Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 116—121, März 1970

Automation klinisch-chemischer Bestimmungsmethoden

I. Über die Zuverlässigkeit von Serumanalysen mit dem Autoanalyzer SMA 12/30-Survey

Von H. HOFFMEISTER und B. JUNGE

Aus dem Bundesgesundheitsamt, Abteilung zur Erforschung von Umweltschäden und Zivilisationskrankheiten, Berlin

(Eingegangen am 14. November 1969)

Die Zuverlässigkeit des Autoanalyzers SMA 12/30-Survey wurde unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Messungen über die Präzision in der Serie, die Präzision von Tag zu Tag, die Richtigkeit sowie die gegenseitige Beeinflussung aufeinanderfolgender hoher und niedriger Proben führten bei sorgfältiger Bedienung des Gerätes zu dem Ergebnis, daß entsprechende Werte bei manueller Technik insgesamt ungenauer ausfallen. Die Untersuchung der Präzision von Tag zu Tag und die Bestimmung des Verschleppungsfehlers bei einander folgenden hohen und niedrigen Werten deckten einen systematischen Fehler auf, der auf die bisher geübte Kontrolleinstellung nach jeder 10. Probe zurückgeht. Eine neue Reihenfolge bei der Beschickung mit Kontrollseren und Poolseren verhindert diesen Fehler. Die über kinetische Messungen z. B. im Eppendorf Enzymautomaten 5010 gewonnenen Daten von Enzymen sind in Präzision und Richtigkeit mit den Autoanalyzer-Enzymbestimmungen vergleichbar.

Das Fließschema der Cholesterinbestimmung im SMA 12 wurde so verändert, daß keine Präzipitation von Eiweiß im Schlauchsystem mehr erfolgt. Weitere Verbesserungen wurden bei der Reagenzienzuführung für die Bestimmung des Gesamt-Bilirubins, des Albumins, des Gesamteiweißes sowie für die Bedienung des Gerätes vorgenommen.

Automation in clinical chemical analysis

I. The reliability of serum analyses with the Autoanalyzer SMA 12/30-Survey

The reliability of the Autoanalyzer SMA 12/30-Survey was investigated under different conditions. Precision in serial measurements, precision from day to day, and the accuracy and the mutual influence of alternate high and low samples were studied with carefully serviced apparatus; the values are all more exact than those obtained by manual technique. Studies on the day to day precision and the determination of retention error with alternate high and low values revealed a systematic error, which, with the currently used control setting, is eradicated after every tenth sample. The error is abolished by using a new sequence when loading with control sera and pool sera. The data from enzyme kinetic measurements, e. g., in the Eppendorf Enzymautomat 5010, are comparable in precision and accuracy with the Autoanalyzer enzyme determinations.

The flow sheet for cholesterol determination in the SMA 12 was altered so that protein was no longer precipitated in the tube system. Further improvements were made in the introduction of reagents for total bilirubin, albumin, total protein and in the servicing of the apparatus.

Zuverlässigkeitsanalysen der Werte klinisch-chemischer Untersuchungen, wie sie etwa BÜTNER und STAMM (1) definieren, verlassen nach und nach den Bereich theoretischer Erörterungen. Sie gewinnen auch für den diagnostizierenden Arzt Bedeutung, sei es durch die belegbare Sicherheit der Laborwerte, sei es durch die Auswirkung auf die Richtigkeit und Präzision der Daten. Diesen erreichten Erfolgen im klinisch-chemischen Labor steht gegenüber, daß die Ergebnisse durch den Arzt nicht ausgeschöpft werden können, weil die biologischen Grenzen, die Normalbereiche also, nicht annähernd gleichwertig bekannt und bestimmt sind.

Wir wollen im Rahmen von Untersuchungen über Zivilisationskrankheiten in den nächsten Jahren große Zahlen von „Normalseren“ aus Bevölkerungskollektiven analysieren. Da hier anders als im klinisch-chemischen Krankenhauslaboratorium die Auffindung kleiner Unterschiede und Trends zwischen Probandengruppen des bisherigen Normalbereichs im Vordergrund steht, war es nötig, vorweg die Zuverlässigkeit der von uns verwendeten Analysenverfahren zu kennen und, wenn möglich, durch methodische Eingriffe zu verbessern.

In der vorliegenden Arbeit wird über entsprechende Untersuchungen mit dem 12-Kanal-Autoanalyzer SMA 12/30-Survey berichtet. Unsere Ergebnisse stimmen teil-

weise überein mit den Befunden von SCHILY und Mitarbeitern (2), z. T. unterscheiden sie sich davon. Durch Veränderungen an einigen Kanälen des Gerätes sowie durch Modifikation des Schemas zur Beschickung mit Testseren konnten wir in den meisten der zwölf Kanäle die Zuverlässigkeit verbessern.

