



Früherkennung angeborener Stoffwechselerkrankungen

Neugeborenen-Screening mit Tandem-Massenspektrometrie

Dr. rer. nat. Uta Ceglarek, Universitätsklinikum Leipzig, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

Bei der Entwicklung der neuen Produktlinie zum Neugeborenen-Screening kooperiert die Firma Chromsystems mit dem Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik (ILM) des Universitätsklinikums Leipzig. Während die Kit-Entwicklung bei Chromsystems stattfindet, wird der Kit-Prototyp in Leipzig getestet und anhand der zur Verfügung stehenden zahlreichen Realproben evaluiert. Das Leipziger Institut, geleitet von Prof. Dr. J. Thiery, verfügt über eine langjährige Erfahrung auf dem Gebiet der Neugeborenen-Diagnostik und ist eines der zehn zugelassenen Screeninglabore seiner Art in Deutschland (Screeningzentrum Sachsen/Thüringen) mit jährlich rund 50000 Screening-Tests für Neugeborene. Die Autorin des folgenden Artikels, Dr. Uta Ceglarek, ist die Projektleiterin für die Kooperation in Leipzig und für die Durchführung des Neugeborenen-Screenings am ILM Leipzig verantwortlich.

Einleitung

Einer der großen Fortschritte in der Präventivmedizin in Deutschland wurde durch die Einführung des Neugeborenen-Screenings (NGS) auf Phenylketonurie (PKU) Ende der 60er-Jahre des letzten Jahrhunderts erzielt [1]. Durch Fortschritte in Medizin und Technik konnte in den folgenden 30 Jahren das im Neugeborenen-Screening erfassbare Krankheitspektrum auf die endokrinologischen Erkrankungen konatale Hypothyreose und adrenogenitales Syndrom (AGS) sowie metabolische Störungen Biotinidasemangel und Galaktosämie erweitert werden. Bleiben diese Erkrankungen unerkannt, resultieren im Kindesalter schwere geistige und motorische Störungen. Bei rechtzeitiger Diagnostik und Therapie hingegen ist eine altersgerechte Entwicklung der Kinder möglich. Der Meilenstein auf dem Gebiet der Präventivmedizin im Neugeborenenalter war Anfang der 90er-Jahre die Entwicklung einer massenspektrometrischen Plattform basierend auf Elektrospray-Tandem-Massenspektrometrie (ESI-MS/MS), die die Bestimmung einer Vielzahl metabolischer Parameter aus einem 3 mm Trockenblutspot

derungen des Screeningprozesses. Als Konsequenz erfolgte zum 1.04.2005 mit der Änderung der Kinderrichtlinie über die Durchführung der Vorsorgeuntersuchungen bis zum 6. Lebensjahr bundesweit einheitlich die gesetzliche Regelung des Umfangs und der Organisation des NGS in Deutschland. Zurzeit sind in Deutschland zehn Screeninglaboratorien, die die Anforderungen der NGS-Richtlinie erfüllen, für die Durchführung der Labordiagnostik im Rahmen des Neugeborenen-Screenings zugelassen.

Organisation des Screeningprozesses

Mit der Anwendung der Tandem-MS für das Neugeborenen-Screening wurde der Blutentnahmepunkt auf ein Lebensalter > 36 Lebensstunden vorverlegt. Damit wird neben der früheren Interventionsmöglichkeit vor allem der Tendenz der zunehmend kürzeren Verweildauer von Mutter und Kind in der Geburtseinrichtung entsprochen. Dem Neugeborenen wird aus der Ferse wenige Tropfen Nativblut entnommen und auf eine Probenkarte mit speziellem

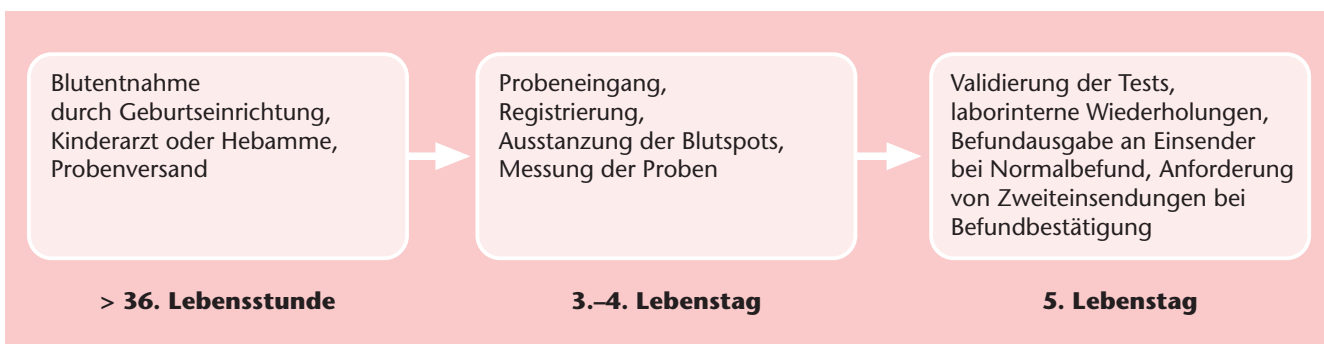


Abbildung 1: Organisatorischer Ablauf des Neugeborenen-Screenings

ermöglichte. Seit 1998 wurden in Deutschland erfolgreiche Pilotprojekte für das metabolische Neugeborenen-Screening mit der Tandem-Massenspektrometrie (TMS) durchgeführt [2, 3]. Die Vorteile dieser Methode liegen in dem beträchtlich erweiterten diagnostischen Fenster für angeborene Stoffwechselerkrankungen, einer Vorverlegung des Probenentnahmepunktes und somit einer zeitigeren therapeutischen Interventionsmöglichkeit. Damit ergab sich die Notwendigkeit der analytischen und medizinischen Validierung sowie von Strukturverän-

Filterpapier aufgetropft. In Abbildung 1 ist schematisch der Screeningablauf dargestellt. Im Normalfall liegt am 5. Lebenstag des Kindes der erste Screeningbefund vor. Bei Auffälligkeiten erfolgt am gleichen Tag eine laborinterne Wiederholung der Messung. Nach Befundbestätigung wird eine Zweiteinsendung beim Einsender bzw. den Eltern angefordert. Bei Verdacht auf eine schwere metabolische oder endokrine Störung wird umgehend Kontakt mit dem einsendenden Arzt und den Eltern aufgenommen, um sofort geeignete Therapiemaßnahmen einzuleiten.

Seite 1/2/3

Neugeborenen-Screening mit Tandem-Massenspektrometrie

Dr. rer. nat. Uta Ceglarek, Universitätsklinikum Leipzig, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

Seite 3

Aminosäuren und Acylcarnitine für das Neugeborenen-Screening aus Trockenblut

Produkteinführung

Seite 3

Chromsystems Neuheit

Beipackzettel und Sicherheitsdatenblätter online

Seite 4/5

Neuer Chromsystems-Kit zum Monitoring von HIV-Medikamenten in Patienten-Serum

Dr. Richard Lukačín, Chromsystems GmbH

Seite 5/6

Biomonitoring von Benzol und Toluol

Dr. Wiebke Großberger, Chromsystems GmbH

Seite 6

t,t-Muconsäure im Urin

Produktinformation

Seite 6

Akkreditierte Zertifizierung

Dr. Andreas Grömping, Chromsystems GmbH

Seite 7

Hyperbarer Sauerstoff

Nicolle Bader, Inst. f. Humanernährung u. Lebensmittelkunde, Kiel, Dr. A. Koch, Schiff-fahrtmed. Inst. d. Marine, Kronshagen

Seite 8

Chromsystems Neuheiten

Neuer Elutionspuffer plus Finisher für die VMA-Analytik

HbA_{1c} Third Party Kontrollen

Messetermine

Wir stellen vor...

