

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 15, 1977, pp. 205–211

## Vergleich unterschiedlicher Methoden und Reagenzien zur Bestimmung der $\gamma$ -Glutamyltransferase im Serum

Von W. Thefeld und K. Möller

Institut für Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes, Berlin

(Eingegangen am 22. August/2. November 1976)

**Zusammenfassung:** Es wurden 4 kommerzielle, kinetische Farbttests zur Bestimmung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase miteinander verglichen: ein Test basierend auf dem Substrat *L*- $\gamma$ -Glutamyl-4-nitroanilid (A), ein weiterer Test mit dem gleichen Substrat, das aber mit Salzsäure gelöst wird (B), und zwei Tests verschiedener Hersteller, die als Substrat *L*- $\gamma$ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid verwenden ( $C_1$  und  $C_2$ ). Die beiden letzteren ( $C_1$  und  $C_2$ ) sind nach den von den Herstellern deklarierten Bestandteilen identisch. Ausgewertet wurden Paralleluntersuchungen an 1017 Nativseren sowie 12 Kontrollseren. Bezogen auf die Meßwerte des Tests A wiesen zwei der drei anderen Tests statistisch signifikante Unterschiede im diagnostisch relevanten Bereich von 10 bis 50 U/l auf. Ebenso lieferte der Vergleich der zwei nach Deklaration identischen Tests  $C_1$  und  $C_2$  signifikante Unterschiede. Für die Meßwerte von Kontrollseren konnte eine Methoden- bzw. Testabhängigkeit aufgezeigt werden.

### *A comparison of different methods and reagents for the determination of $\gamma$ -glutamyl transferase in serum*

**Summary:** Four commercially available kinetic photometric tests for the determination of  $\gamma$ -glutamyl transferase were compared. Test A is based on the substrate *L*- $\gamma$ -glutamyl-4-nitroanilide; test B uses this same substrate dissolved in hydrochloric acid.  $C_1$  and  $C_2$  are tests from different suppliers; both use the substrate *L*- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide, and all other constituents are the same as quoted by the suppliers. Parallel determinations were performed on 1017 native sera and 12 control sera. Compared with the values from test A, two of the three other tests showed statistically significant differences in the diagnostically important range 10 to 50 U/l. Significant differences were also observed between the results from the apparently identical tests,  $C_1$  and  $C_2$ . The values obtained for control sera showed a dependence on the test procedure and/or composition.

### Einführung

Schon vor etwa 15 Jahren wurde auf die erhebliche Bedeutung der Serum- $\gamma$ -Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2) für die Diagnostik der hepatobiliären Krankheiten hingewiesen (1–3). Trotzdem fand das Enzym erst in den letzten Jahren Eingang in die Routinediagnostik, nachdem mit Einführung des Substrats *L*- $\gamma$ -Glutamyl-4-nitroanilid ein einfacher Test für seine Bestimmung zur Verfügung stand (4). Dieser kinetische Farbttest hat jedoch in der Schwerlöslichkeit des Substrats einen schwerwiegenden Nachteil. Das führte zwangsläufig zur Entwicklung neuer Verfahren. Die Reagenzienhersteller beschränkten dabei zwei verschiedene Wege: Bei dem einen Verfahren wird das Substrat *L*- $\gamma$ -Glutamyl-4-nitroanilid in Salzsäure gelöst, bei dem anderen wird ein neues, gut lösliches Substrat eingesetzt (*L*- $\gamma$ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid).

Zur Zeit sind sowohl das alte Verfahren als auch die zwei neuen Methoden nebeneinander in Form von Testpackungen im Handel erhältlich. Für den Anwender in Klinik und Praxis ist es von großem Interesse zu wissen, inwieweit die Analyseergebnisse der einzelnen Methoden vergleichbar sind und ob die Referenzwerte des alten Verfahrens auch für die anderen Methoden übernommen werden dürfen. Es wurden deshalb Vergleichsuntersuchungen zwischen vier kommerziellen Tests durchgeführt: einem Test, der auf der ursprünglichen Methode beruht, einem modifizierten Test mit Salzsäure und zwei Tests mit dem Substrat *L*- $\gamma$ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid; letztere zwei besitzen nach den von den Herstellern deklarierten Bestandteilen eine völlig identische Zusammensetzung.

## Methoden und Material

### Methoden

Die in den Vergleichsuntersuchungen eingesetzten Tests werden nachfolgend näher charakterisiert:

#### Methode A

$\gamma$ -Glutamyltransferase (Farb-Test), Packung für Analysenautomaten (Fa. Boehringer Mannheim GmbH), Best.-Nr. 15 701. Endkonzentrationen im Test: 4 mmol/l *L*- $\gamma$ -Glutamyl-4-nitroanilid, 40 mmol/l Glycylglycin, 185 mmol/l Trispuffer, pH 8,25.

