

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 475—476, September 1970

Zusatzvorrichtung zu einem Projektions- und Ausmeßgerät für Geldiffusionsverfahren

Von W. GROC

Aus dem Heinrich-Pette-Institut für experimentelle Virologie und Immunologie an der Universität Hamburg

(Eingegangen am 24. April 1970)

Eine Zusatzvorrichtung zu einem Projektions- und Ausmeßgerät für Immunpräzipitate wird beschrieben. Die erreichte Verfeinerung der Meßtechnik wird am Beispiel der Erweiterung des Meßbereiches von Partigenplatten für fünf verschiedene Eiweißantigene dokumentiert.

Auxillary equipment for the projection and measurement of gel diffusion patterns

An apparatus is described for the projection and measurement of immunoprecipitates. This refinement in measuring technique is illustrated by the increased measuring range of plates for five different protein antigens.

Bei der Untersuchung eiweißarmer Körperflüssigkeiten mit Hilfe von quantitativen Geldiffusionsmethoden kann es einerseits zur Bildung sehr schwacher, andererseits zur Entstehung äußerst kleiner Immunpräzipitationsringe kommen. In beiden Fällen ist eine genaue Messung der Präzipitationsringdurchmesser (D) schwierig, manchmal sogar unmöglich.

Die üblichen Meßschablonen, Meßlupen und ähnliche Vorrichtungen, die bei routinemäßigen Gehaltsbestimmungen einer großen Zahl von Proteinantigenen im Blutserum ausreichend genaue Messungen gestatten, vermögen es nicht, präzise und reproduzierbar, so feine Größenunterschiede zu erfassen wie dies zum Beispiel bei Untersuchungen von nicht eingegemtem Liquor cerebrospinalis mit Hilfe verschiedener Methoden der radialen Immundiffusion (1, 2, 3) notwendig ist. Für solche Zwecke verwendet man am besten Projektionsgeräte mit Mattscheibe und Meßvorrichtung.

Über das Problem der Auswertung besonders schwacher Immunpräzipitate wurde von uns an anderer Stelle berichtet (4). Zweck der vorliegenden kurzen Mitteilung ist die Beschreibung einer Zusatzvorrichtung zum Multiskop¹⁾, durch die der Vergrößerungsfaktor vom 12fachen auf das 17,4fache erhöht wird. Wir ergänzten hierzu das oben erwähnte Gerät mit Vorsatzlinsen, einem Objekthalter und einer Hebevorrichtung. Diese setzten wir aus den Teilen eines Mikroskop-Kreuztisches zusammen und befestigten sie gemeinsam mit der abnehmbaren Deckplatte an der Vorderseite des Multiskops.

Ergänzt man das Objektiv des Multiskops mit Vorsatzlinsen, ist es notwendig, die Entfernung zwischen Präparat und Objektiv zu ändern, damit das Bild auf der Mattscheibe des Projektionsgerätes scharf eingestellt werden kann. Zur reproduzierbaren Höheneinstellung dienen Skala und Nonius des verwendeten Kreuztisches. Den Schneckengang des Multiskopobjektivs ver-

sahen wir ebenfalls mit einer Millimetermarkierung. Beide Skalenteilungen dienen bei Wiederholungs- oder Reihenmessungen dazu, in Absolutwerten reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Das ist besonders bei Simultanbestimmungen von Proteinantigenen wichtig, da

