

## Chronischer Alkoholmissbrauch

Im Mai 2005 hat Chromsystems seine Produktpalette um die Linie „Chronischer Alkoholmissbrauch“ erweitert. Die Analytik von CDT (Kohlenhydrat-defizientes Transferrin) eröffnet die Möglichkeit, die von Chromsystems gewohnte Benutzerfreundlichkeit und Präzision nun auch für diesen Diagnostikbereich anzuwenden. Der Reagenzienkit zeichnet sich durch eine sehr schnelle und einfache Probenvorbereitung mit nur zwei Pipettierschritten aus und bietet weitere Zeitersparnis durch eine wartungsfreie Gradienten-HPLC-Methode, die sich sowohl an Anlagen mit binärem als auch auf solchen mit ternären Gradientensystemen anwenden lässt. Die HPLC erreicht eine saubere Trennung aller Transferrinisoformen von Asialotransferrin bis Pentasialotransferrin.

**Definition von Alkoholmissbrauch**  
Die von der Weltgesundheitsorganisation WHO aufgestellte „ICD-10“, die internationale Klassifikation von Krankheiten, nennt acht Kriterien, von denen drei erfüllt sein müssen, um von Alkoholabhängigkeit zu sprechen:

- > starker Wunsch oder eine Art Zwang, Alkohol zu konsumieren
- > verminderte Kontrollfähigkeit, den Alkoholkonsum zu beenden
- > Alkoholkonsum mit dem Ziel, Entzugssymptome zu lindern
- > körperliches Entzugssyndrom
- > Nachweis einer Toleranz
- > Alkoholkonsum eher nach psychischem oder körperlichem Bedarf als nach äußeren Anlässen
- > Vernachlässigung von Interessen zugunsten des Alkoholkonsums
- > anhaltender Konsum trotz Nachweis der schädlichen Folgen



### Statistik

Alkoholmissbrauch ist der Fall, wenn der Konsum nachweisbare Schäden zur Folge hat. Die Zahl der in Deutschland Alkoholabhängigen wird auf zwei bis drei Millionen geschätzt. Jährlich sterben in Deutschland 30–40 000 Menschen an den Folgen des Alkoholmissbrauchs und über 1800 Kinder werden in Folge von Alkoholembyopathie mit körperlichen und geistigen Schäden geboren. 1989 standen in der BRD ca. 3 Milliarden Euro Einnahmen durch Alkoholsteuer ca. 19 Milliarden Euro Ausgaben zur Behandlung von Alkoholfolgeschäden gegenüber. Dennoch sind alkoholhaltige Getränke praktisch uneingeschränkt erhältlich und unterliegen dem Lebensmittelgesetz. Innerhalb der Gruppe von Drogen und Betäubungsmitteln nimmt Ethanol, der hauptsächliche Getränkealkohol, eine Sonderstellung ein.

### Blutalkoholspiegel

Die physiologischen und sozialen Konsequenzen des Alkoholmissbrauchs haben früh den Bedarf an der entsprechenden Diagnostik geweckt, dazu mussten verlässliche Biomarker identifiziert werden. Grundsätzlich muss unterschieden werden zwischen den Messgrößen des akuten bzw. kurz zurückliegenden Alkoholabusus einerseits und dem chronischen Konsum bzw. Missbrauch andererseits. Die direkte Messung von Alkohol im Blut, Urin oder in der Atemluft dient nur zur „Momentaufnahme“, diese Werte treffen keine Aussage zur Langzeitbelastung (Chronizität).

### Fortdauernde Alkoholbelastung

Der Nachweis von chronischem Alkoholmissbrauch soll eine Früherkennung der Sucht vor dem Eintreten chronischer Schäden ermöglichen, die Motivation für Behandlungsmaßnahmen erhöhen und eine begleitende Therapiebeobachtung ermöglichen. Darüber hinaus wird die Bestimmung in der Arbeitsmedizin genutzt und auch die Gerichtsmedizin bedient sich vor den Hintergründen von Strafrecht, Verwaltungsrecht und Zivilrecht (z.B. Sorgerecht für Kinder, Post-mortem-Untersuchungen, verminderte Verkehrstüchtigkeit, Leistungseinschränkungen von Versicherungsunternehmen etc.) der Diagnostik des chronischen Alkoholmissbrauchs. Verschiedene Parameter sind in den vergangenen Jahrzehnten genutzt worden, um eine Aussage zum Langzeit-Alkoholabusus zu treffen.

### Transferrine

1976 publizierten Stibler und Kjelin erstmals über Veränderungen von Isoformen des Transferrins im Serum von Patienten mit alkoholinduziertem zerebellärem Tremor (Bewegungsstörung). Das Transferrin ist für den Transport von Fe<sup>3+</sup> zwischen verschiedenen Geweben verantwortlich und ist ein Glycoprotein, besteht also aus einer Polypeptidkette, an die zwei Oligosaccharidketten gebunden sind. Die Transferrinsynthese findet hauptsächlich in den Hepatocyten (Leber) statt. Transferrin besteht aus einer Polypeptidkette mit zwei Kohlenhydratketten, die bis zu vierfach verzweigt sein können (siehe Abb. 1). Es liegen zwei Eisenbindungsdomänen vor. Die Verzweigungsstruktur ist unterschiedlich ausgeprägt. Die Kohlenhydratketten enden in einem Sialinsäuremolekül, so dass prinzipiell verschiedene Isoformen des Transferrins von Asialotransferrin bis Octasialotransferrin möglich sind. Im Serum gesunder Patienten liegen die Isofor-

Seite 1/2

### Chronischer Alkoholmissbrauch

Seite 3

### CDT: HPLC versus Immunoassay

Dipl. Ing. Ernst Wimmer, Zentrallabor, Krankenhaus d. Barmherzigen Schwestern Linz

### Farbindikator für Katecholamin-Analytik

Produktinformationen

Seite 4

### Itraconazol im Serum/Plasma

Produkteinführung

Seite 5/6

### Neues Antiepileptikum - Serum-Spiegel Bestimmung von Zonisamid

PD Dr. Hans-Willi Clement, Dr. Christian Fleischhaker, Prof. Dr. Eberhard Schulz, Universitätsklinikum Freiburg

Seite 6

### 6PLUS1 Multilevel Calibrator Set

Produktinformationen

### NEU: Serumkontrolle und Kalibrator für Pregabalin

Produktinformationen

Seite 7

### Bestimmung von Phenol im Urin

Dipl.-Ing. Nuno Miguel Fernandes, Fachbereich Analytische Chemie, Gemeinschaftspraxis Dr. Limbach & Koll., Heidelberg

Seite 8

Wir stellen vor...

### Teil 3: Die Abteilung Forschung und Entwicklung

### Messetermine

Impressum

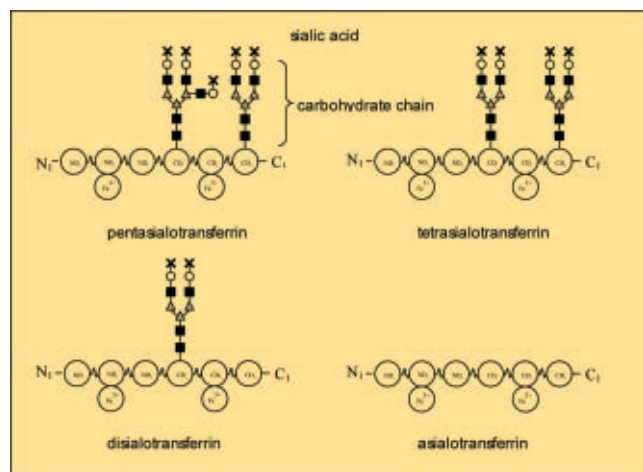


Abbildung 1

men des Transferrins (Tf.) im Bereich folgender Anteile:

