

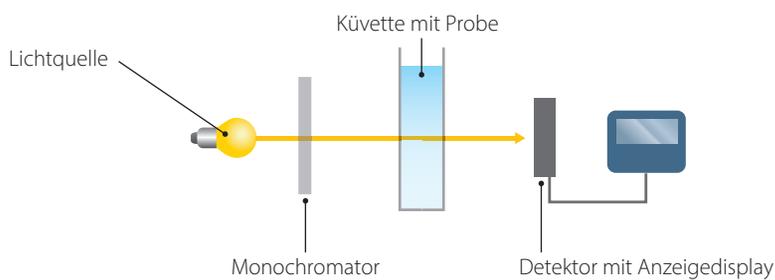
4.1.2 Photometrische Messmethoden

Photometrie bedeutet Lichtmessung (von griech. phos: Licht, metrein: messen). Die Geräte für photometrische Bestimmungen heissen Photometer.

Photometrische Geräte beinhalten folgende Bauteile:

- Lichtquelle
- Monochromator (Vorrichtung zur Lichtzerlegung, die das Licht auf eine bestimmte Wellenlänge isoliert)
- Detektor (Empfänger)
- Anzeigedisplay

Abb. 47: Aufbau eines Photometers



Das Photometer dient der quantitativen Bestimmung eines Analyten. Als Analyt bezeichnet man in der Labordiagnostik die zu bestimmende Substanz. Die restlichen Bestandteile einer Patientenprobe, die nicht analysiert werden, werden manchmal auch als Matrix bezeichnet.

Absorptionsphotometrie

Für den Nachweis eines Analyten wird die Patientenprobe (z. B. Serum oder Plasma) zuerst mit bestimmten Reagenzien versetzt, die nur mit der gesuchten Substanz reagieren. Bei der biochemischen Reaktion zwischen der Substanz und den Reagenzien entstehen neue Verbindungen oder Komplexe, die aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften Licht absorbieren.

In einer Küvette wird dann die Probe von einem Photometer mit Licht einer spezifischen Wellenlänge bestrahlt. Aufgrund der Lichtabsorption durch die Komplexe in der Probelösung nimmt die Lichtintensität, die am Detektor ankommt, ab. Bei dieser photometrischen Analyse wird also die Abnahme der Lichtintensität (Extinktion) gemessen. Das Resultat der gemessenen Lichtextinktion ist proportional zur Konzentration der gesuchten Substanz. Auf der Grundlage des Lambert-Beer'schen Gesetzes kann diese Konzentration so genau ermittelt werden.



Mit der Absorptionsphotometrie wird die Lichtextinktion gemessen, die aufgrund der Lichtabsorption durch die Komplexe in der Probelösung entsteht. Daraus wird die Konzentration der zu bestimmenden Substanz in einer Probe ermittelt.

Die folgenden Laborgeräte arbeiten mit absorptionsphotometrischen Messmethoden:

- HemoCue®
- ABX Micros
- Sysmex KX-21N
- Afinion™ AS100

Reflektometrie (Reflexionsphotometrie)

Die Reflektometrie oder Reflexionsphotometrie ist ein spezielles photometrisches Messverfahren, das den Farbumschlag einer biochemischen Reaktion misst und daraus die Konzentration der zu bestimmenden Substanz ermittelt.

Die Patientenprobe wird auf einen präparierten Objektträger oder Teststreifen aufgetragen. Dadurch wird eine biochemische Reaktion in Gang gesetzt, bei der die zu analysierende Substanz mit den im Teststreifen enthaltenen Reagenzien reagiert. Diese Reaktion verursacht einen Farbumschlag auf dem Testfeld. Dabei ist die Intensität der entstandenen Farbe umso stärker, je höher die Konzentration der gesuchten Substanz in der Probe ist. Anschliessend wird der Teststreifen von einem Photometer mit Licht einer spezifischen Wellenlänge bestrahlt. Der Detektor misst die vom Testfeld reflektierte Lichtmenge, und das Gerät kann so die Konzentration des Analyten in der Probe bestimmen.

Bei der Reflexionsphotometrie wird die Lichtmenge, die von der zu bestimmenden Substanz reflektiert wird, gemessen und so deren Konzentration bestimmt.

Die folgenden Laborgeräte arbeiten mit reflektometrischen Messmethoden:

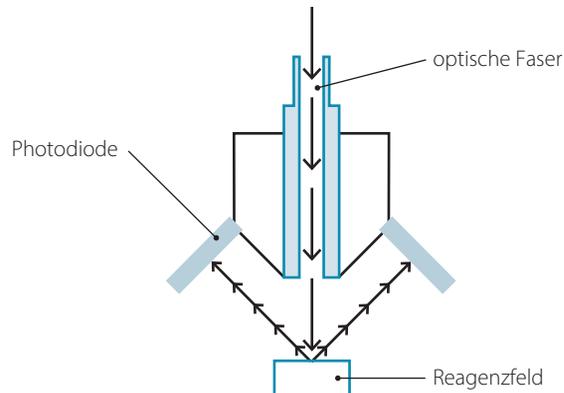
- Accu-Chek® Mobile
- Afinion™ AS100
- cobas h 232
- Urisys® 1100

Spotchem®

Das Spotchem® ist ein Trockenchemie-Gerät zur Bestimmung von bis zu 24 verschiedenen Parametern (Messgrössen) der klinischen Chemie. Dieses Gerätesystem besteht aus verschiedenen Modulen (D-Concept, EZ SP-4430, EL SE-1520), um den individuellen Bedürfnissen der Praxis gerecht zu werden. Aufgrund der grossen Bandbreite an Parametern werden verschiedene Messprinzipien angewendet. Das Funktionsprinzip bei der Metabolit- und der Lipidbestimmung beruht auf der reflektometrischen Messung einer enzymatischen Farbreaktion auf dem Messstreifen.

Die Lichtquelle (LED) gelangt durch mehrere optische Filter, um die optimale Wellenlänge für das Testobjekt auszuwählen. Nun wird das monochromatische Licht durch insgesamt 10 optische Fasern zur photometrischen Sektion übertragen. Das übertragene monochromatische Licht wird auf das Testfeld gestrahlt. Zwei Photodioden lesen das reflektierte Licht. Das System kalkuliert die Messergebnisse, je stärker die Farbreaktion auf dem Testfeld, desto höher ist die Konzentration des zu messenden Analyten in der Probe.

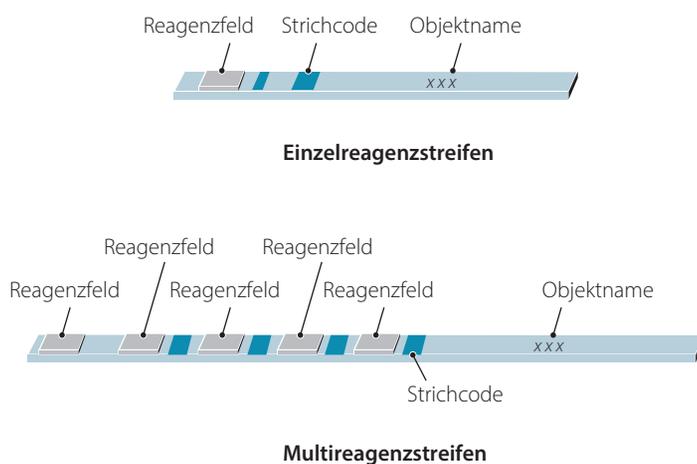
Abb. 48: Messprinzip Spotchem® reflektometrisch



Da beim Spotchem® auch ein enzymatisches Messverfahren angewandt wird, muss das Gerät vor der Messung eine Betriebstemperatur von 37 °C erreichen. Erreicht das Spotchem® nicht die vorgeschriebene Temperatur, sondern beispielsweise nur 25 °C, so erreichen die Messergebnisse nur 50 % des korrekten Werts (siehe Kap. 6.1, S. 59).

Für das Spotchem®-Gerätesystem stehen zwei verschiedene Typen Reagenzstreifen zur Verfügung. Der Einzelreagenzstreifen enthält ein einzelnes Reagenzfeld zur Bestimmung eines Parameters, während der Multireagenzstreifen 5–6 verschiedene Reagenzfelder enthält. So können aus einer Probe bis zu 15 verschiedene Parameter gleichzeitig analysiert werden (je nach Geräte-Modul).

Abb. 49: Spotchem®-Einzelreagenzstreifen und -Multireagenzstreifen



Nach Starten der Messung schliesst sich die Fronttür des Geräts und die Probe wird automatisch vom Gerät auf das Reagenzfeld pipettiert. Die Flüssigkeit der Probe trifft auf das Reagenzfeld und die Reaktion startet. Die Reaktion läuft bei konstant 37 °C ab. Durch die nun stattfindende enzymatische oder chemische Reaktion kommt es auf dem Reagenzfeld zu einem Farbumschlag. Die Intensität der entstandenen Farbe ist umso stärker, je höher die Konzentration der gesuchten Substanz (Analyten) in der Probe ist. Das vom Reagenzfeld reflektierte Licht wird mithilfe der Photodioden gelesen und das System berechnet die Konzentration der zu bestimmenden Substanz. Nach beendeter Messung ist ein Farbumschlag auf dem Reagenzstreifen sichtbar.

Abb. 50: Spotchem®-Reagenzstreifen mit Farbumschlag



4.1.3 Immunturbidimetrie

Immunturbidimetrie bedeutet wörtlich «immunologische Trübungsmessung». Die gesuchte Substanz bildet dabei Komplexe, die die Probelösung trüben, sodass deren Konzentration anhand der gemessenen Trübung quantitativ gemessen werden kann.

Für den Nachweis eines zu bestimmenden Antigens wird die zu analysierende Probe zuerst mit dem entsprechenden Antikörperreagens versetzt. Durch die Immunreaktion entstehen Immunkomplexe mit dem gesuchten Antigen, die die Probelösung trüben. Um diese Trübung zu verstärken, werden manchmal Reagenzien verwendet, deren Antikörper mit Latex gekoppelt sind. Dies gilt jedoch nicht als Markierung im Sinne eines indirekten Immunoassays (vgl. Kap. 6.2, Immunologische Testverfahren).

In einer Küvette wird dann die Probe von einem Photometer mit Licht einer spezifischen Wellenlänge bestrahlt. Aufgrund der Trübung nimmt die Lichtintensität, die am Detektor ankommt, ab. Bei dieser photometrischen Analyse wird also ebenfalls die Abnahme der Lichtintensität (Extinktion) gemessen. Im Gegensatz zur Absorptionsphotometrie werden die Lichtwellen jedoch nicht absorbiert, sondern durch die molekularen Eigenschaften der Immunkomplexe gestreut. Je stärker also die Trübung der Probelösung, umso höher ist die Konzentration des zu bestimmenden Antigens.

Ein Beispiel für eine immunturbidimetrische Messung ist die Bestimmung des CRP am ABX Micros CRP 200.