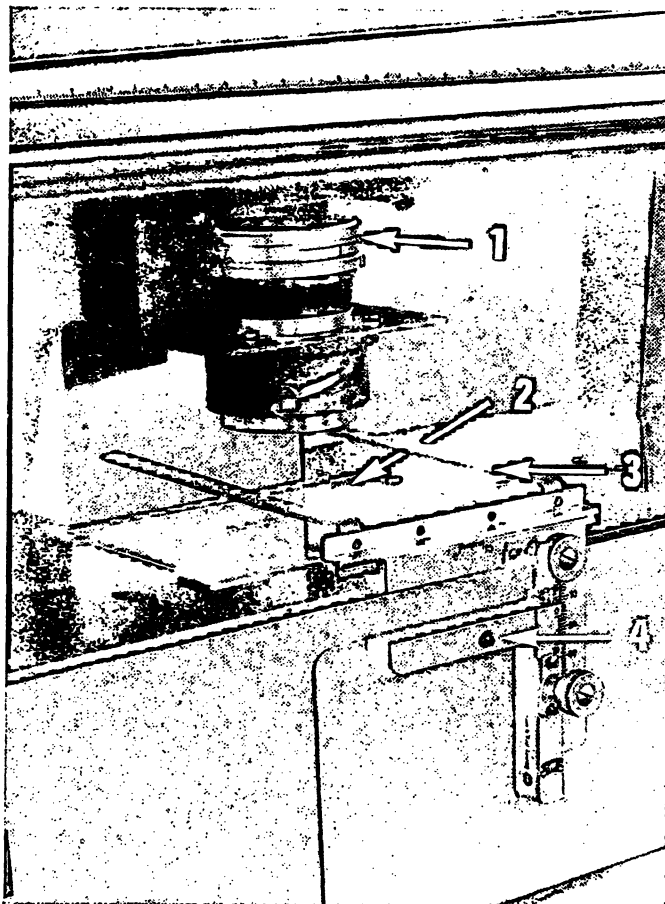


Abb. 1

Zusatzvorrichtung zum Multiskop (Desaga, Heidelberg)

1. Zusätzliche Vorsatzlinsen (Fa. B + W-Filterfabrik, Wiesbaden)
2. Glasplatte mit Fadenkreuz, dessen Schnittpunkt in der optischen Achse liegt
3. Objekthalter
4. Hebevorrichtung

¹⁾ Desaga, Heidelberg.

hier die zur Aufstellung von Eichkurven notwendigen Proteinantigengemische verschiedener Konzentrationen sowie auch die einzelnen Analysenproben auf je einem selbständigen Objektträger oder einer separaten Plastikschale untersucht und gemessen werden (3, 5). Die Verwendung des bereits an anderer Stelle erwähnten Fadenzkreuzes (4), dessen Schnittpunkt in der optischen Achse liegt, ermöglicht das bei unserem Arbeiten mit Vorsatzlinsen notwendige Auswerten der Präzipitatriנגdurchmesser in der Mitte des Blickfeldes (ohne Verzeichnung).

Nach unseren Erfahrungen (mehrere tausend Messungen) gestattet das Gerät auch mit der Zusatzvorrichtung bei Einhaltung aller optischen Kriterien ein bequemes, schnelles und zuverlässiges Arbeiten. Wir konnten zum Beispiel die untere Grenze des Meßbereiches von Partigenplatten gegenüber der vom Hersteller²⁾ empfohlenen bedeutend, bei einigen Eiweißantigenen sogar um ungefähr eine Zehnerpotenz (Transferrin, Immunglobulin A) herabsetzen. Beim Präalbumin konnten wir den für unseren „Normalliquorpool“ gefundenen Wert (3) um fast 50% unterschreiten (Tab. 1).

Bei der Auswertung der Partigenplatten nach der Formel $D^2 = k_1 C + k_2$ (6) ist zu beachten, daß sich die Konstante k_2 bei Verwendung von Vergrößerungs-

apparaten oder Projektionsgeräten zum Ablesen von D in Abhängigkeit vom Vergrößerungsfaktor ändert. Der Ordinaten Schnittpunkt liegt bei unseren Messungen demnach höher als bei $7,2 \pm 1,5$ mm (6), was aus der Tabelle 2 ersichtlich ist.

Bei der graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse nach der oben angeführten Formel ändert sich der Neigungswinkel α der Bezugskurve und damit k_1 , unter anderem auch in Abhängigkeit vom Maßstabverhältnis der Ordinate zur Abszisse. Bei unseren Versuchen, bei denen wir einerseits mit sehr niedrigen Proteinantigenkonzentrationen arbeiteten und andererseits die Präzipitatriנגdurchmesser D nach entsprechender Vergrößerung bestimmten, erwies es sich als zweckmäßig, eine Maßstabänderung der Ordinaten- zur Abszissen- teilung von 1:1 auf 1:2,5 vorzunehmen. Als Beispiel führen wir unsere Bezugskurve für IgA an.