Methoden

Bei 8 der 12 Kanäle des Autoanalyzers SMA 12/30-Survey wurden die vom Hersteller Technicon vorgesehenen Bestimmungsmethoden und Flußdiagramme nicht verändert. Der Cholesterinkanal machte nach unseren anfänglichen Erfahrungen eine Korrektur des Fließschemas und der Reagenzienzusammensetzung nötig. Veränderungen wurden auch an den Kanälen für Gesamtbilirubin, Albumin und Gesamteiweiß vorgenommen. Einzelheiten der methodischen Eingriffe in das Gerät sind unter „Ergebnisse“ beschrieben. Die Reagenzlösungen wurden sorgfältig filtriert (Schleicher & Schüll Nr. 1574 1/2). Für Untersuchungen der Basislinienkonstanz und alle anderen Läufe wurden nur so vorbereitete Reagenzlösungen eingesetzt. Neuerdings benutzen wir zusätzlich vor die Reagenzienansaugschläuche geschaltete Filterelemente der Firma Technicon (Best.-Nr. 116—B 157 und 518—3014). Die Eichung der Kanäle wurde unter Verwendung des Technicon-Standardserums vorgenommen. Daneben wurde ein selbsthergestelltes Human-Poolserum mit Normalgehalten aller 12 Bestandteile benutzt. Besonders beachtet haben wir ein genaues „phasing“, d. h. die photometrische Messung innerhalb des konstanten Plateaus der Farbreaktion. Dazu wurde ein parallel

MERCK

MERCK

TEST

Ein Test in einem Glas

Cholinesterase

GOT (UV)

GPT (UV)

HBDH (UV)

LDH (UV)

**Eine neue Konzeption für Sicherheit
und Zeitersparnis in Klinik- und
Praxislabor**

**Merck-1-Test-Gläser sind optimal
verschlossen und im Handumdrehen zu öffnen.
Lösungsmittel in der Packung
enthalten; daher kein destilliertes
Wasser notwendig**

E. Merck, Darmstadt

SIGMA kündigt mit Stolz einen bedeutenden Durchbruch an:

COENZYM A

gibt es jetzt in einer Reinheit von

98-100%

10-15% höhere Reinheit von Coenzym A

Hergestellt in unseren Laboratorien, ist das neue Sigma Grade Coenzym A 98-100 % rein, enzymatisch bestimmt mit Phosphortransacetylase.

Fragen Sie nach C 9758 CoA Sigma Grade

Freie Säure, aus Hefe

5 mg \$ 9,90	25 mg \$42,00	100 mg \$161,00
10 mg \$17,50	50 mg \$82,00	500 mg \$795,00

Weitere von Sigma angebotene Qualitäten:

C 8879 Grade I

Reinheit etwa 85-90 %
Freie Säure, aus Hefe

10 mg \$ 7,00
250 mg \$120,00

C 9004 Grade I-L

Reinheit etwa 85-90 %
Li-Salz, aus Hefe

25 mg \$ 16,00
500 mg \$225,00

50 mg \$ 28,50
1 g \$420,00

100 mg \$55,00

Sigma-Reagenzien sind in der ganzen Welt durch den Fachhandel oder direkt aus St. Louis beziehbar.

Telegramme: SIGMACHEM, St. Louis, Missouri

Die Forschungslaboratorien von

SIGMA **CHEMICAL COMPANY**

3500 DE KALB ST. • ST. LOUIS 63118, MO. • U.S.A.

MANUFACTURERS OF THE FINEST BIOCHEMICALS AVAILABLE

Vertretung in England:

SIGMA LONDON Chem. Co. Ltd. • 12, Lettice St., London S. W. 6 ENG. • Telephone: RENown-5823 (Rückberechnung)

Tab. 1

Präzision in der Serie (Wiederholbarkeit) bei der Analyse von Technicon-Standard-Serum. Die mit dem Index k versehenen Spalten enthalten die Werte, die bei der vom Hersteller empfohlenen Korrektoreinstellung nach jedem 10. Serum gefunden wurden. Die rechten Spalten geben die Analysenwerte der gleichen Zahl von Standardseren bei Verzicht auf Zwischenkorrekturen wieder.

$$\bar{D} = \bar{x} - [x] \quad [x] = \text{Sollwert des Technicon-Kontrollserums} \quad p = 0,01$$

Bestimmung	$\bar{x}_k$	s_k	$V_k \%$	$\bar{D}_k$	$\bar{D}_k \%$	$\bar{x}$	s	$V \%$	$\bar{D}$	$\bar{D} \%$	F-Test	t-Test
Cholesterin mg/100 ml	199,7	1,5	0,73	—0,3	—0,15	199,8	0,9	0,44	—2,2	—1,09	$s_k > s$	$\bar{D}_k < \bar{D}$
Calcium mg/100 ml	9,884	0,075	0,76	—0,016	—0,16	10,313	0,069	0,67	—0,087	—0,84	$s_k = s$	$\bar{D}_k < \bar{D}$
Anorg. Phosphat mg/100 ml P	5,293	0,022	0,41	—0,007	—0,13	5,611	0,020	0,35	0,011	0,20	$s_k = s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Ges.-Bilirubin mg/100 ml	1,992	0,009	0,47	—0,008	—0,40	2,389	0,006	0,27	—0,011	—0,46	$s_k = s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Albumin g/100 ml	4,291	0,041	0,94	—0,009	—0,21	4,204	0,018	0,42	0,004	0,10	$s_k > s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Ges.-Eiweiß g/100 ml	6,674	0,023	0,35	—0,026	—0,39	6,886	0,016	0,22	—0,014	—0,20	$s_k = s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Harnsäure mg/100 ml	6,459	0,078	1,21	0,059	0,92	6,850	0,027	0,39	—0,050	—0,72	$s_k > s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Harnstoff-N mg/100 ml	67,67	0,56	0,83	—0,23	—0,33	68,97	0,28	0,41	—0,03	—0,04	$s_k > s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Glucose mg/100 ml	251,8	2,6	1,04	1,8	0,72	269,3	2,7	1,02	3,3	1,24	$s_k = s$	$\bar{D}_k = \bar{D}$
Lactatdehydrogenase W. E. ¹⁾	181,4	1,0	0,54	0,4	0,22	220,2	2,3	1,04	3,2	1,47	$s_k < s$	$\bar{D}_k < \bar{D}$
Alk. Phosphatase K. A. E.	21,19	0,15	0,69	0,19	0,90	28,75	0,28	0,97	0,75	2,68	$s_k < s$	$\bar{D}_k < \bar{D}$
Aspartattransaminase K. E.	74,5	1,3	1,80	—0,5	—0,67	112,5	1,8	1,61	5,5	5,14	$s_k = s$	$\bar{D}_k < \bar{D}$

