyten bei Eisenmangelanämie, e) Mikrosphärozytose bei Kugelzellenanämie, f) Elliptozytose, g) Sichelzellen, h) Megalozyten bei perniziöser Anämie, i) Schießscheibenzellen (Target-Zellen). Aus [2]

Tabelle 7.17a Referenzintervall bzw. Normalbereiche

Alter	Erythrozytenzahl ($10^6 \cdot \mu\text{l}^{-1}$)	MCV ($\text{fl} = \mu\text{m}^3$)	MCH (pg)	MCHC ($\text{g} \cdot \text{dl}^{-1}$)
Neugeborene (1. bis 4. Tag)	4,5 bis 5,8	108 bis 123	34 bis 40	30,1 bis 33,8
Neugeborene (1. bis 2. Woche)	4,3 bis 5,5	102 bis 126	33 bis 39	30,0 bis 34,2
Neugeborene (2. bis 4. Woche)	3,5 bis 4,7	100 bis 116	33 bis 40	32,2 bis 35,8
Säuglinge	3,2 bis 3,9	86 bis 106	30 bis 36	31,9 bis 36,7
Ältere Kinder	3,5 bis 5,2	83 bis 96	28 bis 34	32,2 bis 36,2
Frauen	3,8 bis 5,2	81 bis 100	26 bis 34	31,4 bis 35,8
Männer	4,4 bis 5,9	81 bis 100	27 bis 34	31,5 bis 36,3

mittleres Zellvolumen MCV:

$$\frac{\text{Hämatokrit}}{\text{Erythrozytenzahl } (10^6 \cdot \mu\text{l}^{-1})} \cdot 1000$$

mittleres Zellhämoglobin MCH:

$$\frac{\text{Hämoglobin } (\text{g} \cdot \text{dl}^{-1})}{\text{Erythrozytenzahl } (10^6 \cdot \mu\text{l}^{-1})} \cdot 10$$

mittlere korpuskulare Hämoglobinkonzentration MCHC:

$$\frac{\text{Hämoglobin } (\text{g} \cdot \text{dl}^{-1})}{\text{Hämatokrit}}$$

Referenzintervall bzw. Normalbereiche:
(Tabelle 7.17a)

Da im hohen Alter die Konzentration des Hämoglo-

bins deutlich abnimmt, muß deshalb auch mit einem Rückgang der Erythrozyten gerechnet werden.

Störungen und Fehler:

Als häufigste Fehlerquelle werden ungeeichte Pipetten, feuchte Pipetten, ungenügend geschüttelte Pipetten, nicht trockene und nicht fettfreie Kammern, ungenaues Aufziehen der Pipette und Luftblasen in der Pipette oder der Kammer genannt.

3.3 Leukozytenzahl

Indikation

Die Bestimmung der Leukozytenzahl wird zur Diagnose oder Therapieüberwachung von

- Infektionen und Entzündungen,
- Tumorerkrankungen, insbesondere Leukämie,
- Knochenmarksdepressionen,
- Infarkten, Verbrennungen, Vergiftungen,
- allgemeinen Blutverlusten eingesetzt.

Prinzip

Heute wird die Bestimmung der Leukozytenzahl überwiegend mit elektronischen Zählgeräten durchgeführt. Diese arbeiten schneller und genauer als das alte Zählkammerverfahren. Da für das kleine Labor der Kauf eines Hämatologie-Gerätes oft zu teuer ist, soll hier das Zählkammerverfahren kurz beschrieben werden.

Das Blut wird mittels einer Leukozytenpipette aufgenommen und mit einer Farblösung, der Türkschen-Lösung, verdünnt. Hierbei werden die Erythrozyten lysiert. Die Kerne der Leukozyten färben sich violett. Die Leukozytenverdünnung wird in eine Neubauer-Zählkammer gefüllt. Man zählt die vier äußeren großen Quadrate aus.

Probenmaterial:

EDTA-Blut, vorzugsweise Venenblut in Ausnahmefällen Kapillarblut.

Reagenzien:

Türksche-Lösung:	
Essigsäure	1,0 ml
1%ige wässrige Gentianaviolettlösung	1,0 ml
Deionisiertes Wasser	zu 100,0 ml

Geräte:

1. Geeichte Leukozytenpipette
2. Neubauer-Zählkammer
3. Geschliffenes Deckglas

Praktische Durchführung:

In die geeichte Leukozytenpipette (Abb. 7.22) wird Blut bis zur Marke 0,5 und anschließend Türksche-Lösung bis zur Marke 11 aufgezogen. Hierdurch entsteht eine Verdünnung von 1:20. Nach kräftigem Mischen die Zählkammer befüllen (→ Zellzählung, 3.1).

Auswertung:

Bei einer 100fachen Vergrößerung, etwa 2 bis 3 Minuten nach der Befüllung der Kammer, mit der Auszählung beginnen.

Gezählt werden im allgemeinen 4 Felder von je 1 mm^2 (= je 16 Quadrate von je 0,25 mm Seitenlänge). Über jedem Quadrat befindet sich $0.1 \mu\text{l}$ Flüssigkeit, was bei einer Pipettenverdünnung von $1:10 = 1/100 \mu\text{l}$ Blut entspricht. Genauer als die Zählung von 4 Feldern in einer Kammer (Abb. 7.27) ist die Auszählung von je 2 Feldern bei verschiedenen Kammerfüllungen.

Berechnung:

Werden z. B. die vier großen Eckquadrate der Kammer ausgezählt, dann resultiert ein Zählvolumen von $4 \cdot 10 \mu\text{l}^{-1}$, das Resultat errechnet sich nach der Formel:

$$\frac{\text{ausgezählte Leukozyten} \cdot 10 \cdot 20}{4}$$

$$= \text{ausgezählte Leukozyten} \cdot 50 = \text{Leukozyten} \cdot \mu\text{l}^{-1}$$

$$\text{ausgezählte Leukozyten} \cdot 5 \cdot 10^7 = \text{Leukozyten} \cdot \text{l}^{-1}$$

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Alter	Leukozyten $\cdot \mu\text{l}^{-1}$
Neugeborene bei der Geburt	9000 bis 30000
Neugeborene 2 Wochen alt	5000 bis 20000
Kinder 1 bis 3 Jahre	6000 bis 17500
Kinder 4 bis 7 Jahre	5500 bis 15500
Kinder 8 bis 13 Jahre	4500 bis 13500
Erwachsene	4300 bis 10000

Hinweis

Die Leukozytenzählung unterliegt einer erheblichen intraindividuellen Variabilität. Die relative Standardabweichung (Variationskoeffizient) liegt beim manuellen Verfahren der Kammerzählung bei ca. 10%, während mit vollmechanisierten Verfahren 3 bis 4% erreicht werden können.

Fehlermöglichkeiten:

Als häufigste Fehlerquelle werden ungeeichte Pipetten, feuchte Pipetten, ungenügend geschüttelte Pipetten, nicht trockene und nicht fettfreie Kammern, ungenaues Aufziehen der Pipette und Luftblasen in der Pipette oder Kammer genannt.

3.4 Differentialblutbild**Indikation**

Das Differentialblutbild wird zur Diagnostik oder Verlaufskontrolle von

- Leukozytosen und Leukopenien,
- Infektionen,
- hämatologischer und malignen Erkrankungen,
- Anämien

benötigt.

Prinzip

Das Differentialblutbild stellt die im speziell angefärbten Blutaussstrich ermittelte prozentuale Verteilung der kernhaltigen Zellen, d. h. der Leukozyten und ggf. auch Erythrozyten und pathologischen Zellformen dar. Es erfolgt eine Bewertung durch Auszählung

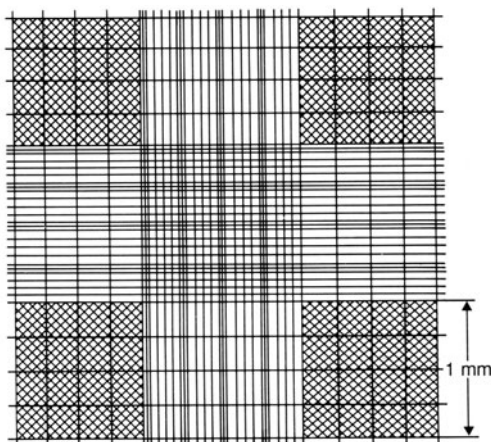


Abb. 7.27 Netzeinteilung der Zählkammer nach Neubauer. Die vier großen Eckquadrate, über denen die Leukozyten ausgezählt werden sollen, sind schräg schraffiert.

len von mindestens 100 Zellen unter gleichzeitiger Beurteilung der Erythrozytenqualität (Form, Größe und färberisches Verhalten).

Probenmaterial:

EDTA-Venen- oder Kapillarblut

Benötigte Materialien

1. *Saubere Objektträger*. Das bedeutet eine Entfettung durch 24stündiges Einlegen in Spiritus, Abtrocknen mit einem sauberen Tuch und Nachreiben mit dem Fensterleder. Als Schnellmethode genügt ausnahmsweise das kräftige Abreiben mit Ethanol 96% (V/V) und Trockenreiben mit einem Tuch.

2. *May-Grünwald-Lösung* (0,3 g Methylblau eosin in 100 ml Methanol)

3. *Giemsa-StammLösung* (1,0 g Azur-B-Eosin in 100 ml Methanol)

4. *Giemsa-Lösung* (1 Teil Giemsa-StammLösung mit 19 Teilen deionisiertes Wasser für die Färbung des Ausstrichpräparates mischen)

5. *Geschliffenes Deckglas*. Die Farblösungen enthalten leicht flüchtiges Methanol, aus diesem Grund müssen die Lösungen gut verschlossen aufbewahrt werden. Im Handel sind auch bereits mit Farbstoff beschichtete Objektträger erhältlich, die den Färbeprozess ersparen und für eine gleichmäßige Färbung sorgen.

Ausstrichtechnik:

Mittels einer Lanzette wird die Fingerkuppe punktiert (→ Kapillarblutentnahme, 1.8.). Der erste Tropfen Blut wird abgewischt. Der nächste Tropfen wird durch leichtes Berühren auf den Objektträger, der nur

an den Rändern anzufassen ist, genommen. EDTA-Venenblut als Ausgangsmaterial ist besser geeignet, wenn es vor dem Auftragen mindestens 5 Minuten auf einem Rollmischer gemischt worden ist. Der Blutropfen soll an dem einen Ende des Objektträgers haften. Danach wird der Objektträger auf eine feste Unterlage gelegt. Der Blutropfen wird mit einem sauberen, geschliffenen Deckglas, das in einem Winkel von 40 bis 45 Grad angesetzt wird, gestrichen, daß ein gleichmäßiger, vierseitiger randfreier Blutausschlag entsteht. Das Deckglas wird zunächst von links her langsam an den Blutropfen herangeführt, so daß dieser sich entlang der Kante des Glases verteilen kann (Abb. 7.28). Je steiler der Winkel zwischen Deckglas und Objektträger, um so dicker, je kleiner der Winkel, um so dünner wird der Blutausschlag. Der Ausschlag wird am besten, wenn man schnell und gleichmäßig ausstreicht. Am Ende des Ausstriches soll ein rundes „Fähnchen“ entstehen (b).

Der so angefertigte Blutausschlag soll möglichst rasch getrocknet werden. Hierzu den Objektträger an den Kanten anfassen und kurz in der Luft schwenken. Eine künstliche Erwärmung ist zu vermeiden. Zu langsame Trocknung läßt Zeit für die osmotische Verschiebung von Wasser aus den schrumpfenden Erythrozyten in das eindickende Plasma. Die schrumpfenden Erythrozyten erscheinen später als Stechapfelformen. Das an der Luft getrocknete Präparat wird auf seiner Schmalseite, Schicht nach unten, schräg aufgestellt. Zum Schutz vor Fliegenfraß und Staubeinwirkung soll das ungefärbte Präparat in einer Schublade mit der aufgetragenen Schicht nach oben aufbewahrt werden.

Die besten färberischen Ergebnisse werden erhalten, wenn die Ausstriche erst vollständig durchgetrocknet sind. In der Regel 4 bis 5 Stunden, am besten erst 24 Stunden nach dem Ausstreichen. In dringenden Fällen kann von dieser Regelung abweichend unmittelbar nach der Lufttrocknung die Färbung erfolgen. Die Qualität der Färbung läßt dann aber zu wünschen übrig.

Färbung:

Unter der Vielzahl an Färbemöglichkeiten hat sich die panoptische Färbung nach Pappenheim durchsetzen können. Es handelt sich hier um eine kombinierte May-Grünwald-Giemsa-Färbung.

1. Die getrockneten Ausstriche werden auf einem Färbegestell plaziert und mit frisch filtrierter, nicht verdünnter May-Grünwald-Lösung bedeckt bzw. in diese Lösung eingelegt.
2. Nach 2 Minuten läßt man die gleiche Menge deionisiertes Wasser (pH-Wert zwischen 6,8 und 7,0) zufließen und wartet weitere 2 Minuten.
3. Nun läßt man die Farblösung abfließen und spült das Präparat gut mit deionisiertem Wasser.
4. Auf einen Tupfer gelegt, erfolgt die Trocknung.
5. Die Ausstriche mit der Schichtseite nach unten in die verdünnte Giemsa-Lösung legen. Für 10 bis 15 Minuten in dieser Lösung belassen.
6. Mit deionisiertem Wasser wird jetzt das Präparat solange gespült, bis die Differenzierung komplett ist bzw. der Ausstrich den gewünschten Farbton angenommen hat.
7. Zum Trocknen werden die Ausstriche aufrecht hingestellt.

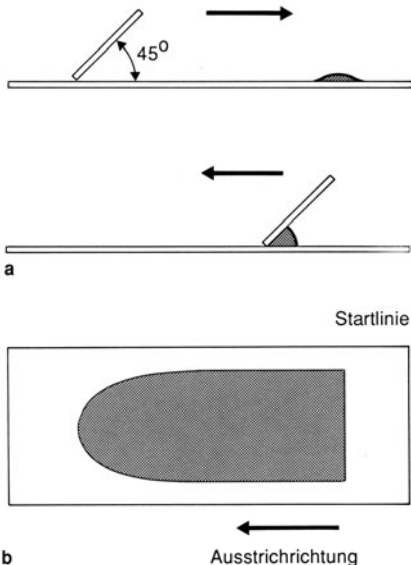


Abb. 7.28 a) Technik des Ausstriches für das Differentialblutbild, b) Aussehen bzw. Form eines Ausstriches

Der Färbeporgang kann auch durch das Einstellen der Objektträger in Küvetten, die die entsprechende Färbelösung enthalten, erfolgen.

Hinweis zur Färbung

Die Farblösungen bestehen aus einem Gemisch von sauren (Eosin) und basischen (Methylenblau, Azur-B) Farbstoffen. Chromatographisch konnten bis zu zehn verschiedene Farbstoffe, die sich in den Farblösungen gebildet hatten, nachgewiesen werden. Die Zusammensetzung und färberischen Eigenschaften der Farblösungen kann von Charge zu Charge unterschiedlich sein. Entsprechend dem Prinzip einer Säure-Basen-Reaktion erfolgt die Anlagerung der Farben an die Zellstrukturen.

Die Qualität der Färbung hängt von einer Reihe von Faktoren ab:

1. Stehen die Ausstriche zu lange vor der Färbung ergibt sich eine bläuliche Tönung des Hintergrundes.
2. Wird die Dauer der Färbung zu lange ausgedehnt, ungenügend gespült, ein zu dicker Ausstrich verwendet oder hat das Spülwasser einen zu hohen pH-Wert, dann erhält das Präparat einen Blaustich.
3. Ein Rotstich kann entstehen, wenn der pH-Wert des Wassers zu tief ist oder eine Einwirkung von Säuredämpfen auf die Farblösungen stattgefunden hat.
4. Da dem pH-Wert eine große Bedeutung zukommt, kann anstelle des Wassers auch eine Pufferlösung zum Spülen benutzt werden. Es wird u. a. der Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 6,5) oder nach Weise (pH 6,5) empfohlen.

Bewertung der gefärbten Blutausstriche:

Bei der Bewertung der gefärbten Ausstriche ist streng systematisch vorzugehen. Mit einer schwachen Vergrößerung, Objektiv 10 × oder 20 ×, sollte der gesamte Blutausstrich inspiziert werden. Hierbei erfolgt die Beurteilung der Dicke des Ausstriches. Ausstriche mit einer zu dicken Schicht zeigen Über-einanderlagerungen der Erythrozyten und oft zu kleine, weil zu wenig verstrichene, Leukozyten mit schlecht beurteilbaren Einzelheiten. Zu dünne Ausstriche zeigen verstrichene Erythrozyten mit nicht mehr bewertbaren Formen. Es soll auch auf Einzelheiten wie etwa die sogenannte Geldrollenbildung und auf Agglutination, z. B. als Folge von Kälteagglutination, geachtet werden. Bei der Inspektion wird ein guter Abschnitt für die Detailbeurteilung ausgesucht.

Mit der Ölimmersion bei einer 50fachen bzw. 100fachen Linearvergrößerung wird das Blutbild und seine Veränderungen beurteilt und die Zusammensetzung der Leukozyten in 100 oder 200 Zellen ausgezählt. Einzelheiten von ungewöhnlichen Zellen und die Morphologie der Leukozyten, z. B. Granula, müssen mit der Ölimmersion mit 100fach Vergrößerung bewertet werden. Bei der Beurteilung mit der Ölimmersion wird in einer mäanderförmigen Kurve (Abb. 7.29) vorgegangen, damit nicht eine wiederholte Inspektion bereits bearbeiteter Abschnitt des Ausstrichs erfolgt.

Da die Verteilung der weißen Blutzellen im Ausstrich nicht ganz gleichmäßig ist, soll die Detailbewertung zentrale und randständige Abschnitte des Blutausstri-

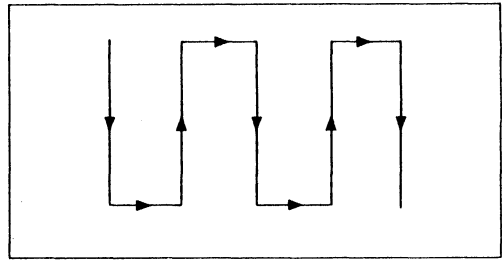


Abb. 7.29 Beurteilung gefärbter Blutausstriche

ches mit einbeziehen. Man zählt in dem Bereich, in dem die Erythrozyten dicht nebeneinander liegen. In der Tabelle 7.17 sind die Ergebnisse der Färbung auf die einzelnen Zellen dargestellt. Zum besseren Verständnis finden sich nachfolgend einige Darstellungen der Auswertung (Abb. 7.30 bis 7.32), die typische Blutzellen, insbesondere Leukozyten, aufzeigen. Damit das Verständnis für die Ausführung der Bewertung erleichtert wird, zeigt die Abb. 7.30 die im Blut vorkommenden Blutzellen und deren zytogenetische Beziehung. Die Abbildung 7.31 zeigt exemplarisch einen „normalen“ Differentialblutbildausstrich.