#### Methode B

$\gamma$ -Glutamyltransferase (Kinetischer Test), Merckotest (Fa. E. Merck, Darmstadt), Art.-Nr. 3390. Substratlösungsmittel: Salzsäure. Endkonzentrationen im Test: 4 mmol/l *L*- $\gamma$ -Glutamyl-4-nitroanilid, 50 mmol/l Glycylglycin, 185 mmol/l Trispuffer, pH 8,2.

#### Methode C<sub>1</sub>

$\gamma$ -Glutamyltransferase neu (Farb-Test), Packung für Analysenautomaten (Fa. Boehringer Mannheim GmbH), Best.-Nr. 15 804. Endkonzentrationen im Test: 4 mmol/l *L*- $\gamma$ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid, 100 mmol/l Glycylglycin, 100 mmol/l Trispuffer, pH 8,25.

#### Methode C<sub>2</sub>

System  $\gamma$ -Glutamyltransferase (Fa. E. Merck, Darmstadt), Art.-Nr. 14056 und 14057. Endkonzentrationen im Test: 4 mmol/l *L*- $\gamma$ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid, 100 mmol/l Glycylglycin, 100 mmol/l Trispuffer, pH 8,25.

Bei den beiden letzten Tests handelt es sich nicht um verschiedene Methoden, sondern lediglich um unterschiedliche Reagenzien. Die Bezeichnung als Methode C<sub>1</sub> und Methode C<sub>2</sub> erschien aus formalen Gründen sinnvoll.

Für alle Methoden wurde als Analysengerät der Eppendorf Enzymautomat 5020 (Fa. Netheler und Hinz GmbH), und zwar als Zweikanalgerät benutzt. Die Reagenzien wurden entsprechend den Herstellerangaben eingesetzt. Die Volumina der Testansätze sind für die vier Verfahren identisch: 50  $\mu$ l Serum und 500 + 50  $\mu$ l Reagenz. Bei der Berechnung der katalytischen Konzentration wurde für die Methode A und B ein Absorptionskoeffizient von 9,9 cm<sup>2</sup>/ $\mu$ mol (4-Nitroanilin bei 405 nm), für die Methode C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> ein Absorptionskoeffizient von 9,5 cm<sup>2</sup>/ $\mu$ mol (5-Amino-2-nitrobenzoat bei 405 nm) zugrundegelegt.

Um gerätebedingte Fehler bei dem Methodenvergleich auszuschalten, wurden die Dosierer sowie die Inkubations- und die Meßorttemperatur (25 °C) des Enzymautomaten streng überprüft. Parallelbestimmungen von 120 Proben, die mit der Methode A auf den beiden Kanälen des Automaten durchgeführt wurden, ergaben keinen signifikanten Kanalunterschied (*Wilcoxon*-Rangtest für Paardifferenzen,  $\alpha = 0,05$ ,  $\bar{x}_1 = 19,0$  U/l,  $\bar{x}_2 = 18,9$  U/l). Trotzdem wurde bei jeder neuen Beschickung des Automaten eine andere Kombination Methode/Kanal gewählt, um auch kleinste Abweichungen auszugleichen.

Zur Qualitätskontrolle wurden nach jeweils 18 Proben 2 Kontrollen eingesetzt. Meßwerte, für die vom Enzymautomatenrechner Kontrollzahlabweichungen über 11 angegeben wurden (~ 1% der eingesetzten Faktoren), wurden bei der Auswertung entsprechend der Empfehlung des Geräteherstellers nicht berücksichtigt.

### Material

Mit den vier Verfahren wurden 1017 Seren subjektiv gesunder Frauen und Männer analysiert. Außerdem wurden für Methodenvergleich und Qualitätskontrolle Kontrollseren folgender Hersteller benutzt: Asid Bonz u. Sohn GmbH, Boehringer Mannheim GmbH, Cyanamid GmbH, Merz + Dade GmbH, Travenol GmbH.

## Ergebnisse

### Methodenabhängigkeit der Meßwerte von Nativseren

Es liegen die Ergebnisse von Paralleluntersuchungen an 1017 Nativseren vor. Die katalytische Konzentration der  $\gamma$ -Glutamyltransferase wurde jeweils mit allen vier Methoden bestimmt.

Es erscheint sinnvoll, beim Vergleich der Tests die Methode A als Referenzmethode zu verwenden, da die Übereinstimmung mit den Meßwerten dieser Methode bei allen Testneuentwicklungen für die Hersteller im Vordergrund stand. Die Häufigkeitsverteilung der für die Nativseren mit der Methode A gefundenen katalytischen Konzentrationen ist in Abbildung 1 dargestellt. Danach weisen über 90% der Seren (91,2%) Werte unter 30 U/l auf, während die Werte der restlichen Seren sich über einen Meßbereich von mehr als 200 U/l verteilen. Regressionsanalysen mit den Werten der verschiedenen Methoden müssen deshalb für einen unteren und einen oberen Meßbereich getrennt durchgeführt werden. Im Bereich von 0 bis 43,8 U/l liegen bei Bestimmung mit der Methode A 95% aller Meßwerte. Regression und Korrelation wurden daher einmal im Bereich bis 43,8 U/l und zum anderen im Bereich von 43,9 bis 240 U/l (jeweils Methode A) mit den zugehörigen Werten der Methoden B, C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> berechnet.