Vernetzung

Kap. 6.2, Immunologische Testverfahren
LZ 3.3.1–3.3.3 Direkte Immunoassays,
C-reaktives Protein

4.2 Elektroanalytische Messmethoden

Die elektroanalytischen (elektrochemischen) Messverfahren nutzen Elektrizität für die Messung. Es werden Veränderungen des Widerstands, der Spannung oder der Stromstärke gemessen, um so eine quantitative Aussage über eine Probe zu machen.



Vernetzung

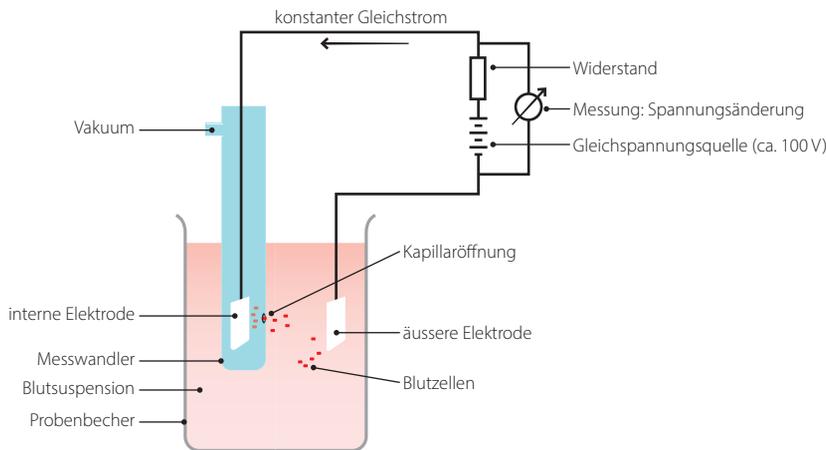
Kap. 6.2, Immunologische Testverfahren
LZ 3.1.1, LZ 4.1.1 Physik, Elektrizität

4.2.1 Impedanzmessung (Widerstandsmessung)

Die Impedanzmessung (von lat. impedire: hemmen, hindern) nutzt die vergleichsweise schlechte elektrische Leitfähigkeit (Widerstand, Impedanz) beispielsweise von Zellen, im Vergleich zur umgebenden Elektrolytlösung.

Zur Messung wird die Patientenprobe zunächst mit einem vorgegebenen Reagens versetzt. Dabei handelt es sich um eine isotonische Verdünnungslösung (Diluent®) mit guter elektrischer Leitfähigkeit, die als Suspensionsmittel (Flüssigkeit, in der feste Teilchen sich verteilen) dient. Die Probelösung wird anschliessend in einer genau definierten Menge in die Messkammer des Geräts eingespeist. Dort passiert sie beim Durchfliessen eine Engstelle zwischen einer Anode (positiv geladene Elektrode) und einer Kathode (negativ geladene Elektrode), die ein elektrisches Feld erzeugen. Da Zellen den Strom im Vergleich zur Elektrolytlösung nur schlecht leiten, erhöht sich beim Durchtritt jeder einzelnen Zelle durch die Engstelle die Impedanz. Diese wird vom Gerät gemessen. Die Grösse des elektrischen Impulses (Ausschlags) entspricht dabei der Grösse der jeweiligen Zelle (Volumen). Dadurch kann nicht nur eine Aussage über die Anzahl der Blutzellen in der Probelösung gemacht werden, sondern auch über die Art der Zellen (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten), die die Engstelle passiert haben.

Abb. 51: Impedanzmessung



Bei der Impedanzmessung wird als Messmethode der elektrische Widerstand gemessen, den eine Blutzelle beim Passieren eines elektrischen Felds erzeugt. Auf diese Weise können Anzahl und Art der Zellen in einer Blutprobe ermittelt werden.

Die folgenden Laborgeräte arbeiten mit Impedanzmessung (siehe auch LZ 3.3.1–3.3.3, Kap. 1, Hämatologie, S. 117):

- Sysmex KX-21N
- ABX Micros

4.2.2 Amperometrie (Stromstärkemessung)

Die amperometrische Analyse beruht auf dem Phänomen des Diffusionsstroms. Der Diffusionsstrom ist ein elektrischer Strom, der entsteht, wenn sich Teilchen mit einer positiven oder einer negativen Ladung aufgrund ihrer Wärmebewegung so bewegen, dass eventuell bestehende Konzentrationsunterschiede ausgeglichen werden.



Vernetzung
NATWI, Physik, Elektrizität

Bei der Amperometrie wird je nach Art der Probe und des Geräts die Probe direkt unverdünnt oder mittels Zugabe spezifischer Reagenzien verdünnt gemessen. Ebenso kann das Verfahren in einer Probelösung oder auf einem Probeträger durchgeführt werden. Das Grundprinzip beruht auf einer biochemischen Reaktion mit der zu bestimmenden Substanz, bei der Teilchen mit einer positiven oder einer negativen Ladung aus dieser Substanz freigesetzt werden (Oxidation oder Reduktion).



Vernetzung
NATWI, Chemie, Redox-Reaktion

Dabei wird durch zwei Elektroden (Anode und Kathode) eine geringe Spannung an die Lösung oder den Träger angelegt. Dies erzeugt einen geringen Stromfluss. Durch den Diffusionsstrom, den die chemische Reaktion in der Lösung oder auf dem Träger erzeugt, wird der Stromfluss erhöht. Der Diffusionsstrom wird mittels eines Amperometers gemessen und die Konzentration der zu bestimmenden Substanz berechnet.

Bei der Amperometrie wird in einer Patientenprobe eine biochemische Reaktion (Oxidation) mit dem zu bestimmenden Analyten ausgelöst, die einen Diffusionsstrom erzeugt. Die Stärke dieses Stromflusses wird gemessen und anhand dessen die Konzentration der zu bestimmenden Analyten berechnet.

Abb. 52: mylife Pura



Die folgenden Laborgeräte arbeiten mit amperometrischen Messmethoden:

- mylife Pura
- Accu-Chek® Mobile

4.2.3 Potentiometrie, Spannungsmessung durch Elektroden (ionenselektive Elektroden)

Bei der Potentiometrie (von lat. potentia: Vermögen) wird je nach Art der Probe und des Geräts die Probe direkt unverdünnt oder mittels Zugabe spezifischer Reagenzien verdünnt gemessen.

Im Gerät kommt eine ionenselektive Elektrode (ISE) zum Einsatz. Sie ist aufgrund der Beschaffenheit ihrer Membran in der Lage, bestimmte Ionen selektiv (ausgewählt) passieren zu lassen. In der ISE befindet sich eine Lösung des zu messenden Elektrolyten. Zeitgleich mit der ISE wird eine Bezugs elektrode in die Probelösung getaucht, an der es nicht zu einem Ionen-Austausch zwischen der Probelösung und der Elektrode kommt.

Die ISE und die Bezugs elektrode stehen über einen Spannungsmesser in Verbindung. Da sich nun in der ISE ein Überschuss an Elektrolyten (und somit an positiven oder negativen Ladungen) befindet, kommt es zu einem Spannungsgefälle zwischen der ISE und der Bezugs elektrode. Diese Spannung wird mittels eines empfindlichen Millivoltmeters gemessen.

Die meisten ISE messen aufgrund der Beschaffenheit ihrer Membran die Ionenaktivität von mehreren Ionen wie Kalium, Natrium, Chlorid oder auch Kalzium. Es gibt aber auch Elektroden mit speziellen ionenselektiven Membranen, die nur eine bestimmte Ionenart messen (z. B. Kalium-Elektrode).

Bei der Potentiometrie wird mittels eines Voltmeters das elektrochemische Potential von Ionen in einer Probelösung gemessen. Als Signalgeber dient eine ionenselektive Elektrode (ISE).

Ein Beispiel für ein Laborgerät, das mit potentiometrischen Nachweismethoden arbeitet, ist der cobas c 111. Dabei handelt es sich um ein Nasschemiegerät, das im Praxislabor normalerweise nicht anzutreffen ist.

Selbsttest 4

Richtig oder falsch? Kreuzen Sie an.	richtig	falsch
A) Das Photometer dient der quantitativen Bestimmung eines Analyten.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
B) Bei der Absorptionsphotometrie misst der Detektor die Abnahme der Lichtintensität (Extinktion).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
C) Das Spotchem®-Gerätesystem misst das reflektierte Licht vom Reagenzstreifen.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
D) Das Spotchem® muss sich vor Messbeginn auf 37 °C aufheizen.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
E) Bei der Impedanzmessung wird unter anderem die Art der Blutzellen bestimmt.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>



5 Physikalische Trennverfahren

5.1 Mechanische Trennverfahren: Zentrifuge

Im Praxislabor werden Zentrifugen verwendet, um Emulsionen oder Suspensionen in ihre Bestandteile zu trennen. Ein alltägliches Beispiel hierfür ist die Trennung von Blutkörperchen und Plasma beziehungsweise Serum.

Wenn man eine Emulsion oder eine Suspension über längere Zeit unbewegt aufrecht stehen lässt, kommt es oft schon allein aufgrund der Schwerkraftwirkung zu einer Trennung in deren Bestandteile. Die schwereren Teilchen sinken zum Boden des Röhrchens (Sedimentation), im oberen Bereich sammeln sich die leichteren Teilchen. In einer Zentrifuge wird dieser Ablauf stark beschleunigt. Durch die schnelle Drehung des Proberöhrchens wird ein Vielfaches der Erdbeschleunigung erzeugt. Die Teilchen mit einer grösseren Dichte bewegen sich aufgrund ihrer höheren Massesträgheit nach aussen an den Rand des Röhrchens. Dabei verdrängen sie andere Teilchen mit einer geringeren Dichte, sodass diese zur Mitte gelangen. Zum Teil werden die Kräfte, die einer Trennung der Bestandteile entgegenwirken (z. B. die Adhäsion oder die Viskosität), innerhalb der Probelösung erst durch das Zentrifugieren überwunden.

Die Zentrifugation gilt als abgeschlossen, wenn es zu einer vollständigen Trennung der Bestandteile gekommen ist. Dabei kann es je nach Probeninhalt auch mehrere Trennschichten geben. Wichtig ist jedoch immer, dass die Trennlinien klar sichtbar sind und nicht ineinander verlaufen.

Um dies zu gewährleisten, muss an der Zentrifuge die «richtige Geschwindigkeit» eingestellt werden.

Als Grundsatz gilt hier: So stark wie nötig, so sanft wie möglich.

Wird die Patientenprobe zu wenig wirksam zentrifugiert, kommt es zu keiner vollständigen oder klaren Trennung ihrer Bestandteile. Dies kann das Resultat einer nachfolgenden Messung verfälschen. Wird die Probe zu stark zentrifugiert, kann dies zu Schäden am Probenmaterial führen, beispielsweise indem Blutzellen zerstört werden (Hämolyse). Auch hierdurch kann es zu verfälschten Messergebnissen kommen.