Tabelle 7.17 Färbeergebnis

Erythrozyten	rosa bis rot
Kerne aller Zelltypen	blau-violett
Plasma der Granulozyten	durchscheinend rosa
Neutrophile Granula	violett (staubfein)
Eosinophile Granula	ziegelrot (bläschenförmig)
Basophile Granula	kräftig violett (grob und fein)
Plasma der Lymphozyten	hellblau bis blau
Plasma der Monozyten	milchig-violett
Azurgranulation	rötlich (fein)
Jolly-Körperchen	violett (punktförmig)
Basophile Tüpfelung	tiefblau (fein)
Thrombozyten	rot-violett
Kerne von Blutparasiten und Protozoen	leuchtend rot

Hinweis

Es sollten immer mindestens 100 Leukozyten der granulozytären, monozytären und lymphatischen Reihe prozentual erfaßt und sofern kein Zählgerät vorhanden ist in ein Schema eingeordnet werden. Liegen die Prozentanteile vor, kann man bei gleichzeitiger Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl gut die Absolutwerte der einzelnen Leukozytenzahlen errechnen. Dies ist für viele klinische Fragestellungen notwendig, da nur so echte Leukopenien oder Leukozytosen erkannt werden können. Die Präzision der Differentialzählung hängt von der Gesamtzahl der ausgezählten Zellen ab.

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

	%	Leukozyten · μl
Neutrophile Granulozyten	40 bis 75	2500 bis 7500
Eosinophile Granulozyten	1 bis 6	40 bis 400
Basophile Granulozyten	0 bis 1	0 bis 100
Monozyten	2 bis 8	200 bis 800
Lymphozyten	20 bis 45	1500 bis 3500

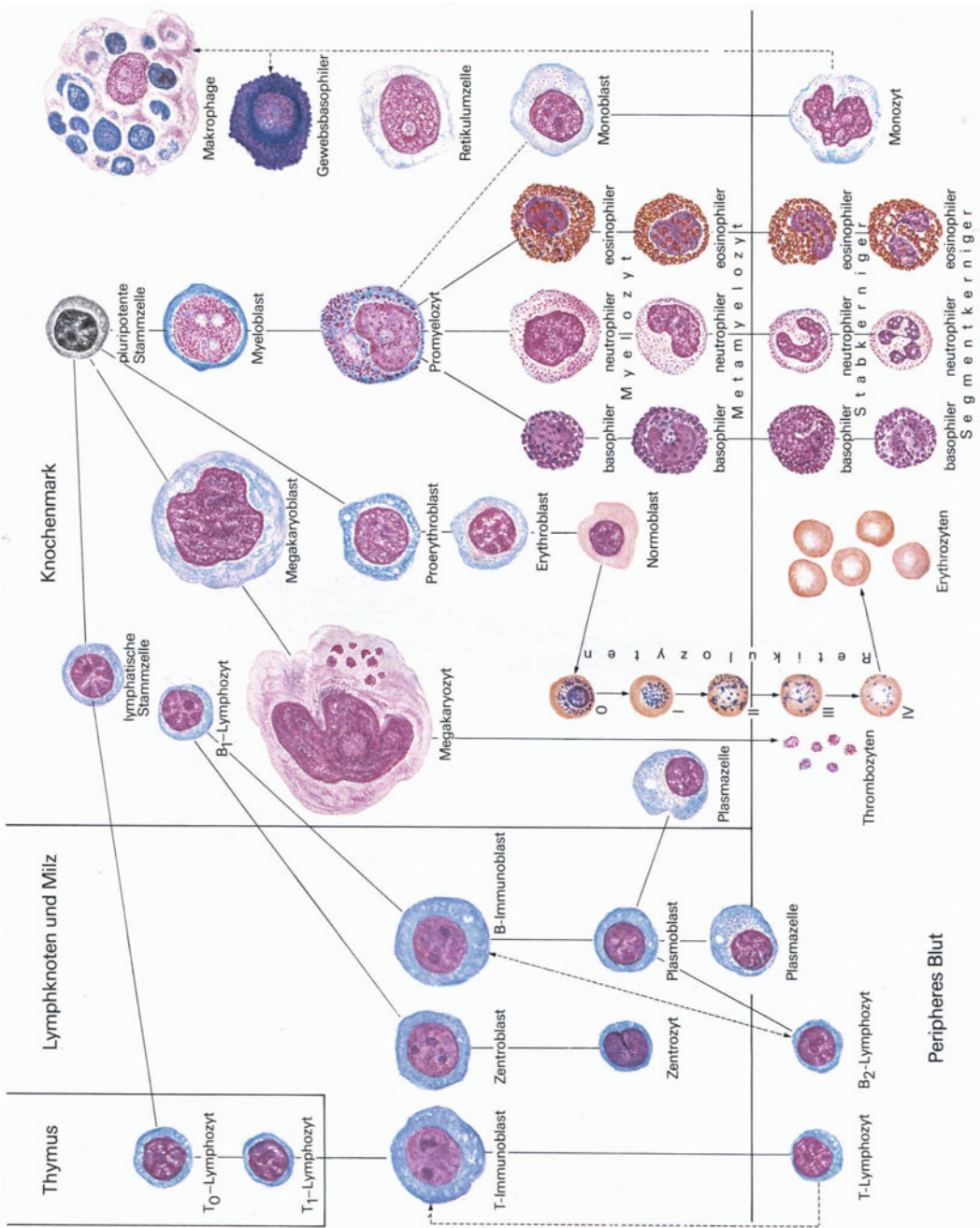


Abb. 7.30 Schematische Übersicht über verschiedene Blutzellen und ihre Vorläufer sowie ihre zytogenetische Beziehung. Aus [2]

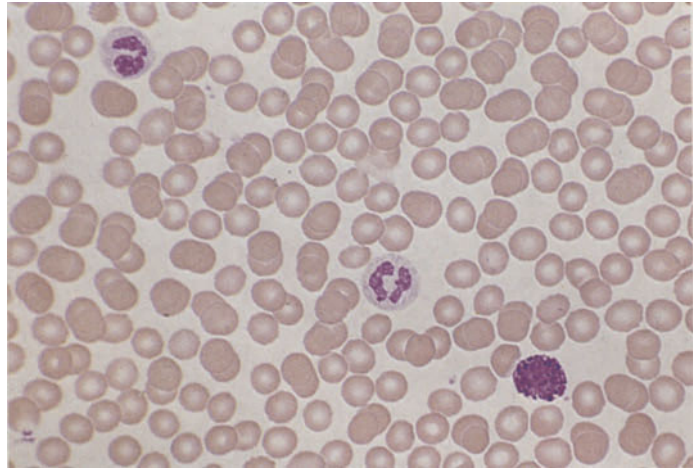


Abb. 7.31 Normales Blutbild im Hellfeld, Abdruck mit freundlicher Genehmigung der Fa. Olympus Optical, Hamburg

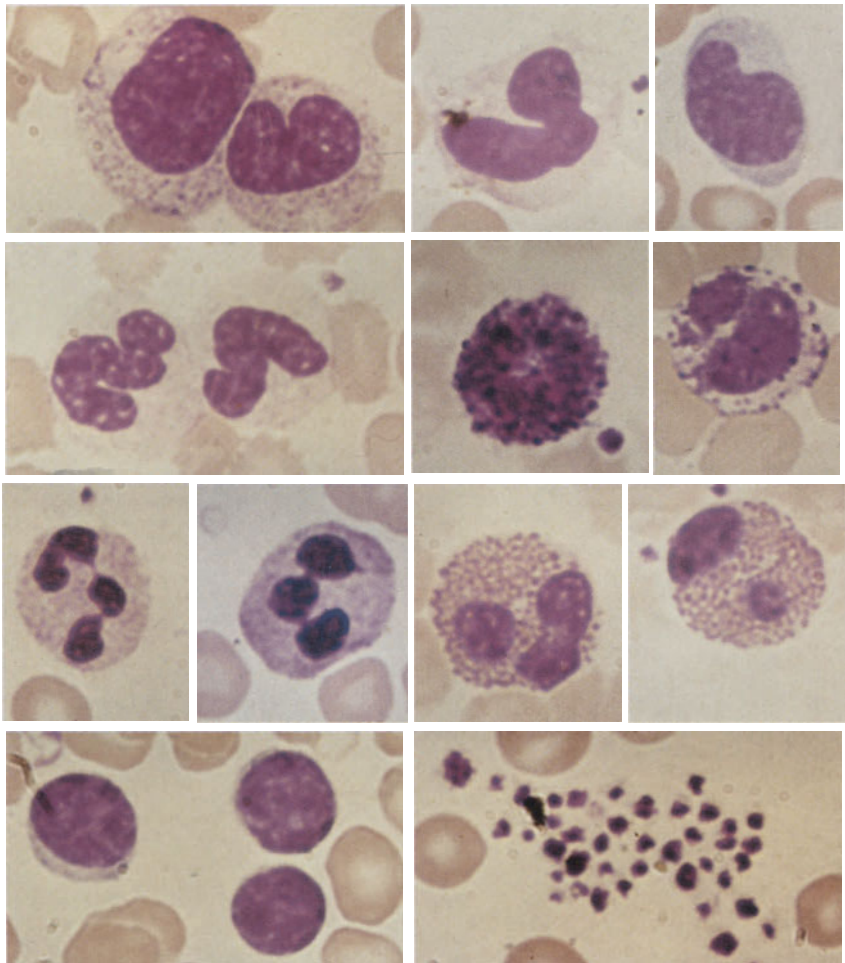


Abb. 7.32 Normale Leukozytenformen des peripheren Blutes. a jugendliche neutrophile Granulozyten (Metamyelozyten); b stabkernige neutrophile Granulozyten; c segmentkernige neutrophile Granulozyten; d Lymphozyten; e Monozyten; f basophile Granulozyten; g eosinophile Granulozyten; h Thrombozyten. Aus [12]

Tabelle 7.18 Charakteristika der normalerweise im peripheren Blut vorkommenden Leukozyten (aus Leybold K. und Grabener E. (1976) Praxis-Laboratorium, Abdruck mit freundlicher Genehmigung des G. Thieme Verlages, Stuttgart).

Zellart	Zellgröße in μm	Kern-Plasma- Relation	Kern- Form	Kern- Lage	Kern, Chromatin- gerüst	Kern, Nukleolen	Plasma, Farbe	Plasma Granulation
Lymphozyt, kleiner	8-10	schmäler Plasmaaum, oft fehlend	rund	zentral bis leicht exzentrisch	grob- schollig	nicht sichtbar	tief dunkel- blau	ganz selten violette oder rötliche azuro- phile Gr.
großer	10-25	breiterer Plasmaaum	rund, manchmal eingedellt oder bohnenförmig	leicht bis stark exzen- trisch	grob- schollig	nicht sichtbar	mittel- blau	gelegentlich violette oder rötliche azuro- phile Gr.
Granulozyt, Jugend- licher (Metamyelo- zyt)	12-18	1:2 etwa	bohnenförmig	exzentrisch	grob- schollig	\emptyset	grau- rötlich	noch etwas grobe neutro- phile, bei Eosinophilen sehr grobe rote, bei Basophilen sehr grobe blauschwarze Gr.
Stab- kerniger	10-15	1:3 etwa	stabförmig, U-oder S-förmig	exzentrisch	grob- schollig	\emptyset	grau- rötlich	reichlich fein neutrophile Gr., eosino- phile und basophile Gr., s. bei Jugendlichem
Segment- kerniger	10-15	1:4 etwa	2-4 Segmente	exzentrisch	grob- schollig	\emptyset	grau- rötlich	reichlich feine neutro- phile Gr., eosinophile und basophile Gr., s. bei Jugendlichem
Über- segment- tierter	10-15	1:4 etwa	über 4 Segmente	exzentrisch	grob- schollig	\emptyset	grau- rötlich	reichlich feine neutro- phile Gr., eosinophile und basophile Gr., s. bei Jugendlichem
Monozyt	16-20	Breit an- gelegtes Plasma. Zelle nicht immer rund	groß, oft eingebucht, gelappt, unregelmäßig geformt	nicht typisch	fein mit Verdich- tungen	nicht sichtbar	grau- blau	teilweise feine azurophile violette oder rötliche Gr.
Plasma- zelle	12-18	meist starker Plasmaaum	rund	meist exzentrisch	sehr dichte, Struktur wenige Auf- hellungen	1-3 kleine blaue	tief- blau mit verein- zelten Vakuolen	\emptyset

Tabelle 7.19 Charakteristika jugendlicher Blutzellen / Färbung nach Pappenheim, (aus: Leybold K. und Grabener E. (1976) Praxis Laboratorium, Abdruck mit freundlicher Genehmigung des G. Thieme Verlages, Stuttgart).

Zellart	Zellgröße in µm	Kern-Plasma-Relation	Kern Form	Kern Lage	Kern Chromatingerüst	Kern Nukleolen	Plasma Farbe	Plasma Granulation	Mitosen
Proerythroblast	15-20 Plasmasaum, zeigt oft Ausbuchtungen	mäßig breiter Kern mehr als Plasma geschrumpft rel. viel Plasma	rund	meist zentral	dicht feinwabig, größer als Myeloblast	meist einige verwaschene	tiefblau, sichelartige Aufhellung in Kernnähe möglich	∅	(+)
Makroblast Erythroblast)	14-18	Kern mehr als Plasma geschrumpft rel. viel Plasma	rund	meist zentral	dichter, z. T. Radspeichenstruktur	∅	hellblau, zunehmende Aufhellung in Kernnähe	∅	+
Normoblasten	14-18 mit Reifung abnehmend	nimmt mit Reifung ab	kreisrund	zentral	mit Reifung immer dichter, pyknotischer, Radspeichenform	∅	von basophil bei weiterer Reifung über polychromatisch zu oxyphil	keine bei Pappenheim-Färbung	+ außer oxyphile
Retikulozyten	7-8	kein Kern	Substantia reticulo-granulo-filamentosa = Kernchromatinreste, bei sog. Vitalfärbung mit Brillantkresylblau sichtbar (blau)				grünlich mit Brillantkresylblau	Substantia reticulo-granulo-filamentosa, s. Kern	∅
(Pro) Megaloblast	17-20 und größer	breiterer Plasmasaum	rund, groß 12-14 µm	meist zentral	fein mit Verdickungen	oft 2-3	polychromatisch	∅	
Myeloblast	15-20	ca. 3:1	häufig leicht oval	zentral	zarter als Proerythroblast	meist 2-5	hellblau bis tiefblau	∅	(+)
Promyelozyt	16-27	ca. 2:1	oval bis nierenförmig	randständig	größer als Myeloblast	nicht mehr regelmäßig	hellblau mit perinukleärer Aufhellung	feine bis plumpe rotviolette Granula	+
Myelozyt	12-20	ca. 1:1	oval bis nierenförmig	meist randständig	größer als Promyelozyt	∅	zunehmend neutrophil, z. T. blau grau bis graurot. Eos u. Baso s. rechts	a) Neutrophiler: sehr dichte, feine neutrophile Gr. b) Eosinophiler: grobe, rote Gr. c) Basophiler: grobe, schwarzblaue Gr.	++
Metamyelozyt (Jugendlicher)	12-18	ca. 1:2	eingebuchtet, nierenförmig	randständig	grobshollig	∅	neutrophil, Eos u. Baso s. rechts	wie Myelozyt	∅
Lymphoblast	12-19	mäßiger Plasmasaum	rund-oval	leicht exzentrisch	grobretikulär	1-2 helle mittelgroße	hellblau, scharf begrenzt	∅	+

Das Differentialblutbild von Neugeborenen und Erwachsenen ist sehr ähnlich, jedoch enthält das Blut von Neugeborenen mehr Erythrozytenvorstufen. Im Alter von 1 Jahr ist das Verhältnis von Neutrophilen und Lymphozyten jedoch genau umgekehrt.

3.5 Hämoglobin

Indikation

Die Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration im Blut wird bei folgenden Erkrankungen durchgeführt:

- Anämie
- Polyglobulie
- Dehydratationszuständen
- Hyperhydratationszuständen

Haltbarkeit des Analyten in der Probe

Innerhalb von 24 Stunden bestimmen

Analytik

I. Photometrische Bestimmung (Cyanhämoglobin-Methode)

Durch Kalium-Ferricyanid wird das Hämoglobin (Fe II) zu Hämglobin (Fe III) bzw. Methämoglobin oxidiert. Hämglobin wird mittels Kaliumcyanid in Cyanhämoglobin bzw. Cyanmethämoglobin überführt, welches bei der Wellenlänge 546 nm ein typisches Absorptionsmaximum aufweist.

Praktische Durchführung:

Reagenzien

Reaktions-Lösung:

Phosphatpuffer, pH 7,2	2,5 mmol·l ⁻¹
Kaliumcyanid	1,0 mmol·l ⁻¹
Kaliumhexacyanoferrat (III)	0,6 mmol·l ⁻¹
Natriumchlorid	1,5 mmol·l ⁻¹
Detergenz	0,05%

In einer dunklen Flasche aufbewahrt, ist die Lösung bei +15 bis +25 °C 4 Monate verwendbar. Wenn sie sich verfärbt oder wenn Trübungen auftreten, muß sie verworfen werden.

Probenmaterial:

Kapillarblut, EDTA-Venenblut

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Hg 546; Küvette: 1 cm Schichtdicke.

In Reagenzgläsern werden pipettiert:

Reaktions-Lösung	5000 µl
Blut z. B. mit SAHLI-Pipette oder end-to-end Kapillare	20 µl

Pipette mit dem Reaktionsgemisch ausspülen und mischen. Frühestens nach 3 Minuten die Extinktion der Probe (E_P) gegen die Reaktionslösung messen.

Berechnung:

Hämoglobin-Konzentration: [g·dl⁻¹] = E_P·36,8;
Hämoglobin-Konzentration (bezogen auf Eisen): [mmol·l⁻¹] = E_P·22,8

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: 12 bis 16 g·dl⁻¹ bzw. 7,5 bis 10,0 mmol·l⁻¹;

Männer: 14 bis 18 g·dl⁻¹ bzw. 8,7 bis 11,2 mmol·l⁻¹;
Neugeborene: 16 bis 25 g·dl⁻¹ bzw. 10,0 bis 15,5 mmol·l⁻¹;
Säuglinge: 10 bis 15 g·dl⁻¹ bzw. 6,2 bis 9,3 mmol·l⁻¹;
Kleinkinder: 11 bis 14 g·dl⁻¹ bzw. 6,8 bis 8,7 mmol·l⁻¹;
Kinder: 12 bis 16 g·dl⁻¹ bzw. 7,5 bis 10,0 mmol·l⁻¹.

Hinweis

Achtung, die Lösung enthält Cyanid. Abfall muß speziell entsorgt werden.

II. Bestimmung durch Analytik mit trägergebundenen Reagenzien

a) Ektachem

Hämoglobin $\xrightarrow{\text{Kalium-Ferricyanid}}$ Methämoglobin

Methämoglobin $\xrightarrow{\text{Kaliumcyanid}}$

Isothiocyanmethämoglobin

Probenmaterial:

Heparin-Blut

Meßbereich:

5 bis 20 g·dl⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: 12,7 bis 14,7 g·dl⁻¹; Männer: 14,4 bis 16,6 g·dl⁻¹.