*Octasialotransferrin, Monosialotransferrin, Asialotransferrin treten unter physiologischen Bedingungen praktisch nicht auf, Heptasialo-Tf. < 1,5 %, Hexasialo-Tf. 1–3 %, Pentasialo-Tf. 12–18 %, Tetrasialo-Tf. 64–80 %, Trisialo-Tf. 4,5–9 %, Disialo-Tf. < 2,5 %.*

#### CDT

Bei chronischem Alkoholabusus wird die Biosynthese von Transferrin gestört und die Sequenz der angehängten Oligosaccharidkette ist verändert (Fehlen der endständigen Sialinsäurereste oder größerer Teile der Oligosaccharide), so dass die Isoformen Disialo- und Asialotransferrin vermehrt auftreten. Für diese Isoformen wurde die Bezeichnung Carbohydrate deficient Transferrin, CDT, eingeführt. Sie stehen in direktem Bezug zum chronischen Alkoholmissbrauch. Der Pathomechanismus zur Bildung von CDT-Isoformen wird wie folgt erklärt: Ethanol und Acetaldehyd (Abbauprodukt von Ethanol) bewirken einerseits die Erhöhung der Aktivität jener Enzyme, die für die Abspaltung der Sialinsäurereste verantwortlich sind, andererseits vermindern sie die Aktivität derjenigen Enzyme, welche die Sialinsäure auf das Transferrin übertragen (erhöhte Sialidase-Aktivität, verminderte Aktivitäten der Sialyltransferase, der N-Acetylglucosaminyltransferase und der Galactosyltransferase im Golgi-Apparat). Ab einem Konsum von täglich 50–80g reinem Alkohol, das entspricht ca. einer Flasche (0,75 l) Wein oder 1,5 l Bier, für einen Zeitraum von sieben Tagen lässt sich der Anstieg der CDT-Isoformen beobachten. Die Halbwertszeit von CDT im Serum beträgt ca. 9,5 Tage, so dass bei einer Abstinenz von etwa drei Wochen der CDT-Spiegel auf unter 25% der Ursprungswerte sinken kann. Die CDT-Werte werden, anders als bei den „älteren“ Biomarkern  $\gamma$ -Glutamyltransferase oder dem mittleren kor-

individuellem Alkoholabusus und wird weit verbreitet angewendet.

#### Der Chromsystems-Reagenzienkit

Der Reagenzienkit von Chromsystems ermöglicht die spezifische HPLC-Bestimmung aller drei CDT-Isoformen Di-, Mono- und Asialotransferrin und erlaubt darüber hinaus auch die Messung der übrigen Isoformen Tri-, Tetra- und Pentasialotransferrin, was für die Herstellung des Bezugswertes „Gesamt-Transferrin“ nötig ist. Die Analytik kann wahlweise mit einem binären oder ternären Gradienten genutzt werden, zwei entsprechende Konfigurationen des Kits (mit zwei bzw. drei mobilen Phasen) stehen dafür zur Verfügung. Somit lässt sich diese Analytik problemlos auf unterschiedliche Gerätesituationen in den Laboratorien einstellen. Der Gradientenmodus hat auf die erzielten Ergebnisse keinen Einfluss, binärer und ternärer Gradient ergeben praktisch identische Chromatogramme und vergleichbare Werte.

#### Probenmaterial und -vorbereitung

Das Probenmaterial ist Serum, Plasma mit zugegebenem EDTA oder Heparin sind ungeeignet. Der Probenahmezeitpunkt hat auf die Analytik keinen Einfluss. In ungekühltem Serum ist CDT ca. 30 Stunden stabil, für einen längeren Transport sollten die Proben gekühlt oder eingefroren werden. Die sehr einfache Probenvorbereitung beginnt mit der Herstellung einer Reagenzienmischung. Unabhängig von der Probenzahl wird diese Mischung nur einmal hergestellt, die Menge wird an die Probenzahl angepasst. Dann werden zu 200  $\mu$ l Patientenprobe 100  $\mu$ l Reagenzienmischung gegeben. Dabei werden alle Isoformen des CDT mit Eisen gesättigt, damit unterschiedliche Eisenbeladungen keinen Effekt auf die chromatographischen Eigenschaften der Transferrine haben. Danach erfolgt eine Fällung, Lipoproteine werden entfernt. Im Vergleich zu Systemen mit online-Säulenschaltung werden durch die separate Probenvorbereitung potentielle Störsubstanzen

effektiv entfernt. Die Belastung der HPLC-Säule wird dadurch stark reduziert. In der Regel ermöglichen die Chromsystems-HPLC-Säulen für die CDT-Analytik doppelt so viele Injektionen, wie es bei vergleichbaren Testkits mit online-Säulenschaltung der Fall ist. Darüber hinaus ist die Chromsystems-Methode schneller und spart zusätzlich Zeit durch den Wegfall der Wartung für die online-Schaltung.

#### Vorteile der HPLC gegenüber Immunoassays und Kapillarelektrophorese

Ein großer Vorteil der HPLC-Analytik gegenüber Immunoassays liegt in der Spezifität. Die meisten aktuellen Immunoassays benutzen einen Antikörper, der mit allen Transferrinen reagiert und nicht zwischen den Kohlenhydrat-defizienten Transferrinen i. e. S. und den übrigen unterscheidet. Aufgrund dieser fehlenden Spezifität muss der Immunreaktion ein Trennungsschritt vorgeschaltet werden. Dieser besteht in der Probenvorbereitung mit Festphasenextraktion. Die verwendeten Säulchen besitzen eine begrenzte Aufreinigungskapazität und reichen CDT zwar an, jedoch sind Teile des Trisialotransferrins in nicht vernachlässigbaren Mengen ebenfalls vorhanden. Darüber hinaus spielt dieses Spezifitätsproblem des Immunoassays eine große Rolle im Fall von genetischen Varianten des Transferrins. Zusätzlich zu den Unterschieden bei den Kohlenhydratketten kann die Primärstruktur des Glycoproteins genetisch bedingt verändert sein. Für eine verlässliche Diagnostik müssen diese Varianten ebenfalls identifiziert werden, so dass beim betreffenden Patienten Entsprechendes berücksichtigt werden kann (grundsätzlich wird bei betroffenen Individuen von der Evaluierung des CDT-Spiegels abgeraten). Die Problematik liegt in der Auftrennung im Probenvorbereitungssäulchen, welches dem Immunoassay vorgeschaltet ist: Die genetischen Trans-

ferrin-Varianten haben veränderte Chromatographieverhalten und werden hier nicht effektiv von anderen Isoformen abgetrennt. Das hat Falschmessungen beim Immunoassay zur Folge. Mit der Chromsystems-HPLC-Methode können die innerhalb der genetischen Varianten von CDT-Isoformen am häufigsten auftretende, heterozygote BC-Variante und die DC-Variante anhand des charakteristischen Chromatogramms sofort identifiziert werden. Diese Möglichkeit bietet die Immunoassay-Analytik nicht. Auch gegenüber der Messung mit Kapillarelektrophorese hat die HPLC-Bestimmung von CDT Vorteile: Obwohl beide Methoden die UV-Detektion zum Nachweis von CDT benutzen, messen die kommerziell erhältlichen Kapillarelektrophorese-Kits vergleichsweise unspezifisch die Absorption der Peptidbindung des Proteinteils des CDT (Wellenlänge 200 nm). Bei der HPLC wird hingegen sehr spezifisch die UV-Absorption des Eisen-Transferrin-Komplexes gemessen (Wellenlänge 460 nm), so dass Interferenzen von Proteinbestandteilen, die nicht CDT sind, ausgeschlossen sind. Das Risiko, wie bei der Kapillarelektrophorese zu niedrige (falsche) Werte zu erhalten, ist damit sehr gering.