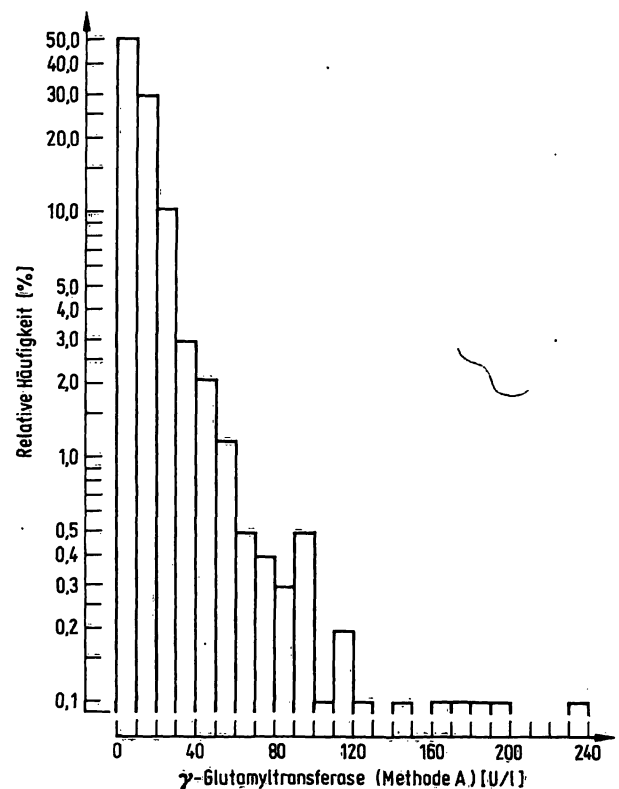


Abb. 1. Häufigkeitsverteilung der mit der Methode A an 1017 Nativseren gemessenen katalytischen Konzentrationen von  $\gamma$ -Glutamyltransferase.

In Abbildung 2 sind die Ergebnisse der Regressionsanalysen für den unteren Meßwertbereich dargestellt. Danach weisen die Meßwerte der Methode B die größten Abweichungen gegenüber denen der Methode A auf. Die Werte liegen bis etwa 4 U/l geringfügig höher. Oberhalb 4 U/l nimmt mit der Höhe des Meßwertes die Abweichung zu niedrigen Werten schnell zu, so daß bei einem Wert von 30 U/l (Methode A) der entsprechende Wert der Methode B schon um 10% niedriger liegt. Bei der Methode C<sub>1</sub> sind die Verhältnisse ähnlich. Die Abweichung zu niedrigen Werten gegenüber denen der Methode A beginnt jedoch erst ab 7 U/l. Bei 30 U/l (Methode A) macht die Differenz etwa 8% aus. Demgegenüber zeigt die Regressionsanalyse für die Methode C<sub>2</sub> ein wesentlich günstigeres Ergebnis: Im klinisch relevanten Bereich bis 40 U/l treten keine Abweichungen über 1 U/l auf.

Die aufgezeigten methodischen Unterschiede werden auch durch die Regressionsanalysen für die Werte des oberen Meßbereiches wiedergegeben (Abb. 3). Im Bereich von etwa 50 bis 250 U/l weist die Methode B laut Regressionsanalyse Meßwertabweichungen von ungefähr 11%, die Methode C<sub>1</sub> von 8 bis 9% und die Methode C<sub>2</sub> von 1 bis 3% gegenüber der Methode A auf.

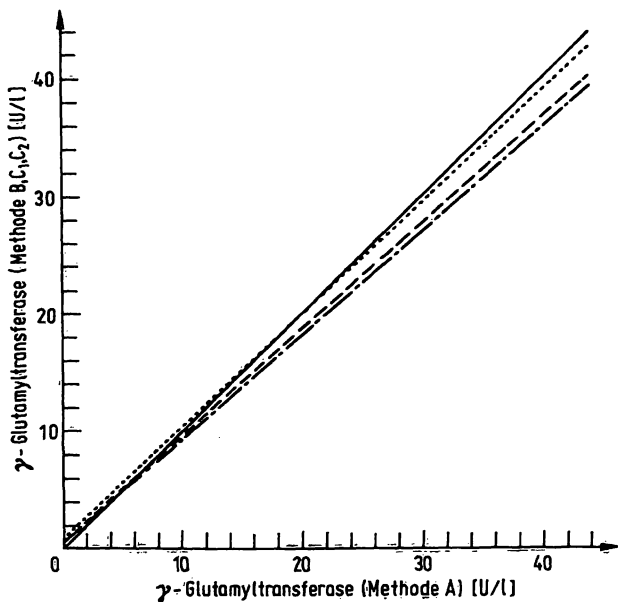


Abb. 2. Regressionsanalyse zwischen den  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Meßwerten der Methode A und den Werten der Methoden B, C<sub>1</sub> sowie C<sub>2</sub>. Für die Berechnung wurden nur Meßwerte von Seren verwendet, die mit der Methode A katalytische Konzentrationen unter 43,9 U/l aufwiesen. Anzahl der Seren: 966.