¹⁾ W. E. = WACKER-Einheiten K. A. E. = KING-ARMSTRONG-Einheiten K. E. = KARMEN-Einheiten

zum Schreiber geschalteter „phasing“-Schreiber benutzt. Bewährt hat sich ein Verfahren zur Kontrolle und Korrektur des „phasing“, wie es in der Diskussion beschrieben ist.

Ergebnisse

Untersuchungen zur Zuverlässigkeit des SMA 12/30-System

Die Zuverlässigkeit und Richtigkeit von Analysen im SMA 12/30-System ist verschiedentlich bearbeitet worden (2, 3, 4). Für unsere Belange galt es, Einstellung, Beschickung mit Kontrollseren und Methodik zu überprüfen, um besonders die Werte im Normalbereich genauer charakterisieren zu können. Zunächst haben wir die Präzision in der Serie unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Der Tabelle 1 liegen die Werte von 30 Analysen des Technicon-Standardserums zugrunde. Zur Einstellung wurden vorweg zwei Standardseren benutzt. Bei den nachfolgenden 30 Seren haben wir einmal das vom Hersteller geforderte Verfahren eingehalten und nach jeder 10. Probe eine Korrektur auf den Testserum-Sollwert vorgenommen. Bei einer zweiten Gruppe wurden 30 Seren ohne eine Zwischenkorrektur analysiert. Die Variationskoeffizienten beider Wertegruppen liegen weitgehend unter 1%, die ermittelten Streubreiten sind in allen Fällen kleiner als die mit manueller Analysentechnik von uns und anderen Untersuchern gefundenen (2, 5). Die Differenzen der Werte beider Beschickungsmethoden zum angegebenen Sollwert lassen beim Vergleich erkennen, daß die nach je 10 Proben korrigierten Werte in 5 Kanälen signifikant ($p = 0,01$) näher am Sollwert liegen (Tab. 1, letzte Spalte). In den 7 weiteren Kanälen findet sich kein Unterschied zwischen den Differenzen.

Durch den Aufbau des Gerätes kommt der anfänglichen sorgfältigen Einstellung auf einen Sollwert die Bedeutung eines unabhängig gefundenen richtigen Wertes zu, sofern die Analysenwerte im Bereich der Gültigkeit des LAMBERT-BEERSchen Gesetzes bleiben.

Die Korrektur nach jedem 10. Wert mit Hilfe eines Technicon-Standards täuscht jedoch einen Vorteil vor,

Tab. 2

Präzision von Tag zu Tag (Reproduzierbarkeit) bei der Analyse von Normalseren, errechnet aus den Werten aller in den Positionen 10, 20 und 30 mitgeführten Kontrollseren.

$$\bar{D} = \bar{x} - [x] \quad [x] = \text{Sollwert des Technicon-Kontrollserums} \quad n = 50, p = 0,01$$

Bestimmung	$\bar{x}$	s	$V \%$	$\bar{D}$	$\bar{D} \%$	t-Test
Cholesterin mg/100 ml	204,7	4,7	2,28	2,7	1,34	$\bar{x} > [x]$
Calcium mg/100 ml	10,351	0,207	2,00	—0,049	—0,47	$\bar{x} = [x]$
Anorg. Phosphat mg/100 ml P	5,614	0,064	1,14	0,014	0,25	$\bar{x} = [x]$
Ges.-Bilirubin mg/100 ml	2,382	0,039	1,65	—0,018	—0,75	$\bar{x} < [x]$
Albumin g/100 ml	4,183	0,034	0,80	—0,017	—0,40	$\bar{x} < [x]$
Ges.-Eiweiß g/100 ml	6,912	0,060	0,87	0,012	0,17	$\bar{x} = [x]$
Harnsäure mg/100 ml	6,907	0,128	1,86	0,007	0,10	$\bar{x} = [x]$
Harnstoff-N mg/100 ml	69,32	0,76	1,10	0,32	0,46	$\bar{x} > [x]$
Glucose mg/100 ml	265,0	3,9	1,45	1,0	0,38	$\bar{x} = [x]$
Lactatdehydrogenase W. E. ¹⁾	214,1	3,9	1,82	2,9	1,34	$\bar{x} < [x]$
Alk. Phosphatase K. A. E.	27,85	0,34	1,21	—0,15	—0,54	$\bar{x} < [x]$
Aspartattransaminase K. E.	105,9	1,8	1,68	—1,1	—1,03	$\bar{x} < [x]$