#### Ergebnis

Der Chromsystems HPLC-Reagenzienkit trifft eine Aussage zum prozentualen Anteil von CDT an der Menge Gesamttransferrin. Ein Anteil von weniger als 1,7 % wird als normal eingestuft, ein chronischer Alkoholmissbrauch kann ausgeschlossen werden. Bei einem Anteil von mehr als 2,6 % hingegen liegt ein pathologischer Fall vor und man muss vom chronischen Alkoholabusus ausgehen. Werden Werte zwischen diesen Grenzen gefunden, liegt der Rückschluss auf chronischen Alkoholmissbrauch zwar nahe, es besteht allerdings weiterer Untersuchungsbedarf.

## CDT im Serum

Probenvorbereitung:  
Nur 2 Pipettierschritte

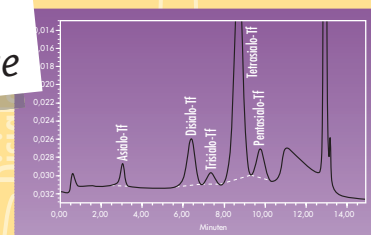
- > Referenzmethode
- > Kurze Analysenzeit
- > Geringer Wartungsaufwand
- > Niedrige Analysenkosten

#### Bestellnummern:

54020 Reagenzienkit binärer Gradient

54030 Reagenzienkit ternärer Gradient

0168 CDT Serum Control Level I, 0169 CDT Serum Control Level II



# Bestimmung des Carbohydrate-deficient Transferrin HPLC versus Immunoassay

Dipl. Ing. Ernst Wimmer, Zentrallabor, Krankenhaus d. Barmherzigen Schwestern Linz,  
Leitung Prim. Dr. W. Hohenwallner

**T**ransferrin weist als Glykoprotein einen starken Polymorphismus hinsichtlich der Kohlehydratanteile auf, der von nichtgenetischen Faktoren abhängig ist. Durch isoelektrische Fokussierung des Transferrin konnte in Verbindung mit epidemiologischen Studien zur Ursache der Alkoholkrankheit festgestellt werden, dass bei erhöhtem Alkoholenuss eine Verminderung des Sialinsäuregehalts des Transferrins erfolgt (1). Als CDT werden die Anteile an A-, Mono- und Disialotransferrin in Prozent des Gesamttransferrins bezeichnet.

CDT ist ein sensibler und spezifischer Marker für den chronischen Alkoholabus. Erhöhte CDT-Werte werden nach mindestens einwöchiger Aufnahme von mehr als 60 g Alkohol (d. h. mehr als ca. 0,6 l Wein, 1,5 l Bier oder 0,2 l harte Spirituosen) pro Tag gefunden. Nach Abstinenz normalisieren sich die CDT-Werte innerhalb von 2–3 Wochen. Erhöhte Werte ohne gesteigerten Alkoholkonsum können vorkommen bei schwersten Lebererkrankungen, Vorliegen einer genetischen D-Variante des Transferrin oder CDG-Syndrom (erbl. Protein-Glykosylierungs-Defekt). Im Vergleich zu anderen Markern eines chronischen Alkoholabus (MCV,  $\gamma$ -GT) besitzt CDT die höchste Spezifität. Ziel der Untersuchung war die Überprüfung der Vergleichbarkeit und Richtigkeit der von uns bislang in der Routine eingesetzten immunchemischen Methode mit der als Referenzmethode angegebenen HPLC-Methode.

	Chromsystems (Lot 175)	Axis-Shield Ko1 (Lot 0101135)	Axis-Shield Ko2 (Lot 0101137)
Sollbereich	1,8–2,8	1,8–2,6	4,7–6,3
Mittelwert	2,04	2,13	5,00
S	0,12	0,27	0,47
V <sub>K</sub> %	6,03	12,67	9,50

Tabelle 1: Präzision von Tag zu Tag. Anzahl N jeweils 10.

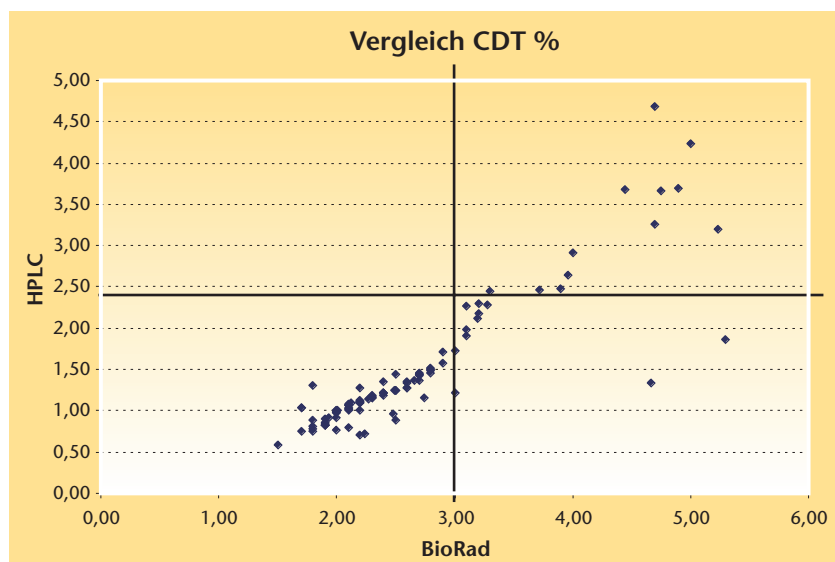


Abbildung 1:  
Bei 79 Wertepaaren konnten einander entsprechende Ergebnisse erzielt werden (Quadranten II und III). 70 negative (also „gesunde“) Probanden (Quadrant III), sowie 12 positive Probanden (Quadrant II). Bei 11 Proben wurden differente Ergebnisse erzielt. In diesen Fällen gab es bei der HPLC-Methode negative, bei der immunologischen Methode aber positive Resultate (Quadrant IV). Hier war auffallend, dass in 9 dieser Proben die Trisialo-Transferrin-Fraktion im Chromatogramm deutlich erhöht war. Nach Angaben der Literatur (2) ist in solchen Fällen ein falsch hohes Ergebnis der immunchemischen Methode zu erwarten.

## Methoden

Die Immunchemische Methode, die bisher routinemäßig eingesetzt wurde, war %CDT-TIA neu (Axis-Shield, Oslo). Als Referenzwert wurden 3 % angegeben, wobei, um die Ergebnisse abzusichern, in unserem Labor alle pathologischen Ergebnisse neuerlich analysiert wurden.

Als HPLC-Methode wurde die Gradientenmethode mit ternärem Gradienten der Firma Chromsystems, München eingesetzt.

Als apparative Ausrüstung stand ein Gradientensystem Alliance der Firma Waters mit Empower-Software zur Verfügung.

## Ergebnisse

Als Qualitätskontrolle wurden bei der immunologischen Methode je eine normale und eine pathologische Kontrolle der Firma BioRad bei jeder Serie mitgeführt. Bei der HPLC-Methode wurde die von der Firma Chromsystems angebotene CDT-Kontrolle im Grenzbereich eingesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Weiter wurden die Ergebnisse der beiden Methoden von 100 Proben miteinander verglichen. Die grafische Darstellung dieses Vergleiches ist aus Abbildung 1 zu entnehmen, wobei die jeweils von den Herstellern angegebenen Grenzwerte als Linie im Diagramm dargestellt werden. Diese Grenzwerte sind beim Axis-Shield-Test 3 % (Graubereich ab 2,8 %), bei der HPLC-Methode 2,4 % (Graubereich ab 1,8 %).

## Zusammenfassung

Die HPLC-Methode hat gegenüber der verwendeten immunologischen Methode deutliche Vorteile:

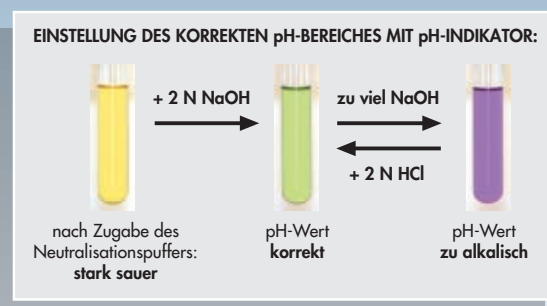
1. wesentlich weniger Personalbindung,
2. Vermeidung falsch positiver Befunde aufgrund von Veränderung der Transferrin-Isoformen (erhöhtes Trisialotransferrin) oder genetischen Defekten,
3. automatisierte Methode und verbesserte Präzision (siehe Qualitätskontrolle).