Teil 4: Die Abteilung Regulatory Affairs

Impressum

Erkrankung	Häufigkeit	Ursache	Symptomatik
Hypothyreose	1:4000	Unterfunktion der Schilddrüse	Irreversible geistige und körperliche Behinderung
Adrenogenitales Syndrom	1:10 000	Störung in der Hormonproduktion	Salzverlustkrisen, Gedeihstörung
Galaktosämie	1:40 000	Störung im Abbau von Galaktose	Erbrechen, schwere Funktionsstörung der Leber und Niere, Todesfälle
Biotinidasemangel	1:60 000	Biotinstoffwechselstörung	Stoffwechselkrisen, Haar- und Hautveränderungen, geistige Behinderung
Ahornsirup-Krankheit (MSUD)	1:100 000	Aminoacidopathie	Bewusstseinstörungen, Koma, Entwicklungsverzögerungen
Phenylketonurie	1:10 000	Aminoacidopathie	Lähmungen, Spastizität, Entwicklungsverzögerung, geistige Behinderung
Mittelkettiger Acyl-CoA-Dehydrogenasemangel (MCAD)	1:10 000	Störung der mitochondrialen Fettsäureoxidation	Bei Fastenperioden Unterzuckerung, Koma, plötzlicher Kindstod möglich
Carnitinstoffwechseldefekte	1:100 000	Störung des Carnitinzyklus	Unterzuckerung, Lebervergrößerung, Krämpfe, Koma
Stoffwechselstörung langkettiger Fettsäuren	1:90 000	Störungen der mitochondrialen Fettsäureoxidation	Stoffwechselkrisen, Koma, Herzmuskelschwäche, tödlicher Verlauf möglich
Glutaracidurie Typ I	1:30 000	Organoacidopathie	Schwere neurologische Krisen, Gedeihstörungen, Bewegungsstörungen, Krämpfe
Isovalerianacidurie	1:50 000	Organoacidopathie	Trinkschwäche, Erbrechen, Krampfanfälle, Koma, geistige Behinderung

Tabelle 2: Erkrankungen des NGS, Häufigkeit und Symptomatik

Auswertung und Validierung der Screeningdaten

Abbildung 3 zeigt das Spektrum der Aminosäuren bei Verdacht auf PKU mit einem deutlich erhöhten Signal für Phenylalanin. Bei einem MCAD-Defekt sind im Acylcarnitinspektrum die Signale für Hexanoylcarnitin (C6), Octanoylcarnitin (C8) und Decanoylcarnitin (C10) erhöht. Zur Überprüfung der analytischen Ergebnisse werden täglich laborinterne Qualitätskontrollen durchgeführt. Dazu werden unter den gleichen Bedingungen wie bei Patientenproben zu Beginn und am Ende jeder Analysenserie Kontrollen zur Bestimmung der Richtigkeit und Reproduzierbarkeit gemessen. Zusätzlich erfolgt die Teilnahme an Ringversuchen zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren und Acylcarnitinen in Trockenblut.

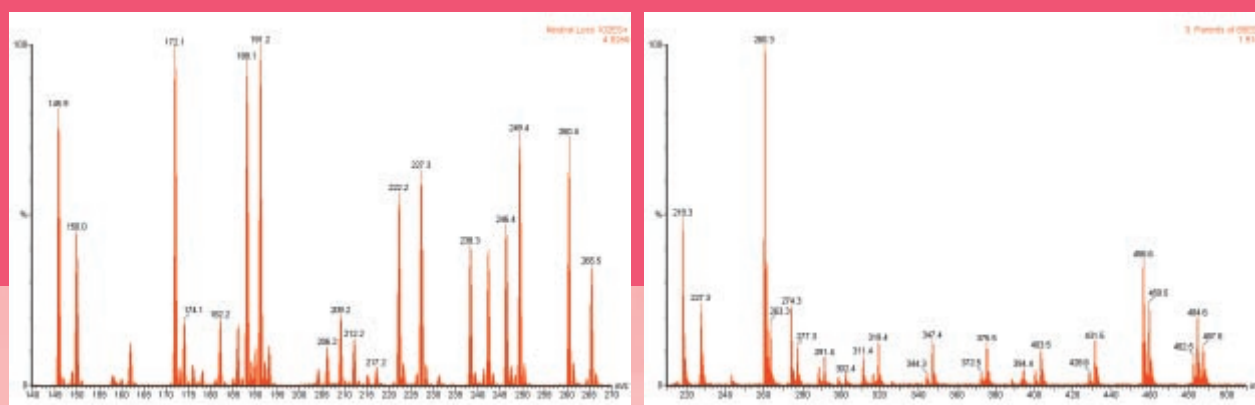
Zusammenfassung

Das Neugeborenen-Screening in Deutschland wurde 2005 durch die Einführung der Tandem-Massenspektrometrie neu geregelt. Der präventive Screeningeffekt konnte durch den Einsatz der Tandem-MS erheblich verbessert werden. Infolge der verhältnismäßig großen Anzahl sehr seltener Erkrankungen, die mit dieser Technik erfasst werden, war der Screeningablauf neu zu organisieren, wobei vor allem die post-analytische Phase des Datenhandlings und der Befundinterpretation optimiert wurde.

Literatur:

- [1] Hoffmann, G.F.; Machill, G.: Monatsschr. Kinderheilk. 142, 338-343 (1994)
- [2] Roscher, A. A.; Fingerhut, R.; Liebl, B.; Olgemöller, B.: Monatsschr. Kinderheilkd. 149, 1297-1303 (2001)
- [3] Lindner, M.; Schulze, A.; Zabransky, S.; Engelhorn, K.; Hoffmann, G. K.: medgen 13, 343-347 (2001)
- [4] Chase, D.H.; Millington, D.S.; Terada, N.; Kahler, S.G.; Roe, C.R.; Hofman L.F.: Clin Chem 39, 66-71 (1993)

Aminosäuren und Acylcarnitine Reagenzienkit für LC-MS/MS



Aminosäuren

Acylcarnitine

- > **Beinhaltet alle benötigten Reagenzien und isotopenmarkierte Standards**
- > **Trockenblut-Kontrollen auf Filterpapier verfügbar**
- > **Multiple Diagnostik in einem Lauf**
- > **Hohe Selektivität und Sensitivität durch MS/MS-Detektion**

Bestellnummern:

55000 Reagenzienkit

0191 Amino Acids, Acylcarnitines Dried Blood Spot Control, Bi-Level (I + II)

0192 Amino Acids, Acylcarnitines Dried Blood Spot Control, Level I

0193 Amino Acids, Acylcarnitines Dried Blood Spot Control, Level II

Chromsystems Neuheit

Beipackzettel und Sicherheitsdatenblätter jetzt online

Die Chromsystems-Website wurde 2005 einer grundlegenden Aktualisierung unterzogen. Neben einem neuen Layout wurden viele neue Inhalte eingepflegt. Der Anwender hat nun die Möglichkeit, sich einen Überblick über angebotene Seminare und Messteilnahmen zu verschaffen und wird stets über Neuigkeiten informiert. Ein weiterer neuer Service ist die Übersicht über unsere breite Palette an Referenzmaterial wie Qualitätskontrollen und Kalibratoren. Anhand von Richtwerten können nun die unterschiedlichen Konzentrationsstufen beurteilt, Verfügbarkeiten und Aufbewahrungsvorschriften abgelesen werden.

Seit Frühjahr/Sommer 2006 ist es nun möglich, auch die verbindlichen, aktuell gültigen Werte der neuesten Produktionschargen unserer Qualitätskontrollen und Kalibratoren abzurufen. Nach Eingabe der Artikelnummer kann der virtuelle Beipackzettel geöffnet, gelesen und ausgedruckt werden. Gleiches gilt für die Sicherheitsdatenblätter, die dem Anwender ebenfalls virtuell zur Nutzung bereitstehen. Selbstverständlich erfolgt eine ständige Aktualisierung dieser Daten, sodass alle Angaben tagesaktuell sind. Der Beipackzettel/Sicherheitsdatenblätter-Service steht exklusiv für unsere Kunden unter www.chromsystems.de zur Verfügung.

Der neue Service wird bereits rege genutzt. Das ist Ansporn für uns, die Anwenderfreundlichkeit und den Informations-Content unserer Website weiter auszubauen. Anregungen dazu nehmen wir gerne entgegen.

Aids-Therapie heute

Neuer Chromsystems-Kit zum Monitoring von HIV-Medikamenten in Patienten-Serum

Dr. Richard Lukačič, Chromsystems GmbH

Im Bereich der Arzneimittel-Bestimmungen (TDM) mittels klinischer HPLC-Technologie verfügt Chromsystems über langjährige Erfahrungen. In Kürze erweitert Chromsystems diese Produktpalette um eine neue innovative Anwendung: die Bestimmung von Anti-HIV-Medikamenten im Plasma/Serum. Grundlage der dazu verwendeten isokratischen HPLC-Methode ist eine selektive Probenvorbereitung, die es dem Anwender erlaubt, elf verschiedene Arzneimittel aus dem Bereich der Proteasehemmer und reversen Transkriptasehemmer zu extrahieren und anschließend in einem chromatografischen Lauf mittels UV-Detektion zu quantifizieren.