Interferenzen:

Freie Fettsäure > 3 mmol·l⁻¹ führen zu erhöhten Hämoglobin-Konzentrationen. Harnsäure > 10 mg·dl⁻¹ erniedrigt die Hämoglobin-Konzentration. Kaliumoxalat/Natriumfluorid und Thymol werden nicht als Antikoagulanzmittel empfohlen.

b) Reflotron

Hämoglobin + K₃[Fe(CN)₆] → Methämoglobin

Methämoglobin + Hg(CN)₂ → Cyanmethämoglobin

Probenmaterial:

Blut, Heparin-, EDTA- oder Citrat-Blut

Meßbereich:

5,0 bis 20,0 g·dl⁻¹ bzw. 3,1 bis 12,4 mmol·l⁻¹

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Frauen: 12 bis 16 g·dl⁻¹ bzw. 7,5 bis 9,9 mmol·l⁻¹
Männer: 14 bis 18 g·dl⁻¹ bzw. 8,7 bis 11,2 mmol·l⁻¹

Interferenzen:

Fluorid als Antikoagulanzmittel wird nicht empfohlen.

c) Seralyzer

Hämoglobin + K₃[Fe(CN)₆] → Methämoglobin

Probenmaterial:

Venöses oder Kapillarblut, das mit dem Antikoagulanzmittel EDTA oder Heparin versetzt sein muß.

Probenverdünnung:

1 Teil + 80 Teile deionisiertes Wasser

Meßbereich:

5,0 bis 20,0 g·dl⁻¹

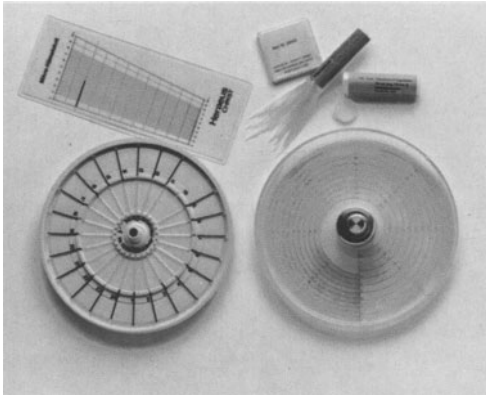


Abb. 7.33 Telleraufsatz der Hämatokritzentrifuge mit weiterem Zubehör



Abb. 7.34 Heraeus Sepatech Hämatokritzentrifuge

Referenzintervall bzw. Normalbereich:
 Frauen: 11 bis 16 g · dl⁻¹; Männer: 13 bis 18 g · dl⁻¹;
 Kinder: 10 bis 14 g · dl⁻¹

Interferenzen:
 Eine starke Lipämie sowie Bilirubin-Konzentrationen > 30 mg · dl⁻¹ führen zu erhöhten Hämoglobin-Werten.

3.6 Hämatokrit, HK

Indikation

Der Hämatokritwert wird benötigt bei der

- Diagnostik und Therapiekontrolle der Anämien oder Polyglobulie,
- Bestimmung als Rechengröße für den Erythrozytenindex MCHC,
- Diagnostik von Störungen des Wasserhaushaltes.

Bestimmung mit der Hämatokritzentrifuge

Das Blut aus dem Ohrläppchen oder aus der Fingerbeere wird in eine heparinisierte Kapillare (Hämatokritkapillare) aufgenommen (→ 1.8). Das untere Ende der Kapillare wird zum Verschluss in einen Spezialkitt gesteckt, wobei die Kapillare senkrecht zu halten ist. Die Kapillare muß in einem tellerartigen Aufsatz, der radial angeordnete Einkerbungen besitzt, eingesetzt werden. Der Aufsatz (Abb. 7.33) befindet sich in einer hochtourigen Hämatokritzentrifuge (Abb. 7.34), die für 10 Minuten auf eine Zentrifugalbeschleunigung von 10000 bis 20000*g gebracht wird. Im unteren Teil der Kapillare sedimentieren dabei die korpuskularen Blutbestandteile (z. B. Erythrozyten, Leukozyten etc.), im oberen Teil befindet sich das Plasma. In der Grenzschicht zwischen dem Plasma und den korpuskularen Blutbestandteilen zeigt sich je nach vorhandener Konzentration ein mehr oder weniger ausgeprägter weißer Saum aus Leukozyten und Thrombozyten. Die Kapillare muß zur Auswertung in ein Auswertegerät oder in eine Auswerteschablone gegeben werden (Abb. 7.35). Es wird der Anteil der gepackten roten Zellen, nicht der aller Zellen, am Gesamtvolumen der Probe bestimmt.

Probenmaterial:

Heparinisiertes Kapillarblut aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen

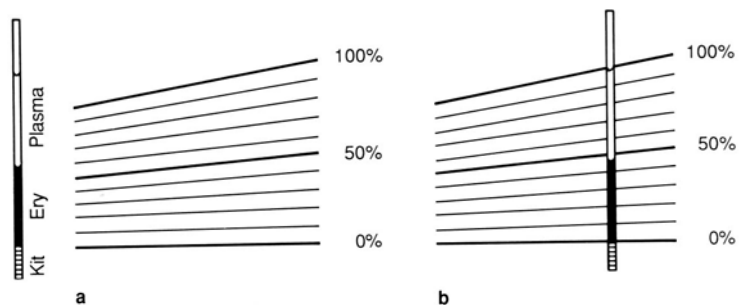


Abb. 7.35 Auswertung der Kapillare nach Zentrifugation in der Hämatokritzentrifuge, a) zentrifugiertes Heparinblut in Kapillare und Meßskala, b) Ableseposition der Kapillare (HK 44%)

Referenzintervall bzw. Normalbereich:

Neugeborene 1. bis 4. Tag:	52 bis 68%
Säuglinge 1. bis 2. Woche:	47 bis 63%
Säuglinge 2. bis 4. Woche:	38 bis 51%
Säuglinge 4. bis 12. Woche:	30 bis 38%
Säuglinge und Kinder älter 12 Wochen:	31 bis 40%
Frauen:	35 bis 47%
Männer:	40 bis 52%

Der Hämatokritwert aus dem Venenblut kann etwa 2% höher sein als aus dem Kapillarblut, weil das Erythrozytenvolumen durch CO₂-Aufnahme und pH-Wert-Senkung geringfügig zunimmt.

Interferenzen:

Sind nicht bekannt, jedoch treten Fehler beim Ableesen aus der Schablone auf. Aus diesem Grund muß auf die genaue Handhabung der Schablone hingewiesen werden.

4 Qualitative Urinanalyse

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit der qualitativen Urinanalytik. Nimmt doch die Klinische Chemie ihre Anfänge in der Harnbeschau. Außerdem läßt sich keine andere Körperflüssigkeit so relativ problemlos ge-

winnen wie der Urin. Ausgehend von der simplen Beurteilung, wie Aussehen oder Geruch, bis hin zu einfachen Teststreifen-Untersuchungen, aber auch Sediment mit mikroskopischer Auswertung sollen an dieser Stelle erwähnt werden.

Makroskopische Beurteilung:

Aus den Anfängen des Faches Klinische Chemie gibt es Berichte, bei denen die Uroskopie im Vordergrund stand. Die sogenannte Harnbeschau hatte bei der Diagnostik einen hohen Stellenwert. Diese Erkenntnisse werden heute kaum noch genutzt, jedoch ist die Beurteilung der Farbe und des Geruches auch heute von Bedeutung.

Von klinischer Relevanz ist der Geruch nach

- frischen Früchten oder Aceton beim Vorliegen einer Ketonurie,
- Dimethylsulfid (Foetor hepaticus) beim Leberkoma,
- Alkohol bei Intoxikation mit Ethanol,
- Ammoniak bei Harnwegsinfekten infolge der Spaltung des Harnstoffes durch Bakterien,
- Schwefelwasserstoff bei Harnwegsinfekten durch fäulnisproduzierende Bakterien unter einer Proteinurie.

Neben dem Geruch sollte auch die Färbung des Urins bewertet werden. Die Mehrzahl der Verfärbungen hat ihre Ursache in der Einnahme von Arzneimitteln oder Nahrungsmitteln. In der Tabelle 7.20 sind einige häufige Beispiele aufgeführt.

Tabelle 7.20 Färbungen des Urins und dessen mögliche Ursachen. (Exogene Färbungen sind sehr oft vom pH-Wert des Urins abhängig. In der Tabelle ist deshalb die Färbung im normalen pH-Bereich des Urins aufgeführt.)

Farbe	Endogene Ursachen	Exogene Ursachen			
		Verdacht auf	Arzneimittel	Nahrungsmittel	Intoxikationen/ Infektionen
farblos gelbbraun	Polyurie Bilirubin	Diabetes mellitus Ikterus	Chinin Phenolphthalein Methyldopa Nitrofurantoin	Anthrone (Rhabarber) Carotine	
braunrot	Hämoglobin Myoglobin	Hämoglobinurie Myoglobinurie	Phenacetin Phenytoin Sulfamethoxazol		
rot	Porphobilin Porphyrine (nachdunkelnd)	Porphyrie Porphrie	Deferoxamin	Betanine (rote Rüben) Rhodamin B (Speiseeis oder Zuckerglasur)	
grün	Galle		Amitriptylin		Pseudomonasinfekte Resorcin
blau schwarz	Indigotin Hämoglobin (nachdunkelnd) Melanin Homogentisat	massive Hämolyse Schwarzwasserfieber bei Malaria Melanom Alkaptonurie	Evans-Blau Levodopa (nachdunkelnd)		Phenole

Neben der Färbung muß auf eine Trübung geachtet werden. Sie kann bei einer Bakteriurie oder einer milchigen Trübung durch Leukozyturie, Chylurie oder bei der Hämaturie mit einer braunroten Trübung mit rotbraunem Sediment auftreten.

4.1 Urinstatus

Teststreifen ermöglichen eine Früherfassung von behandelbaren Erkrankungen mit einer relativ großen Häufigkeit in der Gesamtbevölkerung. So kann beispielsweise die Glucose als Marker für den Diabetes mellitus dienen und das Protein, die Erythrozyten und Leukozyten auf Krankheiten der Niere und der ableitenden Harnwege hindeuten.

Der Teststreifen ist so ausgelegt, daß mit falsch-negativen Befunden sehr selten gerechnet werden muß. Es sind jedoch die möglichen Fehlerquellen des Test-

streifen, die Tabelle 7.21 zusammenfaßt, zu beachten. Verhältnismäßig hoch ist demnach die Anzahl der falsch-positiven Befunde. Deren Ursache wird auf eine ungenügende Qualität des Specimen zurückgeführt. Wichtige Maßnahmen zur Vorbereitung der Harngewinnung für den Status und das Sediment sind eine verbesserte Intimtoilette, Verwendung von Vaginaltampons während der Menstruation sowie den Verzicht auf den Geschlechtsverkehr wenige Stunden vor der Uringewinnung für Männer und Frauen. In der Tabelle 7.5 (→ 1.9) sind Hinweise für die Gewinnung des Urins angegeben. Die Patientin bzw. der Patient ist über die genaue Durchführung und Bedeutung der Probengewinnung zu unterrichten. Für den überwiegenden Teil der qualitativen Untersuchungen hat sich der erste Morgenurin bewährt. Der Morgenurin gewährleistet eine genügend lange Verweildauer des Urins in der Blase und seine Zusam-

Tabelle 7.21 Fehlermöglichkeiten von Teststreifen

Parameter	Störgröße	Verfälschung	Maßnahme/Bemerkungen
Protein	<ul style="list-style-type: none"> - stark alkalischer Urin - Reste von Desinfektionsmitteln mit quaternären Ammoniumbasen oder Chlorhexidin im Sammelgefäß 	falsch-positiv	Verifizierung naßchemisch
		falsch-positiv	Verifizierung naßchemisch
Hämoglobin	<ul style="list-style-type: none"> - viel Ascorbinsäure - viel Nitrit - viel Protein - pH > 8 - Reste von oxidierenden Reinigungsmitteln im Uringefäß 	falsch-negativ	Test frühestens 10 h nach letzter Ascorbinsäuregabe, Teststreifen mit oxidierendem Zusatz von KIO ₃
		falsch-negativ	
		falsch-negativ	selten
		falsch-negativ	sorgfältige Gefäßreinigung
Leukozyten	<ul style="list-style-type: none"> - viel Albumin - Urinkonservierung mit Formaldehyd 	falsch-negativ	
		falsch-negativ	vermeiden
Nitrit	<ul style="list-style-type: none"> - viel Ascorbinsäure 	falsch-negativ	Test frühestens 10 h nach letzter Ascorbinsäuregabe
Glucose	<ul style="list-style-type: none"> - Reste von oxidierenden Reinigungsmitteln im Uringefäß - Ascorbinsäure 	falsch-positiv	sorgfältige Gefäßreinigung, Verifizierung naßchemisch
		falsch-negativ	Test frühestens 10 h nach letzter Ascorbinsäuregabe, Teststreifen mit oxidierendem Zusatz von KIO ₃
pH	<ul style="list-style-type: none"> - starke Eigenfärbung des Urins 		Messung mit pH-Elektrode
Relative Dichte	<ul style="list-style-type: none"> - pH > 6 	falsch-tief	Messung mit Refraktometer
Allgemein	<ul style="list-style-type: none"> - verdorbene Teststreifen - Ablesezeit überschritten - Ablesezeit überschritten - Ableseskala nicht auf Streifen abgestimmt 	komplex	Aufbewahrung stets im verschlossenen, mit Trockenmittel versehenen Röhrchen
		falsch-hoch	Zeit exakt einhalten
		falsch-tief	
		komplex	Ablesung ausschließlich an der Skala des zugehörigen Röhrchens

mensetzung ist weniger abhängig von tageszeitlichen Schwankungen. Diese werden durch die Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme sowie körperliche Betätigung hervorgerufen. Für die Untersuchung auf eine Glucosurie ist am besten ein Urin geeignet, der etwa 2 Stunden nach einer kohlehydratreichen Mahlzeit gewonnen wird. Im normalen, ohne die o. g. hygienischen Vorkehrungen gewonnenen, sogenannten Spontanurin kommt es besonders bei der Frau relativ häufig zu Kontaminationen. Beim Mittelstrahlurin geht der Probengewinnung eine Reinigung wie o. a. voraus.

Durchführung der Untersuchung mit Teststreifen
Da die notwendigen Reagenzien in Form von Zellulosekissen, über denen ein Nylonnetz gespannt sein kann, auf den Träger aufgebracht sind, ist die Durchführung sehr einfach. Der Teststreifen wird aus dem Behälter entnommen und in ein Röhrchen, in dem sich in ausreichender Menge gut gemischter Urin befindet, eingetaucht. Die Menge an Urin richtet sich nach der Eintauchtiefe des Teststreifens. Nach dem kurzen Eintauchen wird der Teststreifen aus dem Röhrchen genommen und der überschüssige Urin abgestreift. Nach etwa 30 bis 60 Sekunden kann die Ablesung erfolgen. Da die Reaktionszeit von Teststreifen zu Teststreifen bzw. von Testfeld zu Testfeld variieren kann, müssen die Vorschriften der Hersteller beachtet werden. Mehrmaliges Eintauchen des Teststreifens in den selben Urin ist nicht ratsam, da sich Reagenzien aus den Testfeldern ablösen können und ggf. stören. Der Teststreifen ist nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt, auch wenn alle Ergebnisse negativ sind.

Übersicht der wichtigsten Meßgrößen:

pH-Wert

Die Bestimmung des pH-Wertes im Urin ist hauptsächlich wegen der Erkennung von abgestandenen (alten) Urinproben im Urinstatus enthalten. Infolge der Zersetzung von Proteinen durch Bakterien kommt es durch Ammoniakbildung zum Anstieg des pH-Wertes. Ein pH-Wert > 7 deutet auf einen abgestandenen Urin hin. Bei einem frischen Urin ist auf eine massive Bakteriurie zu schließen. Im Fall eines abgestandenen Urins ist die Sedimentuntersuchung nicht mehr sinnvoll, da einige Bestandteile wie Zylinder aufgelöst oder lysiert sind. Ein positiver Proteinnachweis kann in einem alkalischen Urin ein pH-Artefakt sein. Der pH-Wert wird aber auch zur Überwachung bei der Harnstein-Prophylaxe eingesetzt. Das Testfeld ist meist mit einem Mischindikator z. B. Bromthymolblau und Methylrot versetzt.

Glucose

Als eine der häufigsten Stoffwechselerkrankungen, die etwa 2 bis 3 % der Bevölkerung befällt, ist der Diabetes mellitus bekannt. Aus diesem Grund erscheint der Glucosenachweis im Screening-Programm gerechtfertigt. Neben dem Diabetes mellitus kann auch eine eingeschränkte Rückresorptionskapazität der Niere eine Glukosurie hervorrufen. Dieser Typ kann oft bei Schwangeren beobachtet werden. Für den Nachweis wird das Enzym Glucoseoxidase verwen-

det, welches die Glucose zu Gluconolacton oxidiert. Bei diesem Reaktionsschritt ist Luftsauerstoff notwendig. Das ebenfalls bei der Reaktion entstandene H_2O_2 kann über eine anschließende Indikatorreaktion in Gegenwart der Peroxidase zu einem Farbstoff führen. Hierzu wird ein Chromogen eingesetzt, das im reduzierten Zustand farblos ist und sich erst bei der Oxidation durch das vorgenannte H_2O_2 intensiv verfärbt. Die praktische Nachweisgrenze des Testfeldes liegt für ascorbinsäurefreie Urine bei etwa $2,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($40 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$) Glucose. Die Obergrenze der physiologischen Glucosurie im Morgenurin liegt bei ca. $0,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($15 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$), aus diesem Grund scheint der Test für ein Massenscreening noch ungenügend. Eine quantitative Glucose-Bestimmung kann erst eine eindeutige Klärung herbeiführen.

Protein

Von einer pathologischen Proteinurie wird gesprochen bei Proteinausscheidungen $> 0,3 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ im Morgenurin. Der Protein-Teststreifen enthält einen pH-Indikator. Im gepufferten System binden die Hydroxid-Gruppen von eventuell anwesendem Protein Wasserstoff-Ionen. Hierbei verändert sich die Färbung des pH-Indikaturs. Grünliche Farbtönungen liegen insbesondere bei hochkonzentriertem Urin noch im Normalbereich. Eindeutig positive Ergebnisse können durch eine quantitative Bestimmung der Protein-Konzentration im 24-Stunden-Urin bestätigt werden. Der Teststreifen ist besonders empfindlich für Albumin, welches bei tubulären Proteinurinen fehlen kann. Unerwartet negative Ergebnisse können auch mittels der Sulfosalicylsäureprobe überprüft werden. Da einige Arzneimittel zu einer rötlichen Verfärbung des Teststreifenfeldes führen können, ist auch bei diesen Urinen die vorgenannte Sulfosalicylsäureprobe ratsam.