Einen ungefähren Anhaltspunkt zur Zentrifugation von Probenmaterial bietet die folgende Tabelle:

	Zentrifugengeschwindigkeit	Zeit
Gerinnungsröhrchen		
thrombozytenreiches Zitrat-Plasma (PRP)	150 g	5 min
thrombozytenarmes Zitrat-Plasma (PPP)	1500–2000 g	10 min
thrombozytfreies Zitrat-Plasma	2500–3000 g	20 min
Serumröhrchen	1800–2200 g	10–15 min
Serumröhrchen mit Gel	1800–2200 g	10–15 min
Serumröhrchen mit Granulat	1800–2200 g	10–15 min
Heparinröhrchen	1800–2200 g	10–15 min
Heparinröhrchen mit Gel	1800–2200 g	10–15 min
EDTA-Röhrchen mit Gel	1800–2200 g	10–15 min
Glukoseröhrchen	1800–2200 g	10–15 min

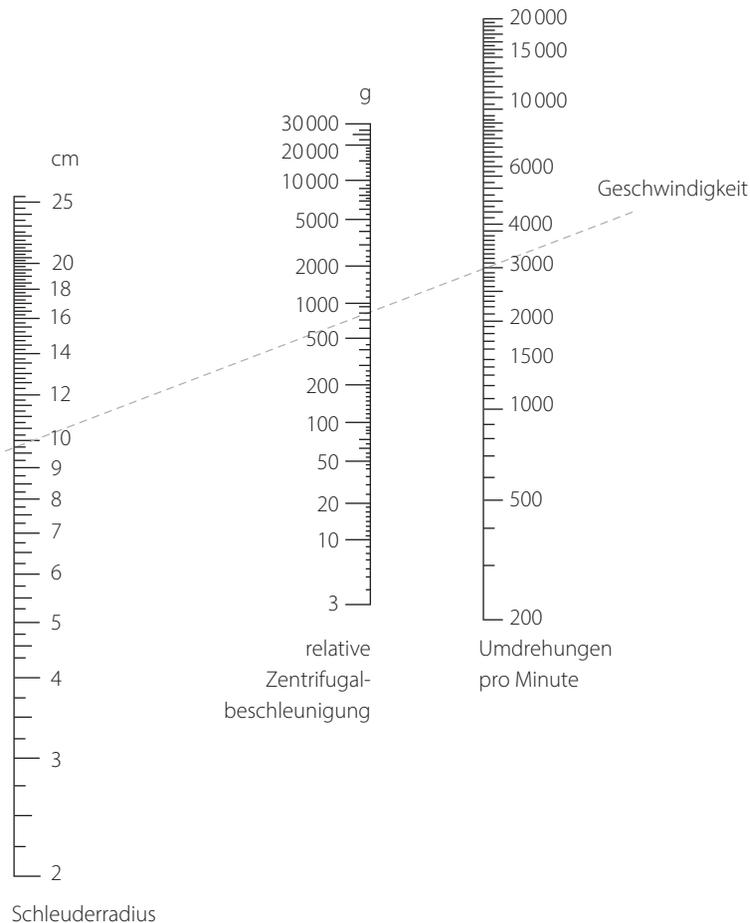
Die g-Zahl (von engl. gravity: Schwerkraft) darf nicht mit der Anzahl der Umdrehungen pro Minute (UpM) gleichgesetzt werden.

Für die Berechnung der UpM wird die folgende Formel verwendet:

$$g = 1,12 \cdot 10^{-5} \cdot r \cdot (\text{UpM})^2$$

Alternativ kann die UpM grafisch aus dem unten stehenden Nomogramm ermittelt werden:

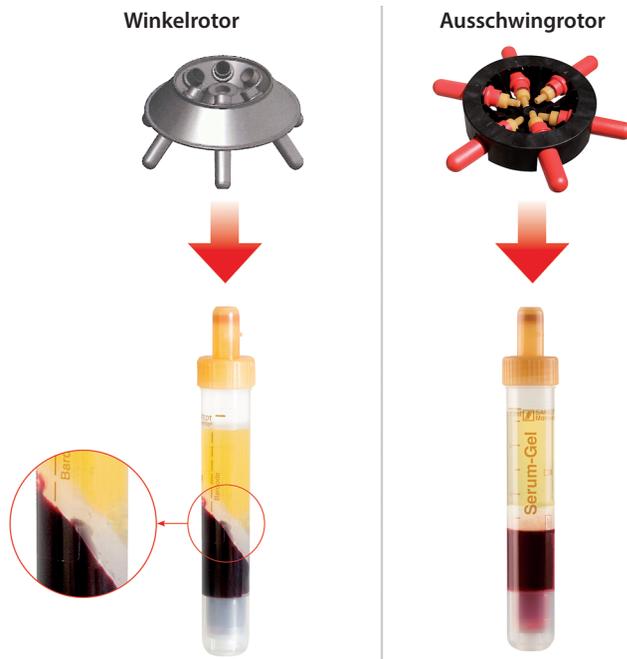
Abb. 53: Bestimmung der Zentrifugengeschwindigkeit beziehungsweise der g-Zahl



Nomogramm zur Bestimmung der Zentrifugengeschwindigkeit in Umdrehungen pro Minute bzw. der g-Zahl

Im Praxislabor findet man zwei Arten von Zentrifugen: die Winkelrotor- und die Ausschwingrotor-Zentrifuge. Wie der Name schon andeutet, schwingt das Röhrchen in der Winkelrotorzentrifuge in einem bestimmten Winkel. Durch den Winkel, in dem die Zentrifugalkraft auf die Probe einwirkt, zeigen die Trennschichten im Röhrchen nach Beendigung des Vorgangs ebenfalls einen schrägen Winkel. In der Ausschwingrotorzentrifuge schwingen die Röhrchen während der Zentrifugation in einer waagerechten Position. Dadurch bilden sind die Trennschichten senkrecht zur Längsachse der Röhrchen.

Abb. 54: Winkelrotor- und Ausschwingrotor-Zentrifuge



Links: In der Winkelrotor-Zentrifuge werden die Proben in einem konstanten, schrägen Winkel zu Rotationsachse zentrifugiert. Es ergibt sich eine schräge Trennlinie zwischen den Phasen im Probengefäß.

Rechts: In der Ausschwingrotor-Zentrifuge schwingen die Probengefäße während der Zentrifugation in eine horizontale Position. Die Trennlinie zwischen den Phasen im Probengefäß verläuft waagrecht.

Abb. 55: Zentrifuge



5.2 Elektrophoretische Trennverfahren

5.2.1 Elektrophorese

Jedes Protein hat eine bestimmte Ladung und Grösse sowie ein bestimmtes Molekulargewicht. Diese Tatsache macht man sich zunutze, um verschiedene Proteine durch Anlegen eines elektrischen Felds voneinander zu trennen. Dieses Verfahren wird als Elektrophorese bezeichnet und vor allem zur Trennung von Plasmaproteinen angewandt. Dieses Analyseverfahren erfolgt ausschliesslich im externen beziehungsweise Speziallabor.

Hierzu wird die Patientenprobe (Serum) auf ein Laufmedium, das je nach Gerätehersteller ein Gel, ein Teststreifen oder eine Folie sein kann, aufgetragen. Mit einer Anode und einer Kathode erzeugt das Gerät ein elektrisches Feld entlang des Laufmediums. Die Proteine bewegen sich nun auf dem

Laufmedium, je nach Ladung, Grösse und Molekulargewicht, in unterschiedlicher Geschwindigkeit auf die Anode zu. Je kleiner die Proteine sind, je grösser ihre negative Ladung und je geringer ihr Molekulargewicht ist, desto schneller wandern sie in Richtung der positiv geladenen Anode. Nach einer bestimmten Zeit bildet sich dadurch ein sichtbares, charakteristisches Muster. Das Muster wird vom Gerät umgerechnet in die prozentualen Anteile der zu bestimmenden Proteine (siehe Kap. 6.2.2, S. 65).

Die Elektrophorese trennt kleinste fein verteilte Teilchen mit unterschiedlicher Ladung, Grösse und Molekulargewicht mittels eines elektrischen Felds.

Gebräuchliche elektrophoretische Verfahren sind:

- Serumeiweisselektrophorese
- Hämoglobinelektrophorese

Abb. 56: Serumeiweisselektrophorese

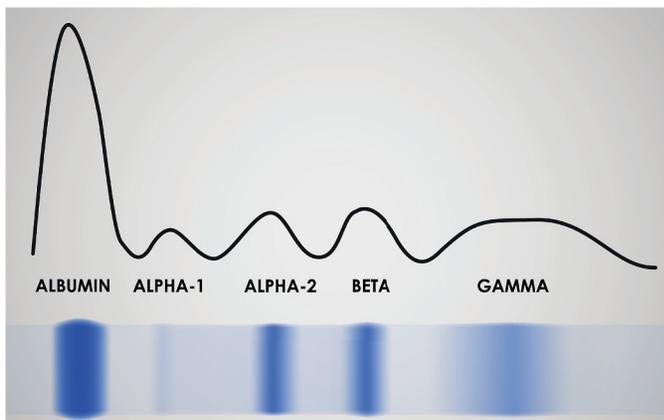


Abb. 57: Elektrophoresegerät



6 Biochemische (enzymatische und immunologische) Testverfahren

6.1 Enzymatische Messmethoden

6.1.1 Substratbestimmung mit Farbreaktion

Das Grundprinzip der enzymatischen Substratbestimmung mit Farbreaktion beruht darauf, dass Enzyme als Biokatalysatoren biochemische Reaktionen umsetzen. Dazu wird das zu analysierende Substrat auf einen Teststreifen mit bestimmten Enzymen aufgetragen. Durch die Umwandlung des Substrats in das Reaktionsprodukt kommt es zu einem Farbumschlag auf dem Teststreifen, der photometrisch gemessen wird.



Vernetzung
NATWI, Biochemie, Enzyme

Enzyme reagieren aufgrund ihrer biologischen Beschaffenheit sehr empfindlich auf Umweltbedingungen. Bei dieser Messmethode ist deshalb auf Folgendes zu achten:

- Messung bei exakt 37 °C
- optimaler pH-Wert
- ausreichende Substratkonzentration
- in der Probe vorhandene Aktivatoren und Inhibitoren

Eine Temperaturveränderung von nur 1 °C verändert das Messresultat bereits um ca. 10 %.