## Literatur:

- (1) A.Helander, M.Fors, B.Zakrisson: Alcohol & Alcoholism. 2001, 36(5), 406-412
- (2) A.Helander et al.: Clin.Chem. 47:7, 2001

## Farbindikator für Katecholamin-Analytik

Die Produktlinie „Biogene Amine“ gehört zu den etabliertesten Erzeugnissen von Chromsystems. Die laufende Anpassung an den aktuellen Stand der Technik ist eines der Qualitätsmerkmale von Chromsystems. Eine solche Verbesserung ist durch den Einsatz eines Farbindikators in der Katecholamin-Analytik gegeben.



Dieser Indikator ist seit August 2005 in allen Reagenzienkits mit der Bestellnummer 6000 (Urin-Katecholamine) enthalten und erleichtert die Probenvorbereitung.

**NEU**

## Produkteinführung

# Itraconazol im Serum/Plasma

Dipl.-Biol. Gabriel Erlenfeld,  
Chromsystems

Im November 2005 wurde die Chromsystems-Produktlinie zur Arzneispiegel-Bestimmung (TDM) um die HPLC-Analytik des Antimykotikums Itraconazol erweitert. Das neue Reagenzienkit dient zur Messung sowohl von Itraconazol als auch seines pharmakologisch wirksamen Metaboliten OH-Itraconazol.

Der Test vereint folgende Vorteile:

1. Chromatographie von Wirkstoff und Metabolit in weniger als 10 Minuten,
2. effektive und unkomplizierte Probenvorbereitung mit Fällung,
3. Detektion mit UV-Vis, optimierter interner Standard.

Itraconazol ist ein Triazol-Antimykotikum, das seit Mitte der 80er-Jahre benutzt wird und vor allem ab Mitte der 90er alternativ zum damaligen Standard Amphotericin B Einsatz findet. Die Anwendung des Mittels kann therapeutisch oder prophylaktisch erfolgen, wobei unterschiedliche Sollwerte für den Serumspiegel einzustellen sind. Individuelle Unterschiede in der Medikamentenabsorption und -aufnahme sowie Einflüsse von Co-medikation müssen durch Anpassung der Einnahmemengen kompensiert werden.

Das Chromsystems-Kit ermöglicht das chromatographische Monitoring der Serum- bzw. Plasmakonzentration und die Einstellung der erforderlichen Werte.

Die Messung von Itraconazol steht vor dem Hintergrund im Krankenhaus erworbener systemischer Mykosen. Gesunde Individuen sind vor systemischen Mykosen effektiv geschützt durch ihr Immunsystem. Im Fall von Immunsuppression oder anderweitiger Beeinträchtigung des Immunsystems (z.B. bei cystischer Fibrose) hingegen fehlt dem Körper die natürliche Abwehr und die Situation kann lebensbedrohlich werden. In den letzten zwei Jahrzehnten ist die Zahl der jährlich an systemischen Mykosen Erkrankten ständig gestiegen. Innerhalb der durch Infektionskrankheiten bedingten Todesfälle rangieren die Mykosen an siebter Stelle. Es handelt sich in den meisten Fällen um die Erreger *Aspergillus sp.*, *Candida sp.* (Tendenz *C. non-albicans* steigend), *Histoplasma sp.* und *Fusarium sp.*

Organtransplantationen werden immer häufiger durchgeführt und erfordern postoperative Immunsuppression, welche durch neuere Medikation effektiver und aggressiver ist. Daneben erzeugt die steigende Inzidenz HIV-Infizierter eine wachsende Gefährdungsgruppe für systemische Mykosen. Ein wichtiges Problem liegt in der Schwierigkeit einer rechtzeitigen Diagnose. Oft wird die Pilzinfektion erst dann erkannt, wenn sie ein fortgeschrittenes Stadium mit weitgehenden Gewebeerstörungen erreicht hat. In diesen Stadien reicht die zur Verfügung stehende antimykotische Thera-

pie meist nicht zur Lebensrettung aus. Die Sterberate bei Aspergillose von Patienten nach allogener Knochenmarktransplantation liegt bei 90%. Vor diesem Hintergrund besitzt die prophylaktische Verabreichung effektiver Antimykotika große Bedeutung. Mittlerweile haben Untersuchungen Gewissheit darüber erbracht, dass eine Prophylaxis einen Serum- bzw. Plasmaspiegel von mindestens 0,5 mg/l Itraconazol im Patienten erfordert. In geringeren Konzentrationen ist das Medikament nicht genügend wirksam, Werte um 1 mg/l sind optimal. Die Messung des Arzneimittelspiegels ist in diesem Zusammenhang lebenswichtig. Für die Therapie einer vorhandenen Mykose sollte eine Konzentration von ca. 3 mg/l eingestellt werden, in Einzelfällen kann dies bis 10 mg/l erhöht werden, ohne signifikante Nephrotoxizität.

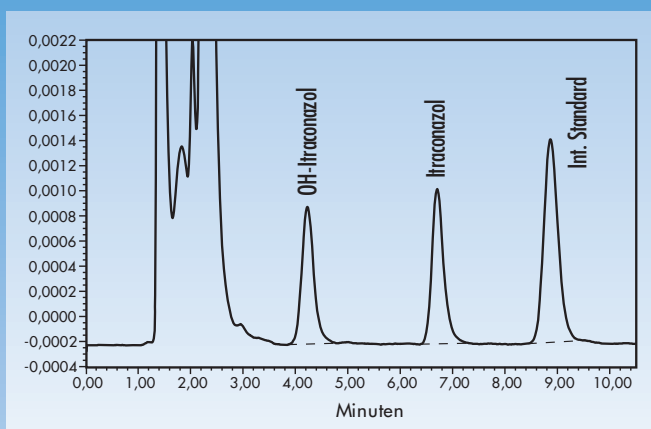
Itraconazol besitzt, verglichen mit Amphotericin B und der ersten Generation von Azol-Antibiotika, wesentlich geringere Nephrotoxizität und gleichzeitig ein breiteres Wirkungsspektrum. Das N-4 Stickstoffatom des Itraconazols bindet an das Häm-Eisen des Cytochroms P-450 und unterbindet dadurch die Aktivierung und die Funktion des Enzyms. Die Aktivierung von Cytochrom P-450 ist notwendig für die Demethylierung von 14- $\alpha$ -Methylsterol zu Ergosterol. Die gestörte Ergosterolsynthese hat eine gestörte Zellwandsynthese zur Folge, wodurch

der Pilz osmotische Schäden erfährt und letztlich abstirbt. Itraconazol bindet mit hoher Affinität an das Pilz-Cytochrom P-450, wohingegen die Bindung an das menschliche Cytochrom P-450 entscheidend schwächer ist (geringere Nephrotoxizität).

Itraconazol wird in der Leber metabolisiert, wobei OH-Itraconazol entsteht. Dieser Metabolit ist ebenfalls antimykotisch wirksam. Durch die schnelle Metabolisierung entsteht ein hoher Spiegel an Metabolit, der die Konzentration an Muttersubstanz übersteigt. Somit sind sowohl signifikante Mengen von Itraconazol als auch OH-Itraconazol vorhanden und die Erfassung beider Parameter ist für die Analytik unerlässlich.