Sulfosalicylsäureprobe:

Reagenzien:

5-Sulfosalicylsäure $1,18 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ in Methanol gelöst.

Durchführung:

5 ml zentrifugierter Urin wird mit 2 ml Sulfosalicylsäure-Lösung vorsichtig, ohne zu mischen, überschichtet. Nach 1 Minute wird die Phasengrenze Urin/Säure in schräg auffallendes Licht gegen einen dunklen Hintergrund beobachtet. Jede Trübung wird als positiv gewertet.

Hämoglobin/Erythrozyten

Eine Ausscheidung von Erythrozyten im Urin, die sogenannte Hämaturie, kann als Symptom von hämorrhagischen Diathesen, aber auch bei Herz- und Kreislauferkrankungen auftreten. Neben diesen prärenalen Ursachen führen auch andere Erkrankungen der Nieren wie etwa die Urolithiasis, Tumore und Glomerulonephritiden häufig zu einer Hämaturie. Auch bei Erkrankungen der ableitenden Harnwege werden Erythrozyten im Urin beobachtet. Gelöstes oder sogenanntes „freies“ Hämoglobin und Myoglobin finden sich im Urin bei schweren hämolytischen Anämien, Infektionserkrankungen, Verbrennungen,

Vergiftungen, Herzinfarkt, Muskelerkrankungen und einer Reihe anderer Erkrankungen, bei denen die Konzentration des Hämoglobins im Serum die Rückresorptionskapazität der Tubuli übersteigt.

Der Nachweis von Hämoglobin bzw. Myoglobin beruht auf deren pseudoperoxidatischen Aktivität. Die Oxidation des Farbindikators im Testfeld erfolgt durch ein organisches Hydroperoxid zu einer grün-blauen Verfärbung. Diese Reaktion wird durch Hämoglobin bzw. Myoglobin katalysiert. Auf dem Testfeld, das gelb gefärbt ist, kann der gebildete Farbstoff als grün erkannt werden. Nicht zerstörte Erythrozyten werden in dem Testpapier hämolysiert. Dieses hat eine Grünpunktierung des Testfeldes zur Folge. Da die Empfindlichkeit des Teststreifens nicht ganz bis zur Obergrenze der physiologischen Ausscheidung heranreicht, sollte jede Verfärbung kontrolliert und ggf. abgeklärt werden.

Leukozyten

Als wichtiges Anzeichen und Leitsymptom einer entzündlichen Erkrankung der Niere und der ableitenden Harnwege kann die Leukozyturie angesehen werden. Bei der Diagnose der chronischen Pyelonephritis ist sie von besonderer klinischer Bedeutung. Außerdem kann die Leukozyturie auch als Indikator weiterer Erkrankungen abakterieller Art sein. Zu nennen wären hier: Analgetikanephropathien, Intoxikationen und Glomerulopathien. Auch bei Infektionen durch Trichomonaden, Mykoplasmen, Pilze, Viren und Gonokokken kann eine Leukozyturie beobachtet werden.

Die im Urin ausgeschiedenen Leukozyten sind überwiegend Granulozyten. Das Testfeld enthält einen Indoxylester, der durch Granulozyten-Esterasen gespalten wird. Hierbei entsteht Indoxyl, welches unter der Einwirkung von Luftsauerstoff zu Indigoblau oxidiert werden kann. Auf dem Testfeld findet ein Farbumschlag von hellbeige nach blau statt. Die Nachweisgrenze wird mit 10 Leukozyten pro μl angegeben, wobei Werte über 20 Leukozyten pro μl als pathologisch angesehen werden.

Nitrit

Das physiologisch im Urin vorhandene Nitrat wird durch die häufigsten harnpathogenen Keime, wie *Escherichia coli*, zu Nitrit reduziert. Dieses kann durch Reaktion als Azofarbstoff nachgewiesen werden. Die Empfindlichkeit dieses Testes wird mit einer Nachweisgrenze von ca. $7 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ angegeben. Die Einschränkungen für diesen Test sind jedoch erheblich. So bilden nur etwa 80 % der bei Bakteriurien vorhandenen Bakterien die für den Test benötigte Nitratreduktase. Eine gemüsereiche Ernährung am Vortag ist notwendig, um genügend Nitrat freizusetzen, damit der Nachweis geführt werden kann. Bei Diäten und Erbrechen sowie bei Säuglingen ist dies nicht immer gewährleistet. Der Test sollte nur mit Morgenurin durchgeführt werden, da nur hier eine genügend lange Verweildauer der Bakterien in der Blase gewährleistet ist. Bei gleichzeitiger Gabe von Antibiotika kann die Treffsicherheit des Testes nicht immer garantiert werden. Trotz der vielen Einschränkungen ist der Ni-

trit-Nachweis eine wertvolle Ergänzung des Screenings.

Weitere andere Urinbestandteile, wie Ketonkörper, Urobilinogen und Bilirubin, können ebenfalls mittels Teststreifen nachgewiesen werden.

4.2 Sediment

Die Sedimentuntersuchung des Urins sollte immer dann durchgeführt werden, wenn der Urinstatus ein positives Ergebnis von Protein, Leukozyten oder Erythrozyten ergeben hat. Auch zur Verlaufs- und Therapie-Kontrolle bereits erkannter und behandelter Erkrankungen der ableitenden Harnwege ist die Durchführung des Sedimentes eine wertvolle Hilfe. Als Specimen dient ausschließlich frischer Mittelstrahlurin ohne jegliche Konservierungsmaßnahme.

Durchführung:

Reagenzien
Sternheimer-Malbin-Färbung

Lösung 1:
3,0 g Gentianviolett in 20 ml Ethanol 96% (V/V) lösen
0,8 mg Ammoniumoxalat und 80,0 ml Aqua tridestillata zugeben.

Lösung 2:
0,25 g Safranin 0 in 10,0 ml Ethanol 96% (V/V) lösen und
100,0 ml Aqua tridestillata zugeben.

Herstellung der Gebrauchs-Lösung:
3 ml Lösung 1 mischen, 97 ml Lösung 2 mischen.

Anschließend filtrieren und in einer dunklen Tropflasche aufbewahren. Diese Lösung ist bei Raumtemperatur etwa 3 Monate haltbar. Es sind auch fertige Farblösungen von verschiedenen Reagenzienherstellern lieferbar, z. B. Sedicolor von der Fa. Dr. Molter, 6903 Neckar-Gmünd.

Es werden 10 ml gut aufgeschüttelter Urin in einem spitzen Zentrifugenröhrchen etwa 3 bis 5 Minuten bei ca. 1000 g zentrifugiert. Beim Vorliegen einer deutlich erkennbaren Blut- oder Eiterausscheidung, erübrigt sich eine mikroskopische Beurteilung. Nach der Zentrifugation wird der Überstand vorsichtig dekantiert, 1 bis 2 Tropfen der o. g. Farb-Lösung werden auf das Sediment gegeben und mittels einer Pipette mit Gummihütchen gut durchgemischt. Von diesem Gemisch wird 1 Tropfen, ca. 20 μl , auf den Objektträger getropft und mit einem Deckglas unter Vermeidung von Luftblaseneinschluß abgedeckt.

Das Präparat wird unter dem Objektiv plaziert. Man verschafft sich mit einer Vergrößerung von ca. 50 bis 100fach zuerst einen Überblick. Das ist notwendig, um bestimmte Bestandteile, die manchmal nur in geringer Anzahl vorhanden sind, Zylinder, Trichomonaden, Leukozytenverbände, Oxyuren etc., nicht zu übersehen. Anschließend sollten mit einer stärkeren Vergrößerung von ca. 300 bis 400fach mindestens 10 Gesichtsfelder abgesucht werden. Die Anzahl von Erythrozyten und Leukozyten ist pro Gesichtsfeld anzugeben. Anstelle der erwähnten Färbung kann auch die optische Phasenkontrasteinrichtung eingesetzt werden. Der geübte Untersucher begnügt sich besonders bei Einsatz eines Grünfilters mit der einfachen Hellfelduntersuchung.

Tabelle 7.22 Darstellung verschiedener Bestandteile im Urinsediment. Als Farbreagenz wurde SEDICOLOR, einer Phthalocyanin- und Rosanilin-Farbstoff-Kombination verwendet. (Die Abbildung wurde freundlicherweise von der Fa. Molter zur Verfügung gestellt.)

Elemente des Urinsediments	Gestalt, Form	Auslegung der gefärbten Sedimente		Bemerkungen
Zellen				
Erythrozyten		blaß rosa bis violett		einige ungefärbte, aber leicht zu erkennen
weiße Blutkörperchen (Glitzer-Zellen)		Nukleus violett bis blau	Zytoplasma rosa, etwas blau	Glitzer-Zellen färben sich sehr langsam
Platten-Epithelzellen		violett bis blau	rosa	
Nierentubuläre Epithelzellen		violett bis blau	violett	
Ovale Fettkörper		violett bis blau	violett	Das Fett bleibt ungefärbt, zeigt aber starken Kontrast zu den gefärbten Zellen.
Sonstige Bestandteile				
Fett		ungefärbt		Zeigt Kontrast zu den gefärbten Elementen.
Schleim		hellblau bis petroleumblau		
Harnkristalle		behalten ihre normale morphologische Erscheinung und Farbe		
Hefe		färbt sich langsam		Durch Erwärmung der gefärbten Probe bis auf 70 °C tritt die Färbung sofort ein.
Bakterien		einige färben sich, einige nicht		
Zylinder				
Hyaliner Zylinder		hellblau bis petroleumblau		
Wachs-Zylinder		violett bis purpurrot		
Epithelzylinder		Grundsубstanz hellblau bis petroleumblau	Einschlüsse Nierentubuläre Epithelzellen	
Granulierter Zylinder		hellblau bis petroleumblau	rosa bis violett	
Erythrozyten-Zylinder		hellblau bis petroleumblau	rote Blutkörperchen	
Hämoglobin-Zylinder		hellblau bis petroleumblau	violett	
Leukozyten-Zylinder		hellblau bis petroleumblau	weiße Blutkörperchen	
Gemischt zelluläre Zylinder		hellblau bis petroleumblau	Zellen	
Fett-Zylinder		hellblau bis petroleumblau	Fett ungefärbt	Fett zeigt einen starken Kontrast gegen gefärbte Zellen

Beurteilung:

Der unter den angegebenen Vorschriften gewonnene Urin zeigt beim Gesunden pro Gesichtsfeld nur wenige Epithelien, Leukozyten (0 bis 5 pro Gesichtsfeld), Schleimfäden, Spermien, vereinzelt Erythrozyten und verschiedene Salze. Beim Urin von Frauen ist auf eine eventuelle Menstruation oder Fluor zu achten; in diesem Fall finden sich Erythrozyten, Leukozyten, Epithelien und Bakterien. Die Tabelle 7.22 zeigt eine Übersicht mit den wichtigsten Charakteristika der Bestandteile im Urinsediment.

Erythrozyten



Als normal werden 3 Erythrozyten pro Gesichtsfeld angesehen. Ihr Aussehen stellt sich als kernlose runde Scheiben mit einem Durchmesser von 7 bis 8 µm dar, deren Rand doppelt konturiert ist und eine schwach gelbliche Färbung aufweist. Beim hypertonen Urin können die Erythrozyten zu der sogenannten Stechapfelform geschrumpft sein. Eine Verwechslung mit Fetttropfchen oder Hefezellen ist möglich. Die mikroskopische Untersuchung der Erythrozyten kann weitere Aufschlüsse über die Art und Ursache der Hämaturie geben, z. B. weisen deformierte Erythrozyten auf eine glomeruläre Herkunft hin.

Die renal bedingte Hämaturie findet sich bei verschiedenen Formen der Glomerulonephritis, bei den Kollagenosen, der malignen Nephrosklerose und bei anderen Nierenerkrankungen. Bei der extrarenalen bedingten Hämaturie kann die Ursache in Traumen

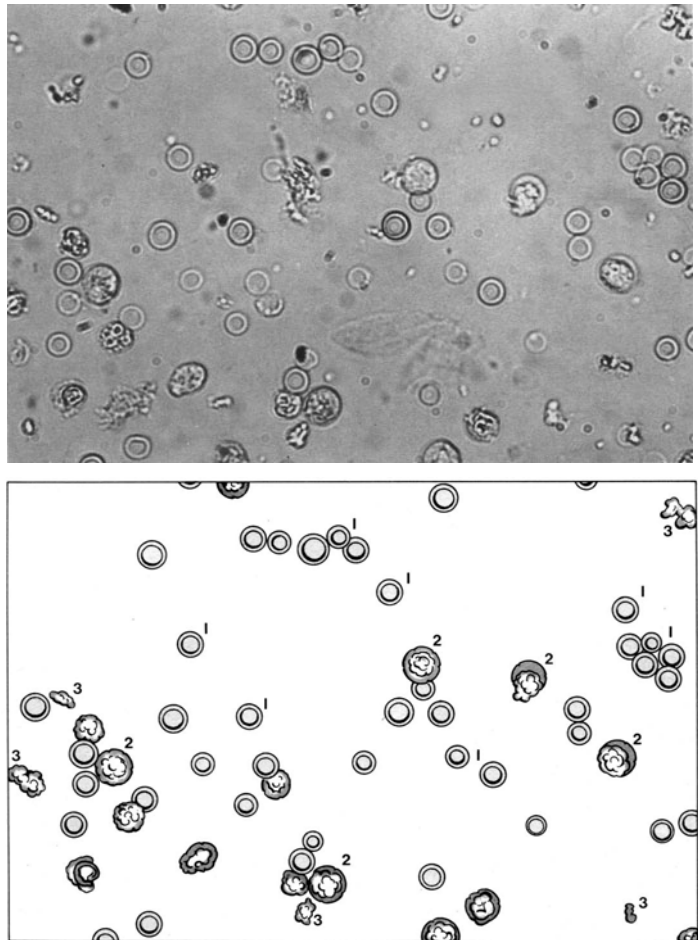


Abb. 7.36 Zahlreiche Erythrozyten und einige Leukozyten in ungefärbtem Sediment. Charakteristisch die uniformen, d. h. postglomerulären Erythrozyten mit doppeltkonturiertem Rand. Die Leukozyten zeigen dagegen einen granulierten oder scholligen Inhalt und sind ungefähr 1 1/2- bis 2mal so groß wie Erythrozyten. Manchmal erkennt man andeutungsweise in den Leukozyten Reste des segmentierten Kerns. Zwischen den Leukozyten und Erythrozyten einzelne unregelmäßige Korpuskel, die zugrundegegangenen bzw. zerstörten Leukozyten entsprechen. - Sediment bei Dauerkatheter nach cerebralem Insult. 500fach vergrößert. Zur besseren Orientierung siehe Schemazeichnung. Abdruck mit freundlicher Genehmigung des G. Thieme Verlags. Aus [9]

der ableitenden Harnwege, Tumoren oder Nierensteinen liegen. Größere körperliche Anstrengungen wie z. B. Langlauf, Marathonlauf können eine vorübergehende Mikrohämaturie auslösen.

Leukozyten



Als normal werden etwa bis zu 5 Leukozyten pro Gesichtsfeld angesehen. Die im Urin gefundenen Leukozyten sind überwiegend neutrophile Granulozyten. Die überlebenden Zellen sind wesentlich blasser angefärbt und größer als tote Zellen. Sie besitzen einen

Durchmesser von 10 bis 16 μm gegenüber 8 bis 12 μm . Die bläuen Zellen lassen sich nur schwer von Nierenepithelzellen unterscheiden. Die Leukozyten sind runde, farblose Zellen. Ihr Kern wird sehr oft durch Granula überdeckt. Leukozyten sind etwas größer als Erythrozyten, jedoch nur wenig kleiner als Nierenepithelien.

Die Leukozyturie ist das Hauptsymptom der akuten oder chronischen Pyelonephritis, tritt aber gelegentlich nur intermittierend auf.

Epithelzellen

Epithelien finden sich sehr häufig im Urin, ihr diagnostischer Wert ist jedoch gering. Zu unterscheiden sind:

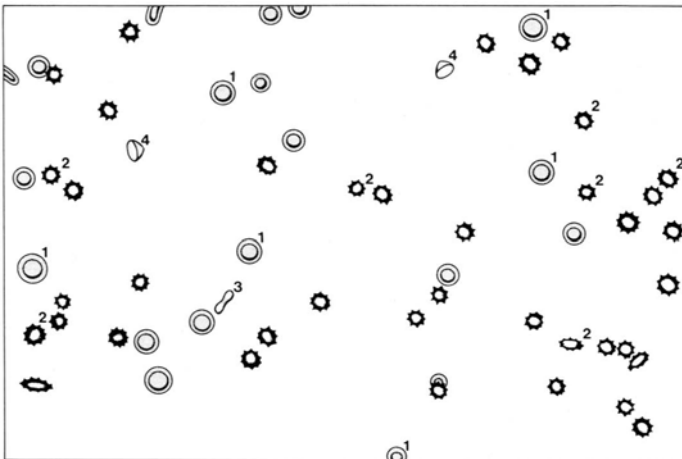
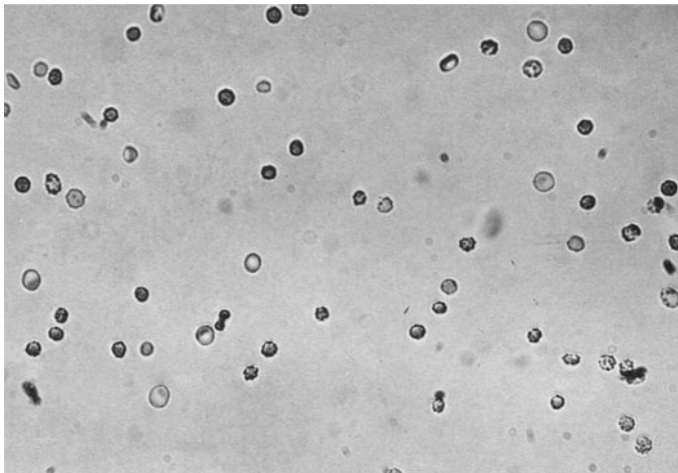


Abb. 7.37 Ungefärbtes Harnsediment mit zahlreichen Erythrozyten. Es demonstriert bei der in der Routine gebräuchlichen Vergrößerung (312,5fach) die verschiedenartigen Formen der Erythrozyten. Neben normalen, auch hier andeutungsweise doppelkonturierten Erythrozyten finden sich vor allem verschieden stark geschrumpfte Erythrozyten als sog. Stechapfelform. Außerdem sind einzelne Erythrozyten von der Seite oder schräg getroffen (Hantelform, flachovale oder helmartige Form). 1 Normale Erythrozyten (in üblicher Sicht bei planer Lagerung) 2 Sog. Stechapfelformen der Erythrozyten 3 Von der Schmalseite her gesehener Erythrozyt („Hantelform“) 4 Schräg gelagerter Erythrozyt. Abdruck mit freundlicher Genehmigung des G. Thieme Verlags. Aus [9]

Platteneithelzellen



Die Plattenepithelzellen stammen aus der obersten Zellschicht des genitalen Plattenepithels von Vagina, Präputium oder dem unteren Abschnitt der Urethra. Plattenepithelzellen sind große, etwas unregelmäßig geformte Zellen mit einem runden, kleinen Kern. Die Ränder der Zelle sind zum Teil umgeschlagen. Die Plattenepithelzellen treten einzeln oder in Verbänden auf.