Regressionsgeraden:  $y_B = 0,886x + 0,4$   
 $y_{C_1} = 0,900x + 0,7$   
 $y_{C_2} = 0,951x + 0,9$   
 Korrelationskoeffizienten:  $r_{A,B} = 0,984$   
 $r_{A,C_1} = 0,975$   
 $r_{A,C_2} = 0,977$

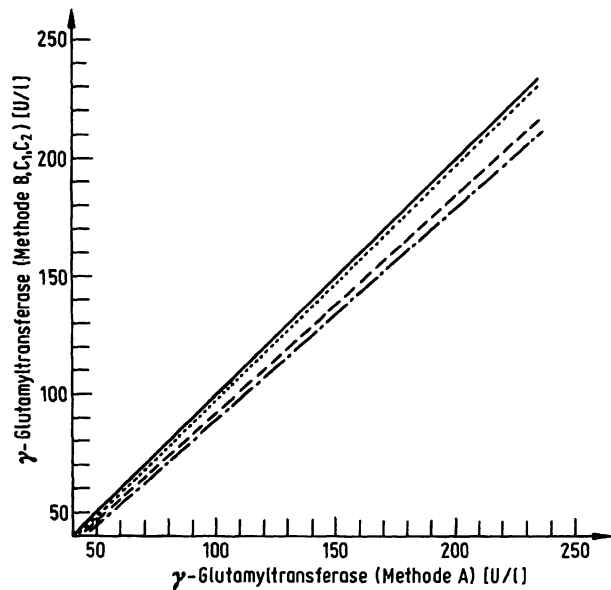


Abb. 3. Regressionsanalyse zwischen den  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Meßwerten der Methode A und den Werten der Methoden B, C<sub>1</sub> sowie C<sub>2</sub>. Für die Berechnung wurden nur Meßwerte von Seren verwendet, die mit der Methode A katalytische Konzentrationen im Bereich von 43,9 bis 240 U/l aufwiesen. Anzahl der Seren: 51.

Regressionsgeraden:  $y_B = 0,895x - 0,1$   
 $y_{C_1} = 0,929x - 1,0$   
 $y_{C_2} = 0,994x - 1,2$   
 Korrelationskoeffizienten:  $r_{A,B} = 0,994$   
 $r_{A,C_1} = 0,996$   
 $r_{A,C_2} = 0,997$

Um die Aussagen der Regressionsanalyse abzusichern und um ein genaueres Bild von den methodenbedingten Abweichungen im diagnostisch interessierenden Meßbereich zu haben, wurden die Meßwerte bis 50 U/l in 8 Bereiche aufgeteilt (Bezug: Methode A). Für jeden Bereich wurde der Mittelwert der Methode A, die mittlere Abweichung der zugehörigen Werte der Methoden B, C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> sowie der zentrale 90%-Bereich der Differenzen ermittelt. In Abbildung 4a–c sind die Meßwertdifferenzen und die 90%-Bereiche in Abhängigkeit von der Höhe der katalytischen Konzentration für die Methoden B, C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> dargestellt. Die Übereinstimmung zwischen den bei diesem Vorgehen gefundenen mittleren Differenzen und den mit Hilfe der Regressionsgeraden zu errechnenden Werten ist für die Methoden B und C<sub>1</sub> sehr gut. Bei der Methode C<sub>2</sub> gilt das nur bedingt. Auffallend bei dieser Methode ist die hohe positive Abweichung im Bereich bis 5 U/l.

Die in Abbildung 4 angegebenen 90%-Bereiche dienen der Information über die Streubreite der Differenzen in den einzelnen Meßwertbereichen. Die Prüfung der Nullhypothese mit dem Wilcoxon-Rangtest für Paardifferenzen ( $\alpha = 0,001$ ) in den einzelnen Meßwertbereichen ergab folgende Ergebnisse:

#### Methode A/B

Nullhypothese nur akzeptiert für den Bereich 0 bis 4,9 U/l.