1981 wird in Atlanta/USA erstmals über das Krankheitsbild Aids berichtet und innerhalb weniger Monate die ungewöhnliche Erkrankung als Erworbenes Immundefektsyndrom (Acquired Immunodeficiency Syndrome) diagnostiziert. Bereits 1983 ist das infektiöse Agens, das HI-Virus (Human Immunodeficiency Virus), isoliert und wird beinahe gleichzeitig von Luc Montagnier und Robert C. Gallo charakterisiert. Das Verständnis des kausalen Zusammenhangs zwischen dem HI-Virus und der Aids-Erkrankung führt in nur wenigen Monaten zur Entwicklung eines HIV-Antikörpertests (ELISA), mit dem seit 1985 alle Blutprodukte getestet werden. 1986 wird eine zweite Variante des HI-Virus (HIV-2) entdeckt und der Test entsprechend erweitert. Um die Schwäche der immunologischen Erfassung von Molekülen (insbesondere bei positivem Testergebnis) zu minimieren, werden die auf die verschiedenen HIV-Typen (1 und 2) und deren Subtypen (HIV-1-N, -1-O, -1-M) positiv getesteten Personen durch einen weiteren Bestätigungstest abgesichert. Die Ansteckung mit einem der beiden Virustypen führt nach unterschiedlicher mehrjähriger Inkubationsphase unweigerlich zur erworbenen Immunschwäche. Interessanterweise zeigt eine kleine Minderheit infizierter Personen auch nach Jahrzehnten keine Symptome von Aids. Der erworbene Immundefekt ist bis heute nicht heilbar und die vollständige Entfernung des RNA-Virus aus dem Organismus nicht möglich. Dennoch gelingt es inzwischen, die Lebenszeit von HIV-Infizierten durch antiretrovirale Kombinationstherapien, „Highly active antiretroviral therapy (HAART)“, deutlich zu verlängern. Da Aids jedoch unweigerlich zum Tode führt, besteht aktuell kein Grund zur Entwarnung.

Epidemiologie

Die HIV-Epidemie läuft zurzeit erschreckend dynamisch. Aktuell sind etwas mehr als 40 Millionen Menschen mit dem HI-Virus infiziert. Jedes Jahr kommen 5 Millionen Neuinfizierte dazu, darunter 700000 Kinder. Das entspricht einer Rate von 10 Neuinfektionen/Minute. Bisher sind 25 Millionen Menschen an der erworbenen Immunschwäche gestorben und jedes Jahr erhöht sich die Mortalität um 3 Millionen weltweit. Es wird geschätzt, dass nur etwa 10 % der HIV-Infizierten getestet sind, demzufolge von ihrer Infektion wissen.

Auch die Zahlen für Deutschland geben keinen Anlass zur Beruhigung. Nach Angaben des Robert-Koch-Instituts sind in Deutschland gegenwärtig ca. 49000 Menschen HIV-infiziert (39500 Männer, 9500 Frauen und 300 Kinder), und für das Jahr 2005 wurden etwa 2500 Neuinfektionen verzeichnet. Bisher sind 26000 Menschen in Deutschland an Aids gestorben. Diese Zahl erhöht sich jedes Jahr um etwa 750 Personen.

Die afrikanischen Länder sind von der Seuche mit 26 Millionen HIV-Infizierten am stärksten betroffen. In Europa gehören Frankreich, Italien, Portugal, Spanien und die Schweiz zu den Ländern mit der höchsten HIV-Prävalenz.

Der Protagonist

Allgemein bestehen Viren, neben wenigen weiteren Komponenten, aus zwei wesentlichen Elementen: der Virushülle (Envelope) und der darin enthaltenen Nukleinsäure (das genetische Material, das RNA oder DNA sein kann). Beim HI-Virus, der eine Größe von etwa 100 nm Durchmesser (HIV-1) hat und zu den Retroviren gezählt wird, besteht das Genom aus Einzelstrang-RNA (Abb.1). Demzufolge muss zur Vermehrung des Virus die RNA zunächst in DNA umgeschrieben werden, und dies geschieht durch ein spezielles, viruseigenes Enzym, die reverse Transkriptase. Zur Vermehrung benötigen Viren einen Wirt, der ihnen die notwendigen Werkzeuge dafür zur Verfügung

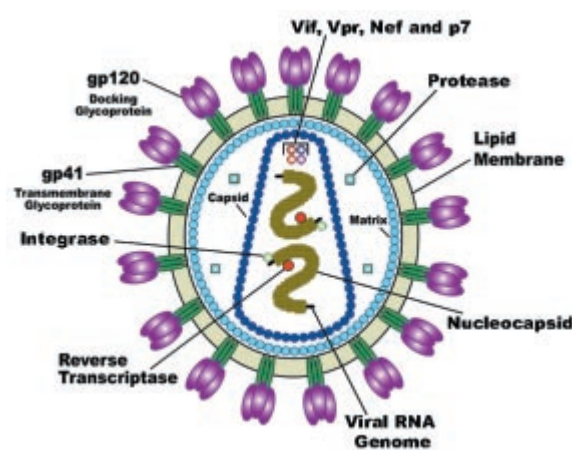


Abbildung 1: Schematische Darstellung des HI-Virus

stellt. Nach klassischer Definition sind Viren demnach keine echten Lebewesen. Man betrachtet sie eher als „Parasiten auf genetischem Niveau“. Allerdings folgt das Verhalten bestimmter Viren, so auch das des HI-Virus, nicht genau dieser theoretischen Vorgabe einer intakten Koexistenz. Denn üblicherweise schädigt der Parasit seinen Wirt immer nur in unbedrohlichem Ausmaß. Die Problematik bei der HIV-Infektion ist der Ort der Virusvermehrung. Es werden spezifische Immunzellen, die CD4+-T-Helferzellen, befallen, die ein charakteristisches Glykoprotein, das CD4, als „Virus-Rezeptor“ auf der Zelloberfläche tragen. Der Rezeptor wird aber auch auf den Oberflächen von T-Zell-vorläuferzellen in Knochenmark und Thymus, auf Monozyten und Makrophagen, Eosinophilen, dendritischen Zellen und Mikrogliazellen des ZNS gefunden.

Medikamente und TDM

Die zurzeit verfügbaren Medikamente gegen HIV stören oder unterbinden die Entwicklung des Virus in den verschiedenen Phasen des Infektionszyklus. Hinsichtlich der dadurch betroffenen Phase des Vermehrungszyklus werden die Arzneimittel in verschiedene Klassen unterteilt. Zurzeit stehen vier Wirkstoffklassen zur Verfügung: Man unterscheidet die sogenannten Entry-Inhibitoren, die das Eindringen von HI-Viren und damit den Beginn des Infektionszyklus unterbinden von den Reverse-Transkriptase-Hemmstoffen, die die Übersetzung der genetischen Informa-

tion des RNA-Virus-Erbmaterials in DNA hemmen. Als weitere Substanzklasse sind die Integrase-Inhibitoren zu nennen, die den Einbau der übersetzten Virus-DNA in die Wirts-DNA blockieren, und schließlich die Gruppe der Protease-Hemmstoffe, die den korrekten Zusammenbau der neuen Viruspartikel so stören, dass zwar neue Viren entstehen, diese aber keine weiteren Zellen infizieren können.

Die Zahl der zugelassenen Einzelsubstanzen und Kombinationspräparate ist inzwischen auf über 20 angewachsen. Als besonders wirksam haben sich Kombinationstherapien mit Reverse-Transkriptase- und Protease-Hemmstoffen erwiesen. Aufgrund der hohen Mutationsrate des HI-Virus muss bei Einzelpräparat-Therapien mit einer fortschreitenden Resistenzentwicklung gegenüber diesen Arzneimitteln gerechnet werden. Die beste Möglichkeit, dem entgegenzuwirken, ist zurzeit die korrekte Einnahme einer Dreier-Kombination aus zwei Nukleosidanaloga- (spezielle Reverse-Transkriptase-Hemmstoffe) und einem Protease-Hemmstoff. Die „HAART“ senkt die Viruslast, die Zahl an CD4-Zellen steigt an und das Fortschreiten der Immunschwäche wird verzögert. Parallel dazu wird das Auftreten Aids-definierender Erkrankungen vermindert, die Lebensqualität der Patienten nimmt zu, und die Lebenszeit wird verlängert. Die antiretrovirale Behandlung von Patienten ist kein Privileg der Industrieländer mehr. So werden 80 % der Behandlungsbedürftigen in Südamerika (Argentinien, Brasilien, Chile und Kuba) behandelt. Schlechter gestellt sind Asien, Lateinamerika, Osteuropa und vor allem Afrika.