Abb. 58: Urisys® 1100 mit Urinteststreifen



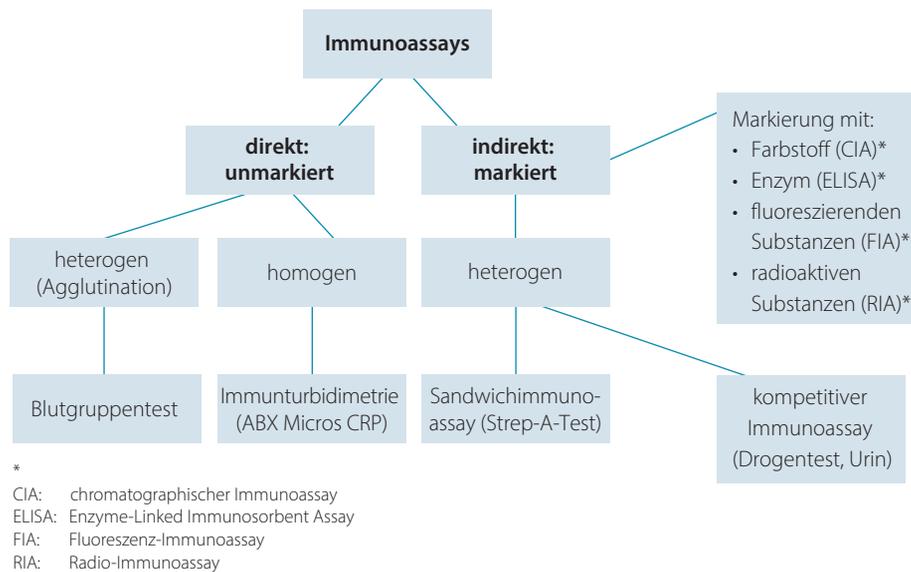
Laborgeräte, die mit der enzymatischen Substratbestimmung mit Farbreaktion arbeiten, sind (siehe Kap. 4.1.2, S. 37):

- Accu-Chek® Mobile
- Afinion™ AS100
- Urisys® 1100
- Spotchem®

6.2 Immunologische Messmethoden (Immunoassays)

Immunoassays (von engl. assay: Test) sind Testverfahren, die auf der Immunreaktion zwischen Antigen und Antikörper basieren. Dabei werden die hohe Bindungsstärke und Spezifität der Bindung zwischen Antigen und Antikörper genutzt. Bei immunologischen Messmethoden werden die Immunkomplexe bestimmt, die bei der Antigen-Antikörper-Reaktion entstehen. Als Reagenzien werden künstlich hergestellte monoklonale und polyklonale Antikörper verwendet.

Abb. 59: Übersicht über die immunologischen Messmethoden



Bei homogenen Immunoassays sind die Immunkomplexe gleichmässig in der Lösung verteilt. Bei heterogenen Immunoassays liegen die Immunkomplexe als grosse Agglutinate oder an einen Träger gebunden vor.

Wenn im Labor eine Trennung (Waschen) der gebundenen von den freien Antigenen durchgeführt wird, handelt es sich immer um einen heterogenen Immunoassay. Bei homogenen Immunoassays ist kein Trennschritt erforderlich. Bei immunologischen (heterogenen) Schnelltests wird ebenfalls kein Waschschrift durchgeführt, da diese vom Hersteller aus auf eine trockenchemische Anwendung angelegt sind.



Vernetzung
ANA-PHYS 2, Immunsystem

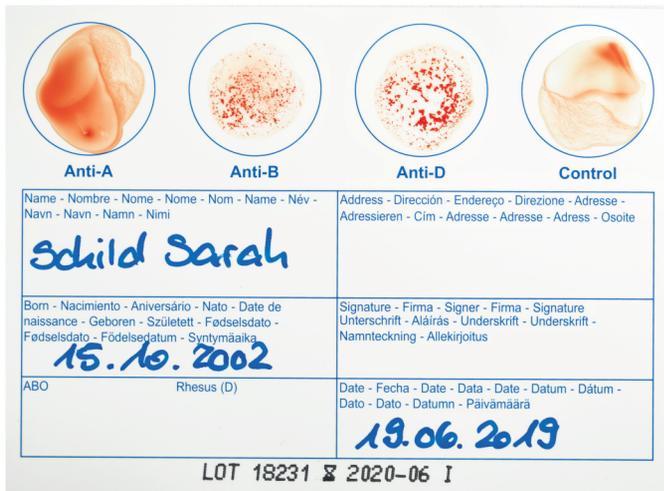
6.2.1 Direkte und indirekte Immunoassays

Beim direkten Immunoassay wird die zu bestimmende Probelösung mit einem Reagens versetzt, in dem sich freie Antikörper befinden. In der Probelösung kommt es zur Bildung von Immunkomplexen. Diese können direkt gemessen werden, ohne dass sie durch eine Markierung sichtbar gemacht werden müssen (siehe Kap. 4.1.2, S. 48).

Die Messung beziehungsweise Auswertung erfolgt durch optische Verfahren:

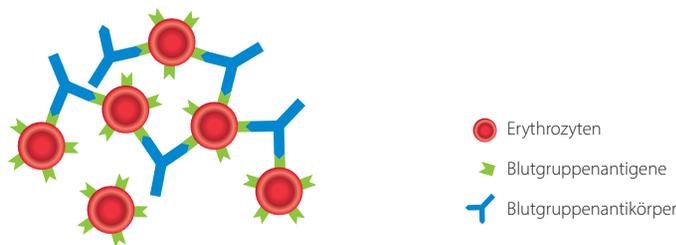
- Immunturbidimetrie (homogene Immunoassays, z. B. ABX Micros CRP)
- mit blossen Auge (heterogene Immunoassays, z. B. Agglutination beim Blutgruppentest)

Abb. 60: Agglutination (am Beispiel eines Blutgruppentests)



In den Testfeldern mit Anti-B- und Anti-D-Antikörpern findet eine sichtbare Verklumpung (Agglutination) der Erythrozyten statt: Die Erythrozyten tragen Anti-B- und Anti-D-Antigene. Im Testfeld mit Anti-A-Antikörpern findet keine Agglutination statt: Die Erythrozyten tragen keine Anti-A-Antigene.

Abb. 61: Agglutination (Schema)



Vernetzung
ANA-PHYS 1, Blut, Blutgruppen

Ein häufig verwendetes Laborgerät, das mit der Immunturbidimetrie arbeitet, ist der ABX Micros CRP200.

Zum Nachweis von sehr geringen Konzentrationen einer zu bestimmenden Substanz werden indirekte Immunoassays eingesetzt. Dabei werden markierte Antigene beziehungsweise Antikörper verwendet, um die Immunkomplexe sichtbar zu machen. Die Markierung des gesuchten Antikörpers oder Antigens erfolgt durch Kopplung von:

- Farbstoffen (Immunchromatographie, IC)
- fluoreszierenden Substanzen (Fluoreszenz-Immunoassay, FIA)
- Enzymen (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)
- radioaktiven Substanzen (Radio-Immunoassay, RIA)

Um sie mittels Markierung sichtbar zu machen, müssen die markierten Immunkomplexe, die in der Reaktion mit dem Probenmaterial entstehen, an einem Ort fixiert werden (→ heterogener Immunoassay). Bei den indirekten Immunoassays sind die Antigene beziehungsweise Antikörper, die die gesuchte Substanz in der Patientenprobe binden sollen, deshalb an einen Träger gebunden (z. B. auf Zellulosestreifen).

Bei indirekten Immunoassays sind die gebildeten Immunkomplexe so klein, dass sie mit bloßem Auge nicht sichtbar sind, und müssen daher mittels Markierung sichtbar gemacht werden. Bei direkten Immunoassays sind die Immunkomplexe ohne Markierung sichtbar.

Sandwich-Immunoassay

Beim Sandwich-Immunoassay sind spezifische Antikörper an einen Träger gebunden. Dieser Träger wird dann mit der Probelösung, in der sich der gesuchte Analyt (Antigen) befindet, in Reaktion gebracht. Nach einer gewissen Inkubationszeit hat sich der zu bestimmende Analyt in Immunkomplexe gebunden und haftet somit ebenfalls am Träger.

Da am Träger jedoch auch andere, unspezifische Substanzen aus der Probenmatrix haften bleiben können, muss er gewaschen werden. Damit wird verhindert, dass die Messung verfälscht wird.

Nach diesem Waschschrift wird nun das Reagens hinzugefügt, das dieselben, aber markierten Antikörper enthält, wie sie auf dem Träger vorhanden sind. Die zugefügten Antikörper gehen nun ebenso eine Bindung mit dem Analyten ein. Danach befindet sich der Analyt in einer «Sandwichposition» zwischen dem am Träger haftenden und dem hinzugefügten markierten Antikörper.

Als letzter Schritt vor der Messung muss der Träger mit dem nun markierten Immunkomplex erneut gewaschen werden, damit keine ungebundenen markierten Antikörper auf dem Probeträger haften, die die Messung verfälschen können.

Die am Träger zurückgebliebenen markierten Immunkomplexe können nun reflektometrisch gemessen werden.

Bei manchen Tests wird mit dem umgekehrten Prinzip ein bestimmter Antikörper mit dem entsprechenden Antigen nachgewiesen. Dies ist jedoch nur bei circa 20 % der Tests im Praxislabor der Fall.

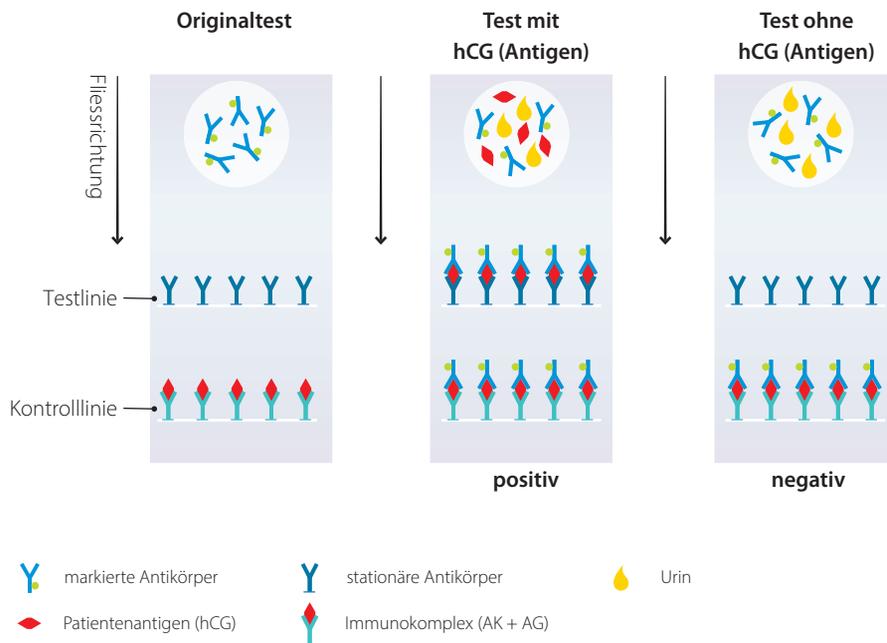
Laborgeräte, die mit dem Sandwich-Immunoassay arbeiten, sind beispielsweise:

- Afinion™ AS100 (z. B. CRP)
- cobas h 232

Darüber hinaus gibt es zahlreiche Schnelltests, die auf der Basis von trockenchemischen Verfahren (ohne Wasch- oder Trennschritt) einen Sandwich-Immunoassay durchführen. Dies sind beispielsweise:

- Schwangerschafts-Schnelltest (hCG-Nachweis)
- Micral-Test®
- Strep-A-Schnelltest
- FOB-Schnelltest (Test für den Nachweis von okkultem Blut im Stuhl)

Abb. 62: Sandwich-Immunoassay am Beispiel Schwangerschaftstest



Vernetzung
LABOR THEO 2, Immunologie, Immunologische Schnelltests

Kompetitiver Immunoassay

Manche Substanzen wie zum Beispiel Drogen oder Medikamente bestehen aus so kleinen Molekülen (Antigenen), dass sie nur ein Epitop (Bindungsstelle des Antigens) besitzen und somit nur einen Antikörper binden können. Ein Nachweis mittels Sandwich-Immunoassay ist deshalb bei diesen Substanzen nicht möglich. In solchen Fällen kommt der kompetitive Immunoassay (von lat. competere: wetteifern) zum Einsatz. Dieser findet vor allem in Form von Schnelltests eine breite Anwendung, zum Beispiel für den Nachweis von Drogen wie Amphetamine, Benzodiazepine, THC, Kokain und Methadon sowie von trizyklischen Antidepressiva.