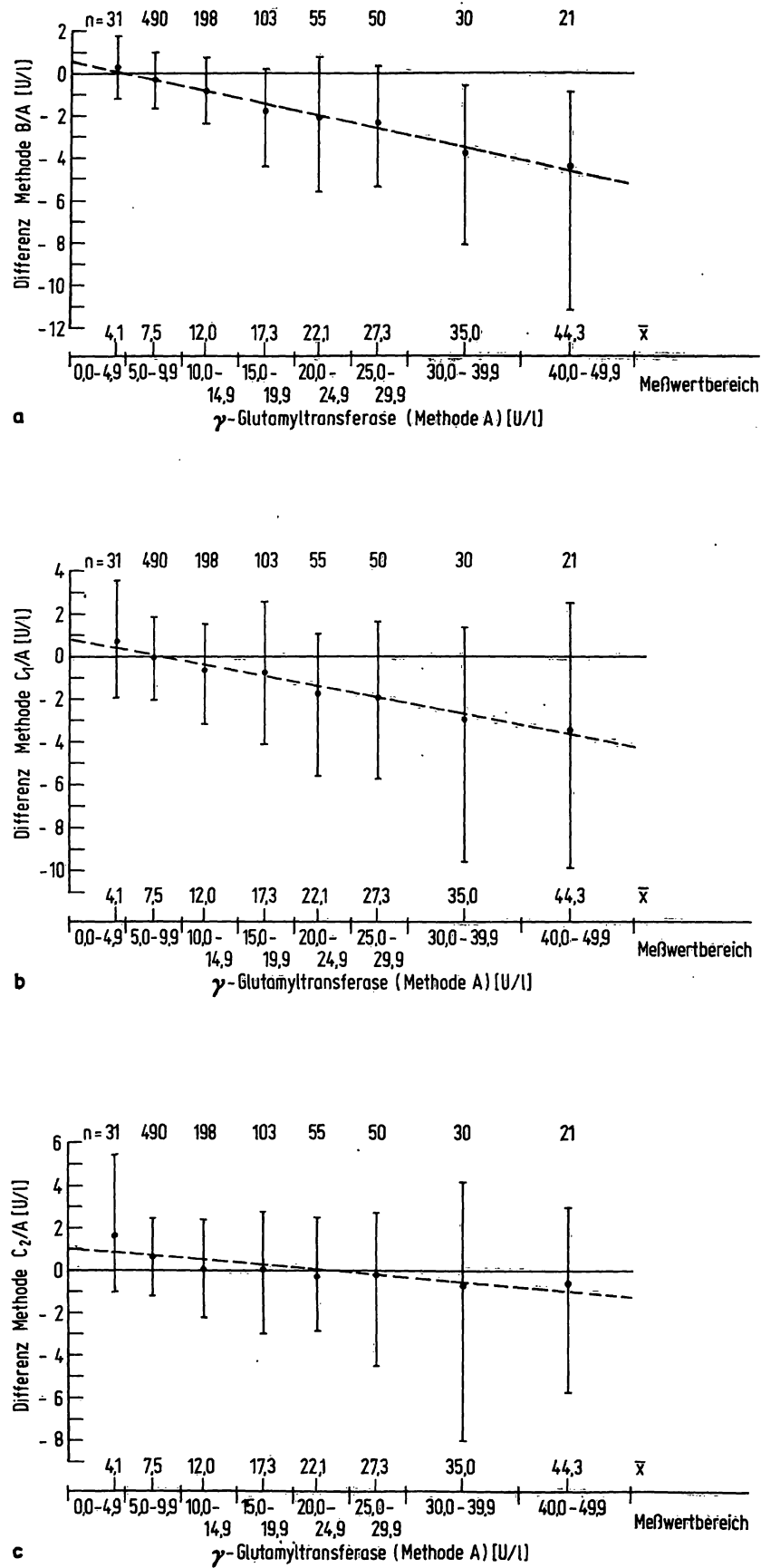


Abb. 4. Meßwertdifferenzen zwischen der Methode A und der Methode B (a),  $C_1$  (b) sowie  $C_2$  (c) in Abhängigkeit von der Höhe der katalytischen Konzentration der  $\gamma$ -Glutamyltransferase (Bezug: Methode A). Mittelwert der Differenzen und zentraler 90%-Bereich der Häufigkeitsverteilung der Differenzen in 8 Meßwertbereichen.

• Mittelwert mit zentralem  
 | 90%-Bereich

**Methode A/C<sub>1</sub>**

Nullhypothese nur akzeptiert für den Bereich 5,0 bis 9,9 U/l.

**Methode A/C<sub>2</sub>**

Nullhypothese akzeptiert für alle Bereiche mit Ausnahme der Bereiche 0 bis 4,9 U/l und 5,0 bis 9,9 U/l.

Da es sich bei den Methoden C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> nicht um verschiedene Methoden, sondern nur um unterschiedliche Reagenzien handelt, ist ein Vergleich dieser beiden Tests besonders interessant. Aus diesem Grund wurden die Meßwerte der Methode C<sub>2</sub> bis 50 U/l wie oben in Bereiche aufgeteilt und mit den zugehörigen Werten der Methode C<sub>1</sub> dem *Wilcoxon*-Test ( $\alpha = 0,001$ ) unterworfen. Die Nullhypothese wurde nur für den Bereich 0 bis 4,9 U/l angenommen, für alle anderen Bereiche wurde sie abgelehnt.