Gerade bei der HIV-Therapie kann die laufende Kontrolle der Medikamentenkonzentration im Sinn eines „Therapeutic Drug Monitoring“ aus verschiedenen Gründen von erheblicher Bedeutung sein. Eine wichtige Voraussetzung für den Erfolg im Kampf gegen das HI-Virus ist ein ausreichend hoher Plasmaspiegel der verabreichten antiretroviralen Arzneimittel. Der individuelle Plasmaspiegel kann aus verschiedenen Gründen (Aufnahme, Compliance, Stoffwechsel) stark variieren und damit den Therapieerfolg entscheidend

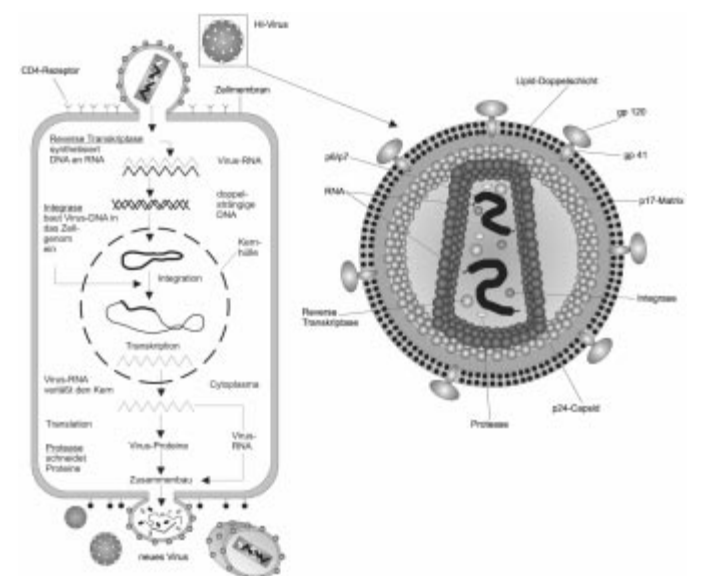


Abbildung 2: Vermehrungszyklus des Virus

beeinträchtigen. Andererseits führen zu hohe Werte im Plasma zu einer erhöhten Rate an Nebenwirkungen, wie sie beispielsweise für Efavirenz (ZNS-Störungen), Nevirapin (Lebertoxizität), Ritonavir (gastrointestinale Störungen) oder Indinavir (Nierentoxizität) beschrieben wurden. Folglich ist die Messung der Arzneimittelkonzentration in Serum oder Plasma für die Steuerung der Therapie notwendig.

Der Chromsystems-Reagenzienkit

Zur Kontrolle der Spiegel aktueller antiretroviraler Medikamente in Serum oder Plasma hat Chromsystems einen einfachen Reagenzienkit entwickelt, dessen Grundlage die bewährte und sehr selektive Festphasenextraktion ist, die auch ohne Probleme eine Automatisierung erlaubt. Bei der Probenvorbereitung werden zunächst 500 µl Probe (Serum/Plasma) mit Internem Standard und Extraction Buffer gemischt und diese Mischung auf vorher konditionierte SPE-Kartuschen aufgetragen. Danach wird die SPE-Kartusche zunächst drei Mal mit unterschiedlichen Puffern und anschließend einmal mit Wasser gewaschen. Schließlich erfolgt die Elution mittels Zugabe von 500 µl Puffer. Vom Eluat werden 50 µl im Anschluss in ein HPLC-System injiziert. Die chromatografische Trennung verläuft isokratisch im Säulenthermostat bei 35 °C. Die Parameter werden mittels UV-Detektion bestimmt.

Mit dieser Analytik lassen sich sämtliche aktuell zur HIV-Therapie verwendeten Protease-Inhibitoren (Amprenavir, Atazanavir, Indinavir, Lopinavir, Nelfinavir und dessen M8-Metaboliten, Ritonavir, Saquinavir und Tipranavir) sowie die nicht-nukleosidalen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren Efavirenz und Ne-

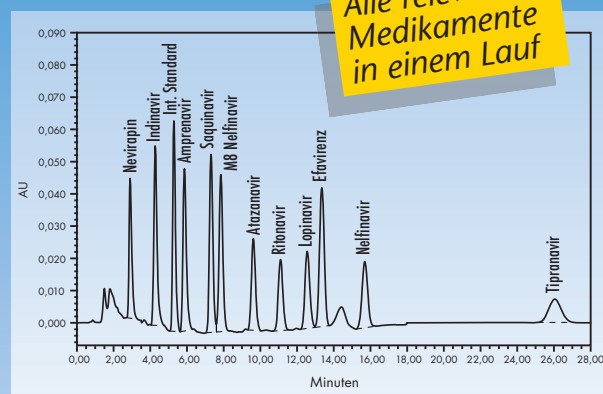
virapin quantitativ in einem chromatografischen Lauf erfassen. Die Laufzeit von 35 min kann auf 26 min verkürzt werden, wenn die Flussrate mit 0,8 ml/min startet und bis 18 min Laufzeit auf 2 ml/min kontinuierlich erhöht wird. Ab 18 min bleibt die Flussrate dann konstant bei 2 ml/min. Die hohe Selektivität der Methode wird durch die Änderung der Messwel-

lenlänge während der chromatografischen Trennung erreicht (260 nm, nach 3,5 min auf 210 nm).

Literatur:

Als Nachschlagewerk zu diesem Thema sei das Buch HIV.NET 2005 von Hofmann, Rockstroh und Kamps empfohlen, das im Steinhäuser-Verlag erschienen ist (ISBN 3-924774-42-0).

Anti-HIV-Medikamente im Plasma/Serum



- > Therapeutisches Drug Monitoring
- > Mit Internem Standard
- > Automatisierte Probenvorbereitung für Gilson® Aspect™ möglich

Bestellnummern:

- 56000 Reagenzienkit
- 0171 Anti-HIV Drugs Plasma Control, Bi-Level (I + II)
- 0172 Anti-HIV Drugs Plasma Control, Level I
- 0173 Anti-HIV Drugs Plasma Control, Level II

o-Cresol, p-Cresol, Phenol und t,t-Muconsäure

Biomonitoring von Benzol und Toluol

Dr. Wiebke Großberger, Chromsystems GmbH

Die Untersuchung biologischen Materials auf Gefahrstoffe und deren Metabolite hat in der Arbeitsmedizin einen festen Platz eingenommen. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Wahl des untersuchten Parameters, der für den infrage stehenden Stoff spezifisch und effektiv zu analysieren sein muss. Für das Biomonitoring von Benzol und Toluol ist seit April 2006 der neue Chromsystems Reagenzienkit zur Bestimmung von o-Cresol, p-Cresol und Phenol im Urin erhältlich. Ein neuer Kit zur Analyse des Benzol-Metaboliten t,t-Muconsäure im Urin erweitert das arbeitsmedizinische Monitoring.

Grundlagen und Verwendung

In der Arbeitsmedizin sind o-, p-Cresol, Phenol und t,t-Muconsäure als Metaboliten von Benzol bzw. Toluol interessant. Benzol gehört zu den aromatischen Kohlenwasserstoffen und wird als krebserzeugend eingestuft. Gemäß Chemikalienverbotsverordnung darf Benzol nur noch in Konzentrationen kleiner als 0,1 % in Verkehr gebracht werden. Ausgenommen hiervon sind unter anderem Treibstoffe, Erzeugnisse zu Forschungszwecken sowie Zubereitungen, die zur Verwendung bei industriellen Verfahren in geschlossenen Systemen bestimmt sind. Als Ersatzstoff für Benzol wird unter anderem das weniger gefährliche Toluol verwendet. Toluol ist als Lösemittel beispielsweise in Anstrichstoffen, Farbsprays, Nagellacken und Klebstoffen enthalten und ist ein wichtiger Rohstoff bei chemischen Synthesen.