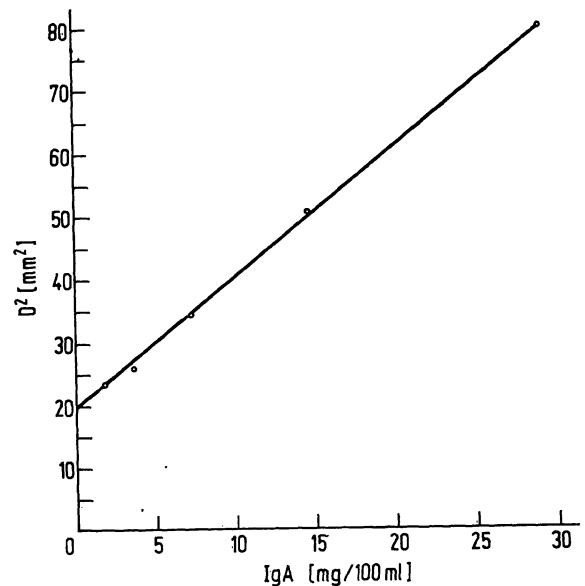


Abb. 2

Eichkurve für die Bestimmung von IgA mit Partigenplatte. Die Präzipitatriנגdurchmesser D wurden mit dem Multiskop mit Zusatzvorrichtung ausgemessen

Tab. 1
Erweiterung des Meßbereiches bei der Aufstellung von Eichkurven auf Partigenplatten
Mit Hilfe einer Zusatzvorrichtung zum Desaga-Multiskop
(Verwendet wurde stabilisiertes Standard-Humanserum Behring Op. Nr. 369)

	Vom Hersteller empfohlene untere Meßbereichgrenze	Untere Meßbereichgrenze bei Verwendung der Zusatzvorrichtung
Proteinantigen		
Präalbumin	in mg/100 ml keine Angabe	in mg/100 ml bis 0,23
α_1 -Antitrypsin	bis 10	bis 2,3
Transferrin	bis 25	bis 2,4
Immunglobulin A	bis 15	bis 1,8
Immunglobulin G	bis 15	bis 10,0

Tab. 2
Mittelwerte von k_2 für Partigenplatten in mm²
Präzipitatriנגdurchmesser D gemessen mit

Meßschablone Behring	Multiskop	Multiskop und Vorsatzlinse 3	Multiskop und Vorsatzlinse 4	Multiskop und Vorsatzlinse 3 und 4
$k_2 = 7,2$	11,02	15,52	17,05	21,72

²⁾ Behringwerke AG, Marburg/L.

Abschließend bleibt noch festzustellen, daß die Ablesegenauigkeit, die auf dem Meßband des Multiskops $\sim \pm 0,25$ mm beträgt, bei 17,4facher Vergrößerung des Präzipitatriנגdurchmessers noch Unterschiede von $\sim 0,029$ mm der Originalgröße zu erfassen imstande ist.

Herrn HELMUT VOSS danke ich für wertvolle technische Assistenz.

Literatur

1. LATERRE, E. C., H. HEULLE, G. MANCINI und J. F. HEREMANS, Protides of the biological Fluids. Section A Proteins of the Nervous System 227 (1965). — 2. FAHEY, J. L. und E. M. MC KELVEY, J. Immunol. Baltimore 94, 84 (1964). — 3. GROG, W., Ärztl.

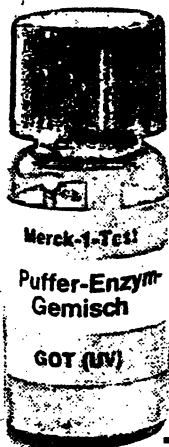
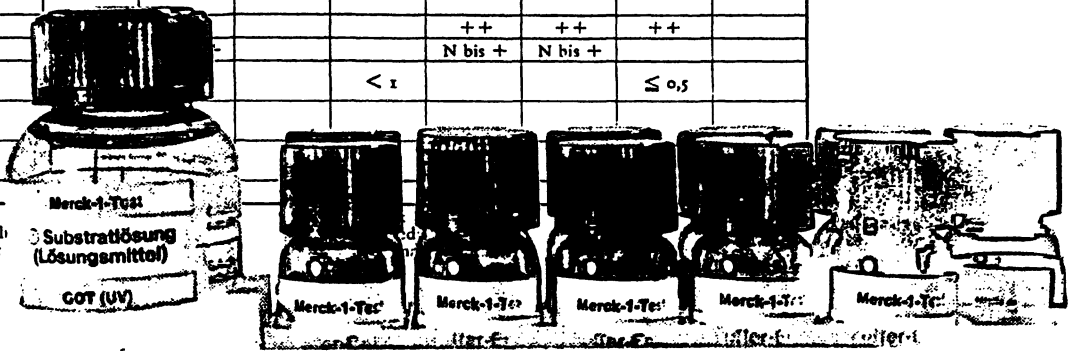
Lab. 16, 15 (1970). — 4. GROG, W., Das Med. Lab. (im Druck). — 5. GROG, W., Kulenda, Z., Ärztl. Lab. 15, 295 (1969). — 6. BECKER, W., Immunochemistry 6, 539 (1969).