¹⁾ Wie bei Tabelle 1.

weil alle Werte dieser Untersuchung gleich hoch liegen. Wechseln dagegen Normalseren mit pathologischen Seren oder mit einem Kontrollserum, das eine ganze Reihe von Bestandteilen in hoch pathologischen Mengen enthält, ergibt sich ein anderes Bild. Das belegen u. a. die Messungen der Präzision von Tag zu Tag, die in Tabelle 2 und 3 ausgewertet wurden. Es handelt sich um Kontrollen, die im Verlauf eines Monats mitgeführt wurden. Wir haben darauf verzichtet, dabei jeden Tag dasselbe Kontrollserum zu messen, weil nach eigenen Untersuchungen durch längere Lagerung erhebliche Gehaltsänderungen einiger Bestandteile auftraten. Unseren Überlegungen lag zugrunde, daß man dagegen beim Auflösen der Kontrollseren gleicher Charge einen vernachlässigbar kleinen Fehler macht. Die analysierten Seren entstammten mit wenigen Ausnahmen gesunden Probanden. Die Standardabweichungen der Kontrollseren ($n = 50$) stimmen in diesen Untersuchungen weitgehend überein mit den von

Tab. 3

Reproduzierbarkeit der Werte von mitgeführten Technicon-Kontrollseren in den Positionen 10 ($\bar{x}_1$), 20 ($\bar{x}_2$) und 30 ($\bar{x}_3$). $\bar{D}$ gibt die Differenz zum eingestellten Sollwert zu Beginn des jeweiligen Laufes wieder. ($\bar{D} = \bar{x} - [x]$).
 $p = 0,01$

Bestimmung		$\bar{x}_1$	$\bar{D}_1$	$\bar{D}_1\%$	$\bar{x}_2$	$\bar{D}_2$	$\bar{D}_2\%$	$\bar{x}_3$	$\bar{D}_3$	$\bar{D}_3\%$	t-Test	t-Test	t-Test
Cholesterin	mg/100 ml	205,5	3,5	1,73	204,6	2,6	1,29	203,6	1,6	0,79	$\bar{x}_1 > [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Calcium	mg/100 ml	10,370	-0,030	-0,29	10,293	-0,107	-1,03	10,390	-0,010	-0,10	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 < [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Anorg. Phosphat	mg/100 ml P	5,615	0,015	0,27	5,601	0,001	0,02	5,626	0,026	0,46	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Ges.-Bilirubin P	mg/100 ml	2,374	-0,026	-1,08	2,378	-0,022	-0,92	2,401	0,001	0,04	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Albumin	g/100 ml	4,160	-0,041	-0,98	4,193	-0,008	-0,19	4,208	0,008	0,19	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Ges.-Eiweiß	g/100 ml	6,904	0,004	0,06	6,928	0,028	0,41	6,906	0,006	0,09	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Harnsäure	mg/100 ml	6,873	-0,027	-0,39	6,919	0,019	0,28	6,945	0,045	0,65	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Harnstoff-N	mg/100 ml	69,46	0,46	0,67	69,38	0,38	0,55	69,04	0,04	0,06	$\bar{x}_1 > [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Glucose	mg/100 ml	261,1	-5,0	-1,88	267,8	1,8	0,68	267,9	1,9	0,71	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Lactatdehydrogenase W. E. ¹⁾		210,1	-6,9	-3,18	217,4	0,4	0,18	216,5	-0,5	-0,23	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Alk. Phosphatase K. A. E.		27,43	-0,57	-2,04	28,18	0,18	0,64	28,12	0,12	0,43	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$
Aspartattransaminase K. E.		104,0	-3,1	-2,90	107,9	0,9	0,84	106,7	-0,3	-0,28	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$	$\bar{x}_3 = [x]$

¹⁾ Wie bei Tabelle 1.

SCHILY und Mitarbeitern (2) gefundenen. Die Mittelwerte in Tabelle 2 zeigen teilweise signifikante Abweichungen vom zu Beginn des Laufes eingestellten Sollwert. Werden die Daten aber aufgeschlüsselt (Tab. 3) in die Gruppe der Analysen nach der anfänglichen Sollwerteneinstellung (Position 10 des Beschickungsschemas) sowie die nach den Zwischenkorrekturen folgenden Gruppen (Positionen 20 und 30), erkennt man sofort, daß die signifikanten Unterschiede zwischen Sollwert und Mittelwert mit Ausnahme eines Kanals ausschließlich durch die Korrektureinstellung nach den ersten 9 Proben hervorgerufen werden. Das zeigen die drei t-Test-Spalten der Standardserum-Werte nach 9, 19 und 29 Proben. Hier tritt der bekannte Fehler durch Verschleppung von Serum einer Probe in die nachfolgende ganz deutlich in Erscheinung:

Zu Beginn des Laufes wird eine Einstellung mit 2 Kontrollseren vorgenommen, die beim 2. Kontrollserum genau dem Sollwert entspricht. Die hohen Werte des Kontrollserums beeinflussen mindestens die erste Probanden- bzw. Patienten-Serumanalyse. Besonders gravierend ist aber, daß die Bestandteile des nach 9 Serumproben folgenden Standards verdünnt werden durch das vorausgehende Serum. Die nachfolgende Korrektur auf die Sollwerte dieses Standards enthält einen Fehler,

der sich auf alle folgenden Serumanalysen überträgt. Der Fehler ist um so größer, je stärker sich die Gehalte im Testserum von denen im vorausgehenden Serum unterscheiden. Die erste t-Test-Spalte in Tabelle 3 zeigt, daß in unserem Fall besonders Bilirubin, Albumin, Glucose und die drei Enzyme betroffen sind. Ist das falsche Niveau einmal eingestellt, bleiben die Korrekturen nach 20 und 30 Proben folgerichtig wirkungslos, wie die letzten beiden Spalten der Tabelle 3 beweisen. Ein Beschickungsschema der angegebenen Art führt also immer dann zwangsweise zu durchgehend fehlerhaften Bestimmungen ab der 10. Probe, wenn die 9. Probe nicht identisch ist mit dem Testserum in Position 10. Das dürfte für die meisten der 12 Bestandteile des Technicon-Standards in der Regel gelten.

NEILL und Mitarbeiter (3) sowie BROUGHTON und Mitarbeiter (4) haben den Verschleppungsfehler im SMA 12/30 bestimmt, der bei der Aufeinanderfolge von Proben mit hohen und niedrigen Konzentrationen auftritt. Die umfangreichen Untersuchungen von NEILL und Mitarbeitern wurden mit wäßr. Lösungen angestellt. Die hohe Viskosität der Seren ist aber mitbestimmend für die Größe der Verschleppung. Wir haben deshalb Untersuchungen mit Technicon-Kontrollseren durchgeführt, die in Tabelle 4 wiedergegeben sind. Der Verschlep-

Tab. 4

Analysenwerte bei abwechselnder Aufeinanderfolge von unverdünnten ($\bar{x}$) und mit Wasser 1 + 1 verdünnten ($\bar{x}_v$) Technicon-Kontrollseren.
 $n = 15, p = 0,01$

Bestimmung	$\bar{x}$	s	V %	$\bar{D}$	$\bar{D} \%$	[x]	$\bar{x}_v$	s_v	$V_v \%$	$\bar{D}_v$	$\bar{D}_v \%$	[x _v]	t-Test	t-Test
Cholesterin ALT	188,1	0,7	0,39	-13,9	-6,88	202	114,9	1,0	0,86	13,9	13,76	101	$\bar{x} < [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Cholesterin NEU	240,7	1,2	0,50	-12,3	-4,86	253	142,7	1,5	1,05	16,2	12,81	126,5	$\bar{x} < [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Calcium	10,334	0,072	0,69	-0,066	-0,63	10,4	5,265	0,095	1,80	0,065	1,25	5,2	$\bar{x} < [x]$	$\bar{x}_v = [x_v]$
Anorg. Phosphat	5,603	0,028	0,50	0,003	0,05	5,6	2,781	0,027	0,97	-0,019	-0,68	2,8	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v = [x_v]$
Ges.-Bilirubin	2,381	0,009	0,37	-0,019	-0,79	2,4	1,161	0,011	0,91	-0,039	-3,25	1,2	$\bar{x} < [x]$	$\bar{x}_v < [x_v]$
Albumin	4,163	0,013	0,31	-0,037	-0,88	4,2	2,127	0,017	0,80	0,027	1,29	2,1	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Ges.-Eiweiß	6,763	0,057	0,84	-0,137	-1,99	6,9	3,591	0,039	1,09	0,141	4,09	3,45	$\bar{x} < [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Harnsäure	6,892	0,031	0,44	-0,008	-0,12	6,9	3,581	0,051	1,43	0,131	3,80	3,45	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Harnstoff-N	69,05	0,41	0,60	0,05	0,07	69	34,95	0,35	1,00	0,45	1,30	34,5	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Glucose	266,7	2,0	0,74	0,7	0,26	266	141,7	2,6	1,80	8,7	6,54	133	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Lactatdehydrogenase W. E. ¹⁾	214,6	3,4	1,56	-2,4	-1,11	217	119,1	2,9	2,43	10,6	9,77	108,5	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Alk. Phosphatase K. A. E.	27,99	0,36	1,27	-0,01	-0,04	28	15,47	0,23	1,50	1,47	10,50	14	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$
Aspartattransaminase K. E.	106,9	1,0	0,93	-0,1	-0,09	107	56,9	0,9	1,60	3,4	6,36	53,5	$\bar{x} = [x]$	$\bar{x}_v > [x_v]$

¹⁾ Wie bei Tabelle 1.