Das Chromsystems-Reagenzienkit erlaubt die Messung sowohl der Hauptsubstanz als auch seines Metaboliten in der kurzen Analysezeit von weniger als zehn Minuten. Trotz der raschen Analytik ist ein isokratischer HPLC-Lauf möglich, ein Gradientensystem ist nicht nötig. Als interner Standard wird ein Itraconazol-Derivat eingesetzt, das die Intraassay-Reproduzierbarkeit sicherstellt. Das Reagenzienkit ermöglicht die rasche, einfache und genaue Messung und stellt somit ein optimales Hilfsmittel für das Routine-labor dar.

## Itraconazol im Serum/Plasma



- > kurze Analysenzeit
- > maßgeschneiderter interner Standard
- > Tri-Level Kontrollen

Bestellnummern:

27000 Reagenzienkit

0135 Level I Serumkontrolle

0136 Level II Serumkontrolle

0137 Level III Serumkontrolle

Therapeutisches  
Drug Monitoring

# Neues Antiepileptikum

## Serum-Spiegel Bestimmung von Zonisamid

PD Dr. Hans-Willi Clement, Dr. Christian Fleischhaker, Prof. Dr. Eberhard Schulz, Universitätsklinikum Freiburg  
Neuropharmakologisches Forschungslabor der Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie im Kindes- und Jugendalter, Freiburg

**E**twa fünf Prozent der Bevölkerung haben mindestens einmal im Leben einen epileptischen Anfall. Treten solche Anfälle jedoch öfter und ohne erkennbaren Grund auf, kann dies für eine epileptische Erkrankung sprechen. Das Spektrum der Epilepsien ist groß: Es können mehr als 30 verschiedene Formen unterschieden werden und die Anfallsursachen sind ebenso vielfältig wie die Anfallsformen. Nach Stellung der Diagnose Epilepsie erfolgt zunächst die Einstellung auf ein Antiepileptikum in Monotherapie.

Bei ca. einem Drittel aller Epilepsie-Patienten ist auch unter Kombinationstherapie mit mehreren Antiepileptika keine Anfallsfreiheit zu erreichen. Um diesen pharmakoresistenten Patienten zu helfen, müssen immer neue Medikamente entwickelt werden. Die Eisai GmbH hat für Zonisamid (Wirkstoff Zonisamid) die europäische Zulassung zur Zusatztherapie partieller epileptischer Anfälle mit und ohne sekundäre Generalisierung bei Erwachsenen erhalten. Dosierungen von 300 mg bis 500 mg täglich haben sich als wirksam erwiesen.

### Pharmakologische Eigenschaften

Der Wirkstoff von Zonisamid (1,2-Benzisoxazol-3-methansulfonamid) ist ein Benzisoxazol-Derivat. Nach der Fachinformation ist Zonisamid ein Antiepileptikum mit schwacher Carboanhydraseaktivität in vitro. Es ist chemisch nicht mit anderen Antiepileptika verwandt. Der Wirkungsmechanismus von Zonisamid ist bislang nicht vollständig geklärt. Es scheint jedoch auf spannungsabhängige Natrium- und Kalzium-Kanäle zu wirken und unterbricht so die synchronisierte neuronale Entladung, wodurch die Verbreitung von Krampf-Entladungen reduziert wird und eine daraus folgende epileptische Aktivität unterbunden wird. Zonisamid übt zusätzlich eine modulatorische Wirkung auf die GABA-vermittelte neuronale Inhibition aus.

### Metabolismus

Zonisamid wird primär durch reduktive Spaltung des Benzisoxazolrings

der Muttersubstanz durch CYP3A4 zu 2-Sulfamoylacetylphenol (SMAP), aber auch über N-Acetylierung abgebaut. Die Muttersubstanz und SMAP können zusätzlich glukuronidiert werden. Die Metaboliten, die im Plasma nicht nachgewiesen werden konnten, haben keine antikonvulsive Aktivität. Es gibt keinen Hinweis darauf, dass Zonisamid seinen eigenen Metabolismus induziert.

Die ersichtliche Clearance von Zonisamid im Steady-State nach oraler Gabe beträgt etwa 0,70 l/h, die terminale Eliminationshalbwertszeit beträgt bei Abwesenheit von CYP3A4-Induktoren etwa 60 Stunden.

Die Eliminationshalbwertszeit war unabhängig von der Dosierung und wurde durch wiederholte Gabe nicht beeinflusst. Die Fluktuation der Konzentrationen in Plasma oder Serum über ein Dosierungsintervall ist gering (~30%). Der Hauptausscheidungsweg von Zonisamid-Metaboliten und unveränderter Substanz läuft über den Urin. Die renale Clearance unveränderten Zonisamids ist relativ gering (etwa 3,5 ml/min); etwa 15–30% der Dosis werden unverändert ausgeschieden.

### Resorption

Zonisamid wird nach Einnahme nahezu vollständig resorbiert. Maximale Konzentrationen in Plasma oder Serum werden im Allgemeinen innerhalb von 2 bis 5 Stunden nach der Einnahme erreicht. Der First-pass-Metabolismus ist vermutlich vernachlässigbar. Die absolute Bioverfügbarkeit wird auf etwa 100% geschätzt. Die orale Bioverfügbarkeit wird durch

Nahrung nicht beeinflusst, maximale Konzentrationen in Plasma oder Serum können jedoch verzögert eintreten. AUC- und Cmax-Werte von Zonisamid erhöhten sich nach einmaliger Anwendung im Dosisbereich von 100–800 mg und nach mehreren Anwendungen im Dosisbereich von einmal täglich 100–400 mg nahezu linear. Der Anstieg im Steady-State war geringfügig höher als auf der Basis der Dosis zu erwarten, möglicherweise aufgrund der sättigbaren Bindung von Zonisamid an Erythrozyten. Der Steady-State wurde innerhalb von 13 Tagen erreicht. Die Akkumulation erscheint leicht höher, als Einzeldosierungen erwarten ließen.

### Verteilung

Zonisamid wird zu 40–50% an humane Plasmaproteine gebunden. In-vitro-Studien zeigen, dass dies durch die Anwesenheit verschiedener Antiepileptika nicht beeinflusst wird (z. B. Phenytoin, Phenobarbital, Carbamazepin und Natriumvalproat). Das scheinbare Verteilungsvolumen beträgt bei Erwachsenen etwa 1,1–1,7 l/kg, was darauf hinweist, dass Zonisamid ausgiebig in die Gewebe verteilt wird. Das Verhältnis von Erythrozyten zu Plasma beträgt bei geringen Konzentrationen etwa 15, bei höheren Konzentrationen etwa 3.

### Bestimmung von Zonisamid mittels HPLC

Mithilfe der Methode von Chromsystems zur Bestimmung von Antiepileptika aus Serum ist es uns gelungen, Zonisamid im Serum von Patienten zu bestimmen.

### Material

Zonisamid-Reinsubstanz war von Sigma (Deisenhofen, Deutschland), alle anderen notwendigen Chemikalien für die Chromatographie waren von Chromsystems:

- Precipitation Reagent 22003, Stabilisation Buffer, 22006,
- Internal Standard 22004,
- Mobile Phase, High Resolution, 22001/HR,
- HPLC-Säule, High Resolution, 22100/HR mit Vorsäulen-System 17001/17002,

Kontrollserum war von PAA Laboratories (Cölbe, Deutschland).

### Probenvorbereitung

Die Behandlung der Serumprobe sowie die Probenaufarbeitung erfolgten nach den Vorschriften für die Bestimmung von Antiepileptika von Chromsystems.

### Chromatographische Bedingungen

Die HPLC-Anlage bestand aus folgenden Komponenten:

Pumpe P100, Thermoquest, Autosampler AS100, Thermoquest, Detektor UV 486, 204 nm, Waters, Datenerfassung mit Millennium 32, Waters.

Zur Trennung wurden die Vorsäule Bestellnummer 17022 und die Trennsäule Bestellnummer 22100/HR von Chromsystems verwendet.

Die Flussrate betrug 1,0 ml/min.