Dr. W. Groc
Heinrich-Pette-Inst.
2 Hamburg 20
Martinistr. 52

Differentialdiagnose von Herz- und Lebererkrankungen

Erkrankungen	AP	GOT	GPT	$\frac{GOT}{GPT}$	LDH	HBDH	$\frac{HBDH}{LDH}$	CIIE
Leberdiagnostik								
Hepatitis, anikterische und Prodromalstadium			++					
Akute Hepatitis	N bis +	++	+++	meist < 1	+			
Cholestatische Hepatose	++	+	+					
Toxische Hepatose		+++	+++					
Parenchymikterus	N	+++	+++		++			
Verschlußikterus	+++	N bis +	N bis +		N bis +			
Hämolytischer Ikterus	N	N	N		++			
Chron. Hepatitis und Leberzirrhose		+	+	meist > 1				
Akuter Schub einer chron. Hepatitis bzw. Zirrhose		++	++					
Fettleber	N bis +	N bis +	N bis +					
Metastasenleber	++	+	+	> 1	++			
Herzdiagnostik								
Herzinfarkt					++	++	++	
Angina pectoris					N bis +	N bis +		
Herzinsuffizienz mit Leberstauung				< 1			≤ 0,5	
Perikarditis, nur in der schwersten Form								
Myokarditis, nur bei Herzmuskelnekrosen								
Lungeninfarkt								

Abkürzungen:
 + wenig bzw. verhält
 ++ signifikant erhöht



Merck-1-Test GOT (UV-Test)

Diagnostica

MERCK

297

Merck-1-Test®

Das moderne Konzept für Sicherheit und Zeitersparnis in Klinik- und Praxislabor.

Merck-1-Test® Alkalische Phosphatase (kin. Test)

Merck-1-Test® Cholinesterase (kin. Test)

Merck-1-Test® GOT (UV)

Merck-1-Test® GPT (UV)

Merck-1-Test® HBDH (UV)

Merck-1-Test® LDH (UV)

Verlangen Sie bitte unseren Spezial-Prospekt.

E. Merck, Darmstadt



Eine weitere Neuheit von Sigma
Testsätze und Reagenzien für die

automatisierte enzymatische Bestimmung von Glucose

mit den Enzymen Glucoseoxydase/Peroxydase
nach dem Sigma Technical Bulletin Nr. 970

Einfach • schnell • empfindlich • genau • zuverlässig

Keine Störung durch Harnsäure
Keine Bildung unlöslicher Farbkomplexe
Reaktionstemperatur 37° C

Das manuelle Verfahren für die Glucosebestimmung mit Glucoseoxydase und Peroxydase hat sich als das zuverlässigste und genaueste längst durchgesetzt. Sigma ist stolz, jetzt ein enzymatisches Verfahren zur Glucosebestimmung mit dem AutoAnalyzer®, Ein-, Zwei- oder SMA®-Mehrkanalgerät, bei 420—440 nm anbieten zu können.

Es konnte eine hervorragende Korrelation der Ergebnisse unseres neuen automatisierten Verfahrens (Bulletin 970) mit denen des manuellen enzymatischen Verfahrens (Bulletin 510) gezeigt werden.

**Wir bieten an: Testsatz Nr. 970-A Anzahl der Bestimmungen: etwa 3000 Preis: \$ 50.50
(weniger als 2 cent pro Test)**

Fracht- und portofreie Lieferung in alle Welt (wir bezahlen alle normalen Versandkosten)
Sigma Technical Bulletin Nr. 970 erhalten Sie auf Anfrage

Sigma bietet bereits verschiedene manuelle Verfahren zur Glucosebestimmung an. Bitte, schlagen Sie in unserem neuesten Katalog Klinische Chemie nach oder fordern Sie Technical Bulletins Nr. 14, 510 und 635 an.

AutoAnalyzer und SMA sind registrierte Warenzeichen der Technicon Corp.

Der neue Katalog „Clinical Chemistry“ ist jetzt von Sigma erhältlich. Er enthält ein komplettes Verzeichnis aller Sigma Testsätze und Reagenzien für manuelle und automatisierte Methoden.

Erbitten Sie jetzt Ihr kostenloses Exemplar.
Schreiben Sie an Department K.

Es ist ein Vergnügen mit Sigma Geschäfte zu tätigen.

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, Lattice St., London S. W. 6 ENG. • Telephone: RENown-5823 (Rückberechnung)