**Referenzwerte**

Die für die Methode A in der Literatur angegebenen oberen Grenzen der Referenzbereiche schwanken von 14 bis 35 U/l für Frauen und von 23 bis 38 U/l für Männer (5). Wie gezeigt werden konnte, unterscheiden sich die Meßwerte der Methoden B und C<sub>1</sub> bei dieser Höhe nach dem *Wilcoxon*-Test signifikant von denen der Methode A. Die bei Verwendung der Methoden B, C<sub>1</sub> oder C<sub>2</sub> im Bereich der Referenzwerte möglichen Meßwertdifferenzen können der Abbildung 4 entnommen werden. Anschaulicher läßt sich der Methodeneffekt durch die folgende Untersuchung darstellen: 58 Seren der Frauen des untersuchten Kollektivs ( $n_{\text{gesamt}} = 442$ ) wiesen mit der Methode A einen Wert über 18 U/l auf (Referenzwert nach *Szasz* (4)). Bei Verwendung der Methode B oder C<sub>1</sub> hatten jedoch jeweils nur insgesamt 49 Seren ( $\cong 85\%$  bezogen auf die 58 Seren der Methode A) einen Wert oberhalb 18 U/l. Alle diese Seren waren durch die Methode A entsprechend eingestuft worden. Mit der Methode C<sub>2</sub> wurden 59 erhöhte Werte ( $\cong 102\%$  bezogen auf 58) gefunden, 55 von ihnen waren auch mit der Methode A über 18 U/l. Analoge Ergebnisse erhält man bei den Seren der Männer ( $n_{\text{gesamt}} = 457$ ), die Prozentsätze sind jedoch für die Methoden B und C<sub>1</sub> etwas günstiger (86 bzw. 91 bei Grenzwert 28 U/l).

**Methodenabhängigkeit der Meßwerte von Kontrollseren**

Von 12 kommerziellen Kontrollseren wurde die katalytische Konzentration der  $\gamma$ -Glutamyltransferase mit allen vier Verfahren bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Tabelle 1 zeigt, daß die Verhältnisse bei den Kontrollseren nur bedingt mit denen bei den Nativseren zu vergleichen sind. Zwar liefert auch hier die Methode A in den meisten Fällen die höchsten Werte, und diese stimmen am besten mit den Werten der Methode C<sub>2</sub> überein. Eine Gesetzmäßigkeit muß aber auf Grund der teilweise erheblich abweichenden Befunde (z. B. Kontrollserum XII) bezweifelt werden. Eine Abhängigkeit der Größe der Meßwertdifferenz von der Höhe des Meßwertes ist nicht festzustellen. Die in bezug auf ein Kontrollserum niedrigsten Meßwerte traten im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den Nativseren am häufigsten bei der Methode C<sub>1</sub> auf.

**Präzision der Methoden**

In den Tabellen 2 und 3 sind die Ergebnisse der Präzisionsuntersuchungen an 4 bzw. 3 kommerziellen Kontrollseren und einem Nativserum wiedergegeben. Für alle vier Methoden ist eine eindeutige Abhängigkeit der Variationskoeffizienten von der Meßwerthöhe zu erkennen. Auffällig ist die im Vergleich zu den Methoden C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> wesentlich bessere Präzision der Methoden A und B im unteren Meßwertbereich. Für den diagnostisch interessanten Bereich ab etwa 20 U/l liegt der Variationskoeffizient aber auch für die Methoden C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> unter 10%.

Die Ergebnisse für das Kontrollserum I mit den Methoden C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> sind unlogisch, da die Präzision „in der Serie“ schlechter ist als die „von Tag zu Tag“. Aus Gründen der Korrektheit wurde auf eine Wiederholungsuntersuchung verzichtet. Der Befund weist auf die mögliche Streuung der Präzisionsangaben hin.

**Diskussion**

Die Entwicklung neuer Verfahren zur Bestimmung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase hatte als Ziel, eine Methode zu finden, die bei guter Löslichkeit des Substrats in ihren

Tab. 1.  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Meßwerte kommerzieller Kontrollseren in Prozent des Sollwertes differenziert nach Methode. Die hier verwendeten Sollwertangaben der Hersteller sollten den Meßwerten der Methode A entsprechen. Die Meßwerte stellen Mittelwerte aus jeweils 6 Bestimmungen dar. Die Kontrollseren sind in Tab. 4 aufgeschlüsselt.

		Kontrollserum											
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Sollwert	[U/l]	15,0	15,5	19,3	19,5	22,5	23,1	27,8	28,4	34,4	48,5	56,9	64,0
Meßwert in Prozent des Soll- wertes nach Methode	A	99	83	101	101	100	110	102	100	101	104	101	112
	B	97	69	94	96	79	102	95	89	94	95	91	107
	C <sub>1</sub>	92	84	96	95	84	91	88	87	91	96	90	76
	C <sub>2</sub>	93	83	100	90	80	97	95	95	110	100	104	79

Tab. 2. Präzision „in der Serie“.