Abbildung 1 zeigt 2 Chromatogramme übereinander, ein Standard-Chromatogramm (AED Serum Control, Level II, Chromsystems) von Ethosuximid, Primidon, Lamotrigin, Carbamazepin-

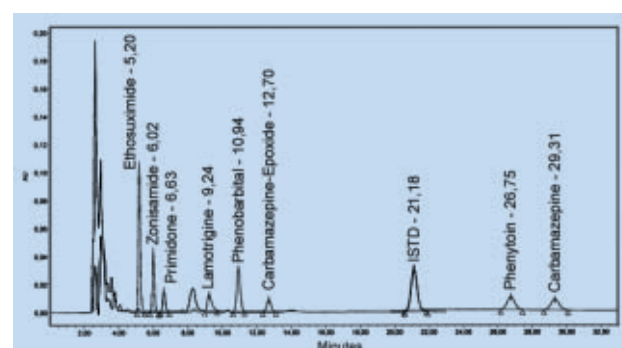


Abbildung 1: Chromatogramme (overlay) von Zonisamid (10 µg/ml) und AED Serum Control, Level II (Chromsystems).

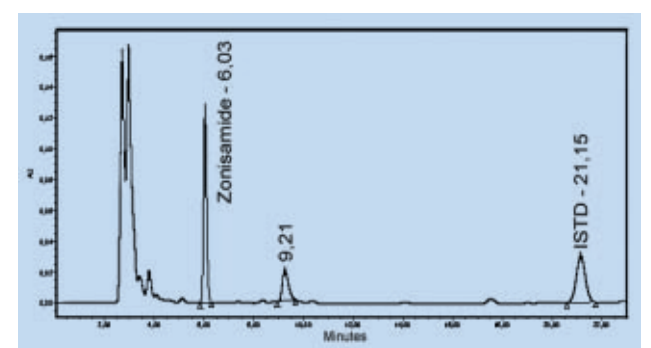


Abbildung 2: Chromatogramm einer Serum-Probe eines Patienten mit Zonisamid- und Lamotrigin-Medikation.

Expoxid, Internem Standard, Phenytoin und Carbamazepin, sowie ein Chromatogramm von Serum versetzt mit Zonisamid (10 µg/ml), beide aufgearbeitet wie oben beschrieben. Mit einer Retentionszeit von etwa 5,5–6,2 Minuten eluiert Zonisamid damit zwischen Ethosuximid und Primidon, ohne Interaktion mit einer der beiden Substanzen.

#### Patienten-Proben

Abbildung 2 zeigt das Chromatogramm einer Patientenprobe. Der Patient nahm Zonegran in einer Dosierung von 300 mg pro Tag, zusätzlich

zu Lamictal. Es wurde ein Serumspiegel von 28,9 µg/ml Serum ermittelt. Ein Metabolit von Zonisamid konnte nicht identifiziert werden und ist unter diesen Chromatographischen Bedingungen nicht zu erwarten.

Bislang konnten Werte zwischen 5,3 und 29 µg/ml gemessen werden.

Der Therapeutische Bereich wird zwischen 15 und 40 µg/ml angegeben.

#### Qualitätskontrolle

Standardreihen mit Serum, aufgestockt mit 5, 10, 25, 50 und 100 µg/ml Zonisamid, waren linear, mit  $r^2 > 0,999$ . Ringversuche (n = 5, Cardiff

Bioanalytical Services Ltd., Cardiff, U.K.) mit Zonisamid waren alle ohne Beanstandung. Wechselwirkungen von Zonisamid mit anderen Substanzen im Chromatogramm sind bislang nicht beobachtet worden.

Nach den Angaben von Chromsystems und eigenen Untersuchungen besteht keine Überlagerung von Zonisamid mit anderen Antiepileptika. So konnte von den Substanzen, die von Chromsystems nicht als Standard geliefert werden, bislang nur Felbamat zusätzlich mit dieser Methode gemessen werden, eine Überlagerung mit Zonisamid besteht dabei nicht.

#### Schlussfolgerung

Zonegran (Zonisamid) stellt für therapieresistente Formen der Epilepsie eine weitere Therapieoption dar. Die Methode von Chromsystems zur Bestimmung von Antiepileptika in Serum eignet sich hervorragend zur Bestimmung der Serum-Spiegel von Zonisamid. Die Probenvorbereitung ist dabei schnell, einfach und kostensparend. Die benötigte Menge an Serum macht auch die Bestimmung bei Patienten möglich, wo sich die Blutabnahme als schwierig erweisen kann, etwa bei Kindern mit Anfallsleiden.

## Immunsuppressiva-Analytik

# 6PLUS1 Multilevel Calibrator Set

Der stetig steigende Qualitätsanspruch in der Diagnostik erfordert die Ausweitung und Verfeinerung der Maßnahmen für die Qualitätskontrolle. Immer häufiger werden deshalb auch für die Routineanalytik im medizinischen Labor Mehrpunkt-Kalibrationen verwendet. Ursprünglich für die Durchführung von klinischen Studien konzipiert, empfiehlt die amerikanische Gesundheitsbehörde (FDA) die Verwendung einer Sechspunkt-Kalibration. Diese Empfehlung hat mittlerweile aber auch Relevanz für die klinische Diagnostik.

Chromsystems stellt ein Immunosuppressants 6PLUS1 Multilevel Calibrator Set zur Verfügung, d.h. 6 lyophilisierte Kalibratoren auf der Basis humanen Vollbluts decken die therapeutisch relevanten Konzentrationsbereiche der Immunsuppressiva Cyclosporin A, Tacrolimus, Sirolimus und Everolimus ab. Zusätzlich beinhaltet das Set eine passende Leerwertkontrolle (Blank). Jeder Anwender kann damit seine Methode auf potenzielle Matrixeffekte hin überprüfen. Dieses 6PLUS1 Calibrator Set wurde speziell für die LC-MS/MS-Analytik entwickelt und ergänzt ideal die bereits seit einigen Jahren erhältlichen Immunsuppressiva-Kontrollen (Level I bis Level IV). Selbstverständlich wer-

den bei der Herstellung dieser Produkte die bei uns üblichen strengen Qualitätsmaßstäbe zugrunde gelegt. Die Testung und Sollwertermittlung des Multilevel Calibrator Sets und der Kontrollen erfolgen in enger Zusammenarbeit mit international anerkannten Referenzlaboratorien. Auf diese Weise stellen wir sicher, dass unsere Kalibratoren und Qualitätskontrollmaterialien den Anforderungen an eine internationale Standardisierung gerecht werden.

Die in der nebenstehenden Tabelle angegebenen Sollwerte zeigen übliche Konzentrationen. Die Tabelle dient als Überblick und stellt beispielhafte Richtwerte dar. Die Werte der entsprechenden aktuellen Produktionscharge entnehmen Sie bitte dem jeweiligen Beipackzettel. Bitte beachten Sie, dass die Standards mit Ausnahme des Calibrator 3 nicht einzeln erhältlich sind. Diesen Kalibrator bestellen Sie ggf. bitte unter der Nummer 28033/5. Die Kalibratoren werden in lyophilisiertem Zustand geliefert. Die aufgedruckte Haltbarkeit gilt für die lyophilisierte, bei -20 °C gelagerte Kontrolle. Rekonstituierte Kontrollen sollten aliquotiert und bei -20°C eingefroren werden. Bei +2 °C bis +8 °C sind sie etwa eine Woche stabil, bei -20 °C sechs Monate.



Kalibrations-Punkt	Substanz	Analysenmethode	Einheit	Wert
28031 Calibrator 1	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	45,9
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	2,1
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	2,1
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	2,1
28032 Calibrator 2	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	116
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	5,3
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	6,0
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	5,6
28033 Calibrator 3	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	288
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	10,5
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	12,4
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	11,7
28034 Calibrator 4	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	470
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	15,5
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	18,6
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	17,3
28035 Calibrator 5	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	760
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	21,8
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	28,6
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	24,4
28036 Calibrator 6	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	1823
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	39,7
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	47,2
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	43,9
28030 Blank Calibrator	Ciclosporin A	LC-MS/MS	µg/l	0,7
	Tacrolimus (FK 506)	LC-MS/MS	µg/l	0,1
	Rapamycin (Sirolimus)	LC-MS/MS	µg/l	n.d.
	Everolimus	LC-MS/MS	µg/l	n.d.