Nieren-oder Tubulusepithelzellen



Die Erkennung von Nieren- oder Tubulusepithelien im Urin ist problematisch. Es wird bezweifelt, daß ein solcher Nachweis geführt werden kann. Demnach sind die meisten im Urinsediment gefundenen „Nierenepithelien“ sehr oft kleinere Rundepithelien aus dem Übergangsepithel. Bei sonst unauffälligem Befund des Urins sollte man daher vorsichtig mit der Angabe des Vorhandenseins von Nierenepithelien sein.

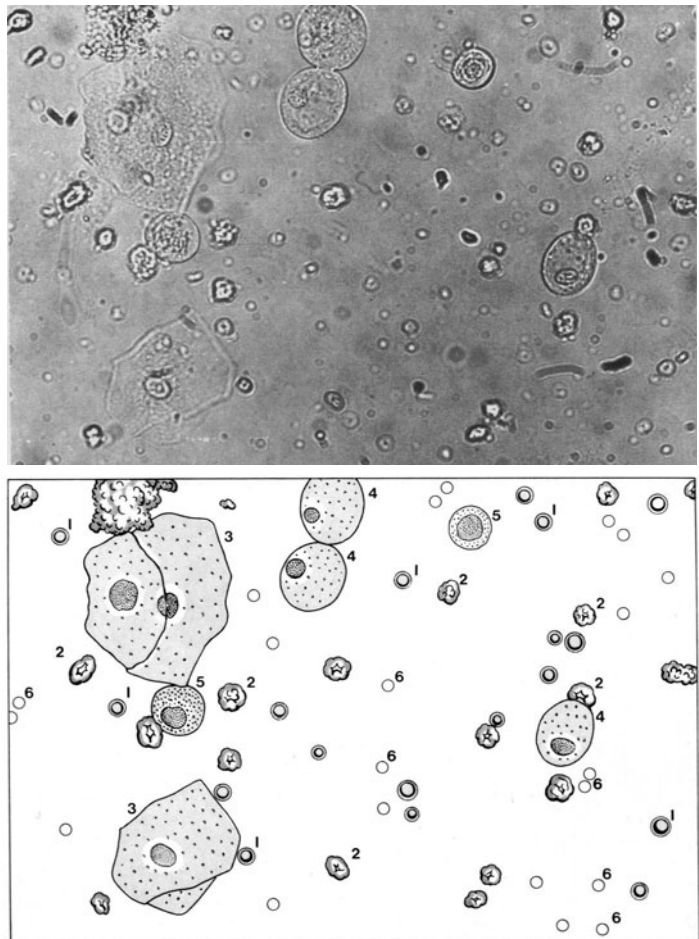


Abb. 7.38 Ungefärbtes Harnsediment mit verschiedenen Epithelien, einzelnen Leukozyten und wenigen, nur flau zur Darstellung kommenden Erythrozyten sowie mehreren Bakterien (Orientierung siehe Schemazeichnung). In der linken Bildhälfte drei große Plattenepithelien. Oben und rechts, sowie zwischen den Plattenepithelien insgesamt vier Rundepithelien, die deutlich kleiner als Plattenepithelien sind. Außerdem möglicherweise eine Nierenepithelzelle, die nicht viel größer ist, als Leukozyten, sich aber durch einen runden, relativ großen Kern auszeichnet. – Akuter Harnwegsinfekt, 312,5fach vergrößert. 1 Erythrozyten, 2 Leukozyten, 3 Plattenepithelien, 4 Rundepithelien, 5 Nierenepithelien, 6 Bakterien. Abdruck mit freundlicher Genehmigung des G. Thieme Verlags. Aus [9]

Zylinder

Das Finden von Zylindern im Harnsediment deutet fast immer auf eine Nierenerkrankung hin. Nur einzelne hyaline Zylinder kommen gelegentlich auch bei Nierengesunden vor, besonders wenn eine starke körperliche Anstrengung vorausgegangen ist. Eine Zylindurie geht fast immer mit einer Proteinurie einher. Ein gehäuftes Auftreten von Zylindern deutet auch auf eine stärkere Proteinurie hin. Die Zylinder entstehen durch Eindickung oder Fällung von Proteinen, besonders in den distalen Tubuli. Durch Zunahme der Aufkonzentrierung des Urins und leichte Ansäuerung wird die Bildung der Zylinder in den Tubuli begünstigt. Die Zylinder sind längliche Gebilde, in denen auch andere Urinbestandteile eingelagert sein können.

Es werden folgende Zylinder unterschieden:

Hyaline Zylinder



Hyaline Zylinder sind homogen, transparent und wenig lichtbrechend. Sie sind Sekretionsprodukte der distalen Tubuli, die diagnostisch bedeutungslos sind.

Granulierte Zylinder



Die Voraussetzung zur Entstehung der granulierten Zylinder ist eine Proteinurie. Die granulierten Zylinder sind größer und breiter als die hyalinen. Sie enthalten eine Einlagerung von feinen oder gröberen

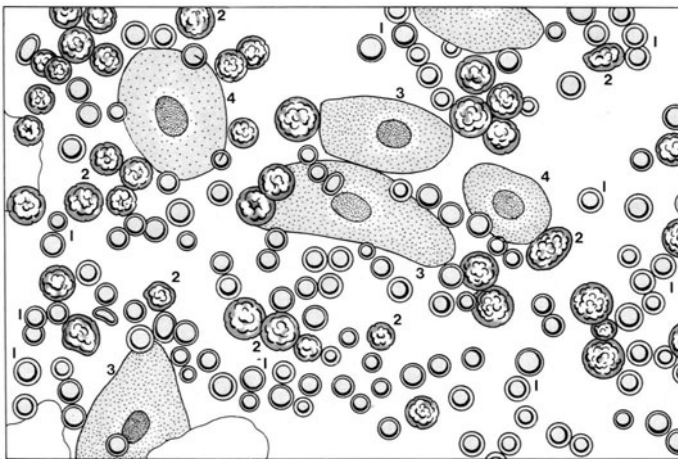
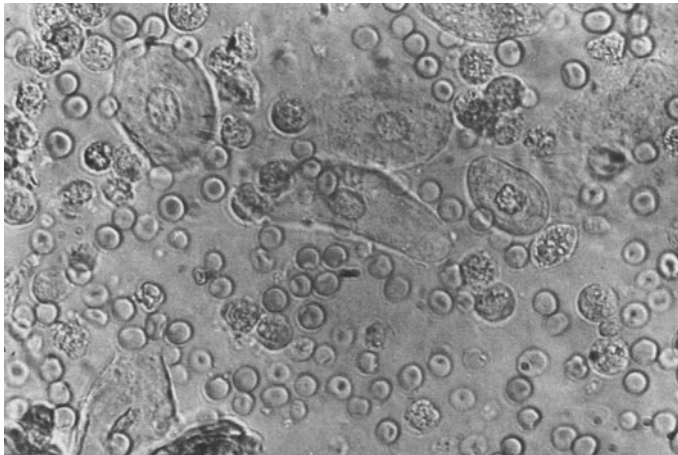
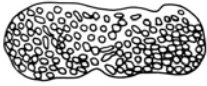


Abb. 7.39 Ungefärbtes Harnsediment mit verschiedenen zellulären Bestandteilen: Plattenepithelien, Rundepithelien, Leukozyten und Erythrozyten. Zur Orientierung siehe Schemazeichnung. - Chronische Glomerulonephritis, 500fach vergrößert. 1 Erythrozyten, 2 Leukozyten, z. T. als größere blasige sog. Schilling-Zellen, 3 Plattenepithelien, 4 Rundepithelien. Abdruck mit freundlicher Genehmigung des G. Thieme Verlags; Aus [9]

Plasmaproteintröpfchen in einer hyalinen Matrix. Granulierte Zylinder treten bei allen akuten und chronischen Nierenerkrankungen auf, besonders bei der Glomerulonephritis.

Erythrozytenzylinder



Sie bestehen aus mehr oder weniger dicht zusammengedrängten Erythrozyten. Teilweise sind die Erythrozyten so eng zusammengedrängt, daß sie verformt erscheinen. Der Farbton wird mit leicht rot-gelb bis bräunlich angegeben, sie können jedoch auch ausgebleicht sein und erscheinen dann fast farblos. Erythrozytenzylinder weisen immer auf eine renale Genese

einer Hämaturie hin, z. B. bei akuten oder chronischen Glomerulonephritiden.

Leukozytenzylinder



Wie schon der Name sagt, bestehen diese Zylinder aus zusammengeballten Leukozyten oder aus Leukozyten, die einem Zylinder aus einer anderen Grundsubstanz aufgelagert sind. Sie können mit Epithelzylindern verwechselt werden, wenn die unterschiedliche Kernform nicht mehr zu erkennen ist. Der Nachweis von Leukozytenzylindern ist wichtig, da hierdurch die renale Beteiligung an einer Entzündung, fast immer eine Pyelonephritis, bewiesen werden kann.

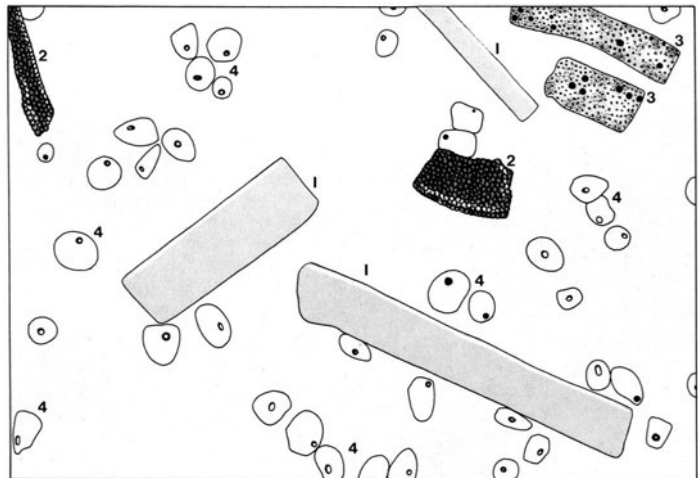
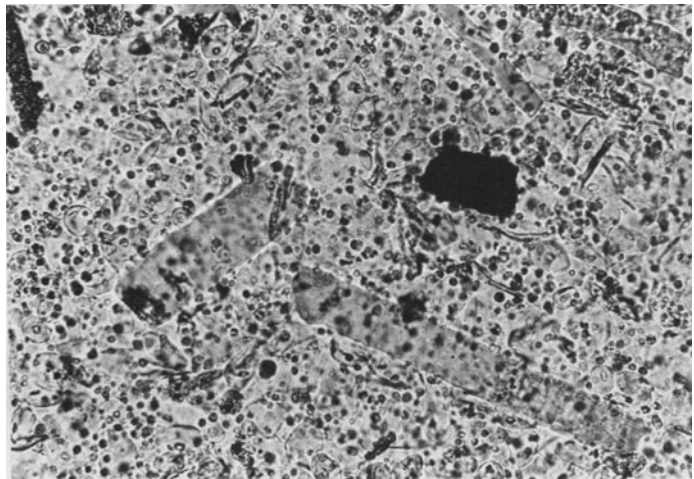


Abb. 7.40 Ungefärbtes Harnsediment mit mehreren verschiedenen breiten und verschiedenen langen Wachszyllindern, einem schmalen Erythrozytenzylinder in der linken oberen Ecke, einem kurzen, dichter gepackten Erythrozytenzylinder in der Bildmitte und einem kurzen sowie einem etwas längeren granulierten Zylinder in der rechten oberen Ecke (siehe Schemazeichnung). Den Hintergrund des Bildes nehmen vor allem massenhaft Rund- und Plattenepithelien sowie Erythrozyten und Leukozyten ein. - Finalstadium einer chronischen Glomerulonephritis mit Urämie. 125fach vergrößert. 1 Wachszyllinder, 2 Erythrozytenzylinder, 3 Granulierte Zylinder, 4 Rund- und Plattenepithelien.

Wachszylinder



Aus Plasmaproteinen bestehen die Wachszylinder, die sich unter speziellen Bedingungen im Tubuluslumen durch Denaturierung dieser Proteine gebildet haben. Die Wachszylinder sind in der Regel breiter als hyaline Zylinder und brechen wesentlich stärker das Licht. Sie besitzen einen leicht gelblichen Farbton und charakteristische Einkerbungen oder dünne, quer zur Längsrichtung des Zylinders verlaufende „Einrisse“. Die Wachszylinder im Urinsediment deuten immer auf eine schwere chronische Nierenerkrankung im Stadium der fortgeschrittenen Niereninsuffizienz hin. Gelegentlich werden sie auch beim

Wiedereintritt der Diurese nach akuter Anurie als sogenannte breite Insuffizienzzyylinder beobachtet.

Fettzylinder



Die Einlagerung von Fetttröpfchen in granulierten Zylinder werden als Fettzylinder bezeichnet. Sie finden sich beim nephrotischen Syndrom und bei der Schockniere.

Epithelzylinder

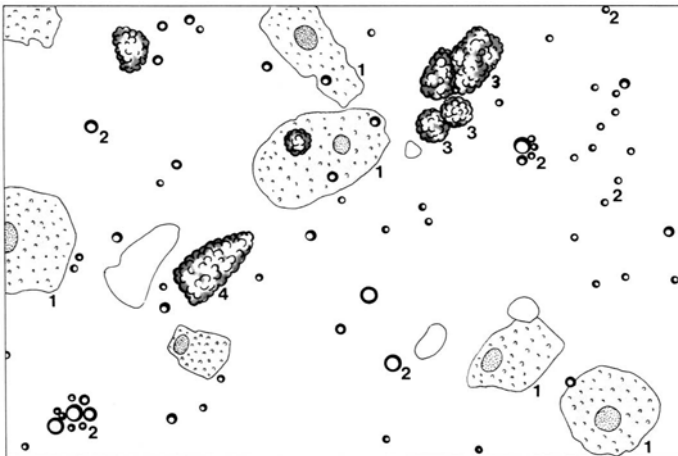
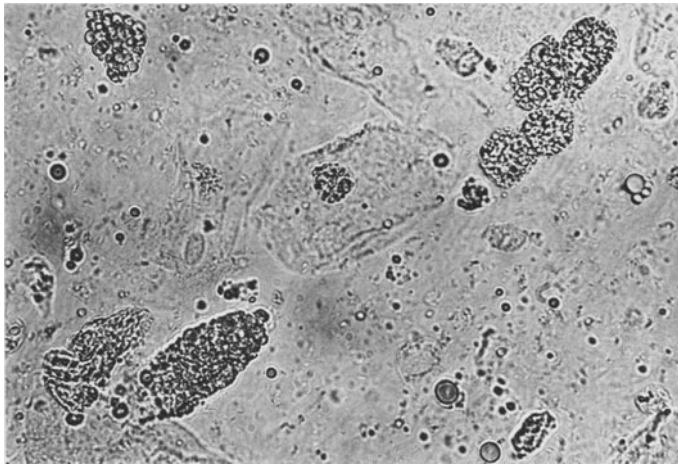
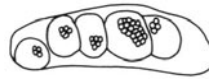


Abb. 7.41 Ungefärbtes Harnsediment, in dem vor allem verschiedene fettkörnchenhaltige Elemente auffallen (siehe Schemazeichnung): im rechten oberen Bildteil vier mit Fetttröpfchen vollgepackte Epithelzellen, rechts unterhalb von ihnen ein größerer Fetttröpfchen, dem vier kleinere Fetttröpfchen rosettenartig angelagert sind. Bemerkenswert weiterhin in der Mitte des linken Bildteiles ein kurzer Fetttröpfchenzylinder. In der linken oberen Ecke sowie etwas links oberhalb von der Mitte und nahe dem linken unteren Bildrand Konglomerate von Fetttröpfchen. Verteilt über das ganze Gesichtsfeld verschieden große Fetttröpfchen sowie schemenhaft im Untergrund mehrere Plattenepithelien und Schleimschlieren. - Chronische Glomerulonephritis mit nephrotischem Syndrom. 125fach vergrößert. 1 Plattenepithelien, 2 Fetttröpfchen, 3 Fettkörnchenzellen, 4 Fettkörnchenzylinder.

Epithelzylinder sind ein seltener Befund im Harnsediment. Sie bestehen aus abgeschlifferten Tubulusepithelien, deren Grenzen noch mehr oder weniger gut zu erkennen sind. Ein Nachweis der Epithelzylinder kann beim Wiedereintritt der Diurese bei akutem Nierenversagen, bei demischämisch oder toxisch bedingte Tubulusnekrosen aufgetreten sind, beobachtet werden.

Hämoglobin- oder Myoglobinzylinder



Diese Zylinder entstehen infolge einer Hämoglobin- oder Myoglobinurie (z. B. Hämolyse, schwere Muskelverletzungen). Sie haben eine hellgelbe oder gelbbraune Farbe.

Zylinderoide

Ihre Kenntnis ist wichtig, damit sie sicher von echten Zylindern unterschieden werden können. Zylinderoide sind bandförmige, oft längsgestreifte Gebilde, deren Enden meist spitz zulaufen oder aufgefaserter erscheinen. Sie kommen sowohl beim Gesunden, wie auch zusammen mit Zylindern bei Nierenkranken vor. Ihre Entstehungsweise ist noch ungeklärt. Teilweise können dem Zylinderoid auch Blut- oder Epithelzellen angelagert sein. Desgleichen findet man auch eine Anlagerung von amorphen Uraten. Gelegentlich lagern sich auch Bakterien und Salze zu Zylinderformen ab. Diese Pseudozylinder können von anderen Zylindern durch ihre nicht ganz scharfen Konturen erkannt werden. Im Gegensatz zu granulierten Zylindern lassen sich die Pseudozylinder aus Urat in Essigsäure auflösen.