Beim kompetitiven Immunoassay konkurrieren markierte und unmarkierte Antigene um die Bildung von Immunkomplexen mit spezifischen Antikörpern. «Gewinnen» die markierten Antikörper, so bildet sich ein farbiger Streifen im Testfeld; «gewinnen» die Antigene aus der Patientenprobe, bleibt die Farbreaktion im Testfeld aus.

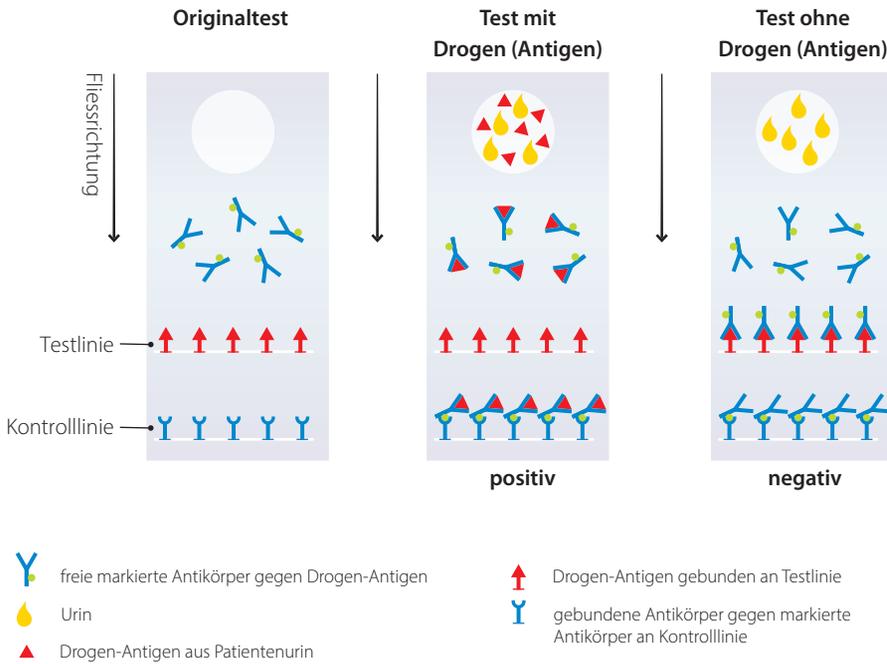
Auf der Auftragszone des Teststreifens befinden sich farbmarkierte (z. B. Gold) spezifische Antikörper, in der Reaktionszone (Testfeld) sind die dazu passenden Antigene (z. B. THC) gebunden.

Durch das Auftragen der Patientenprobe werden die markierten Antikörper vom Träger gelöst. Falls sich das gesuchte Antigen in der Probe befindet, findet eine Immunreaktion statt, und die markierten Antikörper binden die Antigene aus der Probe. Falls die Probe keine Antigene enthält, bleiben die markierten Antikörper ungebunden und reaktionsfähig.

Angetrieben durch Kapillarkräfte wandert die flüssige Patientenprobe auf dem Teststreifen nun auf die in der Reaktionszone gebundenen Antigene zu. Dort bilden die freien markierten Antikörper

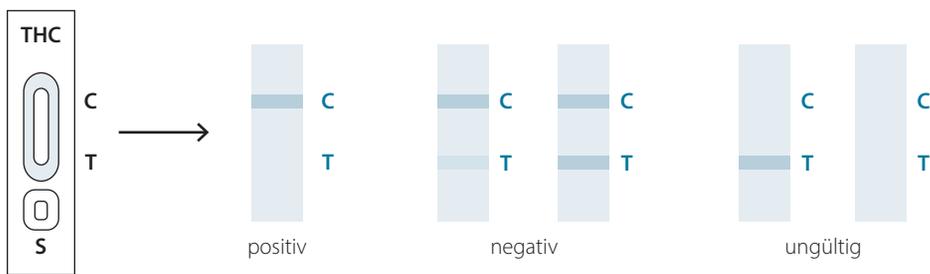
Immunkomplexe mit den Antigenen, was zur Bildung eines sichtbaren farbigen Streifens führt. Antikörper, die bereits an Antigene aus der Patientenprobe gebunden sind, können nicht mehr mit den Antigenen in der Reaktionszone reagieren und bilden daher keinen Farbniederschlag in der Reaktionszone aus.

Abb. 63: Kompetitiver Immunoassay am Beispiel Drogen-Schnelltest



Es ist wichtig zu verstehen, dass je weniger Antigene sich in der Probelösung befinden, desto mehr markierte Antigene eine Bindung zu Immunkomplexen eingehen können, die eine Färbung ergeben. Das heisst, wenn sich bei einem kompetitiven Immunoassay ein farbiger Balken zeigt (auch bei schwacher Färbung), ist der Test negativ.

Abb. 64: Interpretation des Testergebnisses



6.2.2 Gegenstromelektrophorese

Die Gegenstromelektrophorese oder Immunofiltration ist ein spezielles elektrophoretisches Verfahren. Dazu werden Antigen und Antikörper auf zwei vorgegebene Punkte auf einen mit Gel beschichteten Träger aufgetragen. Die beiden Punkte liegen sich auf dem Laufgel gegenüber. Mittels einer Kathode und einer Anode wird ein elektrisches Feld angelegt, in dem Antigen und Antikörper entsprechend ihrer unterschiedlichen elektrischen Ladung gegeneinander wandern. In der Mitte des Laufgels treffen sich Antigen und Antikörper und bilden Immunkomplexe. Die Immunkomplexe sind so beschaffen, dass sie gegenseitig mehrere Bindungen eingehen können. Durch die Bindungsreaktion kommt es zu einer Vernetzung von zahlreichen Immunkomplexen, sodass diese schliesslich einen gelartigen Komplex bilden und aufgrund ihrer Masse im Gel ausfallen (sog. Präzipitationsbanden). Die Menge der ausgefällten Immunkomplexe ist abhängig vom Verhältnis, in dem sich die beiden Partner in der Lösung befinden.

Abb. 65: Prinzip der Gegenstromelektrophorese

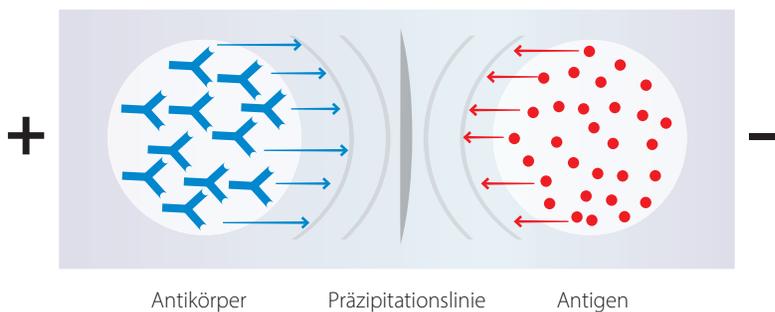
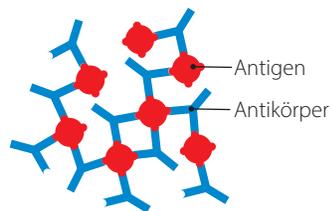


Abb. 66: Bildung von grossen Immunkomplexen



Durch die Fällung (Präzipitation) kann mithilfe bekannter Antikörper ein Antigen nachgewiesen werden und umgekehrt. Eine Substanz, die die Fällung auslöst, wird gelegentlich auch als «präzipitierendes Agens» bezeichnet (siehe Kap. 5.2.1, S. 57).

Die Immunofiltration ist ein aufwendiges Verfahren, das im Praxislabor nicht zur Anwendung kommt. Sie ist bestimmten Fragestellungen vorbehalten, wie beispielsweise der Bestimmung von DNS-Antikörpern bei der Diagnostik eines Lupus erythematodes oder dem Nachweis von α -Fetoprotein in der Onkologie beziehungsweise in der Pränataldiagnostik.

Selbsttest 5

Richtig oder falsch? Kreuzen Sie an.	richtig	falsch
A) Beim Zentrifugieren gilt: Je schneller zentrifugiert wird, desto besser ist das Resultat.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
B) Enzyme dienen als Biokatalysatoren bei biochemischen Reaktionen.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
C) Bei Immunoassays werden die hohe Bindungsstärke und Spezifität der Bindung zwischen Antigen und Antikörper genutzt.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
D) Beim Sandwich-Immunoassay kommen keine markierten Antigene oder Antikörper zum Einsatz.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
E) Wenn sich beim kompetitiven Immunoassay ein farbiger Balken im Testfeld zeigt (auch bei schwacher Färbung), bedeutet das, dass der Test negativ ist.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>



7 Verdünnungen

Im Praxislabor gibt es Situationen, die die Verdünnung einer Patientenprobe oder einer Lösung (z. B. Alkohol) notwendig machen. Dies ist zum Beispiel der Fall, wenn die Konzentration eines Parameters über dem Messbereich des jeweiligen Analysegeräts liegt.

7.1 Verdünnung von Patientenmaterial

Durch die Verdünnung der Patientenprobe wird die Konzentration des gesuchten Analyten so weit verringert, dass sie vom Analysegerät gemessen werden kann. Das Messergebnis muss anschliessend wieder mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um den korrekten Messwert zu erhalten.

Der Verdünnungsfaktor wird als Quotient (Division) aus dem Endvolumen der Verdünnung und dem Anfangsvolumen der Probe errechnet. Werden beispielsweise 100 µl einer Patientenprobe mit 100 µl Verdünnungslösung gemischt, so erhält man ein Endvolumen von 200 µl. Dies entspricht einem Verdünnungsfaktor von 2:

$$200 \mu\text{l} : 100 \mu\text{l} = 2$$

Die Formel zur Berechnung des Verdünnungsfaktors lautet also:

$$\text{Verdünnungsfaktor} = \frac{\text{Endvolumen (Probe + Verdünnungslösung)}}{\text{Anfangsvolumen (Probe)}}$$

Mit welcher Lösung eine Verdünnung hergestellt werden kann, ist im Beipackzettel der jeweiligen Analyse angegeben. Das Mittel der Wahl zur Herstellung einer Verdünnung von Serum und Plasma ist in der Regel 0,9%ige NaCl-Lösung (Kochsalzlösung).