Aufnahmewege und Toxizität

Bei der berufsmäßigen Verwendung werden Benzol und Toluol hauptsächlich über den Atemtrakt und über die Haut aufgenommen. Bei konstanter Exposition stellt sich eine Gleichgewichtskonzentration ein, etwa 40–50 % werden im Körper retiniert. Bei körperlicher Arbeit erhöht sich aufgrund des steigenden Atemminutenvolumens die aufgenommene Menge erheblich. Die Aufnahmeraten sind überdies vom Körpergewicht und dem Fettgewebsanteil abhängig:

Da es sich um lipophile Stoffe handelt, sind sie bei Übergewichtigen höher. Akute inhalative Benzol-Exposition führt je nach Konzentration zu Schwindel, Benommenheit, Brechreiz, Kopfschmerz bis hin zu schweren Vergiftungen mit Herzrhythmusstörungen und Atemdepression.

Die wesentliche chronische Toxizität des Benzols ist die Schädigung des blutbildenden Systems (Knochenmark), die zu verschiedenen Formen der Leukämie führen kann. Im Vordergrund bei der Toxizität von Toluol steht die systemische Wirkung auf das Zentralnervensystem. Je nach aufgenommener Menge reichen die Symptome von Müdigkeit, Kopfschmerz, Schwindel über Euphorie, Verwirrtheit, Übelkeit bis hin zu Koordinations- und Sehstörungen sowie Verlust der Selbstkontrolle. Die chronische Toxizität ist schwer zu beurteilen, da Betroffene meist nicht nur mit Toluol in Kontakt kommen. Die Auswertung inhalativer Langzeitstudien an Nagern ergab keinen Anhalt für eine kanzerogene Wirkung.

Stoffwechsel und Ausscheidung

Von inhaliertem Benzol werden 10–50 % unverändert abgeatmet. Der nicht exhalierter Teil wird enzymatisch zum Benzolepoxid oxidiert. Benzolepoxid lagert sich spontan zum Phenol um, das weiter zu Hydrochinon und Catechol hydroxyliert wird. Die genannten phenolischen Metabolite werden hauptsächlich als Sulfat- und Glucuronsäure-Konjugate im Urin ausgeschieden.

Ein weiterer Metabolisierungsweg führt zum t,t-Mucondialdehyd, das anschließend zur t,t-Muconsäure oxidiert wird. t,t-Muconsäure wird mit dem Urin ausgeschieden. Resorbiertes Toluol verteilt sich im Körper gemäß seinen Löslichkeitseigenschaften bevorzugt in Organen mit hohen Lipidanteilen. Etwa 20 % werden unverändert wieder abgeatmet. Der größte Teil wird in der Leber zu Benzylalkohol und weiter über Benzaldehyd zu Benzoesäure oxidiert. Mit Glycin entsteht Hippursäure. Ein Nebenweg ist die Hydroxylierung des Toluols zu o- und p-Cresol, die als Glucuronide oder Sulfate im Urin eliminiert werden.

Biomonitoring von Benzol und Toluol

Unter Biomonitoring (biologisches Monitoring) versteht man die Untersuchung biologischen Materials vom Menschen zur Bestimmung von Gefahrstoffen, Schadstoffen und/oder deren Stoffwechselprodukten. Untersucht man biologisches Material, so gewinnt man die vom Körper tatsächlich aufgenommene Stoffmenge. Dies erlaubt eine sehr individuelle Beurteilung der tatsächlichen Gefährdung, da die Resorption eines Stoffes z. B. infolge eines gesteigerten Atemvolumens verändert sein kann. Auch der über die Haut resorbierte Anteil, der oft unterschätzt wird, wird erfasst. Als biologisches Material werden meist Blut oder Urin verwendet, wobei Urin wegen seiner einfachen Gewinnung bevorzugt wird.

Beim Biomonitoring ist die Wahl des Parameters, anhand dessen die innere Exposition eines Gefahrstoffs bestimmt werden soll, von besonderer Bedeutung. Er sollte möglichst spezifisch sein für den zu beobachtenden Stoff. Gleichzeitig muss es ein Analysenverfahren geben, das empfindlich genug ist, die arbeitsmedizinisch-toxikologisch relevanten Konzentrationen zu bestimmen. Harngängige, gut zu bestimmende Substanzen des Benzols sind Phenol und t,t-Muconsäure. Phenol erweist sich jedoch als relativ unspezifisch, da es auch als physiologisches Stoffwechselprodukt entsteht. t,t-Muconsäure hingegen korreliert gut mit der tatsächlichen Benzolbelastung. Als störender Vorläufer der t,t-Muconsäure kommt nur Sorbinsäure in Betracht, die als Konservierungsstoff in Lebensmitteln verwendet wird.

In den Konzentrationsbereichen, die für die Arbeitsmedizin relevant sind, ist dies jedoch von untergeordneter Bedeutung. Besonders interessant ist die Beobachtung der t,t-Muconsäure, weil sie indirekt den Nachweis von t,t-Mucondialdehyd erlaubt, ein Metabolit, der neben 1,4-Benzochinon mitverantwortlich für die Giftigkeit des Benzols ist.

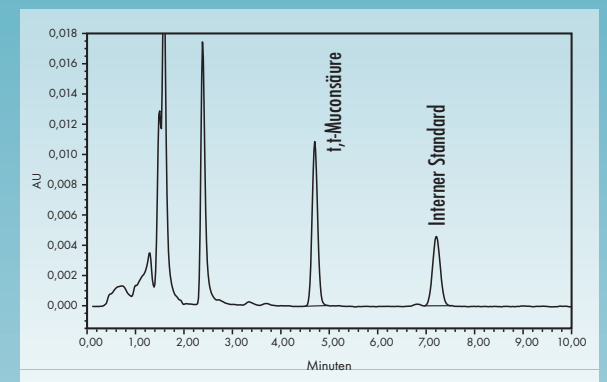
Für die arbeitsmedizinische Untersuchung von Toluol sind dessen Metabolite o- und p-Cresol interessant. Zu beachten ist, dass p-Cresol auch bei der Metabolisierung des körpereigenen Tyrosins entsteht. Als Biomarker eignet sich daher vor allem o-Cresol.

Analysenmethoden

Mit dem Chromsystems Reagenzienkit zur Bestimmung von o-Cresol, p-Cresol und Phenol im Urin können die genannten Parameter einfach und genau bestimmt werden. Die phenolischen Substanzen liegen im Urin gebunden vor und müssen vor der Analyse freigesetzt werden. Diese Freisetzung ist entscheidend für die nachfolgende Quantifizierung. Möglich ist die Spaltung enzymatisch oder chemisch durch Säurezugabe. Fernandes (Dr. Limbach & Kollegen, Heidelberg) konnte in einer Vergleichsstudie zeigen, dass die saure Hydrolyse vollständiger und schneller ist. Bei der enzymatischen Spaltung der Phenolkonjugate waren 22 h nötig, während die saure Hydrolyse innerhalb von 120 min abgeschlossen war. o-Cresol wurde bei der enzymatischen Methode im Vergleich zur sauren Hydrolyse nur zu 75 % freigesetzt. Die enzymatische Spaltung scheint hiernach kein ausreichendes Verfahren zur Freisetzung der Analyte zu sein. Wegen dieser Vorteile verwendet auch Chromsystems in seinem Reagenzienkit die saure Hydrolyse. Die Probe wird 10 min mit Säure inkubiert und anschließend durch Zugabe eines Puffers stabilisiert. Dann kann direkt injiziert werden. Dabei können die mitgelieferten Hydrolysegefäße in vielen gängigen Autosamplern

direkt als Probengefäße verwendet werden. Die Analyte werden in einem isokratischen HPLC-Lauf mit Fluoreszenz-Detektion bestimmt. Seit kurzem ist der neue Chromsystems Reagenzienkit zur Bestimmung von t,t-Muconsäure erhältlich. Der Metabolit liegt im Urin frei vor, wird über eine Festphasenextraktion aufgereinigt und in einem isokratischen HPLC-Lauf mit UV-Detektion bestimmt. Die Analysenmethode ist sehr sensitiv und erlaubt die Bestimmung von Konzentrationen ab 20 µg/l. Im Vergleich hierzu kann die Methode eines anderen Anbieters erst Konzentrationen ab 240 µg/l nachweisen, sodass die Chromsystems-Methode mehr als zehnfach empfindlicher ist. Beide Reagenzienkits erweitern die Chromsystems-Produktpalette im Bereich Arbeitsmedizin und bieten eine zuverlässige Routineanalytik der vorgestellten Biomarker.

t,t-Muconsäure im Urin



- > Niedrige Bestimmungsgrenze
- > Mit Internem Standard
- > Einfach, schnell, zuverlässig!