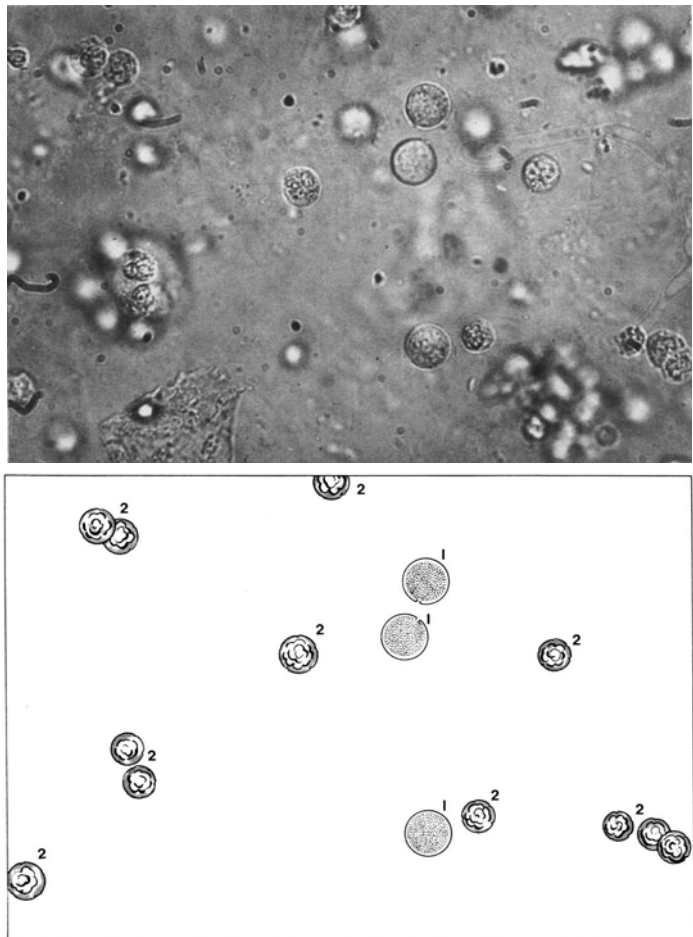
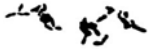


Abb. 7.42 Ungefärbtes Harnsediment mit einigen Leukozyten und drei Trichomonaden (siehe Schemazeichnung). Die Trichomonaden sind 1. größer als Leukozyten, 2. weniger deutlich granuliert als Leukozyten und 3. erkennt man bei genauem Hinsehen eine kleine Unterbrechung der Randkontur, wo die haarfeinen Geißeln, hier nicht sichtbar, ansetzen. Die Geißeln sind im Nativpräparat bei Veränderung der Bildebene eben erkennbar und ständig in Bewegung. - Sediment einer Patientin mit Trichomonadenkolpitis und -zystitis. 500fach vergrößert. 1 Trichomonaden, 2 Leukozyten.

Sonstige Bestandteile

Bakterien



Im Urin findet man die Bakterien in runder oder stäbchenartiger Form. Sie können von amorphen Salzen durch ihre mehr oder weniger ausgeprägte Eigenbeweglichkeit unterschieden werden. Sie sind schwach lichtbrechend und oft zusammengeballt. Nicht selten bilden sie auch sogenannte Strömungslinien und sind wesentlich kleiner als Erythrozyten.

Der mikroskopische Nachweis von Bakterien ist nur unter großem Vorbehalt anzugeben, da sehr oft die Gefäße für das Auffangen des Urins nicht steril sind.

Trichomonaden

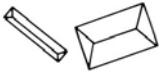
Die Trichomonaden fallen im frischen Urinsediment durch ihre Beweglichkeit auf. Es sind rundlich-ovale Gebilde, die an einer Stelle vier Geißeln tragen, die sich meist in Bewegung befinden. Diese charakteristischen feinen, langen Fäden sind in Abbildungen oft nicht zu erkennen. Die Trichomonaden sind etwa 2 bis 3 mal so groß wie Leukozyten und können deshalb von ihnen unterschieden werden. In beweglichem Zustand sind sie mit rundlichen Epithelien verwechselbar. Trichomonaden finden sich überwiegend im Urin von Frauen, bei denen eine vaginale Trichomonaden- oder eine Blaseninfektion besteht.

Schleimfäden



Außerordentlich häufig werden Schleimfäden im Sediment gefunden. Meist sind es unregelmäßig gelagerte, verschieden lange, und nur im leicht abgeblendeten Licht erkennbare Fäden. Diagnostisch kommt ihnen keine Bedeutung zu.

Kristalle



Kristalle sind weitestgehend diagnostisch nicht verwertbar. Sie entstehen häufig im konzentrierten Urin, wenn sich dieser abkühlt. Ein Anteil der Kristalle kann auch durch die Gabe verschiedenen Arzneimittel (z. B. Sulfonamide) verursacht sein.

Fett

Fettropfen im Urinsediment sind rundliche, stark lichtbrechende Gebilde. Infolge ihrer starken Lichtbrechung und ihrer unterschiedlichen Größe kann man sie leicht von Erythrozyten unterscheiden. Fettropfen können beim nephrotischen Syndrom oder durch Verunreinigung durch Salben oder Suppositorien beobachtet werden. Fettembolien nach größeren Frakturen und Chylurie lassen überwiegend nicht doppelbrechende Fette im Urin erscheinen.

Spermien

Durch ihren ovalen Kopf und den langen, dünnen Schwanz sind die Spermien leicht zu erkennen. Spermien werden manchmal vereinzelt oder auch in größeren Mengen im Urin gefunden.

5 Spezielle Untersuchungen

5.1 Humanes Choriongonadotropin (hCG)

Dieser Test wird gewöhnlich auch als Schwangerschaftstest bezeichnet.

Indikation

Die Bestimmung von Choriongonadotropin wird eingesetzt für die

- Diagnose einer Schwangerschaft,
- Diagnose einer Frühschwangerschaft,
- Verlaufsbeurteilung der Frühschwangerschaft wie Abortus, Extrauterin gravidität,
- Verlaufsüberwachung von Trophoblasttumoren.

Allgemeines

Das humane Choriongonadotropin (hCG) ist ein Glykoprotein, welches bei schwangeren Frauen vom Zytotrophoblast gebildet wird und später in den Chorionzotten der Plazenta entsteht. Das Choriongonadotropin wird u. a. im Urin ausgeschieden. Die höchsten Werte werden während des ersten Drittels der Schwangerschaft, zwei bis drei Monate nach der letzten Menstruation erreicht. Sofort nach Konzeption und Einnistung steigt die Konzentration des Choriongonadotropins sehr schnell an und erreicht ein Niveau, bei dem es mit bestimmten Methoden schon zum Zeitpunkt der erwarteten Menstruation nachweisbar wird.

Analytik

Objektträger-Latex-Agglutinationstest

Prinzip:

Das im Urin von Schwangeren ausgeschiedene Hormon Choriongonadotropin wird mit einer Agglutinationsreaktion qualitativ nachgewiesen. An Latex gebundene Antikörper gegen humanes Choriongonadotropin reagieren mit dem im Urin vorhandenen humanen Choriongonadotropin und zeigen bei einer Schwangerschaft durch Verklumpung antigentragernder Teilchen eine deutliche Agglutination.

Pregnitex

Fa. E. Merck, Darmstadt
Best. Nr. 16382

Reagenzien:

1. Latex-Reagenz (gelber Verschuß)
2. Pufferlösung (blauer Verschuß)
3. Positive Kontrolllösung (roter Verschuß)
4. Negative Kontrolllösung (grüner Verschuß)

Die Reagenzien sind bei Lagerung bei +2 bis +8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendbar.

Zubehör (in der Packung vorhanden):

1. 1 Objektträger mit 6 Testfeldern
2. 50 Kunststoffpipetten zum Einmalgebrauch
3. 2 Gummisauger
4. 50 Rührstäbchen zum Einmalgebrauch

Probenmaterial:

Für den Test kann frischer Urin verwendet werden. Am besten eignet sich der erste Morgenurin. Das Probenmaterial ist bei +4 bis +8 °C 72 Stunden haltbar.

Probenvorbereitung:
Der Urin sollte zentrifugiert werden.

Praktische Durchführung:
Urin und Reagenzien vor Gebrauch auf +15 bis +25 °C bringen. Latex-Reagenz gut mischen

Jeweils auf ein Testfeld des Objektträgers tropfen:

Urin oder Kontrolllösung (senkrecht pipettieren)	1 Tropfen
Pufferlösung (blauer Verschuß)	1 Tropfen
Latex-Reagenz (gelber Verschuß)	2 Tropfen

Etwa 5 Sekunden mit dem Rührstäbchen mischen (für jedes Testfeld ein neues Stäbchen) und Gemisch auf der Fläche kreisförmig verteilen. Den Objektträger 2 Minuten so schwenken, daß die Flüssigkeit innerhalb des Kreises langsam rundum läuft.

Auswertung:
Positives Ergebnis: Es bildet sich innerhalb von 2 Minuten eine Agglutination aus.
Negatives Ergebnis: Es bildet sich nach 2 Minuten keine Agglutination aus.

Empfindlichkeit:
> 600 I. E. · l⁻¹

Hinweise

1. Der Objektträger muß absolut sauber und trocken sein. Nach jeder Durchführung des Tests muß der Objektträger gründlich mit lauwarmen Wasser gespült und mit einem weichen Tuch oder Papier abgetrocknet werden. Keine Detergenzien, Seife oder organische Lösungsmittel zum Reinigen verwenden.
2. Die Pufferlösung und das Latex-Reagenz sind genau aufeinander abgestimmt. Deshalb dürfen nur Flaschen der gleichen Charge verwendet werden.
3. Die Schraubverschlüsse dürfen nicht verwechselt werden.

Bemerkungen:

1. Der Test zeigt eine positive Reaktion, eine Agglutination, bereits 4 Tage nach Ausbleiben der Menstruation, an. Erhält man ein negatives Ergebnis, also keine Agglutination, sollte der Test nach 5 Tagen wiederholt werden.
2. Bei Patienten mit Blasenmolien oder Chorionepitheliom kann ebenfalls ein positives Resultat erhalten werden, obwohl kein Schwangerschaft vorliegt. Diese Patienten scheiden vermehrt Choriongonadotropin aus.
3. Bei Extrauterin gravidität, gestörter Intrauterin gravidität, intrauterinem Fruchttod oder drohendem Abort ist die Choriongonadotropin-Elimination oft erniedrigt. Dies kann zu negativen Ergebnissen führen.
4. Der Test ist nicht durch diagnostisch oder therapeutisch angewandte Hormon-Präparate gestört.
5. Bei unklaren Ergebnissen sollte ein Test mit niedriger Empfindlichkeit gewählt werden.

Hämagglutinations-Hemmtest

Prinzip:
Mit humanem Choriongonadotropin beladene Erythrozyten werden durch anti-human Choriongonado-

tropin-Antikörper agglutiniert, wenn im Urin kein humanes Choriongonadotropin vorhanden ist. Es bildet sich ein braun-roter diffuser Niederschlag auf dem Boden des Teströhrchens. Ist humanes Choriongonadotropin im Urin vorhanden, dann werden die Antikörper blockiert. Die mit humanen Choriongonadotropin beladenen Erythrozyten bleiben frei, sedimentieren und bilden auf dem Boden des Teströhrchens einen charakteristischen Ring, der eine Schwangerschaft anzeigt.

Pregnitube
Fa. E. Merck, Darmstadt
Best. Nr. 16383

Reagenzien:
1. 2 · 10 Teströhrchen mit Lyophilisat im Spiegelständer.
2. 2 · 1 Flasche Puffer-Lösung.
Die Reagenzien sind bei +15 bis +25 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendbar.

Probenmaterial:
Für den Test kann frischer Urin verwendet werden. Am besten eignet sich der erste Morgenurin. Bei Aufbewahrung bei +2 bis +8 °C ist der Urin 72 Stunden verwertbar. Wegen der Gefahr der bakteriellen Kontamination empfiehlt es sich, die Analyse unmittelbar nach Probengewinnung durchzuführen. Bei starker Trübung des Urins sollte eine Filtration oder Zentrifugation erfolgen.

Durchführung:

Ein Teströhrchen öffnen und zupipettieren:

Pufferlösung	0,2 ml
Urin	0,1 ml

Teströhrchen wieder mit Gummistopfen verschließen, kräftig schütteln und senkrecht in den Spiegelständer stellen. Das Teströhrchen bleibt 1 Stunde erschütterungsfrei in dem Ständer stehen. Direkte Sonneneinstrahlung und Wärmeeinwirkung sollen vermieden werden. Nach einer Stunde das Resultat im Spiegel ablesen ohne den Spiegel zu bewegen.

Auswertung:
Positives Ergebnis: Es bildet sich ein Ring aus.
Negatives Ergebnis: Es bildet sich kein Ring aus.

Empfindlichkeit:
> 200 bis 400 I. E. · l⁻¹

Bemerkungen:

1. Der Test zeigt als positive Reaktion eine Ringbildung bereits nach 2 Tagen nach Ausbleiben der



Abb. 7.43 hCG-Test

- Menstruation an. Erhält man ein negatives Ergebnis, dann ist der Test nach 5 Tagen zu wiederholen.
- Bei Patienten mit Blasenmolen oder Chorionepitheliom kann ebenfalls ein positives Resultat erhalten werden, obwohl keine Schwangerschaft vorliegt. Diese Patienten scheiden vermehrt Choriongonadotropin aus.
 - Bei Extrauterin gravidität, gestörter Intrauterin gravidität, intrauterinem Fruchttod oder drohendem Abort ist die Choriongonadotropin-Elimination oft erniedrigt. Dies kann zu negativen Ergebnissen führen.
 - Der Test wird nicht durch diagnostisch oder therapeutisch angewandte Hormon-Präparate gestört.

Sol Particle Immuno Assay

Prinzip:

Goldteilchen einer Größe von 50millionstel Millimeter haben die Eigenschaft, in einem Sol gelöst, rosafarbenes Licht zu reflektieren. Dieses Verhalten wurde für den Femtest Stick ausgenutzt. Sowohl auf dem Teststäbchen wie auch auf den Goldpartikeln in der Testsubstanz befinden sich monoclonale Antikörper. Sind im Urin mindestens 50 I. E. humanes Choriongonadotropin pro Liter enthalten, kommt es zu einer Agglutination am Teststäbchen. Die Antikörper am Stäbchen binden das im Urin vorhandene humane Choriongonadotropin, das wiederum mit den auf den Goldpartikeln gehefteten Antikörpern reagiert. Das vorher völlig weiße Stäbchen färbt sich rosa. Ist kein humanes Choriongonadotropin im Urin, bleibt die Farbe des Stäbchens unverändert.

Femtest Stick

Fa. Deutsche Chefaro Pharma, Waltrop

Zusammensetzung des Testsets:

- Röhrchen mit Testsubstanz
- Tube mit Flüssigkeit
- In Papier eingesiegeltes Teststäbchen

Praktische Durchführung:

- Der erste Morgenurin wird in einem Behälter, der vorher gründlich mit klarem Wasser gespült worden ist, oder im Deckel des Testsets aufgefangen.
- Vom dem Röhrchen muß jetzt der Stopfen entfernt werden. Der Stopfen ist aufzubewahren. Das geöffnete Röhrchen wird in den Halter zurückgestellt.
- Die Spitze der Tube wird abgedreht und anschließend der Inhalt in das Röhrchen überführt.
- Mit der leeren Tube wird durch Zusammendrücken und Wiederloslassen Urin aufgesaugt. Falls keine Erfahrungen mit Tropfpipetten vorliegen, sollte jetzt das Heraustropfen geübt werden, bevor das Röhrchen befüllt wird.
- Durch leichtes Drücken der Tube werden 5 Tropfen Urin in das Röhrchen gegeben. Anschließend muß das Röhrchen mit dem Stopfen verschlossen und gut geschüttelt werden.
- Das Röhrchen wird wieder in die Halterung gestellt und der Stopfen entfernt.
- Durch Schneiden mit einer Schere genau entlang der angegebenen Linie wird das Teststäbchen entsiegelt. Das untere flache Ende des Teststabes nicht berühren, da sonst Testsubstanz verloren gehen kann.

- Das Teststäbchen wird mit dem flachen Ende nach unten in das Röhrchen gestellt. Nach 30 Minuten ist die Reaktion abgeschlossen und der Test kann ausgewertet werden.
- Zur Auswertung wird das Teststäbchen aus dem Röhrchen entnommen und das flache Ende mit klarem Wasser abgespült.
- Falls nach dem Abspülen das flache Ende noch nicht vollständig weiß ist, kann angenommen werden, daß keine Schwangerschaft besteht.
- Bleibt nach dem Abspülen auf dem flachen Ende eine rosa Färbung zurück, kann davon ausgegangen werden, daß eine Schwangerschaft vorliegt. Die Färbung kann von blaß bis dunkel rosa variieren. Bei jeder Färbung kann eine Schwangerschaft angenommen werden.

Empfindlichkeit:

> 50 I. E. · l⁻¹

Hinweis

- Das Ergebnis kann nach 30 Minuten abgelesen werden, aber nicht später als nach 60 Minuten. Jede Verfärbung, die sich nach 60 Minuten einstellt, ist bedeutungslos. Die rosa Färbung kann erhalten werden, indem das Teststäbchen in Wasser aufbewahrt wird.
- Bei Patienten mit Blasenmolen oder Chorionepitheliom kann ebenfalls ein positives Resultat erhalten werden, obwohl keine Schwangerschaft vorliegt. Diese Patienten scheiden vermehrt Choriongonadotropin aus.
- Bei Extrauterin gravidität, gestörter Intrauterin gravidität, intrauterinem Fruchttod oder drohendem Abort ist die Choriongonadotropin-Elimination oft erniedrigt. Dies kann zu negativen Ergebnissen führen.
- Der Test wird nicht durch diagnostisch oder therapeutisch angewandte Hormon-Präparate oder Arzneimittel gestört.

Sandwich-Enzym-Immuno-Assay

Prinzip (B-Test color):

Der Test verwendet zwei Arten von Antikörpern. Auf der Testkugel ist ein polyclonaler Antikörper aufgebracht, während sich im Konjugat monoclonale Antikörper, die mit Enzym konjugiert sind, befinden. Der polyclonale Antikörper soll eine einheitliche und stabile Matrix für die Testdurchführung mit optimaler Farbtiefe und Stabilität bieten. Er erfaßt sowohl das ganze intakte humane Choriongonadotropin wie auch die Bruchstücke, die teilweise in einem hohen Prozentsatz vorliegen können. Der monoclonale Antikörper besitzt eine hohe Spezifität für β -humanes Choriongonadotropin mit sehr geringer Kreuzreaktivität und sehr guter Empfindlichkeit. Hierdurch werden falsch-positive Ergebnisse weitestgehend vermieden.

Humanes Choriongonadotropin besitzt Antigen-Eigenschaften. Wenn humanes Choriongonadotropin in die Blutbahn gespritzt wird, kann sich ein Antikörper gegen dieses Hormon bilden. Auf diese Weise wird antikörperhaltiges Antiserum vom Kaninchen mit polyclonalen Antikörper gewonnen. Auch bei der Gewinnung von monoclonalen Antikörpern ist die

Immunisierung der erste Produktionsschritt. Die Antigen-Antikörper-Reaktion, auf die der immunologische Schwangerschaftsnachweis basiert, verwendet das freie humane Choriongonadotropin im Urin der Schwangeren als Antigen, welches durch den humanen Choriongonadotropin-Antikörper erfaßt wird. Ist in dem zu untersuchenden Urin freies humanes Choriongonadotropin vorhanden, wird dieses zunächst an der mit humanen Choriongonadotropin-Antikörpern beladene Kugel gebunden. Unmittelbar danach greift der enzym-markierte Antikörper an einer Stelle des Antigens (humanes Choriongonadotropin) an und wird fixiert. Nach dem Abspülen von nicht gebundenen enzym-markierten Antikörpern wird der Teststab in die Substrat-Lösung gegeben, in der das fixierte Enzym die Spaltung eines Phosphat-esters katalysiert. Dieser Ester bildet eine blaue Farbe auf der Testkugel. Die Intensität der Blaufärbung ist abhängig von der humanen Choriongonadotropin-Konzentration.