Eine Übersicht über die gängigen Verdünnungen gibt die folgende Tabelle:

Verdünnung	Serum, Plasma	NaCl 0,9 %	Endvolumen	Verdünnungs-Faktor
1:10	50 µl	+ 450 µl	= 500 µl	10
1:4	50 µl	+ 150 µl	= 200 µl	4
1:3	100 µl	+ 200 µl	= 300 µl	3
1:2	100 µl	+ 100 µl	= 200 µl	2

Aufgabe 4

Der Amylasewert von Hugo Bonert, der an akuten Abdominalschmerzen leidet, ergab am Spotchem® ein Ergebnis oberhalb des Messbereichs. Die MPA verdünnt das Serum mit 0,9 % NaCl. Sie pipettiert 50 µl Serum und 100 µl 0,9 % NaCl in ein Mischgefäss. Der Amylase-Messwert der verdünnten Probe beträgt 51 U/l.

Berechnen Sie den Verdünnungsfaktor und bestimmen Sie damit den Amylasewert von Hugo Bonert.

Das mit einer Verdünnung erzielte Ergebnis muss immer mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

7.2 Verdünnung von Alkohol

Bei der Verdünnung (auch: Reduktion) von Alkohol wird Wasser verwendet. Die Vorgehensweise wird im Folgenden anhand eines Beispiels dargestellt.



Vernetzung
NATWI, Mathematik, Verdünnungen,
Mischungskreuz

Beispiel

zur Verdünnung von Alkohol

Die MPA benötigt 200 ml Alkohol für die Desinfektion. In der Apotheke kann nur 96%iger Alkohol eingekauft werden. Deshalb muss die MPA den 96%igen Alkohol mit Wasser auf 70 % verdünnen.

gegebene Größen:

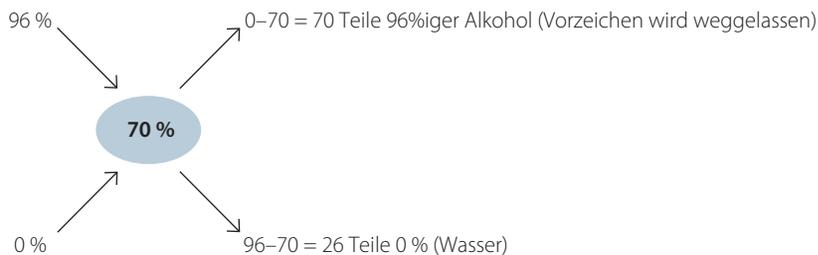
Ausgangskonzentrationen: 96 % (Alkohol) und 0 % (Wasser)

Zielkonzentration: 70 %

Zielvolumen: 200 ml

1. Berechnung der Mischungsteile mittels Mischungskreuz

Abb. 67: Verdünnung berechnen mit dem Mischungskreuz



Zur Herstellung von 70%igem Alkohol benötigt die MPA 70 Teile 96%igen Alkohol und 26 Teile Wasser.

2. Berechnung der benötigten Mengen für 200 ml Ziellösung

96%ige Lösung: $(200 \text{ ml} : 96 \text{ Teile}) \cdot 70 \text{ Teile} = 145,833 \text{ ml}$ (gerundet: 145,8 ml)

0%ige Lösung: $(200 \text{ ml} : 96 \text{ Teile}) \cdot 26 \text{ Teile} = 54,166 \text{ ml}$ (gerundet: 54,2 ml)

Um 200 ml 70%igen Alkohol zu erhalten, muss die MPA 145,8 ml 96%igen Alkohol mit 54,2 ml Wasser mischen.

Aufgabe 5

50 µl Patientenserum sollen für die Bestimmung des Cholesterinwerts 1:4 verdünnt werden. Wie viel µl 0,9 %ige NaCl-Lösung benötigt die MPA für die Verdünnung? Mit welchem Verdünnungsfaktor muss das erzielte Patientenergebnis multipliziert werden, um ein korrektes Messergebnis zu erhalten?

8 Gewährleistung der Funktionstüchtigkeit

Die MPA ist dafür verantwortlich, dass die Laborgeräte in der Praxis stets sauber und funktionstüchtig sind, um eine angemessene Lebensdauer zu erreichen. Es handelt sich um Präzisionsinstrumente, die immer sorgfältig behandelt werden müssen. Hierzu sind folgende Grundsätze einzuhalten:

- Vermeidung von Stössen und Schlägen
- Die Geräte keinen extremen Temperaturen oder Temperaturschwankungen aussetzen.
- Die Oberflächen stets sauber und staubfrei halten.
- sachgemässer Betrieb
- regelmässige Reinigung, Kalibration und Wartung gemäss Benutzerhandbuch
- Vor der Reinigung Geräte immer ausschalten und vom Stromnetz trennen.



Achtung

Staub enthält einen gewissen Anteil an Kalium, der die Analysen verfälschen kann. Alle Laborgeräte sollten daher täglich mit einem feuchten Tuch von Staubablagerungen gereinigt werden.

Nach der Medizinprodukteverordnung (MepV) des Bunds Artikel 7 ist jeder Hersteller verpflichtet, eine ausführliche Produkteinformation (z. B. Bedienungshandbuch) zu erstellen und dem Gerät beizulegen. In dieser findet die MPA genaue Anweisungen, wie das Gerät zu reinigen, zu kalibrieren und zu warten ist. Viele Geräte verfügen heutzutage zudem über ein Selbstdiagnoseprogramm, das den Analyseprozess automatisch überwacht und im Falle eines Funktionsfehlers eine Fehlermeldung ausgibt.



Vernetzung

LABOR THEO 2, LZ 3.3.1–3.3.3
Interne und externe Qualitätskontrolle, Funktionsfehler oder Gerätefehler



Achtung

Bei der Reinigung und Wartung von Laborgeräten besteht immer eine Infektionsgefahr durch Probenrückstände. Die MPA trägt deshalb bei diesen Tätigkeiten immer Schutzhandschuhe.

Im Folgenden werden anhand einer Auswahl von drei im Praxislabor häufig verwendeten Geräten die Reinigung und die Wartung exemplarisch beschrieben.

8.1 Mikroskop

8.1.1 Reinigung

Am Ende eines Arbeitstags wird das Mikroskop ausgeschaltet und alle von aussen zugänglichen Linsen (Okulare und Objektive) und der Objektisch werden mit einem fusselreifen, mit 70%igem Alkohol befeuchteten Tuch gereinigt.

Wichtig ist, dass die Reinigung der optischen Oberflächen mit kreisenden Bewegungen von der Mitte zum Rand hin durchgeführt wird. Dabei darf nur ein leichter Druck auf die Linse ausgeübt werden. Es ist darauf zu achten, dass alle möglichen Verunreinigungen, beispielsweise durch Fingerabdrücke und Immersionsöle, entfernt werden. Dabei wird auch der Objektisch von Rückständen gereinigt.

Danach wird das Mikroskop in die Grundeinstellung gebracht, indem der Objektstisch auf die niedrigste Höhe und am Objektrevolver das kleinste Objektiv (4x) eingestellt wird. Anschliessend wird das Gerät mit der Staubschutzhülle abgedeckt.

8.1.2 Wartung

Das Mikroskop wird je nach Vorgabe alle ein bis zwei Jahre durch qualifiziertes Fachpersonal der Herstellerfirma gewartet.



Qualitätsmanagement
Die Wartungsdokumente müssen im Qualitätssicherungssystem der Arztpraxis archiviert werden!

Abb. 68: Grundeinstellung Mikroskop



8.2 Spotchem® EZ SP-4430

8.2.1 Reinigung des Reagenzträgers

Neben der täglichen Reinigung des Spitzenabfallbehälters und des Schutzdeckels der Zentrifuge sollten der Reagenzträger sowie die Reflektoren (schwarze und weisse Platten) des Spotchem® gereinigt werden. Durch zahlreiche Messungen können Probereste am Reagenzträger haften, was zu falschen Messergebnissen führen kann. Das Gerät wird über das Untermenü «Wartung» ausgeschaltet und vom Strom getrennt. Für die Reinigung müssen Handschuhe angezogen werden. Die Reagenzträger und die schwarzen und weissen Platten werden mit einem mit destilliertem Wasser angefeuchteten Wattestäbchen vorsichtig ausgewischt. Falls die gereinigten Stellen feucht sind, wird mit einem weichem Tuch nachgewischt.

Abb. 69: Spotchem®-Reinigung Reagenzträger



Abb. 70: Spotchem®-Trocknen des Reagenzträgers



8.2.2 Reinigung der Gummiplatte

Beim Spotchem® muss einmal in der Woche die Gummiplatte gereinigt werden. Auch hier wird das Gerät über das Untermenü «Wartung» ausgeschaltet und vom Strom getrennt. Die Schraube des Wartungsdeckels mit Hilfe eines Schraubenziehers lösen, den Deckel nach links wegschieben und entfernen. Die im Inneren liegende Gummiplatte wird mit einem mit destilliertem Wasser angefeuchteten Wattestäbchen gereinigt. Danach den Deckel wieder korrekt anbringen.

Abb. 71: Öffnen Spotchem®-Wartungsdeckel



Abb. 72: Reinigung Spotchem®-Gummiplatte



Überprüfung des optischen Fensters des Spotchem®

Staub oder andere Rückstände, die am optischen Fenster des Spotchem® EZ SP-4430 haften, können zu fehlerhaften Messergebnissen führen. Es entstehen Schwankungen der Wellenlängen und es kommt somit zu einer fehlerhaften Erkennung der Lichtreflexion. Deshalb sollte die Reinigung des optischen Fensters des Spotchem® alle 2000 Messungen durchgeführt werden.

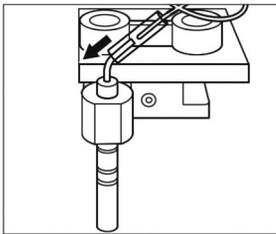


Vernetzung
LABOR PRAKT, 11.6, Reinigung des optischen Fensters

Aufgabe 6

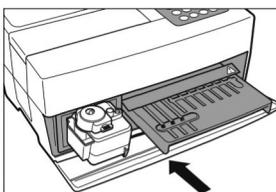
Zu der periodischen Wartung oder Reinigung am Spotchem® zählt die Reinigung der Düse. Setzen Sie die Blöcke mit Bildern und dazugehörigen Texten in die chronologisch korrekte Reihenfolge.

Block A



Den Düsenreinigungsschlauch entfernen. Das Düsenrohr wieder auf das Rohrverbindungsstück einsetzen. Kontrollieren, ob das Düsenrohr fest mit dem Verbindungsstück verbunden ist.