Bestellnummern:

- 47000 Reagenzienkit
- 0161 t,t-Muconic Acid Urine Control, Bi-Level (I + II)
- 0162 t,t-Muconic Acid Urine Control, Level I
- 0163 t,t-Muconic Acid Urine Control, Level II

Akkreditierte Zertifizierung

Qualität und Sicherheit für Ihr Labor

Dr. Andreas Grömping, Chromsystems GmbH

Gütesiegel

Seit Jahren steigt das Qualitätsbewusstsein der Endverbraucher stetig. Gleichzeitig haben sich die explodierenden Kosten des Gesundheitswesens tief in das Bewusstsein der Bevölkerung eingegraben. Entsprechend werden gerade in diesem sensiblen Bereich Produkte von perfekter Qualität verlangt. Dies bezieht sich nicht nur auf Pharmaka sondern auch auf Medizinprodukte und natürlich auch auf *in-vitro*-Untersuchungen. Es ist für klinische Laboratorien zwingend erforderlich, die Qualität ihrer Untersuchungen lückenlos nachweisen zu können. Dazu gehört primär die Qualität im eigenen Labor. Diese kann aber nur so gut sein wie die Qualität der eingesetzten Produkte d.h. vor allem auch der *in-vitro*-Diagnostika. Chromsystems legt äußersten Wert auf die Qualität seiner Produkte. Dies beginnt bei der Entwicklung, setzt sich in der Produktion fort und ist auch bei der Zuverlässigkeit und Flexibilität jeder einzelnen Lieferung zu spüren.

Diese Eigenschaften sind für jeden Hersteller von *in-vitro*-Diagnostika weltweit erstrebenswert. Wichtig ist dabei, die Authentizität der Qualitätsansprüche zu belegen. Zertifizierer prüfen die Einhaltung von Qualitätsnormen und zertifizieren *in-vitro*-Diagnostika-Hersteller nach verschiedenen Normen. Aber auch dabei gibt es große Unterschiede:

13485:2003 und akkreditierte Zertifizierer

Jede beliebige Firma kann sich nach DIN EN ISO 9001:2000 zertifizieren lassen. Unter diese Norm fällt jeder Hersteller, Betrieb und Dienstleister vom Friseur bis zur Automobilwerkstatt. Entsprechend wird bei der Zertifizierung lediglich formell überprüft, ob ein Qualitätsmanagementsystem eingerichtet ist. Es stellt sich die Frage, wie sinnvoll eine solche Zertifizierung im Bereich von Medizinprodukten ist. Eine auch nur annähernde inhaltliche Auseinandersetzung mit den Produkten wäre so wohl kaum gegeben. Entsprechend wenig aussagekräftig wäre eine Zertifizierung, die lediglich auf der ISO 9001 beruhen würde.

Etwas anders sieht es hingegen bei einer Zertifizierung nach DIN EN ISO 13485:2003 aus: Nach dieser Norm können nur Hersteller von Medizinprodukten und *in-vitro*-Diagnostika zertifiziert werden. Sollte diese Zertifizierung jedoch nicht von akkreditierten Stellen vorgenommen werden, so wäre auch sie nur sehr wenig aussagekräftig. Man kann sich in etwa vorstellen, wie es z.B. aussehen könnte, wenn Bauingenieure einen Hersteller von *in-vitro*-Diagnostika überprüfen würden. Nur die ZLG (Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten) kann Zertifizierer nach 13485 zulassen. So sind für die Zertifizierung von *in-vitro*-Diagnostika-Herstellern nach DIN EN ISO 13485:2003 in Deutschland nur 9 Zertifizierer akkreditiert. Die Liste dieser Zertifikate veröffentlicht die ZLG unter http://www.zlg.de/download/ab/Liste_Zertstellen.pdf. Einleitend heißt es dort: „Nur Zertifikate, die von einer von der zuständigen Behörde (...) autorisierten Stelle ausgestellt wurden, können die Übereinstimmung des überprüften Qualitätsmanagementsystems mit den (...) Normen (...) rechtswirksam bestätigen.“

Bei der Zertifizierung durch akkreditierte Zertifizierer nach der 13485 wird zunächst wie bei der ISO 9001 ein vollständiges Qualitätsmanagementsystem verlangt. Dies wird jedoch von Fachleuten bis ins letzte Detail auf Herz und Nieren geprüft. Zusätzlich werden des Weiteren z.B. die Risikoanalysen zu jedem einzelnen Produkt genau untersucht. In einer Stellungnahme des Verbandes der Diagnostika-Industrie aus dem November 2003 zur 9001:2000 heißt es daher treffend: „Diese neue Norm ist als alleinige Norm zur Zertifizierung von QM-Systemen von Herstellern, die regulatorische Anforderungen für Medizinprodukte erfüllen müssen, unzureichend, da sie von den Benannten Stellen (...) nicht anerkannt wird. Daher ist eine zusätzliche Zertifizierung nach ISO 13485:1996 erforderlich.“ Ferner können die Benannten Stellen nur dann eine Zertifizierung nach 13485 anerkennen, wenn sie von einem von der ZLG akkreditierten Zertifizierer vorgenommen wurde. Rechtswirksame Gültigkeit hat somit einzig und allein eine Zertifizierung von einem akkreditierten Zertifizierer nach der 13485.

Umsetzung bei Chromsystems

Chromsystems hat die Zeichen der Zeit erkannt und diesen aufwendigeren, kostenintensiveren aber sinnvollen und seriösen Weg eingeschlagen. So lassen wir uns regelmäßig sowohl nach 9001:2000 als auch nach 13485:2003 von einem akkreditierten Zertifizierer überprüfen. Dies zeigt sich deutlich in den einzelnen Aktivitäten bzgl. der Qualitätssicherung und des dokumentierten Nachweises guter Qualität, beispielsweise:

- > wurden in den zurückliegenden Jahren die verschiedenen Herstellungs- und Produktionsprozesse weitestgehend automatisiert und die Lagerung softwareunterstützt überwacht, um eine konstante und gleichbleibende Qualität unserer Produkte sicherzustellen.
- > In den vergangenen Jahren hat Chromsystems ferner zu jedem einzelnen Produkt eigene, lückenlose Risikomanagementakten erstellt.
- > Schließlich wurden Ferntransportbedingungen konkret überprüft und Stabilitätsprobleme ausgeschlossen.

Diese Maßnahmen schlagen sich deutlich in der Qualität unserer Produkte nieder. So waren z.B. in den letzten Jahren bis auf wenige Ausnahmefälle keine Updates für Wertekorrekturen erforderlich.

Fazit

Ed Kimmelmann schrieb im ISO Bulletin November 2003: „ISO 13485:2003 liefert die Vorlage, die die Wahrscheinlichkeit maximiert, dass ein Medizinprodukte-Hersteller weltweite regulatorische Anforderungen an das Qualitätsmanagementsystem beachten, sichere und effektive Medizinprodukte zur Verfügung stellen und die Kundenanforderungen erfüllen wird.“ Voraussetzung für die rechtliche Verbindlichkeit, dass ein Hersteller die 13485 erfüllt, ist jedoch die Zertifizierung durch einen von der ZLG akkreditierten Zertifizierer.

Messung von oxidativem Stress

Hyperbarer Sauerstoff

Nicolle Bader, Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Christian-Albrechts-Universität Kiel
In Kooperation mit Dr. A. Koch, Schiffahrtsmedizinisches Institut der Marine, Kronshagen

Hintergrund

Die hyperbare Sauerstofftherapie (HBO) wird bei einer Reihe ausgewählter Erkrankungen (z. B. Problemwunden, gestörte Transplantat- und Implantateinheilung, Hörsturz, Bestrahlungs-Spätfolgen, Tauchunfall, Gasbrand) eingesetzt. Dabei atmen die Patienten in Überdruckatmosphäre (Druck ca. 2,4 bar) medizinisch reinen Sauerstoff über eine Maske ein. Hierdurch wird eine Lösung von bis zu 7 % Sauerstoff im Blut erreicht, was eine Steigerung um mehr als das 20-Fache des normalen Wertes bedeutet. So können auch Körperbereiche, die wegen ihrer Lage oder wegen Vorschädigungen schlecht versorgt werden, in ausreichendem Maße Sauerstoff erhalten.