$\bar{x}$  = Mittelwert der Meßwerte [U/l], VK = Variationskoeffizient [%], n = Anzahl der Bestimmungen.  
Die Kontrollseren sind in Tab. 4 aufgeschlüsselt.

			Methode							
			A		B		C <sub>1</sub>		C <sub>2</sub>	
Kontrollserum	I	$\bar{x}$	14,2		14,2		13,3		14,3	
		VK	4,9		4,5		13,2		13,3	
		n		22		20		17		17
	VIII	$\bar{x}$	26,2		26,4		22,5		27,0	
		VK	3,4		4,1		9,0		6,0	
	n		21		19		20		22	
X	$\bar{x}$	51,3		45,7		46,2		50,1		
	VK	2,1		3,1		2,3		2,9		
	n		17		16		17		17	
XI	$\bar{x}$	57,9		51,6		55,1		65,5		
	VK	1,1		4,2		3,6		2,2		
	n		20		19		18		18	
XIII	$\bar{x}$	83,6		76,1		76,7		83,9		
	VK	0,7		2,6		2,3		1,4		
	n		16		16		16		16	

Tab. 3. Präzision „von Tag zu Tag“.

$\bar{x}$  = Mittelwert der Meßwerte [U/l], VK = Variationskoeffizient [%], n = Anzahl der Bestimmungen.  
Die Kontrollseren sind in Tab. 4 aufgeschlüsselt.

			Methode							
			A		B		C <sub>1</sub>		C <sub>2</sub>	
Kontrollserum	I	$\bar{x}$	15,9		14,2		15,2		16,1	
		VK	5,2		5,2		8,2		12,3	
		n		13		13		13		13
	IX	$\bar{x}$	36,3		35,9		39,4		43,1	
		VK	4,7		3,7		5,6		2,9	
	n		13		13		13		13	
X	$\bar{x}$	51,3		46,3		47,0		50,6		
	VK	2,7		4,8		2,8		3,8		
	n		11		11		10		11	
XI	$\bar{x}$	57,6		52,9		55,5		61,5		
	VK	2,0		4,5		3,6		4,3		
	n		12		12		12		13	

Tab. 4. Eingesetzte Kontrollseren mit den in Tab. 1–3 verwendeten Kurzbezeichnungen.

Bezeichnung	Name	Charge
I	Monitrol II	38 A, B
II	Europa-Kontrolle II	K 002
III	Europa-Kontrolle II	P 01
IV	Normosic	408
V	LederNorm	2905-620K1
VI	Precilip	439 A/B
VII	Europa-Kontrolle I	N 01
VIII	LederTrol	29701-301
IX	Precinorm E	444 A/B
X	Monitrol I	137 A, B
XI	Precipath E	420 A/B
XII	Enza-trol	243
XIII	Nativserum	

Meßwerten mit denen der ursprünglichen Methode nach Szasz (Methode A) übereinstimmt. Für die vorstehend untersuchten Methoden wird von den Herstellern diese Übereinstimmung als gegeben angesehen. Über die Methode C<sub>1</sub> liegen diesbezügliche Publikationen vor (6, 7), während für die Methoden B und C<sub>2</sub> nur indirekt auf die Vergleichbarkeit hingewiesen wird, da auf den Arbeitsanleitungen der neuen Verfahren die für die Methode A aufgestellten Referenzwerte angeführt sind.

Die Ergebnisse der oben dargestellten Vergleichsuntersuchungen stehen für die Methoden B und C<sub>1</sub> im Widerspruch zu diesen Angaben. In dem diagnostisch wichtigen Bereich von 10 bis 50 U/l würden für diese Me-

thoden statistisch signifikante Unterschiede nachgewiesen. Für die Methode C<sub>2</sub> konnten dagegen in diesem Meßbereich keine statistisch abzusichernden Abweichungen gefunden werden. Auf eine statistische Analyse der Meßwertunterschiede in den höheren Meßwertbereichen wurde auf Grund der geringen Fallzahlen verzichtet. Wie die Regressionsgeraden jedoch zeigen, sind die Verhältnisse vergleichbar.

Daß andere Autoren eine Übereinstimmung der Meßwertergebnisse zwischen den Methoden C<sub>1</sub> und A fanden (6, 7), kann auf die von ihnen verwendeten kleinen Fallzahlen zurückzuführen sein. Außerdem fehlt bei den diesbezüglichen Arbeiten ein Hinweis auf den untersuchten Meßwertbereich und die Verteilung der Meßwerte in diesem Bereich. Ein Chargen- bzw. Lagerungseinfluß dürfte bei der Größenordnung der Unterschiede kaum als Erklärung ausreichen (s. u.).