Block B

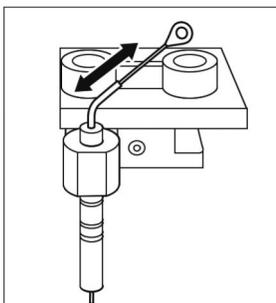


Warming up... /

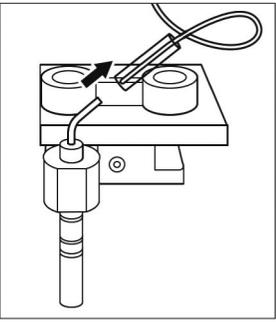
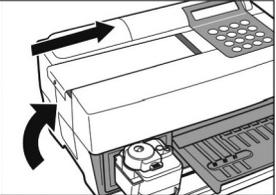
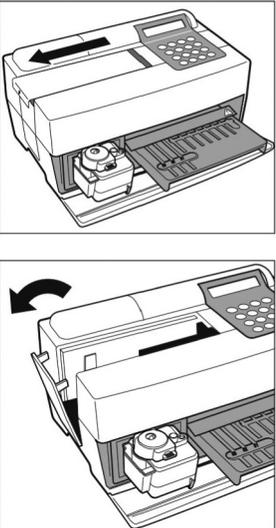
1. Measure 2. Submenu
3. Calibrate (1/1)

Nach beendiger Reinigung das Gerät wieder anstellen. Nach der Aufwärmphase gleitet der Reagenzträger wieder in die Ausgangsposition zurück und der Trägerdeckel schliesst sich.

Block C



Mit dem Düsenreinigungsschlauch das Innere der Düse reinigen. Den Düsenreinigungsschlauch so weit durchschieben, bis er am anderen Ende der Düse herauskommt. Den Staub, der am Düsenreinigungsschlauch klebt mit einem Tuch abwischen.

<p>Block D</p> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 10px; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>1. Measure 2. Submenu 3. Calibrate (1/1)</p> </div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 10px; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>1. Results 2. PARAM 3. Maintenance (1/2)</p> </div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 10px; padding: 5px;"> <p>Ready. Please turn off.</p> </div>	<p>Im Hauptmenü Taste (2) drücken, danach im Untermenü Taste (3) Maintenance oder Wartung. Die Fronttüre öffnet sich und der Reagenzträger gleitet nach vorne. Das Gerät ausschalten und vom Strom trennen.</p>
<p>Block E</p> 	<p>Handschuhe anziehen. Im Geräteinneren befindet sich das Düsenrohr. Nun vorsichtig das Düsenrohr von der Düse trennen. Es kann eine Pinzette zu Hilfe genommen werden. Darauf achten, dass das Düsenrohr nicht verkratzt wird.</p>
<p>Block F</p> 	<p>Zuerst den seitlichen Deckel an das Gerät anlegen. Danach den oberen Deckel anbringen. Darauf achten, dass der korrekt eingesetzt wurde, bevor der Wartungsdeckel mit der Schraube verschlossen wird.</p>
<p>Block G</p> 	<p>Mit Hilfe eines Schraubenziehers die Schraube am Wartungsdeckel entfernen. Den Wartungsdeckel nach links wegschieben. Nun auch den seitlichen Deckel entfernen.</p>

8.2.3 Kalibration

Die Kalibrierung dient dazu, die Messgenauigkeit beizubehalten. Das Spotchem®-Gerätesystem wurde so konzipiert, dass bei jedem Öffnen einer neuen Testpackung mit Reagenzstreifen eine Kalibration durchgeführt werden muss. Jede Testpackung enthält deshalb eine dafür geeignete Magnetkarte (Reagenzkarte). Diese enthält vier verschiedene Seiten und jede Seite wird je zweimal durch das Lesegerät am Gerät eingelesen. So wird Messungenauigkeiten zwischen einzelnen Chargen entgegengewirkt.

Abb. 73: Kalibration am Spotchem® mittels Magnetkarte



Vernetzung
LABOR PRAKT, 11.6, Kalibration mit Magnetkarte

8.3 Urisys® 1100

8.3.1 Reinigung

Der Urisys® 1100 muss grundsätzlich nach jeder Messung mit einem fusselfreien Tuch gereinigt werden, um die Auflagefläche für den Teststreifen von Urinresten zu befreien. Dadurch wird gewährleistet, dass es bei der folgenden Messung nicht zu Kontaminationen kommt und dass frische Urinreste nicht eintrocknen. Der Schlitten darf beim Abwischen nicht verschoben werden, und der Niederhaltebügel muss offen bleiben. Beim Auflegen und Entfernen des Teststreifens ist darauf zu achten, dass keine Urinreste in den Niederhaltemechanismus gelangen.

Abb. 74: Reinigung Urisys® 1100 – Auflagefläche abwischen



Abb. 75: Reinigung Urisys® 1100 – Teststreifenschlitten mit Referenzfeld



Am Ende des Arbeitstags wird der Urisys® 1100 ausgeschaltet. Der Teststreifenschlitten wird nach vorne aus dem Gerät herausgezogen und die Teststreifenauflagefläche unter fließendem Wasser abgespült. Zur Nachreinigung wird mit entionisiertem Wasser gespült. Die Desinfektion erfolgt nur bei stark kontaminiertem Schlitten mit 70%igem Alkohol.

Das Referenzfeld auf dem Teststreifenschlitten dient dem Farbabgleich des Messsystems. Dadurch wird gewährleistet, dass das System die Eigenfarbe des Urins exakt bestimmen kann. Selbst geringste farbliche Veränderungen des Referenzfelds (Schmutz, Kratzer usw.) beeinträchtigen die Messung und müssen daher unbedingt vermieden werden.

Folgende Hinweise gilt es beim Reinigen und im Umgang mit dem Teststreifenschlitten immer zu beachten:

- Das graue Referenzfeld darf nicht mit den Fingern berührt werden. Es ist sorgfältig darauf zu achten, dass es bei der Reinigung nicht beschädigt wird. Nach der Reinigung muss das Referenzfeld vollständig sauber und trocken sein.
- Nach der Reinigung darf keine Flüssigkeit im Positionierungskanal (Bohrung im Teststreifenschlitten) mehr vorhanden sein. Dieser befindet sich in der Mitte der Seitenfläche des Teststreifenschlittens und dient zur automatischen Positionierung des Schlittens in der Messkammer.

8.3.2 Kalibration

Das Urisys® 1100 fordert den Benutzer automatisch alle 7 Tage zur Kalibration mittels Kalibrationsstreifen (Control-Test M) auf. Die MPA kann aber auch jederzeit in einem kürzeren Intervall, also zwischen den vorgeschriebenen Kalibrationsdaten, eine Kalibration vornehmen. Dies ist beispielsweise notwendig, wenn ein Messergebnis nicht plausibel erscheint. Der Sinn der Kalibration ist es, den Alterungsprozesse der Optik und des grauen Referenzfelds im Schlitten zu kompensieren. Der Kalibrationsstreifen Control-Test M ist ein Standardgraustreifen mit definierter, konstanter Lichtremission.

Die Kalibration erfolgt trocken, das heisst, auf den Kalibrationsstreifen darf keinerlei Flüssigkeit aufgetragen werden. Die Felder auf dem Streifen dürfen nicht mit den Fingern berührt werden.

Abb. 76: Kalibration Urisys® 1100



Abb. 77: Urisys® 1100 mit Control-Test-M-Kalibrationsstreifen



Der Kalibrationsstreifen wird mit dem Referenzfeld nach oben bis zum Anschlag in die Halterung des Teststreifenschlittens eingelegt. Der Niederhaltebügel muss dabei geöffnet sein. Der Schlitten muss gemäss Anleitung gereinigt und getrocknet sein, bevor eine Kalibration durchgeführt wird. Es ist darauf zu achten, dass der Kalibrationsstreifen stets korrekt positioniert ist. Nur so ist eine gültige Kalibration gewährleistet. Durch Betätigen der Start-Taste wird das Gerät aufgewärmt. Nach der Aufwärmphase wird der Schlitten ein kurzes Stück eingezogen, der Niederhaltebügel geschlossen, und das graue Referenzfeld im Schlitten sowie die Felder des Kalibrationsstreifens werden gemessen. Anschliessend fährt der Schlitten wieder in die Startposition zurück und der Niederhaltebügel öffnet sich. Der Kalibrationsstreifen kann entnommen und entsorgt werden. Jeder Kalibrationsstreifen darf nur einmal verwendet werden.

War die Kalibration erfolgreich, wird das Ergebnis automatisch mit Datum und Uhrzeit im Gerät abgespeichert. Zusätzlich druckt das Gerät die Remissionswerte der Messpositionen 1–11 für die orangefarbene LED (mittlere Spalte) und die grüne LED (rechte Spalte) zusammen mit Datum und Uhrzeit und dem Hinweis «KALIBRATION O. K.».

Abb. 78: Ausdruck «Kalibration o. k.»



Nach einer gültigen Kalibration ist das Gerät wieder einsatzbereit.

War die Kalibration fehlerhaft, liegen also die Messwerte des Referenzfelds oder des Kalibrationsstreifens ausserhalb der programmierten Toleranzen, können folgende Fehlermeldungen im Display angezeigt werden: «REFERENZFELDFEHLER!», «KALIBRATION UNGÜLTIG!» oder «KALIBRATIONSFehler!». Bei fehlerhafter oder ungültiger Kalibration muss die Kalibration mit einem neuen Kalibrationsstreifen Control-Test M wiederholt werden. Bei wiederholten Fehlermeldungen muss Kontakt mit dem technischen Service der Herstellerfirma oder dem Vertragshändler aufgenommen werden.



Qualitätsmanagement

Die Wartungsdokumente müssen im Qualitätssicherungssystem der Arztpraxis archiviert werden!

8.3.3 Wartung

Das Urisys® 1100 ist ansonsten wartungsfrei.

Selbsttest 6

Richtig oder falsch? Kreuzen Sie an.	richtig	falsch
A] Ein Lichtmikroskop im Praxislabor benötigt bei regelmässiger und korrekter Reinigung keine Wartung.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
B] Das Spotchem® EZ SP-4430 muss vor Beginn der Reinigung abgeschaltet werden.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
C] Das Spotchem® EZ SP-4430 ist sofort nach der Reinigung wieder messbereit.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
D] Der Urisys® 1100 muss grundsätzlich nach jeder Messung mit einem fusselfreien Tuch gereinigt werden.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
E] Der Sinn der Kalibration beim Urisys® 1100 ist es, den Alterungsprozess der Optik und des grauen Referenzfelds im Schlitten zu kompensieren.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>



9 Gängige Laborgeräte und deren Parameter

In der Labordiagnostik gilt für jedes Analysengerät und für jedes Testprinzip ein eigener Messbereich und für jeden Parameter ein gerätespezifischer Referenzbereich.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die gängigen Laborgeräte mit den jeweiligen Parametern, Einheiten, Referenzwerten, Probenmaterialien, ihren Messprinzipien und Messbereichen.