Zielstellungen

Ziel der von uns durchgeführten Studie war es zunächst, das Ausmaß von oxidativem Stress durch HBO zu bestimmen. Malondialdehyd diente als etablierter Biomarker der Lipidperoxidation im Plasma, während das Ausmaß der DNA-Schädigung anhand oxidierter DNA-Basen in Lymphozyten und Urin quantifiziert wurde. Ebenfalls wurden die Plasma-Vitamine A, C, E und β -Carotin sowie reduziertes Glutathion im Vollblut als Biomarker des Redoxstatus bestimmt. Die Plasma- und Vollblutkonzentrationen der einzelnen Parameter wurden mithilfe eines HPLC-Reagenzienkit von Chromsystems analysiert. Die Analysen der oxidativen DNA-Schädigung wurden in Kooperation mit dem Institut für Klinische Pharma-

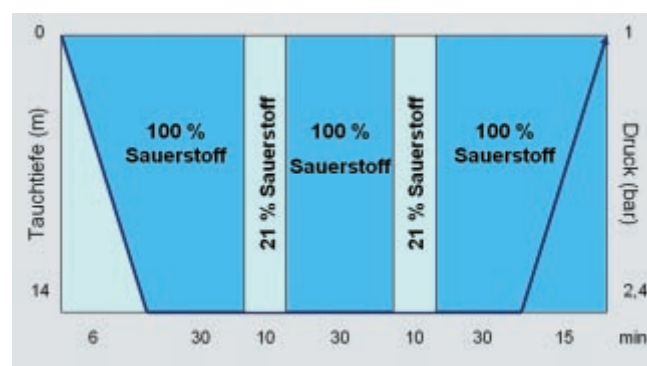


Abbildung 1: Druckkammerprotokoll



Abbildung 2: Druckkammeranlage

	Kontrollversuch	Hyperbarer Sauerstoff	Hyperbarer Sauerstoff und Vitamine
Antioxidantien		vor Vitamin C-Supplementierung	nach Vitamin C-Supplementierung
Vitamin C Plasma	-0,5	-5,6*	-7,2**
α -Tocopherol Plasma	0,9	2,5	4,2
Retinol Plasma	1,6	3,0	3,1
β -Carotin Plasma	-9,3	-5,3	2,0
GSH Vollblut	-1,5	-1,8	-11,4
Oxidative Schädigung			
MDA Plasma	0,5	4,5	0,4
8-oxodG Urin	-2,4	21,2*	11,1**

Prozentuale Veränderung der Biomarker für oxidativen Stress (Veränderung zwischen „vor“ und „nach“) zum Kontrollversuch und nach Behandlung mit hyperbarem Sauerstoff ohne und nach vorheriger Supplementierung mit Vitamin C und E

* p < 0,05 „Hyperbarer Sauerstoff“ versus „Kontrollversuch“

** p < 0,05 „Hyperbarer Sauerstoff und Vitamine“ versus „Kontrollversuch“

Neben den Vorteilen einer erhöhten Sauerstoffkonzentration im Gewebe führt hyperbare Sauerstofftherapie zu einer vermehrten Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies. Das gestörte Gleichgewicht zwischen Radikalanfall und antioxidativen Schutzmechanismen der Zellen bezeichnet man als oxidativen Stress. Charakteristisch dafür sind Oxidationsschäden an integralen Zellbestandteilen wie Lipiden, Proteinen, Zucker und der Erbsubstanz sowie eine Depletion von antioxidativ wirksamen Substanzen (z. B. Vitaminen). Oxidativer Stress stört die Zellfunktionen, löst infolgedessen Sekundärschäden aus und ist an der Entstehung von spontanen Mutationen im Erbgut mit beteiligt.

Oxidativer Stress wird in jüngerer Zeit in zunehmendem Maße als ein wesentlicher und zentraler Pathomechanismus für eine Anzahl ernster Erkrankungen diskutiert. Hierzu gehören ebenso kardiovaskuläre und pulmonale Schädigungen wie eine mögliche Rolle in der Onkogenese und der allgemeinen Zellalterung.

Die extreme Kurzlebigkeit der Sauerstoff-Radikale macht die Messung der eigentlichen aktiven Radikale nahezu unmöglich, so dass in der Praxis die Folgeprodukte der oxidativen Schädigung in Geweben und Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden.

Da oxidativer Stress ebenfalls zu einer temporären Erschöpfung von antioxidativ wirksamen Substanzen im Gewebe und Plasma führt, können auch diese als Biomarker für oxidativen Stress bestimmt werden.

kologie des Universitätsklinikums Kopenhagen mittels eigens etablierter Methoden durchgeführt. Im zweiten Teil des Protokolls sollte untersucht werden, ob eine 4-wöchige Supplementierung mit Vitamin C und E vor einer wiederholten HBO-Behandlung das Ausmaß von oxidativem Stress verhindern kann.

Methode

19 Männer im Alter von 20 bis 40 Jahren wurden über öffentliche Aushänge in Kiel rekrutiert (28,9 \pm 5,2 Jahre; 24,2 \pm 3,1 kg/m²). Alle Probanden waren Nichtraucher und haben in den Monaten vor der Studie keine Vitaminpräparate eingenommen. Die Studiengruppe wurde nach folgendem Protokoll behandelt: 2,4 bar, 131 min, Atmung von 100 % Sauerstoff, nach Minute 36 und 76 zwei Pausen à 10 min (Abb. 1). Das Protokoll wurde nach 4-wöchiger Supplementierung mit Vitamin C (500 mg/d) und E (200 mg/d) wiederholt. Zum Vergleich wurde ein Kontrollversuch unter normobaren und normal atmosphärischen Bedingungen (1,0 bar, 21 % Sauerstoff) durchgeführt. Für die Untersuchungen in der Druckkammer wurde die Druckkammeranlage Hydra 2000 (Haux, Karlsbad, Deutschland; Abb. 2) der Liegenschaft der Marine in Kronshagen genutzt. Vor und nach jeder Untersuchung in der Druckkammer wurden bei den Probanden eine Blutabnahme durchgeführt und eine Urinprobe gesammelt. Die Blutproben wurden direkt nach ihrer Gewinnung zentrifugiert. Plasma, Vollblut und Urin

wurden aliquotiert und bis zu den Analysen bei -80 °C tiefgefroren. Das Studienprotokoll wurde von der zuständigen Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel bewilligt.

Ergebnisse

Im Vergleich zu den Veränderungen zum Kontrollversuch kam es nach der Exposition mit hyperbarem Sauerstoff zu einer signifikanten Abnahme der Plasmakonzentration von Vitamin C um 6 % (Tabelle). Ebenfalls nahm die Konzentration oxidierter Guaninbasen (8-oxodG) im Urin im Vergleich zum Kontrollversuch um 21 % zu. Die Konzentrationen von Vitamin A, E, Beta-Carotin, reduziertem Glutathion und Malondialdehyd zeigten dagegen keine Veränderungen. Die erneute Exposition mit hyperbarem Sauerstoff nach einer 4-wöchigen Supplementierungsperiode mit Vitamin C und E führte ebenfalls zu einer Verminderung der Plasmakonzentration von Vitamin C (7 %) und einer Zunahme von 8-oxodG (11 %) im Vergleich zum Kontrollversuch.

Zusammenfassung

Hyperbarer Sauerstoff führte zu einer oxidativen Stressreaktion, die anhand verringerter Vitamin C-Plasmaspiegel und einer erhöhten DNA-Schädigung quantifiziert werden konnte. Dem entgegen blieben die Plasmakonzentrationen von Vitamin A, Vitamin E, β -Carotin, reduziertem Glutathion als auch von Malondialdehyd unverändert. Eine 4-wöchige Gabe von Vitamin C und E vor einer erneuten Exposition mit hyperbarem Sauerstoff führte nicht zu einer Verminderung des HBO-induzierten oxidativen Stresses. In weiteren Arbeiten könnten nun Einflussgrößen der in dieser Untersuchung festgestellten hohen interindividuellen Varianz als auch der Effekt eines breiten Spektrums von Antioxidantien auf die verschiedenen Parameter für oxidativen Stress untersucht werden.