Tab. 5
Abweichung der Reagenzienbasislinie bei der 10., 20. und 30. Leerprobe.
n = 10

Bestimmung		$\bar{x}_{10}$	$\bar{x}_{20}$	$\bar{x}_{30}$	s_{10}	s_{20}	s_{30}	$\bar{x}$ in % des Kontrollserum-Gehaltes			$\bar{x}$ in % der Skalenbreite		
								10	20	30	10	20	30
Cholesterin	mg/100 ml	0,6	1,3	1,9	0,7	0,5	1,1	0,30	0,64	0,94	0,12	0,26	0,38
Calcium	mg/100 ml	-0,054	-0,008	-0,027	0,041	0,036	0,138	-0,52	-0,08	-0,26	-0,36	-0,05	-0,18
Anorg. Phosphat	mg/100 ml P	0,009	0,026	0,045	0,016	0,028	0,033	0,16	0,46	0,80	0,09	0,26	0,45
Ges.-Bilirubin	mg/100 ml	-0,0004	-0,005	0,001	0,018	0,021	0,027	-0,02	-0,21	0,04	-0,004	-0,05	0,01
Albumin	g/100 ml	0,012	0,011	0,010	0,022	0,036	0,043	0,29	0,26	0,24	0,15	0,14	0,13
Ges.-Eiweiß	g/100 ml	0,015	0,019	0,022	0,018	0,036	0,037	0,22	0,28	0,32	0,15	0,19	0,22
Harnsäure	mg/100 ml	0,001	-0,009	-0,004	0,024	0,035	0,027	0,01	-0,13	-0,06	0,01	-0,08	-0,03
Harnstoff-N	mg/100 ml	-0,04	-0,02	0,004	0,12	0,17	0,15	-0,06	-0,03	0,01	-0,04	-0,02	0,004
Glucose	mg/100 ml	1,3	0,5	1,5	2,3	2,2	3,1	0,49	0,19	0,56	0,26	0,10	0,30
Lactatdehydrogenase	W. E. ¹⁾	-0,1	0,2	0,2	0,5	0,7	0,6	-0,05	0,09	0,09	0,03	0,06	0,06
Alk. Phosphatase	K. A. E.	-0,05	-0,07	-0,05	0,14	0,21	0,27	-0,18	-0,25	-0,18	-0,10	-0,14	-0,10
Aspartattransaminase	K. E.	1,2	2,1	2,7	1,5	2,5	2,9	1,12	1,96	2,52	0,48	0,84	1,08

¹⁾ Wie bei Tabelle 1.

Abb. 1

Aufeinanderfolge von konzentrierten und halbkonzentrierten Technicon-Kontrollseren. Differenz der Mittelwerte $\bar{x}$ und $\bar{x}_v$ zum jeweiligen Sollwert in Skalenteilen

Cholesterin ALT: Bestimmung nach Technicon-Vorschrift
Cholesterin NEU: Bestimmung nach der hier beschriebenen Modifikation des Fließschemas. n = 15

pungsfehler ist für die einzelnen Kanäle unterschiedlich. Bei der Bestimmung von Seren, die abwechselnd die einfache und die doppelte Menge Bestandteile enthalten, erhält man Fehler zwischen 12% und 0%.

Die hohen Werte werden dabei besser erreicht als die tiefen Werte. Das verdeutlicht Abbildung 1. Bei der Bestimmung des Gesamt-Bilirubins wird die Trübung und Färbung des Serums mitgemessen (4). Der Bilirubinkanale wurde zu Beginn der Messung mit unverdünntem Kontrollserum auf den Sollwert eingestellt. Deshalb findet sich in Abbildung 1 für Bilirubin ein unterer Wert, der nicht erwartungsgemäß zu hoch, sondern durch die niedrigere Serumeigenfarbe nach Verdünnung zu niedrig ausfällt. Beim Cholesterin zeigt sich, daß die hier beschriebene Umgestaltung der Bestimmungsmethode (Cholesterin NEU) bessere Ergebnisse bei der Aufeinanderfolge hoher und tiefer Werte liefert.

Richtigkeit und Genauigkeit der Analysenergebnisse sind in weitem Umfang abhängig von der Konstanz der Basislinie und der Analysenlinie. Das Rauschen der Reagenz-Basislinie geht zum großen Teil auf Verunreinigung der Lösungen zurück. Sorgfältiges Filtrieren der Reagenzlösungen und das Vorschalten eines engporigen Filters vor die Ansaugleitung vermindern das Rauschen erheblich (6). Die übrigbleibenden Streuungen der Grundlinie sind aus Tabelle 5 zu ersehen. Die Zahlen beziehen sich jeweils auf das 10., 20. und 30. Blatt von 10 Reagenzien-Leerläufen an verschiedenen Tagen. Sie verdeutlichen beim Vergleich mit den Werten der Präzision von Tag zu Tag (Tab. 2 und 3), daß die zufälligen Schwankungen der Basislinien in den meisten Kanälen eine wesentlich kleinere Streuung hervorrufen. An den stark unterschiedlichen prozentualen Werten, bezogen auf die Skalenbreite in den einzelnen Kanälen, erkennt man, daß die Schwankungen nicht in erster Linie auf den elektrischen Teil des Gerätes zurückgehen, sondern durch das Schlauchsystem und die Reagenz-Lösungen bedingt sind. Aus den Mittelwerten und Standardabweichungen der Positionen 10, 20 und 30 lassen sich zwar für die meisten Kanäle geringe Trends ablesen. Eine signifikante Größe erreichen die Trends aber nur in vier der möglichen 36 t-Tests. Für $p = 0,01$ unterscheiden sich die Mittelwerte von Cholesterin 20, Cholesterin 30, Calcium 10 und Anorg. Phosphat 30 signifikant von 0. Eine Vorstellung von der Größenordnung der Inkonzanz der Basislinie vermitteln die Spalten der Tabelle 5, in denen die Mittelwerte in Prozent des Kontrollserum-Gehaltes aufgeführt sind.