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Accu-Chek® Mobile	Glukose	mmol/l	3,3–6,1	kapilläres Vollblut	Glukose wird durch Glukosedehydrogenase erkannt, blaue Farbe wird reflektometrisch gemessen.	0,6–33,3 mmol/l

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Afinion™ AS 100	HbA _{1c}	%	4,3–6,1 v. a. Diabetes mellitus ab ≥6,5 %	kapilläres und venöses Vollblut	reflektometrische Messung der roten Farbe des Hämoglobins und der blauen Farbe des Borsäurekonjugats, das an das glykierte Hämoglobin bindet	4–15 %
	CRP	mg/l	<10	Kapillarblut, venöses Vollblut mit Antikoagulanzen, Serum, Plasma	Sandwich-Immunoassay, reflektometrische Messung	5–200 mg/l
	ACR (Albumin-Kreatinin-Ratio)	mg/ mmol	<3 Mikroalbuminurie: 3–30 klinische Albuminurie: >30	Urin	Albumin: Sandwich-Immunoassay und reflektometrische Messung Kreatinin: enzymatische Substratbestimmung und Messung mittels Absorptionsphotometrie	Albumin: 5,0–200 mg/l Kreatinin: 1,5–30 mmol/l ACR: 0,1–140 mg/mmol
	Lipidstatus					
	Gesamtcholesterin	mmol/l	<5	Vollblut, kapillär oder venös, Serum, Plasma	enzymatische Substratbestimmung mit Farbreaktion	2,59–12,95 mmol/l
	HDL-Cholesterin	mmol/l	>1,0	Vollblut, kapillär oder venös, Serum, Plasma	enzymatische Substratbestimmung mit Farbreaktion	0,39–2,59 mmol/l
	LDL-Cholesterin	mmol/l	<2,5 mmol/l	Vollblut, kapillär oder venös, Serum, Plasma	Berechnung aus Gesamtcholesterin minus HDL-Cholesterin	–
	Triglyceride	mmol/l	0,4–2,0	Vollblut, kapillär oder venös, Serum, Plasma	enzymatische Substratbestimmung mit Farbreaktion	0,51–7,35 mmol/l
	Chol/HDL-Quotient	–	<5	Vollblut, kapillär oder venös, Serum, Plasma	Berechnung aus Gesamtcholesterin geteilt durch HDL-Cholesterin	–

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
CoaguChek XS Plus	Quick	%	Spontanquick: 70–120 %	kapilläres Vollblut	Gerinnungsaktivität wird elektrochemisch gemessen.	5–120 %
	INR		INR therap. Bereich: 2,0–4,5	kapilläres Vollblut	Gerinnungsaktivität wird elektrochemisch gemessen, Be-rechnung der INR mittels International Sensitivity Index (ISI).	0,8–8

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
cobas h232	Troponin T	ng/l	<50	venöses heparinisierendes Vollblut ohne Trenngel	Sandwich-Immunoassay, Immunchromatographie mit goldmarkierten Antikörpern, reflektometrische Messung	40–2000 ng/l
	D-Dimer	µg/ml	Ausschluss einer TVT oder Lungenembolie: <0,5	venöses heparinisierendes Vollblut ohne Trenngel	Sandwich-Immunoassay, Immunchromatographie mit goldmarkierten Antikörpern, reflektometrische Messung	0,1–4,0 µg/ml
	NT-proBNP	pg/ml	<125	venöses heparinisierendes Vollblut ohne Trenngel	Sandwich-Immunoassay, Immunchromatographie mit goldmarkierten Antikörpern, reflektometrische Messung	60–9000 pg/ml

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Hemocue®	Hämoglobin	g/l	120–180	EDTA-Vollblut, kapilläres Vollblut	Hb: Hb-Umwandlung in Azid-Methämoglobin, Messung mit Absorptionsphotometrie	Hb: 0–256 g/l
	Glukose	mmol/l	3,3–6,1	EDTA-Vollblut, kapilläres Vollblut	modifizierte Glukose-Dehydrogenase, Gesamtglukose wird am Endpunkt photometrisch gemessen	0–22,2 mmol/l
	Leukozyten	G/l	4–10	kapilläres und venöses Vollblut	Ein hämolysierender Wirkstoff lysiert die Erythrozyten in der Mikroküvette und ein Farbstoff koloriert die Leukozyten. Es werden mehrere Bilder von den gefärbten Leukozyten aufgenommen und die Zellen werden klassifiziert. Die Anzahl der Zellen wird durch die Analyse des Bilds im Analyzer bestimmt, s. optisches Verfahren.	0,3–30 G/l
	Albumin (Urin)	mg/l	<20	Urin	turbidimetrischer Immunoassay	5–150 mg/l

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Micros ABX CRP200	Hämatogramm III	s. Kap. Hämatologie	s. Kap. Hämatologie	kapilläres oder venöses EDTA-Vollblut	Zellen: Impedanzmessung Hämoglobin: Umwandlung in Methämoglobin durch Kaliumzyanid, absorptions- photometrische Messung	s. Analysen- geräte
	CRP	mg/l	<10	kapilläres oder venöses EDTA-Vollblut	direkter Immunoassay, turbidimetrische Messung	2–200 mg/l

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Pura Mylife (Ypsomed)	Glukose	mmol/l	3,3–6,1	kapilläres Vollblut	Erkennung der Glukose mit dem Enzym Glukose- dehydrogenase, ampero- metrische Messung	0,6–33,3 mmol/l

Abb. 79: Randox-Quality-Control-Level-2/3-Qualitätskontrolle für Spotchem EZ SP-4430®



connecting ideas

RANDOX Quality Control Hum Asy HS2611

REF 12062247 2 x 5 x 5 ml

Spotchem 4430

LOT **606991**

📅 **28.12.2025**

Version 1 /12.2022

Bestandteil Constituant Composante Constituent	Einheit Unité Unita Unit	Level 2 HN1530 Lot 1576UN		Level 3 HE1532 Lot 1264UE	
		Sollwert Valeur cible Valore nominale Assay value	Range (+/- 3s) Arkray	Sollwert Valeur cible Valore nominale Assay value	Range (+/- 3s) Arkray
Enzymes					
ALP*	U/l	172	131 - 213	301	229 - 373
	µkat/l	2.86	2.18 - 3.55	5.01	3.81 - 6.22
ALT / GPT	U/l	21.0	15.0 - 27.0	118	89.7 - 146
	µkat/l	0.35	0.25 - 0.45	1.97	1.49 - 2.44
AST / GOT	U/l	24.0	18.0 - 30.0	122	90.3 - 154
	µkat/l	0.40	0.30 - 0.50	2.03	1.50 - 2.56
AMY*	U/l	98.5	73.9 - 123	401	301 - 501
	µkat/l	1.64	1.23 - 2.05	6.68	5.01 - 8.35
CK / CPK	U/l	145	109 - 181	458	346 - 570
	µkat/l	2.42	1.82 - 3.01	7.63	5.76 - 9.50
GGT*	U/l	51.6	38.7 - 64.5	156	117 - 195
	µkat/l	0.86	0.64 - 1.07	2.61	1.95 - 3.26
LDH / LD IFCC*	U/l	185	140 - 229	375	285 - 465
	µkat/l	3.08	2.34 - 3.82	6.25	4.75 - 7.75
Substrates					
ALB	g/l	45.0	38.0 - 52.0	33.0	27.9 - 38.1
	g/dl	4.50	3.80 - 5.20	3.30	2.79 - 3.81
T-BIL / BIL	µmol/l	29.1	24.7 - 33.5	83.8	71.2 - 96.4
	mg/dl	1.70	1.45 - 1.96	4.90	4.17 - 5.64
BUN / UN ³	mmol/l	7.83	6.50 - 9.16	22.8	18.9 - 26.7
	mg/dl	22.0	18.2 - 25.7	64.0	53.1 - 74.9
CALC / CA*	mmol/l	2.47	2.03 - 2.91	4.39	3.60 - 5.18
	mg/dl	9.90	8.12 - 11.7	17.6	14.4 - 20.8
T-CHO / TC	mmol/l	3.86	3.32 - 4.40	6.86	5.90 - 7.82
	mg/dl	149	128 - 170	265	228 - 302
HDL-C / HDL	mmol/l	1.01	0.75 - 1.27	2.36	1.75 - 2.97
	mg/dl	39.0	28.9 - 49.1	91.1	67.4 - 115
CRE2*	µmol/l	118	87.6 - 149	360	266 - 453
	mg/dl	1.34	0.99 - 1.69	4.07	3.01 - 5.13
GLUC	mmol/l	6.33	5.41 - 7.25	16.0	13.7 - 18.4
	mg/dl	114	97.5 - 131	289	247 - 331
MG	mmol/l	0.95	0.70 - 1.19	1.81	1.34 - 2.28
	mg/dl	2.30	1.70 - 2.90	4.40	3.26 - 5.54
PHOS / IP	mmol/l	1.35	1.00 - 1.70	2.26	1.67 - 2.85
	mg/dl	4.18	3.09 - 5.27	7.00	5.18 - 8.82
T-PRO / TP	g/l	58.0	49.3 - 66.7	49.0	41.7 - 56.4
	g/dl	5.80	4.93 - 6.67	4.90	4.17 - 5.64
TRIG / TG	mmol/l	1.03	0.88 - 1.17	1.86	1.60 - 2.13
	mg/dl	90.0	77.4 - 103	163	140 - 186
UA	µmol/l	327	280 - 375	535	458 - 613
	mg/dl	5.50	4.70 - 6.30	9.00	7.69 - 10.3

12133A 022023

* Parameter mit Korrelationsfaktor ≠ 1/0 in den Grundeinstellungen: Sollwert angepasst
 Paramètre avec facteur de corrélation ≠ 1/0 default settings : valeur de consigne adaptée
 Parametro con fattore di correlazione ≠ 1/0 nelle impostazioni predefinite: setpoint regolato
 Parameter with correlation factor ≠ 1/0 in the default settings: setpoint adjusted

1 BUN = Harnstoff-Stickstoff (Harnstoff-N): Labor und Diagnose, L. Thomas; BUN (Harnstoff-N) mg/dl x 2.14 = Harnstoff mg/dl
 Beispiel Berechnung Harnstoff-Stickstoff zu Harnstoff: 19.4 mg/dl x 2.14 = 41.52 mg/dl

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Sysmex KX21	Hämatogramm III	s. Kap. Hämatologie	s. Kap. Hämatologie	kapilläres oder venöses EDTA-Vollblut	Zellen: Impedanzmessung Hämoglobin: Umwandlung in Methämoglobin mit zyanidfreier Methode, Messung mit Absorptionsphotometrie	s. Analysengeräte

Gerät	Parameter	Einheit	Referenzwert	Material	Messprinzip	Messbereich
Urisys®	Dichte	kg/l	1010–1025	Mittelstrahlurin	Nach chemischer Reaktion auf dem Testfeld wird die Farbentwicklung reflektometrisch gemessen.	1000–1030
	pH-Wert	–	5–6			4–9
	Leukozyten	Lc/μl	<10			neg. bis ca. 500 Lc/μl
	Nitrit	–	neg.			neg. bis pos.
	Protein	g/l	neg. (<0,3)			neg. bis 5 g/l
	Glukose	mmol/l	<2,8			normal bis 55 mmol/l
	Keton	mmol/l	<2,8			neg. bis 15 mmol/l
	Urobilinogen	μmol/l	<17 μmol/l			normal bis <17 μmol/l
	Bilirubin	μmol/l	neg. (<3,4 μmol/l)			neg. bis 100 μmol/l
	Blut	Ec/μl	neg. (<5 Ec/μl)			neg. bis ca. 250 Ec/μl