Chromsystems Neuheiten

Neuer Elutionspuffer plus Finisher für die VMA-Analytik

Für die Diagnostik von Neuralleistentumoren (Neuroblastom, Phäochromocytom) hat die Bestimmung von Vanillinmandelsäure (VMA) und Homovanillinsäure (HVA) große Bedeutung, Gleiches gilt für 5-Hydroxyindoleessigsäure (5-HIAA) für die Karzinoid-Diagnostik. Vor diesem Hintergrund ist schon seit vielen Jahren der Chromsystems-Kit für die VMA, HVA und 5-HIAA-Analytik erhältlich. Wir haben dieses Produkt in den vergangenen Monaten weiter verbessert:

Ein neuer Elutionspuffer (Bestellnummer 1077 statt bisher 1007) und der dazugehörige neue Finisher (Bestellnummer 1013) tragen nun zu einer signifikant erhöhten Stabilität des Parameters 5-HIAA bei, darüber hinaus werden spät eluierende Peaks minimiert. Die übrigen Reagenzien der Analytik bleiben unberührt. Bei dem verbesserten Kit ist zu beachten, dass die

Verwendung des neuen Elutionspuffers 1077 den Einsatz des Finishers 1013 unbedingt erforderlich macht. Der Finisher muss also in jedem Fall zugegeben werden. Ferner darf der alte Elutionspuffer (Best.-Nr. 1007) in keinem Fall zusammen mit dem neuen Finisher genutzt werden, diese Kombination ist nicht möglich. Alle Lieferungen des Reagenzienkits Nr 1000/B werden mit dem neuen Elutionspuffer und Finisher bestückt. Es entstehen keine Mehrkosten bei Kitbestellungen. Bei Einzelbestellungen des neuen Elutionspuffers 1077 wird bei der ersten Bestellung der Finisher 1013 kostenfrei mitgeliefert. Die aktualisierte Arbeitsvorschrift berücksichtigt die veränderte Probenvorbereitung (der eluierten Probe werden nun 100 µl Finisher zugegeben). Bei Fragen stehen wir Ihnen gerne mit zusätzlichen Informationen zur Verfügung.

HbA_{1c} Third Party Kontrollen

Qualitätskontrollen und Kalibratoren stellen in der klinischen Diagnostik die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen sicher und ermöglichen die Normierung, sodass quantitative Aussagen möglich sind, die oft über den Einsatz einer Therapie entscheiden. Vor diesem Hintergrund ist es essentiell, dass das Qualitätskontrollmaterial (Kontrollen und Kalibratoren) die Eigenschaften unabhängigen Probematerials besitzt. Konkret heißt das, dass eine Kontrolle nicht auf eine bestimmte Analysemethode oder einen bestimmten Gerätehersteller zugeschnitten sein darf. „Third Party Controls“ sind nicht für definierte Methoden oder Gerätefabrikate optimiert, sondern können neutral eingesetzt werden. Auch Chromsystems bietet nun Third Party-Kontrollen an. Die neuen Chromsystems HbA_{1c}-Kontrollen Best.-Nr. 0151 (Level I), Nr. 0152

(Level II) und 0153 (Bi-Level) sowie der HbA_{1c}-Kalibrator Best.-Nr. 15006 erfüllen die Voraussetzungen für Third Party Kontrollen. Somit können Analyseergebnisse unterschiedlicher Herkunft hervorragend miteinander verglichen werden. Die Kontrollen und der Kalibrator werden lyophilisiert geliefert und müssen vor Gebrauch mit Wasser rekonstituiert werden. Die Kontrollen und der Kalibrator sind bei +2 °C bis +8 °C in lyophilisiertem Zustand mindestens ein Jahr, längstens bis zum aufgedruckten Datum haltbar. Rekonstituiert sind Kontrollen und Kalibrator bei +2 °C bis +8 °C bis zu 7 Tage haltbar.

Die aktuellen Konzentrationen entnehmen Sie bitte dem jeweils mitgelieferten Beipackzettel. Anbei finden Sie eine Liste, die repräsentativ Beispielskonzentrationen nennt.

Hemoglobin A _{1c} Control Bestell-Nr. 0151 (Level I), 0152 (Level II)						Hemoglobin A _{1c} Calibrator Bestell-Nr. 15006	
Analyt	Hersteller/ Methode	Level I Mittelwert in %	Level I Vertrauens- bereich in %	Level II Mittelwert in %	Level II Vertrauens- bereich in %	Analyt	Wert in %
Hemoglobin A _{1c}	IFCC reference method (LC-MS)	3,6	3,2-3,9	11,8	10,6-12,9	Hemoglobin A _{1c}	7,0

Termine

Chromsystems ist 2007 auf folgenden nationalen und internationalen Messen und Kongressen vertreten:

- > 29. Januar bis 01. Februar 07
Arab Health, Dubai
- > 23.-26. April 07
FOCUS 2007, Manchester
- > 03.-07. Juli 07
EuromedLab 2007, Amsterdam
- > 09.-14. September 07
ICTDMCT, Nizza
- > 24.-26. September 07
Biomedical Science Congress, Birmingham
- > 18.-20. Oktober 07
1. Congresso Nacional del Laboratorio Clínico, Sevilla

Impressum

Herausgeber:
Chromsystems
Instruments & Chemicals GmbH
Heimburgstrasse 3
81243 München

Telefon: +49 89 18930-200
Telefax: +49 89 18930-299
E-Mail: mailbox@chromsystems.de

Redaktion:
Gabriel Erlenfeld

Gestaltung:
Lengnick Print- & Mediendesign, Donaustauf

Druck:
Stulz-Druck & Medien, München

Ausgabe Januar 2007

Einblicke Chromsystems

Teil 4: Die Abteilung Regulatory Affairs

Die Normierung von Qualitätsansprüchen anhand von klar definierten Entwicklungs-, Produktions- und Vertriebsvorgaben hat vor allem in der Diagnostika-Branche große Bedeutung und spiegelt sich in einer immer stärker differenzierten und ausgeweiteten nationalen und internationalen Gesetzgebung wider. Seien es nun das Medizinproduktegesetz Deutschland oder die GMP-, GLP- und FDA-Bestimmungen in den USA, diese und analoge Anforderungskataloge müssen, je nach Absatzgebiet, von Herstellern von Medizinprodukten berücksichtigt werden. Entsprechende Qualifikationen nach DIN EN ISO bzw. FDA-Konformität sind nicht nur ein wichtiges Aushängeprädicat eines Diagnostikunternehmens, sondern auch Bedingung für die gesetzliche Zulassung der Produkte.

Seit der Zertifizierung von Chromsystems gemäß DIN EN ISO 9001:2000 und DIN EN ISO 13485:2003 vor mehr als zwei Jahren setzen wir die Maßnahmen

fort, um weiteren Normen und Regulierungen gerecht zu werden. Im Zuge dieser Aktivitäten wurde eine neue Abteilung ins Leben gerufen: „Regulatory Affairs“.

Diese jüngste Abteilung setzt sich momentan aus drei Mitarbeitern zusammen, die in Vollzeit mit den regulatorischen Aktivitäten der Firma beschäftigt sind. Dr. Andreas Grömping ist Diplom-Chemiker und führt die Abteilung seit 2006. Die vollständige Ausrichtung aller relevanten Prozesse nach FDA-Normen sowie die Zertifizierung entsprechend den Anforderungen sind momentan die Hauptaufgaben der Abteilung. Auch tagesaktuelle Fragestellungen aus allen Abteilungen, die regulatorische Belange betreffen, werden von Dr. Grömping und seinen Mitarbeitern bearbeitet. Vor dem Hintergrund der gestiegenen Bedeutung von regulatorischen Maßnahmen ist es nur selbst-



verständlich, dass Chromsystems in diese Abteilung investiert und die für eine solide und nachhaltige Produkt- und Servicepolitik erforderliche Struktur pflegt. Letztlich steht hinter allen Normen und Regeln nur ein einziges, gemeinsames Ziel: das Vertrauen der Kunden in die Qualität unserer Produkte zu rechtfertigen.