Kommt es infolge Fehlens von freiem humanem Choriongonadotropins im Urin nicht zur Kupplung von enzymmarkierten Antikörpern auf die Testkugel, so bildet sich durch das Substrat keine Blaufärbung aus. Das aktivierende Enzym wurde beim Waschschrift entfernt. Der Test ist dann negativ.

B-Testcolor

Fa. Roland Arzneimittel GmbH, Hamburg

Testdauer:

20 bis 30 Minuten

Testkit-Zusammensetzung:

1 Röhrchen A mit Konjugat; 1 Röhrchen B mit Substrat; 1 Teststab in Folie verpackt; 1 Glaspipette; 1 Urinbehälter; 1 Bedienungsanleitung.

Praktische Durchführung:

1. Der erste Morgenurin wird in dem Urinbehälter aufgefangen. Danach kann sofort mit der Durchführung des Tests begonnen werden.
2. Es wird der graue Stopfen von dem Röhrchen A entfernt.
3. Die Glaspipette wird in den Urin getaucht. Durch Zusammendrücken des Pipettenballs wird der Urin bis zur angegebenen Marke aufgezogen. Etwas mehr Urin hat keinen nachteiligen Einfluß auf den Test; zu wenig Urin kann jedoch ein negatives Resultat liefern.
4. Der in der Pipette befindliche Urin wird in das Röhrchen A gegeben.
5. Nun kann die Folie des Teststabes an der gekennzeichneten Markierung geöffnet und der Teststab herausgenommen werden. Das untere Ende des Teststabes darf nicht berührt werden.
6. Der Teststab wird jetzt in das Röhrchen A gegeben. Durch Mischen mittels Drehen des Teststabes zwischen den Fingern wird das weiße Pulver gelöst (ca. 5 Sekunden). Der Teststab verbleibt nun exakt 15 Minuten (Stoppuhr) in dem Röhrchen A.
7. Nach 15 Minuten wird der aus dem Röhrchen A entnommene Teststab unter mittelstark fließendem Wasser aus der Wasserleitung 10 Sekunden abgespült.
8. Ohne den unteren Teil des Teststabes zu berühren,

wird dieser auf der in der Mitte des Testgestells befindlichen Halterung befestigt.

9. Der blaue Stopfen wird von dem Röhrchen B entfernt und der Teststab in die in diesem Röhrchen befindliche Lösung getaucht. Die Verweilzeit des Teststabes beträgt 15 Minuten. Es muß mit Stoppuhr gemessen werden. Bereits nach wenigen Minuten kann eine Blaufärbung erkannt werden, wenn eine Schwangerschaft vorliegt.
10. Nach 15 Minuten wird der Teststab aus dem Röhrchen B entfernt und auf der Halterung im vorderen Teil des Testkitgestells befestigt.
11. Die Auswertung kann jetzt durch Betrachten der Kugel im unteren Teil des Teststabes erfolgen. Wenn die untere Kugel klar sichtbar blau gefärbt ist im Vergleich zur oberen Kugel, dann liegt im Urin das Hormon Choriongonadotropin vor. Es kann auf das Vorliegen einer Schwangerschaft geschlossen werden. Die Intensität der Färbung kann variieren.
12. Wenn keine Färbung der unteren Kugel erfolgt ist, liegt keine Schwangerschaft vor.

Empfindlichkeit:

> 50 I. E. · l⁻¹

Störungen und Fehler:

Falsch positive Ergebnisse werden erhalten beim Vorliegen von

- Chorionepitheliom/Chorionkarzinom,
- Blasenmole.

Falsch negative Ergebnisse werden erhalten bei

- Verwendung von kaltem Urin,
- zu früher Durchführung.

Störung durch Arzneimittel (auch Ovulationshemmer) sind nicht bekannt.

Exclud

Fa. K. G. Schwarzhaup, Köln

Zusammensetzung des Testsets:

1. Röhrchen 1 (roter Stopfen) mit Testsubstanz
2. Kunststofftube mit Flüssigkeit
3. Langes Röhrchen 3 (grauer Stopfen) mit Teststreifen
4. Röhrchen 4 (grauer Stopfen mit Kreuz) mit klarer Flüssigkeit
5. Urinbecher
6. Urinbecherdeckel

Praktische Durchführung:

1. Der erste Morgenurin wird in einem Urinbecher aufgefangen. Falls der Test später durchgeführt wird, soll der Becher verschlossen im Kühlschrank aufbewahrt werden. Vor Testdurchführung muß der Urin jedoch wieder Raumtemperatur erreicht haben. (Aufwärmdauer ca. 2 Stunden).
2. Von dem Röhrchen 1 muß der rote Stopfen entfernt und anschließend das Röhrchen wieder in den Behälter zurückgestellt werden.
3. Der Verschuß der Kunststofftube wird entfernt und der gesamte Inhalt in das Röhrchen 1 getropft.
4. Durch Hin- und Herschwenken des Röhrchens 1 ist der Inhalt vollständig zu lösen, danach stellt man das Röhrchen wieder in die Halterung.

5. Eine ausreichende Menge des Morgenurins wird in den Urinbecherdeckel überführt.
6. Mit der leeren Tube wird durch Zusammendrücken und wieder Loslassen Urin aufgesaugt. Falls keine Erfahrungen mit Tropfpipetten vorliegen, sollte jetzt das Heraustropfen geübt werden, bevor das Röhrchen befüllt wird.
7. Durch leichtes Drücken der Tube werden 5 Tropfen Urin in das Röhrchen 1 gegeben. Anschließend muß der Inhalt des Röhrchen 1 durch seitliches Hin- und Herschwenken gut vermischt werden.
8. Das Röhrchen wieder in die Halterung stellen.
9. Nun kann der Teststreifen aus dem Röhrchen 3 entnommen und mit den beiden Reaktionszonen nach unten in das Röhrchen 1 gestellt werden. Das untere Ende des Teststreifens nicht berühren, da sonst Testsubstanz verloren werden kann.
10. Nach genau 15 Minuten, die mit dem Kurzzeitwecker zu messen sind, wird der Teststreifen aus der Lösung herausgenommen und die Reaktionszone unter fließendem Wasser ca. 45 Sekunden, mit Sekundenzeiger abgelesen, gut abgespült. Hierbei muß der Teststreifen mindestens eine Handbreit unterhalb der Wasserhahns waagrecht mit der Reaktionszone nach oben in den Wasserstrahl gehalten werden. Es ist wichtig, daß beide Reaktionszonen sorgfältig gespült sind.
11. Noch anhaftendes Wasser vom Teststreifen abschütteln. Danach den Teststreifen mit den Reaktionszonen nach unten in das Röhrchen 4 stellen. Zuvor den grauen mit Kreuz gekennzeichneten Stopfen entfernen. Genau 15 Minuten soll der Teststreifen in dem Röhrchen verbleiben. Für die Messung soll der Kurzzeitwecker verwendet werden.
12. Der Teststreifen wird aus dem Röhrchen entnommen und auf eine Färbung untersucht. Die untere Reaktionszone färbt sich beim Vorliegen von humanem Choriongonadotropin blau, während die obere Reaktionszone leicht bläulich ist oder fast weiß bleibt. Wenn bei einem sehr frühen Zeitpunkt der Schwangerschaft die untere Reaktionszone nur schwach blau gefärbt ist, dient der Vergleich der unteren mit der oberen Zone als Auswertehilfe. Immer wenn die untere Zone intensiver blau gefärbt ist als die obere Zone, kann davon ausgegangen werden, daß eine Schwangerschaft vorliegt. Sind beide Reaktionszonen gleich hellblau oder fast weiß gefärbt, ist das Ergebnis negativ.

Empfindlichkeit:
> 125 I. E. · l⁻¹

Hinweis

Ist die obere Zone stärker blau gefärbt als die untere oder sind beide Zonen gleich intensiv blau gefärbt, muß eine falsche Handhabung des Tests angenommen werden. In diesem Fall ist der Test mit einem neuen Testset zu wiederholen. Eventuell muß die Testanleitung nochmals genau durchgelesen werden.

Tandem-Icon II

Fa. Hybritech GmbH, Hürth-Efferen
Best. Nr. 4117 oder 4116

Zusammensetzung des Testsets:

1. Testzylinder mit immobilisierten monoclonalen Antikörpern (Maus) IgG anti hCG
2. Antikörperkonjugat (monoclonales Maus-IgG anti hCG konjugiert mit alkalischer Phosphatase vom Rind)
3. Substrat-Reagenz
4. Waschkonzentrat
5. Einmalpipette
6. Arbeitsanleitung

Die Reagenzien können 3 Monate bei Raumtemperatur bzw. im Kühlschrank bei +4 bis +8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum gelagert werden. Wird auch nur ein Reagenz (Position 1 bis 4) bei Raumtemperatur aufbewahrt, so muß von dem ungünstigsten Verfallsdatum (3 Monate) ausgegangen werden. Die Reagenzien sollten nicht über diesen Zeitpunkt hinaus eingesetzt werden. Das Substrat-Reagenz ist lichtempfindlich und muß deshalb im Dunkeln gelagert werden. Sollte das Substrat-Reagenz eine bläuliche Verfärbung angenommen haben, darf es nicht mehr verwendet werden. Achtung! Nur Materialien einer Charge benutzen.

Vorbereitung der Reagenzien:

Das Waschkonzentrat muß auf 250 ml (Best. Nr. 4116) bzw. auf 125 ml (Best. Nr. 4117) mit deionisiertem Wasser verdünnt werden. Es ist dann bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Praktische Durchführung:

1. Der erste Morgenurin wird in einem sauberen Kunststoff- oder Glasbehälter aufgefangen. Falls der Test später durchgeführt werden soll, den Behälter verschlossen im Kühlschrank nicht länger als 48 Stunden aufbewahren. Vor Testdurchführung muß der Urin jedoch wieder Raumtemperatur erreicht haben, die Aufwärmdauer beträgt ca. 2 Stunden. Trübe Proben müssen filtriert oder zentrifugiert werden, da sonst Probleme beim Durchfluß der Membran entstehen können.
2. Der Icon II hCG-Test wird bei Raumtemperatur durchgeführt. Aus diesem Grund sollten alle Reagenzien und der Urin vor der Durchführung des Tests Raumtemperatur erreicht haben.
3. In den Testzylinder werden mit der Pipette 5 Tropfen der Urinprobe langsam nacheinander auf die Mitte der Membran pipettiert, so daß jeder Tropfen von der Membran absorbiert werden kann, bevor der nächste Tropfen zugegeben wird.
4. Dann werden 3 Tropfen des Antikörperkonjugats schnell nacheinander auf die Mitte der Membran gegeben, so daß das Reagenz die gesamte Membranfläche bedeckt, anschließend 1 Minute warten.
5. Nun wird die Waschlösung mit einer Spritzflasche so zugegeben, daß der Flüssigkeitsstrom gegen die Innenwand des Testzylinders gerichtet ist. Der Zylinder wird bis zu der erhobenen Füllmarke gefüllt. Danach wird etwa 1 Minute gewartet, bis die Waschlösung vollständig eingesaugt ist.
6. Jetzt werden 3 Tropfen des Substratreagenzes schnell nacheinander auf die Mitte der Membran gegeben, so daß das Reagenz die gesamte Fläche der Membran bedeckt.

7. Nach 2 Minuten wird die Entwicklung des Farbstoffes, durch Zugabe der Waschlösung bis zur Füllmarke, abgebrochen.
8. Der Zylinder wird jetzt so gehalten, daß die Markierung „P“ nach vorne zeigt und damit sichtbar ist.
9. Es wird die in der Mitte des Zylinders befindliche Testzone mit der seitlich angeordneten Referenzzone verglichen und bewertet.

Auswertung:

Proben, die in der Testzone einen blauen Punkt erzeugen, sind positiv. Ist die Verfärbung in der Testzone identisch mit der Färbung der Positiv-Referenzzone, dann enthält die Probe ca. 50 I. E. $\text{hCG} \cdot \text{l}^{-1}$ und sollte als positiv bewertet werden. Bei mehr als 50 I. E. $\text{hCG} \cdot \text{l}^{-1}$ ist eine intensivere Färbung der Testzone zu erkennen. Aber auch eine geringere Verfärbung der Testzone im Vergleich zur Referenzzone kann ein positives Ergebnis anzeigen.

Hinweis

Der Test ist nur dann auswertbar, wenn innerhalb von 2 Minuten nach Zugabe des Substrates die Positivzone als blauer Punkt erscheint. Erscheint keine Verfärbung, dann deutet dies darauf hin, daß die Reagenzien nicht richtig zugegeben wurden oder nicht richtig reagieren. In diesem Fall sollte die Probe mit einem neuen Testzylinder nochmals analysiert werden.

Empfindlichkeit:

> 20–50 I. E. $\text{HCG} \cdot \text{l}^{-1}$

Störungen und Fehler:

Obwohl die Schwangerschaft der wahrscheinlichste Grund für die Gegenwart von humanem Choriongonadotropin im Urin ist, sind auch erhöhte Konzentrationen bei Patienten mit Chorionkarzinom, Blasenmole und einigen nicht trophoblastischen Erkrankungen einschließlich Hoden-, Prostata-, Brust- und Lungenkarzinom bekannt. Ein positiver Befund sollte daher in Verbindung mit anderen klinischen und Labordaten bewertet werden. Eine Störung des Tests durch Arzneimittel wurde bisher nicht beschrieben.

Urine, die getrübt sind, können die Durchflußrate der Membran herabsetzen. Aus diesem Grund sollten stark trübe Urine vor der Analyse zentrifugiert werden.

5.2 Okkultes Blut im Stuhl

Indikation

Die Bestimmung des okkulten Blutes im Stuhl dient als

- Nachweis von Blut im Stuhl,
- Test auf kolorektale Karzinome.

Allgemeines

In der Bundesrepublik Deutschland sterben jährlich über 20000 Menschen an Dickdarmkrebs, weil ihre Erkrankung zu spät diagnostiziert wird. Oft wird der Arzt erst dann aufgesucht, wenn Beschwerden vorliegen, meist in einem Stadium, in dem keine Heilungsaussichten bestehen. Der Dickdarmkrebs gilt jedoch bei frühzeitiger Erkennung als vergleichsweise gut

heilbare Krebserkrankung. Der Dickdarmkrebs entwickelt sich langsam über mehrere Jahre aus leicht diagnostizierbaren Vorstufen, den großen adenomatösen Polypen. Als besonders gefährdet gelten Personen im Alter von 45 bis 50 Jahren (→ 2.7).

Seit einigen Jahren gibt es eine Möglichkeit, aus der großen Anzahl scheinbar sich gesund fühlender Personen diejenigen herauszufiltern, die mit hoher Wahrscheinlichkeit eine kolorektale Neoplasie haben. Bei diesem Personenkreis findet sich okkultes Blut im Stuhl, welches mit einem einfachen Verfahren nachgewiesen werden kann. Seit 1977 gehört dieser Test in den Rahmen der Krebsfrüherkennungsuntersuchung.

Pro Tag werden < 1,5 ml Blut mit dem Stuhl ausgeschieden, dies gilt als physiologisch normal. Aus diesem Grund liegt die Empfindlichkeitsgrenze der üblichen Tests in der Regel um das 2- bis 6fache höher. Außer den kolorektalen Karzinomen kommen auch andere Erkrankungen als Blutungsquelle in Frage, wie z. B. große Polypen, Hämorrhoiden und Analfissuren.

Durchführung des Tests:

Der Patient erhält einen Umschlag mit drei Testbriefchen und den genauen Instruktionen zur Gewinnung der Stuhlproben. Der Patient soll von drei aufeinanderfolgenden Stuhlgängen je zwei separate Proben auf das entsprechende Testfeld auftragen. Die Stuhlproben sollen das gesamte Fenster des Testbriefchens bedecken. Nachdem alle 3 Testbriefchen entsprechend mit Proben gefüllt worden sind, werden sie zur Testauswertung an den Untersucher gegeben. Der Untersucher öffnet die Rückseite der Testbriefchen und tropft 2 Tropfen des Entwickler-Reagenzes auf jede Stuhlprobe, also insgesamt 4 Tropfen pro Testbriefchen. Jede Blaufärbung, welche sich innerhalb von 30 Sekunden bildet, gilt als positiver Befund. Auch unsymmetrisch verlaufende schwache Blaufärbungen bei nur einer der sechs Stuhlproben stellen schon einen positiven Befund dar, dieser muß weiter abgeklärt werden. Da schwache Blaufärbungen unter Umständen rasch verschwinden, sollte mit der Auswertung nicht länger als 30 Sekunden gewartet werden.

Das Prinzip des Tests beruht auf der peroxidatischen Aktivität des Hämoglobins. Der Redoxindikator Guajacol, mit dem das Chromatographiepapier des Testbriefchens imprägniert ist, wird in Gegenwart einer alkoholischen Wasserstoffperoxid-Lösung, zu einem blauen Farbstoff oxidiert. Das Hämoglobin katalysiert diese Reaktion.

Fehlermöglichkeiten:

1. Bei wäßrigem Durchfall sollte der Test verschoben werden, bis eine annähernd normale Darmtätigkeit wieder eingetreten ist.
2. Bei Menstruation ist es ebenfalls ratsam, den Test zu verschieben. Leichtes Zahnfleisch- oder Nasenbluten sind kein Hindernis für die Durchführung des Tests, da diese Blutspuren während der Passage durch den Magendarmtrakt abgebaut werden.
3. Arzneimittel können vom Patienten weiterhin eingenommen werden, sofern es sich nicht um Acetylsalizylsäure, Steroide, Heparin, Cumarine und

- Antirheumatika handelt, diese können eine Mikroblutung verursachen.
- Vitamin-C-Tabletten können den Test, trotz einer Blutung, als negativ erscheinen lassen.
 - Eisen- oder bismuthaltige Arzneimittel können die Testauswertung färblich beeinflussen.
 - Klistiere und Afterzäpfchen sollten während der Testtage nicht verabreicht werden.
 - 3 Tage vor und während der Durchführung des Tests sollte auf rohes und halbrohes Fleisch, Wurstwaren, Bananen, Meerrettich und Rettich verzichtet werden.
 - Alkohol kann ebenfalls zu Mikroblutungen führen.
 - Es sollte eine möglichst schlackenreiche Kost wie Obst, Gemüse, Salate, Vollkornbrote und Nüsse gegessen werden, da hierdurch Neoplasien eher zur Blutung neigen.

Ein positiver Befund muß durch weitere diagnostische Maßnahmen abgeklärt werden. Die Kassenärztliche Bundesvereinigung empfiehlt folgende Maßnahmen:

- Digitale Abtastung des Rectums und Rectoskopie
- Röntgenuntersuchung des Dickdarms unter Anwendung des Doppelkontrastverfahrens.

Sollten diese Untersuchungen keine Blutungsquellen finden lassen, soll eine Koloskopie durchgeführt werden.