## NEU: Serumkontrolle und Kalibrator für Pregabalin

Unsere Serumkontrolle für die Parameter Vigabatin und Gabapentin enthält jetzt auch Pregabalin. Pregabalin ist ein neuer Wirkstoff in der Epilepsie-Behandlung und ist in Deutschland unter dem Handelsnamen Lyrica® erhältlich. Pregabalin wirkt durch die Blockade bestimmter Untereinheiten des Kalziumkanals; hierdurch wird die für Epilepsie

typische krankhafte Erregungsleitung gehemmt. Das Mittel wird nur in Kombinationstherapie mit anderen Antiepileptika verabreicht. Genau wie bei den übrigen Antiepileptika ist es auch bei der Verabreichung von Pregabalin wichtig, einen definierten Konzentrations-Sollwertbereich im Blut des Patienten einzustellen, damit maximale Wirksamkeit

bei minimalen Nebenwirkungen erreicht wird.

#### Bestellnummern:

**0058** Pregabalin/Vigabatin/Gabapentin Serum Control Bi-Level

**28006** Pregabalin/Vigabatin/Gabapentin Serum Calibration Standard

# Methodenvergleich zwischen GC und HPLC

## Bestimmung von Phenol im Urin

Dipl.-Ing. Nuno Miguel Fernandes, Fachbereich Analytische Chemie, Gemeinschaftspraxis Dr. Limbach & Koll., Heidelberg

Phenol gehört zu der Gruppe der gebräuchlichen Grundchemikalien, deren größter Teil der Produktionsmenge zu Phenol-Formaldehyd-Harzen umgesetzt wird.

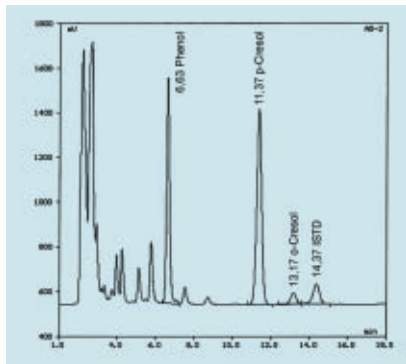


Abbildung 1: HPLC-Chromatogramm einer Patientenprobe

Darüber hinaus ist es ebenso Ausgangsmaterial für eine große Zahl von aromatischen Verbindungen. Neben der Bestimmung der t,t-Muconsäure wird Phenol als Hauptmetabolit auch zur Abschätzung für eine Benzolexposition herangezogen. Aufgenommenes Benzol wird hierbei vorwiegend in der Leber zu Phenol oxidiert und anschließend an Glucuron- bzw. Schwefelsäure gebunden im Urin ausgeschieden. Auf der Suche nach einer routine-tauglichen und praktikablen Labor-methode wurde das bisher verwendete

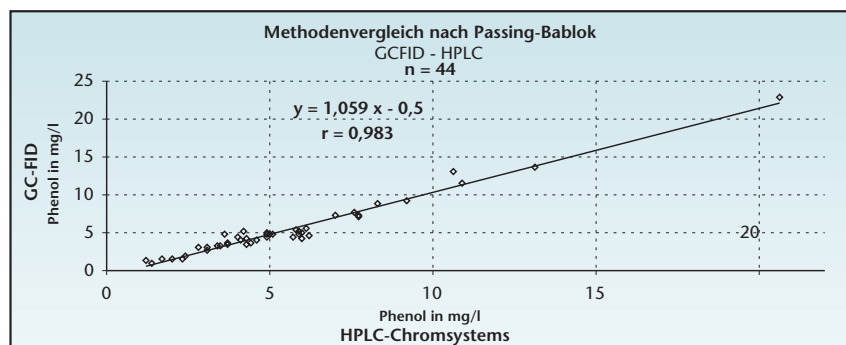


Abbildung 2

gaschromatographische Bestimmungsverfahren (Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, DFG) mit dem HPLC Reagenzienkit der Firma Chromsystems, München verglichen. Hierfür wurden 44 mit Phenol belastete Urinproben aus der Laborroutine mit beiden Verfahren analysiert und die erhaltenen Analyseergebnisse anhand einer Wertekorrelation gegenübergestellt. Das als Glucuronid bzw. als Sulfat gebundene Phenol muss zunächst durch eine adäquate Probenvorbereitung aus diesen Bindungen freigesetzt werden. Dies erfolgte bei der gaschromatographischen Methode durch die

Kombination einer sauren Hydrolyse und der nachgeschalteten Wasserdampfdestillation. Nach anschließender Extraktion des Destillates mit Dichlormethan erfolgte die gaschromatographische Analyse mittels FID der organischen Phase.

Der Chromsystems-Kit verwendet ebenfalls eine saure Hydrolyse zur Freisetzung des Phenols. Es werden 100 µl Urin im Autosamplervial mit 50 µl Hydrolyse Reagenz bei 90 °C 10 min im Wasserbad inkubiert. Die abgekühlte, hydrolysierte Probe wird mit 600 µl Stabilisationspuffer verdünnt und bei eventuell auftretenden Präzipitaten kurz zentrifugiert. 10 µl des Überstandes lassen sich mithilfe eines isokratischen HPLC-Systems mit Fluoreszenz-Detektion analysieren (Abb. 1). Die erhaltenen Messergebnisse beider Methoden wurden in einem Korrelationsdiagramm grafisch dargestellt (Abb. 2). Eine Regressionsanalyse nach Passing-Bablok ergibt einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,983$ . Die Steigung der Regressionsgeraden weicht nicht signifikant von 1 ab und der Achsenabschnitt liegt nahe 0. Die erhaltenen Regressionsdaten dokumentieren damit ein hohes Maß an Korrelation der Messwerte und die Vergleichbarkeit der beiden analytischen Messmethoden.

Alternativ und in entsprechender Fachliteratur beschrieben, bietet auch die enzymatische Spaltung eine Möglichkeit zur Freisetzung aus den im Harn vorliegenden Glucuroniden und Sulfaten. In einer weiteren Versuchsreihe sollte deren Effizienz untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde ein Patientenurin aliquotiert und parallel zur sauren Hydrolyse mit zwei unterschiedlichen kommerziell erhältlichen Enzympräparaten versetzt und bei 37 °C inkubiert. Zur detaillierten Beobachtung des Hydrolyseverlaufs erfolgte jeweils nach 2, 4, 6 und 22 h eine Konzentrationsbestimmung des Phenols und des o-Cresols mittels HPLC.

Die Ergebnisse (s. Abb. 3) zeigen, dass im Vergleich zur sauren Hydrolyse für eine adäquate Freisetzung des Phenols bei 37 °C bis zu 22 h nötig waren. Das o-Cresol zeigte bei gleichen Bedingungen einen deutlich langsameren Verlauf der enzymatischen Hydrolyse und erreichte nach 22 h nur ca. 75 % der zuvor ermittelten Urinkonzentration.