Modifikationen am SMA 12/30-System

Cholesterin

Unbefriedigend verlief die Reaktion der Cholesterinbestimmung im SMA 12/30. Beim Einfließen des Serums in die konzentrierten Säuren traten Ausfällungen auf, die häufig zu Störungen in diesem Kanal führten. Die Ausfällungen waren auch durch Erhöhung des Reagenzüberschusses oder des Schwefelsäure-Anteils nicht zu beheben, wie es der Hersteller vorschlägt. Wir haben das Fließschema deshalb abgeändert. Abbildung 2 gibt die neue Anordnung wieder. Die gesonderte Zuführung von unverdünntem Serum entfällt. Für die Cholesterinbestimmung wird verdünntes Serum der Hauptprobe

Abb. 2

Verändertes Fließschema zur Cholesterin- und Albuminbestimmung sowie zur Hauptprobenverdünnung

Abb. 3

Neues Fließschema der Bestimmung von Gesamtbilirubin

entnommen, wobei der großvolumige Wasserschlauch in Pumpe 1 durch zwei kleinere ersetzt wird (Pos. 21 und 22). Die Mischschlange 105—87 wird direkt mit dem Fitting H-3 verbunden. Zwei Pulsdämpfer glätten den Reagenzfluß. Das Cholesterinreagenz enthält (ähnlich wie im SMA 12/60) zur Bindung des Wassers einen größeren Anteil Essigsäureanhydrid: 350 Teile Eisessig, 550 Teile Essigsäureanhydrid und 100 Teile konz. Schwefelsäure. Mit dieser Anordnung wird die Ablagerung von Protein ganz vermieden. Außerdem haben die Bestimmungen eine größere Richtigkeit, wie Tabelle 4 und Abbildung 1 beweisen. Ein weiterer Vorteil des Fließschemas ist der auf die Hälfte verringerte Serum- und Reagenz-Bedarf.

Gesamtbilirubin

Die täglich frische Bereitung des Diazoniumsalzes der Sulfanilsäure zur Bestimmung von Gesamtbilirubin ist

Abb. 4

Veränderte Standardalarmscheibe

unbequem und birgt auch schon im Verlauf eines Tages durch fortschreitenden Zerfall des Reagenzes einen Unsicherheitsfaktor in sich. Wir haben die freien Positionen der Pumpe 2 benutzt, um das Diazoniumsalz kontinuierlich aus den Komponenten frisch zu bereiten. Abbildung 3 zeigt die neue Anordnung, die eine kaum begrenzte Haltbarkeit der Lösungen dieser Bestimmung gewährleistet.

Zusatz zur Standardalarmscheibe

Über der Standardalarmscheibe haben wir eine weitere etwas kleinere Scheibe angebracht, die in 30 numerierte Segmente eingeteilt ist (Abb. 4).

Die segmentierte Scheibe läßt sich gegen die Alarmscheibe verdrehen. Sie zeigt bei entsprechender Einstellung in jeder Phase des Laufes die Nummer der Probe an, die gerade geschrieben wird und hilft so Zuordnungsirrtümer vermeiden. Beim Eintauchen der Probennehmernadel in die erste Probe wird die Scheibe auf das Segment 25 eingestellt. Gleichzeitig werden die Kerben der Alarmscheibe auf die Positionsnummern vor den eingestellten Standards gebracht. Für das von uns neuerdings benutzte Beschickungsschema haben wir eine neue Standardalarmscheibe mit nur zwei sich gegenüberliegenden Kerben angefertigt.

Weitere Veränderungen

Bei den Untersuchungen zeigte sich, daß die Pumpenschläuche, die besonders großvolumig sind, wesentlich stärker unter der Beanspruchung durch die Pumpen