In der Literatur wird bei positivem Befund des Testes auf okkultes Blut im Stuhl grundsätzlich eine vollständige Koloskopie empfohlen.

Bei der Durchführung von Screeninguntersuchungen konnte gezeigt werden, daß bei 19 von 20 testpositiven Probanden kein Karzinom auffindbar war. Bei symptomatischen Patienten, bei denen ein zuverlässiger Tumoraussschluß wichtig wäre, stellt die vergleichsweise niedrige Sensitivität des Testes das Hauptproblem dar. Derzeit wird der Test bei negativem Befund jedes Jahr im Rahmen der Krebsfrüherkennung trotz der aufgezeigten Problematik wiederholt.

5.3 Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG)

Indikation

Die Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nimmt auch heute noch ihren bedeutenden Platz bei der ersten Suche nach einer Vielzahl von Erkrankungen, bei denen die Proteinzusammensetzung verändert ist, z. B. bei Entzündungen oder bei qualitativen bzw. quantitativen Veränderungen der Erythrozyten, ein. Teilweise wurde die Bestimmung der BSG auch als Serumlabilitätsprobe bezeichnet. Nach der Methode von Westergren läßt man die geformten Bestandteile (Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten) einer durch Citratzusatz ungerinnbar gemachten Blutprobe in einem senkrechten Röhrchen durch die eigene Schwerkraft sedimentieren. Die Sedimentationsgeschwindigkeit wird als die Strecke in mm, um die sich die Blutkörperchen-Plasma-Grenze nach 1 Stunde gesenkt hat, bestimmt. Sie ist hauptsächlich vom Fibrinogengehalt des Plasmas und ganz erheblich auch vom Albumin-

und Globulingehalt abhängig. Einen Einfluß haben auch die Viskosität des Blutes sowie die Form und die Oberfläche der Erythrozyten. Die Methode nach Westergren hat trotz zahlreicher Varianten bis heute ihren Platz als Standardmethode halten können.

Praktische Durchführung:

Materialien und Reagenzien:

- Blutsenkungsapparat mit Blutsenkungspipetten
- 2-ml-Rekordspritze oder andere Spritze mit 0,1 ml Unterteilungen
- Natriumcitrat-Lösung 3,8%, bzw. $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ steril (im Handel sind auch mit Citrat gefüllte Monovetten erhältlich)

Ausführung:

In die Spritze werden 0,4 ml Natriumcitrat 3,8%, bzw. $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ aufgezogen. Aus der Vene werden 1,6 ml Blut entnommen. Das Verdünnungsverhältnis beträgt 1:5. Die Spritze muß sofort gut umgeschwenkt werden, damit sich das Blut und die Citrat-Lösung vermischen können. Das so erhaltene Citratblut soll unmittelbar in die Füllvorrichtung der Blutsenkungspipette mit einem Durchmesser von 2,4 mm bis zur Höhe von 200 mm gegeben werden. Der Blutsenkungsapparat soll lichtgeschützt bei Raumtemperatur stehen. Nach exakt 60 Minuten muß die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit an der Grenze zwischen den Blutkörperchen und dem Plasma abgelesen werden. Die Angabe erfolgt in mm pro Stunde.

Referenzbereich:

	nach 60 Minuten mm	nach 120 Minuten mm
Frauen:	6 bis 11	6 bis 20
Männer:	3 bis 8	5 bis 18
Neugeborene:	bis 2	
Säuglinge:	bis 12	
Kleinkinder:	bis 8	

Bewertung (Erwachsene):

unter 3 mm:	verlangsamt
8 (11) bis 20 mm:	gering beschleunigt
20 bis 50 mm:	beschleunigt
über 50 mm:	stark beschleunigt

Störungen und Fehler:

Zu wenig Citrat führt zu einer beschleunigten Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. Eine Erhöhung der Citrat-Konzentration kann die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen hemmen. Heparin ist als Antikoagulationsmittel ungeeignet, es verursacht eine starke Erhöhung der Senkungsgeschwindigkeit. Zu hohe Raumtemperaturen führen zu einer Beschleunigung der Senkung, während zu tiefe Temperaturen eine Verlangsamung verursachen. Eine Lagerung des Citratblutes vor der Durchführung der Untersuchung kann nicht empfohlen werden, da dadurch eine Verminderung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit resultieren kann. Ein häufiger Fehler ist die mangelhafte Durchmischung von Citrat-Lösung und Venenblut. Dieser Fehler läßt sich durch nachträgliches Aufziehen einer Luftblase zum

besseren Mischen kompensieren. Einige Arzneimittel mit antiphlogistischen Eigenschaften können als Senkungsblocker wirken, z. B. Acetylsalizylsäure, Indometacin, Cortison und Phenylbutazon.

Hinweis

Neben der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit kann auch die Färbung des Plasmas bewertet werden und somit einen ersten Anhalt für eine möglicherweise vorliegende Erkrankung geben.

goldgelb bis braun-grünlich	Ikterus
auffällig gelb	Eisenmangelanämie
strohgelb	perniziöse Anämie
trübe bis milchig	erhöhte Lipide, Hypertriglyceridämie

Auch die Dicke der Leukozytenschicht, die zwischen den Erythrozyten und dem Plasma als weißgraue Schicht sedimentiert, kann einen Hinweis auf abnorme Leukozytenzahlen geben. Die Dicke der Schicht wird mit 1 bis 4 mm als normal angesehen, wenn die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeits - Pipette 24 Stunden stehengelassen wird.

Seit kurzem wird ein Ersatz für die Methode nach Westergren genannt. Es handelt sich um die Bestimmung der Viskosität des Blutes. Ob dieses Verfahren für die Ablösung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit geeignet ist, bleibt abzuwarten.

Literatur

1. Barthels M, Poliwođa H (1987) Gerinnungsanalysen, 3. Aufl., Thieme, Stuttgart New York
2. Begemann H und M (1983) Praktische Hämatologie, 9. Aufl., Thieme, Stuttgart New York
3. Boehringer Mannheim, Harnanalyse mit Teststreifen von Boehringer Mannheim, Produktinformation (nicht datiert)
4. Dörner K (1989) Klinische Chemie, Enke, Stuttgart
5. Greiling H, Gressner AM (1989) Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 2. Aufl., Schattauer, Stuttgart
6. Guder G, and Wahlefeld AW (1983) in „Methods of Enzymatic Analysis“, Vol. II, 3. Aufl., S. 2-20, Verlag Chemie, Weinheim
7. Hagemann P, Rosenmund K (1989) Laboratoriumsmedizin, 3. Aufl., Hirzel, Stuttgart
8. Hallmann L (1980) Klinische Chemie und Mikroskopie, 11. Aufl., Thieme, Stuttgart New York
9. Heintz R, Althof S (1989) Das Harnsediment, 4. Aufl., Thieme, Stuttgart New York
10. Keller H (1986) Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, Thieme, Stuttgart New York
11. Kutter D (1983) Schnelltests in der klinischen Diagnostik, 2. Aufl., Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore
12. Leybold K, Grabener E (1976) Praxis-Laboratorium, 7. Aufl., Thieme, Stuttgart New York
13. Meyer JG (1990) Labormedizin, 4. Aufl., Deutscher Ärzte-Verlag, Köln
14. Naumer, H und Heller W (1986) Untersuchungsmethoden in der Chemie, Thieme, Stuttgart New York
15. Roche Lexikon Medizin (1987) 2. Aufl., Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore
16. Sonntag O (1988) Trockenchemie - Analytik mit trägergebundenen Reagenzien, Thieme, Stuttgart New York
17. Sonntag O (1985) Arzneimittel-Interferenzen, Thieme, Stuttgart New York
18. Thomas L (1988) Labor und Diagnose, 3. Aufl., Die Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg

Anhang 1

Neue Maßeinheiten, SI-Einheiten und Umrechnungsfaktoren

Analyt	SI-Einheit	Faktor	= alte Einheit	Faktor	= SI-Einheit
Albumin	µmol/l	0,0069	g/dl	144,93	µmol/l
Bilirubin	µmol/l	0,0585	mg/dl	17,104	µmol/l
Calcium	mmol/l	4,0080	mg/dl	0,2495	mmol/l
	mmol/l	2,0000	mval/l	0,5000	mmol/l
Chlorid*	mmol/l	3,5453	mg/dl	0,2821	mmol/l
Cholesterol	mmol/l	38,664	mg/dl	0,0259	mmol/l
Creatin	µmol/l	0,0131	mg/dl	76,254	µmol/l
Creatinin	µmol/l	0,0113	mg/dl	88,402	µmol/l
Eisen	µmol/l	5,5847	µg/dl	0,1791	µmol/l
Eisenbindungskapazität	µmol/l	5,5847	µg/dl	0,1791	µmol/l
Freie Fettsäuren	µmol/l	0,0010	mval/l	1000,0	µmol/l
Fibrinogen	g/l	100,00	mg/dl	0,0100	g/l
Fructose	mmol/l	18,016	mg/dl	0,0555	mmol/l
Galaktose	mmol/l	18,016	mg/dl	0,0555	mmol/l
Gesamt-Eiweiß	g/l	0,1000	g/dl	10,000	g/l
Glucose	mmol/l	18,016	mg/dl	0,0555	mmol/l
Freies Glycerol	mmol/l	9,2090	mg/dl	0,1086	mmol/l
Hämoglobin	g/l	10,000	g/dl	0,1000	g/l
	mmol/l	1,611	g/dl	0,6206	mmol/l
Harnsäure	µmol/l	0,0168	mg/dl	59,485	µmol/l
Harnstoff	mmol/l	6,0060	mg/dl	0,1665	mmol/l
Harnstoff-Stickstoff	mmol/l	2,8080	mg/dl	0,3561	mmol/l
Kalium*	mmol/l	3,9102	mg/dl	0,2557	mmol/l
Kupfer	µmol/l	6,3546	µg/dl	0,1574	µmol/l
Lactat	mmol/l	9,008	mg/dl	0,111	mmol/l
Lipide,total	g/l	100,00	mg/dl	0,0100	g/l
Lipoprotein	g/l	100,00	mg/dl	0,0100	g/l
Lithium	mmol/l	1,0000	mval/l	1,0000	mmol/l
Magnesium	mmol/l	2,4312	mg/dl	0,4113	mmol/l
	mmol/l	2,0000	mval/l	0,5000	mmol/l
Myoglobin	µmol/l	1,7100	mg/dl	0,5848	µmol/l
Natrium*	mmol/l	2,2989	mg/dl	0,4350	mmol/l
Phosphor, anorg.	mmol/l	3,0974	mgP/dl	0,3229	mmol/l
Protein (Gesamteiweiß)	g/l	0,1000	g/dl	10,000	g/l
C-reaktives Protein	mg/l	0,1000	mg/dl	10,000	mg/l
Pyruvat	µmol/l	0,0088	mg/dl	113,56	µmol/l
Tansferrin	g/l	100,00	mg/dl	0,0100	g/l
Triglyceride (Neutralfett)	mmol/l	87,500	mg/dl	0,0114	mmol/l

*Der Faktor für die Umrechnung von mval/l in mmol/l ist 1,0 bei den Parametern Chlorid, Kalium und Natrium.

Anhang 2

Konzentrationsangaben können mit folgender Tabelle in eine andere Einheit umgerechnet werden

Konzentration in/ Faktor für	multipliziert mit	ergibt Konzentration in/ Faktor für
mmol/l	$\frac{MG}{10}$	mg/dl
mg/dl	$\frac{10}{MG}$	mmol/l
mg/dl	$\frac{10000}{MG}$	$\mu\text{mol/l}$
mg/dl	1000	$\mu\text{g/dl}$
mg/dl	0,01	g/l

Anhang 3

Wichtige Extinktionskoeffizienten

Farbstoff	Wellenlänge	Extinktionskoeffizient in der Einheit			Literatur
		$1 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $\text{cm}^2 \cdot \text{mmol}^{-1}$	$\text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$	$\text{cm}^2 \cdot \mu\text{mol}^{-1}$	
Hämoglobincyanid, bezogen auf monomeres Hämoglobin (Hb/4)	540nm Hg 546nm	$11,0 \cdot 10^3$	$11,0 \cdot 10^6$	11,0	DIN-Vornorm 58931
Harnsäure (Uricase UV-Test)	293nm Hg 297nm Hg 302nm	$12,6 \cdot 10^3$ $11,66 \cdot 10^3$ $8,0 \cdot 10^3$	$12,6 \cdot 10^6$ $11,66 \cdot 10^6$ $8,0 \cdot 10^6$	12,6 1,66 8,0	293nm und 296 nm: Bergmeyer, H.U. (1974), Methoden der enzy- matischen Analyse, 3. Aufl., S. 577, Verlag Chemie, Weinheim/Berg- str. Hg 302nm: errechnet aus Vor- schrift AV 805 der Fa. Eppendorf Gerätebau, Hamburg.
5-Mercapto- 2-nitrobenzoat (Bestimmung der CHE)	Hg 405nm	$13,3 \cdot 10^3$	$13,3 \cdot 10^6$	13,3	Knedel, M. & Böttger, R. (1967), Klin. Wochenschr. 45 , 325-326.
NADH ₂ (z. B. UV-Test auf GOT, GPT, LDH, HBDH, (Triglyceride)	Hg 334nm 340nm Hg 365nm	$6,18 \cdot 10^3$ $6,3 \cdot 10^3$ $3,4 \cdot 10^3$	$6,18 \cdot 10^6$ $6,3 \cdot 10^6$ $3,4 \cdot 10^6$	6,18 6,3 3,4	Bergmeyer, H.U. (1975), Z.Klin. Chem.Klin.Biochem. 13 , 507-508.
NADPH ₂	Hg 334nm 340nm Hg 365nm	$6,18 \cdot 10^3$ $6,3 \cdot 10^3$ $3,5 \cdot 10^3$	$6,18 \cdot 10^6$ $6,3 \cdot 10^6$ $3,5 \cdot 10^6$	6,18 6,3 3,5	Bergmeyer, H.U. (1975), Z.Klin. Chem.Klin.Biochem. 13 , 507-508.
p-Nitranilin (Bestimmung der γ -GT und LAP)	Hg 405nm	$9,9 \cdot 10^3$	$9,9 \cdot 10^6$	9,9	Nagel, W., Willig, F. & Schmidt F.H. (1964) Klin. Wochenschr. 42 , 447-449
p-Nitrophenolat (Bestimmung der Alkalischen und Sauren Phosphatase)	Hg 405nm	$18,5 \cdot 10^3$	$18,5 \cdot 10^6$	18,5	Richterich, R. (1971) Klinische Chemie, 3. Aufl., S.357u.506, Karger, Basel.
p-Nitrophenol (Testomar ^R -Amylase)	405nm	$8 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^6$	8	

Quelle: Arbeits-Anleitungen klinisch-chemische Diagnostika 86/87, Abdruck mit freundlicher Genehmigung der Fa. Behringwerke, Marburg.

Anhang 4

Enzymnomenklatur

Abkürzung	Kurzname	Langname	Enzyme Commission Number (EC-Nummer)
ALAT	Alanin-aminotransferase	L-Alanin:2-oxoglutarat aminotransferase	2.6.1.2
AP bzw. ALP	Alkalische Phosphatase	Orthophosphorsäure-monoester-phosphohydrolase	3.1.3.1
α -AM	α -Amylase	1,4- α -D-Glucan-glucanohydrolase	3.2.1.1
ASAT	Aspartat-aminotransferase	L-Aspartat:2-oxoglutarat aminotransferase	2.6.1.1
–	Cholesterol-Esterase	Sterolester-acylhydrolase	3.1.1.13
CHOD	Cholesterol-Oxidase	Cholesterol:oxygen oxidoreductase	1.1.3.6
CHE	Cholinesterase	Acylcholin-acylhydrolase	3.1.1.8
CK	Creatin-Kinase	ATP:creatin N-phosphotransferase	2.7.3.2
CK-MB	Creatin-Kinase MB-Isoenzym	ATP:creatin N-phosphotransferase	2.7.3.2
CK-MM	Creatin-Kinase MM-Isoenzym	ATP:creatin N-phosphotransferase	2.7.3.2
–	Diaphorase	NADH-dye-oxidoreductase	1.6.99.–
–	PMN-Elastase	Human-Granulozyten-Elastase	3.4.21.37
Gluc-DH	Glucose-Dehydrogenase	β -D-Glucose:NAD(P) ⁺ 1-oxidoreductase	1.1.1.47
GOD	Glucose-Oxidase	β -D-Glucose:oxygen 1-oxidoreductase	1.1.3.4
G-6-PDH	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	D-Glucose-6-phosphat:NADP ⁺ 1-oxidoreductase	1.1.1.49
–	α -Glucosidase	α -D-Glucosid glucohydrolase	3.2.1.20
–	β -Glucosidase	β -D-Glucosid glucohydrolase	3.2.1.21
GIDH bzw. GDH	Glutamat-Dehydrogenase	L-Glutamat:NAD ⁺ oxidoreductase (desaminierend)	1.4.1.3
GOT	Glutamat-oxalacetat-transaminase	L-Aspartat:2-oxoglutarat aminotransferase	2.6.1.1
GPT	Glutamat-pyruvat-transaminase	L-Alanin:2-oxoglutarat aminotransferase	2.6.1.2
γ -GT	γ -Glutamyltransferase γ -Glutamyltranspeptidase	(γ -Glutamyl)-peptid:Aminosäure γ -glutamyl-transferase	2.3.2.2
G-3-PDH	Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase	Glycerol-3-phosphat:NAD ⁺ 2-oxidoreductase	1.1.1.8
GPO	Glycerolphosphat-Oxidase	Glycerol-3-phosphat:oxygen oxidoreductase	1.1.3.–
GK	Glycerokinase	ATP:glycerol 3-phosphotransferase	2.7.1.30
HK	Hexokinase	ATP:D-hexose-6-phosphotransferase	2.7.1.1
HBDH	α -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase	Isoenzyme 1 und 2 LDH	1.1.1.27
3- α -HSD	3- α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase	3- α -Hydroxysteroid: NAD ⁺ oxidoreductase	1.1.1.50
LDH bzw. LD	Lactat-Dehydrogenase	L-Lactat:NAD ⁺ oxidoreductase	1.1.1.27
LAP	Leucin-aminopeptidase	α -Aminoacyl-peptidhydrolase	3.4.11.–
–	Leucin-arylamidase		
–	Lipase	Triacylglycerol acylhydrolase	3.1.1.3
MDH	Malat-Dehydrogenase	L-Malat:NAD ⁺ oxidoreductase	1.1.1.37
–	Mutarotase	Aldose-1-epimerase	5.1.3.3
POD	Peroxidase	Donor:hydrogenperoxid oxidoreductase	1.11.1.7
PK	Pyruvatkinase	ATP:Pyruvat 2-0-phosphotransferase	2.7.1.40
SP	Saure Phosphatase	Orthophosphorsäure-monoester phosphohydrolase	3.1.3.2
–	Urease	Urea amidohydrolase	3.5.1.5
–	Uricase	Urat:oxygen oxidoreductase	1.7.3.3