Gleichzeitig wird aus Abb. 3 deutlich, dass auch die beiden verwendeten Enzympräparate zu unterschiedlichen Hydrolyseergebnissen führen. Die enzymatische Spaltung erweist sich unter den angewandten Reaktionsbedingungen als nicht ausreichendes Verfahren zur vollständigen Freisetzung des Phenols und o-Cresols. Es ist denkbar, dass eine vollständige Spaltung von allen, im Urin als Sulfate und Glucuronide gebundenen, Sub-

stanzen abhängig ist. Diese in ihrer Gesamtheit zu betrachtenden Verbindungen bestimmen die Wahl des Enzyms, evtl. entsprechende Gemische, deren Zugabekonzentrationen, Temperatur und die Dauer der Hydrolyse. Für eine detaillierte Klärung und um diesen variierenden Bedingungen gerecht zu werden, wären weitere aufwändige Untersuchungen erforderlich. Zur Vervollständigung der Versuchsreihe wurde in diesem Zusammenhang ein kommerziell angebotener HPLC-Reagenzien-Kit zur Bestimmung von Phenol und o-Cresol auf der Grundlage der enzymatischen Hydrolyse (bei 37 °C, für 2 bis 3 Stunden) mit nachfolgender Festphasenextraktion getestet. Auch hier bestätigte die vergleichende Untersuchung von 60 Patientenurinen eine geringe Korrelation zur sauren Hydrolyse, die wahrscheinlich in der unzureichenden Freisetzung der Analyten begründet ist. Mit Betracht auf die vollständige Freisetzung der Analyte und einer schnellen,

praktikablen Probenvorbereitung erwies sich die saure Hydrolyse für uns als Methode der Wahl. Die Routinefähigkeit des Chromsystems Reagenzien-Kits konnte in einer Phenol-Studie mit ca. 500 Patientenurinen bestätigt werden. Die HPLC-Analytik lieferte überwiegend störungsfreie Chromatogramme (Abb. 1).

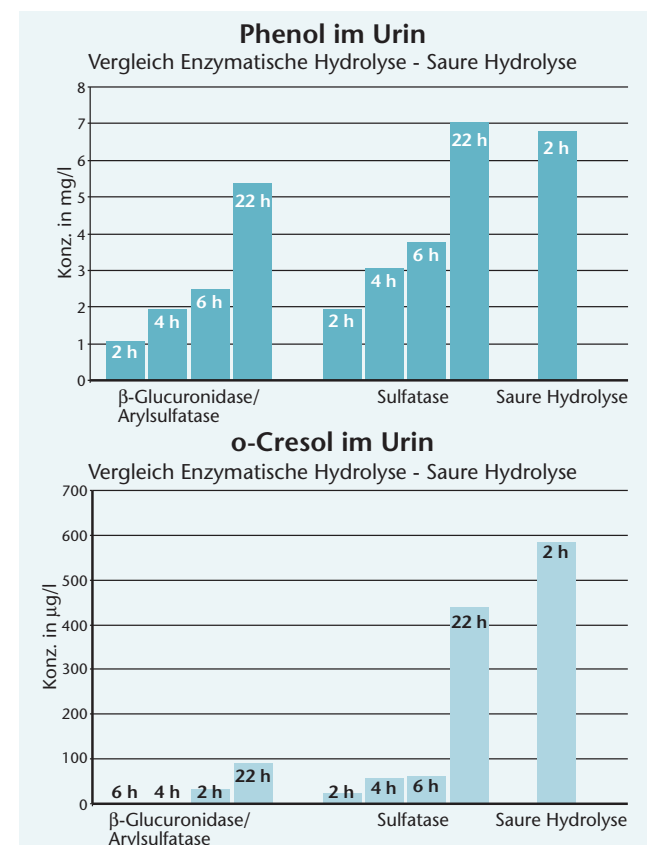


Abbildung 3

Im gesamten Messzeitraum für die Studie traten keine Druckprobleme an der analytischen Trennsäule auf. Die Chromatographie zeigte sich retentionszeitenstabil. Die Inter-Assay-Varianz ( $n = 12$ ) lag für Phenol bei 3,0 % und für das o-Cresol bei 3,1 %.

Der von Chromsystems angebotene HPLC-Reagenzienkit zur Bestimmung von Phenol und o-Cresol bietet eine praktikable und robuste Alternative zur weit verbreiteten Wasserdampfdestillation mit anschließender Gaschromatographie. Beide Methoden korrelieren in hohem Maße miteinander. Der größte Vorteil liegt besonders in der erheblichen Zeiterparnis der Probenvorbereitung und ermöglicht somit einen erhöhten Probendurchsatz bei vergleichsweise geringer Personalbindung.

Literaturhinweise werden auf Wunsch genannt.

## Einblicke Chromsystems

## Teil 3: Die Abteilung Forschung und Entwicklung



Unser Ziel bei Chromsystems ist es, innovative Produkte für die klinische Labordiagnostik zu schaffen. Indem Entwicklung, Produktion und Vertrieb exakt ineinander greifen, bietet Chromsystems optimale Lösungen für aktuelle Fragestellungen in der Diagnostik und maßgeschneiderte Dienstleistungen.

Die Forschung und Entwicklung sind unsere Innovationskraft. Ein Team von motivierten und qualifizierten Chemikern arbeitet an der Schnittstelle, wo aus Ideen, Kundenwünschen und technischen Vorgaben konkrete Produkte werden. Diese müssen sich im Routinealltag bewähren, weshalb der Fokus nicht nur auf den neuen Erkenntnissen liegt, sondern auch auf Praktikabilität und Robustheit. Diesen Anforderungen angepasst verfügen die Forschung und Entwicklung über einen modernen Gerätepark, der die verschiedensten Modelle und Typen umfasst.

Um dem eigenen Anspruch an Innovation und Qualität zu genügen, investiert Chromsystems einen signifikanten Anteil seines Umsatzes

in seine firmeneigene Forschung und Entwicklung, aber auch in wissenschaftliche Kooperationen mit anerkannten Laboratorien für Routinediagnostik im In- und Ausland.

**Dr. Wilhelm Müller** leitet die Forschung und Entwicklung. Unter seinen diversen Aufgaben ist das Schaffen und Nutzen von Synergien zwischen dem Vertrieb, seinen Vorgaben und der Entwicklung ein Schwerpunkt. Vor dem Hintergrund immer neuer diagnostischer Parameter sind die Erwartungen an die Abteilung groß und die rasche und zielgenaue Entwicklung ist ein wichtiger Erfolgsfaktor. Dr. Müller harmonisiert diese Ansprüche gemeinsam mit seinem Team, in dem Eigenverantwortlichkeit und Interdisziplinarität groß geschrieben

werden. Darüber hinaus ist er auch die wissenschaftliche Stimme von Chromsystems und steht Rede und Antwort auf Messen und Kongressen.

Die Dynamik unserer Forschungs- und Entwicklungs-Kompetenzen macht Chromsystems zu einem fortschrittlichen Unternehmen. Mit dem Einzug neuer Methoden in die Diagnostik beschreitet Chromsystems neue Applikationsfelder wie z. B. die Tandem-Massenspektrometrie.

Man darf gespannt sein auf die nächsten Produkte aus dem Hause Chromsystems!

### Termine

Chromsystems ist 2006 auf folgenden nationalen und internationalen Messen und Kongressen vertreten:

- > 25.–28. April 06  
Analytica, Messe München, DE
- > 26.–27. April 06  
BioMedica Exhibition, Dublin, IR
- > 16.–18. Mai 06  
Focus 2006, Brighton, UK
- > 06.–09. Juni 06  
SFTA Congrès, Le Touquet, FR
- > 25.–27. Juli 06  
AACC, Clinical Lab Expo, Chicago, USA
- > 15.–19. September 06  
IFBLS 2006, 27. World Congress, Seoul, KOR
- > 19.–22. September 06  
SIBIOC, Congresso Medlab, Turin, IT
- > 01.–04. Oktober 06  
DGKL-Tagung, Mannheim, DE
- > 15.–18. November 06  
MEDICA, Messe Düsseldorf, DE

### Impressum

**Herausgeber:**  
Chromsystems  
Instruments & Chemicals GmbH  
Heimburgstrasse 3  
81243 München

**Telefon:** +49 (0)89 189 30 200  
**Telefax:** +49 (0)89 189 30 299  
**eMail:** mailbox@chromsystems.de

**Redaktion:**  
Gabriel Erlenfeld

**Gestaltung:**  
lengnick-design

**Druck:**  
Stulz-Druck & Medien, München

Ausgabe Mai 2006