leiden. Dadurch werden Flüssigkeitsmengen unregelmäßig gefördert, was sich u. a. durch ständige Veränderung des „phasing“ bemerkbar macht. Um diese Erscheinung weitgehend zu beseitigen, haben wir dort, wo es freie Positionen an den Pumpen zuließen, jeden großvolumigen Pumpenschlauch durch zwei kleinere mit der gleichen Gesamtförderleistung ersetzt. Das war beim Albumin-HABA-Reagenz, beim Gesamteiweiß-Biuret-Reagenz und, wie schon unter Cholesterin erwähnt, beim Wasserschlauch der Hauptproben-Verdünnung der Fall. Die Verdünnung der Hauptprobe ist von besonderer Bedeutung, da sie sich auf alle Kanäle auswirkt. Die Möglichkeit eines weiteren systematischen Fehlers bergen die Reagenzien, die im Kühlschrank aufbewahrt werden. Diese Reagenzien müssen bereits die Temperatur des Kühlschrank-Innenraumes haben, wenn sie in das System gepumpt werden. Das gilt auch für die täglich frisch zu bereitenden Lösungen, die spätestens 2–3 Stunden vor Benutzung oder aber am Ende des vorherigen Arbeitstages kühlgestellt werden müssen. Werden Lösungen mit Raumtemperatur in den Kühlschrank gestellt und sogleich gepumpt, so wird vermutlich durch die bei der folgenden kontinuierlichen Abkühlung steigende Dichte immer mehr Reagenz gefördert. Wir haben z. B. bei der alkalischen Phosphatase eine Abweichung der Reagenzienbasislinie um etwa 1 KING-ARMSTRONG-Einheit bzw. 2% der Skalenbreite beobachtet.

Diskussion

Die mitgeteilten Versuche zur Zuverlässigkeit des SMA 12/30-Survey zeigen, daß die zu erhaltenden Serumwerte in allen 12 Kanälen in der ursprünglichen Ausrüstung des Gerätes den mit manuellen Techniken erhaltenen überlegen sind. Bei sorgfältiger Bedienung des Gerätes erreicht man durchweg Variationskoeffizienten unter 1%. Die nicht kinetischen Bestimmungen der Enzyme bilden dabei keine Ausnahmen. Die Genauigkeit der Enzymwerte ist durchaus vergleichbar den Werten, die mit kinetischer Technik (im Enzymautomaten 5010 der Firma Netheler und Hinz) (7) erreicht werden. Die Richtigkeit aller Werte hängt in erster Linie von der Richtigkeit

der angegebenen Bestandteile des Kontrollserums sowie der Handhabung des Kontrollserums ab. Um den Fehler zu vermeiden, der nachgewiesen entsteht, wenn das bisherige Beschickungsschema benutzt wird, empfehlen wir eine andere Anordnung zur Korrektureinstellung, die wir neuerdings mit gutem Erfolg anwenden:

1. Zu Beginn des Arbeitstages werden nach der Einstellung des Schreibernullpunktes und der Reagenzienbasislinie zunächst 3–5 Kontrollseren vom Vortag zur Kontrolle und Einstellung des „phasing“ benutzt. Anschließend werden 2 frisch hergestellte Kontrollseren für die Sollwerteinstellung und 2 Kontrollseren vom Vortag zur Zuverlässigkeitskontrolle analysiert. Als nächstes wird erneut die Reagenzienbasislinie mit 2, besser 3 Leerproben überprüft.

2. Das sich ständig wiederholende Beschickungsschema setzt sich wie folgt zusammen:

- 1 Kontrollserum
- 2 Kontrollserum
- 3 Pool-Serum
- 4–15 Probanden-(Patienten-)Seren
- 16 Kontrollserum
- 17 Kontrollserum
- 18 Poolserum
- 19–30 Probanden-(Patienten-)Seren
- 31–33 Leerproben

Die 1. bzw. 16. Probe dient dem Auffangen des Verdünnungsanteiles aus der vorhergehenden Leer- bzw. Probanden-(Patienten-)Probe sowie der Angleichung an die hohen Werte des folgenden, zur endgültigen Korrektur benutzten Kontrollserums. Nach der Korrektur wird ein Humanpoolserum mit normalen Werten eingesetzt, dessen Bestandteile nicht bestimmt sein müssen. Damit erreicht man, daß die erste nachfolgende Serumprobe im Bereich der besonders wichtigen Normalwerte durch Verschleppung nicht beeinflusst wird. Ist eine „phasing“-Korrektur nötig, so werden nach der 30. Probe 2 Kontrollseren eingesetzt, bei deren Durchlauf die Korrektur vorgenommen wird. Das ist jedoch nach den Veränderungen am Schlauchsystem nur noch selten erforderlich.

Literatur

- 1. BÜTTNER, H. und D. STAMM, diese Z. 4, 303 (1966). — 2. SCHILY, K., M. EGGSTEIN, W. KNODEL, R. ALLNER, S. HENIG und E. KUHLMANN, diese Z. 7, 66 (1969). — 3. NEILL, D. W., J. R. DOGGART und A. MITCHELL, European Technicon Symposium „Automation in Analytical Chemistry“, Brighton, Nov. 1967. — 4. BROUGHTON, P. M. G., D. SIMPSON, F. L. MITCHELL, C. TOOT-

- HILL und L. G. WHITBY, Clin. chim. Acta (Amsterdam) 19, 297 (1968). — 5. EGGSTEIN, M., R. ALLNER, E. KUHLMANN und W. KNODEL, Klin. Wschr. 44, 424 (1966). — 6. RICHTERICH, R., Symposium über das diagnostische Informationssystem der Medizinischen Universitätsklinik, Tübingen, Februar 1969. — 7. HOFFMEISTER, H. und B. JUNGE, in Vorbereitung.

Priv.-Doz. Dr. H. Hoffmeister
Direktor und Professor
am Bundesgesundheitsamt
1000 Berlin 33, Postfach