Es mag bestritten werden, daß die bei den Methoden B und C<sub>1</sub> in bezug auf Methode A auftretenden Unterschiede, die etwa 10 bis 11 bzw. 8% ausmachen, klinisch relevant sind, zumal die Angaben über Referenzwerte in der Literatur weit auseinandergehen und die Präzision im unteren Meßbereich nicht sehr gut ist. Dem muß aber entgegengehalten werden, daß für das individuelle Labor, das ganz bestimmte Referenzwerte für die Diagnosestellung einsetzt, eine Abweichung von 10% keineswegs unerheblich ist, wie oben auch an einem Beispiel gezeigt werden konnte. Es ist daher zu empfehlen, daß sich jedes Labor für den Einsatz nur einer Methode entscheidet und daß jeder Methodenwechsel, wenn möglich, vermieden wird. Ein Wechsel sollte nur bei genauer Kenntnis der neuen Referenzwerte durchgeführt werden.

Um die Vergleichbarkeit klinisch-chemischer Ergebnisse interlaboriell zu gewährleisten, versucht man z. Zt. in allen Gebieten der Klinischen Chemie die Vielzahl der Bestimmungsmethoden für einen Parameter durch sogenannte Standardmethoden abzulösen. Dabei steht das Bestreben nach größerer Spezifität und Empfindlichkeit gleichgewichtig neben dem Wunsch nach nur einer Methode pro Parameter. Daß das Problem der methodischen Unterschiede allein durch die Empfehlung einer einzigen Methode nicht behoben wird, läßt sich an dem

Beispiel der Methoden C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> erkennen. Beiden Tests liegt dieselbe Methode zugrunde, alle deklarierten Bestandteile sind identisch. Trotzdem ergaben sich für die Meßwerte über 5 U/l (Methode C<sub>2</sub>) statistisch signifikante Unterschiede. Das dürfte darauf hinweisen, daß die Produktionsfirmen für die Herstellung der Tests entweder unterschiedliche oder einseitig zusätzliche Reagenzien einsetzen, die nicht deklariert werden. Bei der Standardisierung von Methoden sollte daher der Charakterisierung der eingesetzten Reagenzien vermehrte Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Das Nebeneinander mehrerer Bestimmungsmethoden für  $\gamma$ -Glutamyltransferase wirkt sich besonders bei den Kontrollseren extrem ungünstig aus. Die Richtigkeit ist zwar bei katalytischen Konzentrationen von Enzymen grundsätzlich definitionsabhängig. Nach den vorliegenden Ergebnissen müßten aber für alle vier Tests spezielle Sollwerte angegeben werden. Von den Kontrollserenherstellern werden bereits teilweise schon Mehrfachangaben gemacht (z. B. beim Enza-trol, Fa. Merz + Dade GmbH). Das wiederum führt aber leider dazu, daß man in der Anwendung mehrerer Methoden nebeneinander nur bestärkt wird.

Es wäre zu klären, wie groß der Einfluß der Test-Charge und/oder der Lagerung der Reagenzien (innerhalb der Verfallszeit) auf die Meßwerte sein kann. Sollten – was nicht anzunehmen ist – Charge oder Lagerung tatsächlich Unterschiede der aufgezeigten Größenordnung verursachen, so können die obigen Folgerungen teilweise falsch sein. Die gefundenen, systematischen Meßwertabweichungen von bis zu 10% sind jedoch in jedem Fall für die Benutzer der Tests relevant, unabhängig davon, ob und inwieweit die Methode, die Charge, die Lagerung oder die Zusammensetzung der Reagenzien dafür verantwortlich sind.

Bei den Vergleichsuntersuchungen auf dem Eppendorf Enzymautomaten wurde für die Methoden C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> im unteren Meßbereich bis etwa 25 U/l eine gegenüber den anderen Methoden schlechtere Präzision festgestellt. Sie könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Hersteller bei diesen Tests auf einen Detergenszusatz verzichten haben. Eine Verbesserung der Präzision sollte von den Herstellern angestrebt werden.

## Literatur

1. Pineda, E. P., Goldbarg, J. A. & Rutenburg, A. M. (1961), *Fed. Proc.* 20, 152.
2. Szczeklik, E., Orłowski, M. & Szewczuk, A. (1961), *Gastroenterology* 41, 353–359.
3. Kokot, F., Kuska, J. & Maraszek, J. (1963), *Z. Inn. Med.* 18, 851–885.
4. Szasz, G. (1969), *Clin. Chem.* 15, 124–136.
5. Thefeld, W. (1975), *Med. Welt* 26 (N. F.), 2139–2141.
6. Adolph, L. (1976), *Ärztl. Lab.* 22, 121–126.
7. Anonym (1975), *Mitteilungen der Dt. Ges. f. Klin. Chemie* 6, Heft 6, XXVII–XXIX.

Dr. W. Thefeld  
Institut für Sozialmedizin und  
Epidemiologie  
des Bundesgesundheitsamtes  
Postfach  
D-1000 Berlin 33

