

Aus der Abteilung für Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik
- Zentrallaboratorium -

Direktor: Prof. Dr. Harald Renz

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

Patientennahe Sofortdiagnostik und Glykolyseinhibition in der Blutglukoseanalytik

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität vorgelegt von

**Daniel Opitz
aus Hamburg**

Marburg 2007

Angenommen vom Fachbereich Medizin der
Philipps-Universität Marburg am 14. Juni 2007
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. Bernhard Maisch
Referent: PD Dr. Dr. Hans Günther Wahl
Korreferent: Prof. Dr. Dr. Norbert Katz

Meinen Eltern
und
meiner Frau Sylvia

Patientennahe Sofortdiagnostik und Glykolyseinhibition in der Blutglukoseanalytik

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG.....	1
1.	Diabetes mellitus	1
1.1.	Geschichte	1
1.2.	Definition und Epidemiologie	2
1.3.	Klassifikation	2
1.4.	Diagnose.....	3
1.5.	Therapie.....	4
2.	Blutzuckermessung	6
2.1.	Messmethoden.....	6
2.2.	Probenmaterialien für die Blutglukosebestimmung	8
2.3.	Glykolyseinhibitoren	10
3.	Patientennahe Sofortdiagnostik (Point-of-Care-Testing).....	12
3.1.	Definition und Anwendung	12
3.2.	POCT1-A	13
4.	Fragestellung	14
II	MATERIAL UND METHODEN.....	15
1.	Evaluation des HemoCue 201 DM.....	15
1.1.	Versuchsdesign.....	15
1.2.	Untersuchungsgut.....	16
1.3.	Analysegeräte	16
1.4.	Statistische Auswertung	19
2.	Evaluation der Glykolyseinhibitoren	20
2.1.	Versuchsdesign.....	20
2.2.	Probanden.....	20
2.3.	Analysegerät.....	21
2.4.	Statistische Auswertung	21

III	ERGEBNISSE.....	22
1.	Evaluation des HemoCue 201 DM.....	22
1.1.	Bestimmung der Unpräzision.....	22
1.2.	Methodenvergleich.....	23
1.3.	Anschluss an das Laborinformationssystem (LIS) und praktische Anwendung..	26
2.	Evaluation der Glykolyseinhibitoren	28
2.1.	Vergleich von Lithiumheparin, Natriumfluorid und Jodacetat bei gesunden Probanden.....	28
2.2.	Vergleich von Lithiumheparin und Natriumfluorid bei diabetischen Patienten und gesunden Probanden.....	37
IV	DISKUSSION.....	42
1.	Evaluation des HemoCue 201 DM.....	42
1.1.	Bestimmung der Unpräzision.....	42
1.2.	Methodenvergleich.....	43
1.3.	Anschluss an das Laborinformationssystem (LIS) und praktische Anwendung..	43
1.4.	Vor- und Nachteile des POCT	44
2.	Evaluation der Glykolyseinhibitoren	45
2.1.	Vergleich von Lithiumheparin, Natriumfluorid und Jodacetat bei gesunden Probanden.....	45
2.2.	Vergleich von Jodacetat und Natriumfluorid	49
2.3.	Vergleich von Lithiumheparin und Natriumfluorid bei diabetischen Patienten und gesunden Probanden.....	49
V	ZUSAMMENFASSUNG.....	52
1.	Evaluation des HemoCue 201 DM.....	52
2.	Evaluation der Glykolyseinhibitoren	52
VI	LITERATURVERZEICHNIS.....	54
VII	LEBENS LAUF.....	61
VIII	VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER.....	63
IX	DANKSAGUNG.....	64

I EINLEITUNG

1. *Diabetes mellitus*

1.1. Geschichte

Aus dem 2. Jh. n. Chr. stammt die klassische Beschreibung des Diabetes (altgriechisch - διαβαίνειν: hindurchgehen, hindurchfließen) mellitus (lateinisch: mit Honig versüßt). von Aretaios von Kappadokien (81-138 n. Chr.): „Eine wunderbare Krankheit ist der Diabetes... Fleisch und Bein schmilzt in Urin zusammen. Nie hören die Kranken auf, Harn zu lassen, sondern wie aus geöffneten Schleusen rinnt er unaufhörlich. Über der Entstehung und weiteren Entwicklung der Krankheit geht eine geraume Zeit hin: ist sie aber erst vollkommen ausgebildet, so befindet sich auch der Mensch nahe am Ende seiner Tage: denn die Abzehrung nimmt rasch überhand: und nach einem elenden, schmerzvollen Leben erfolgt schleunig der Tod (1).“ Bereits 1550 v. Chr. wurde in Ägypten eine Schriftrolle verfasst (Papyrus Ebers), die an Diabetes denken lässt und der Inder Susruta beschreibt 400 v. Chr. klebrigen süßlichen Urin (2).

In der Diagnostik des Diabetes wurde anfangs nur Urin verwendet. 1776 und 1780 gelang Dobson und Home der Nachweis von Zucker im Urin von Diabetikern und 1838 identifizierten die Franzosen Peligot und Bouchardat den Zucker als Glukose. Der erste Test zur quantitativen Bestimmung von Glukose im Urin wurde 1850 von Fehling und Trommer entwickelt, die „Fehlingsche Lösung“. Im Jahre 1941 brachten Miles Laboratories mit Clinitest® Tabletten auf den Markt, auf die man Urin träufeln und dadurch den ungefähren Urinzucker bestimmen konnte.

Im weiteren Verlauf gewann die Glukosebestimmung im Blut immer mehr an Bedeutung. 1957 entwickelten Huggett und Nixon die erste hochspezifische enzymatische Glukosebestimmung (Glukoseoxidase-Methode) und 1965 führte die Ames Company (gehörte zu Miles Laboratories) mit Dextrostix® den ersten Teststreifen zur Blutglukoseselbstbestimmung auf dem Markt ein, der zu Diskussionen führte, ob der Patient tatsächlich seinen Blutzucker selber messen sollte. Ames brachte dann 1969 mit dem Ames Reflectance Meter® das erste tragbare Blutzuckermessgerät auf den Markt. 1968 entdeckte Samuel Rahbar in Teheran glykolisiertes Hämoglobin HbA_{1c} zur Kontrolle der Langzeiteinstellung des Diabetes (2,3). Die WHO veröffentlichte 1965 die Empfehlungen zur Diagnostik und Klassifikation des Diabetes (4), die im Jahr 1997 von der American Diabetes Association (5) revidiert wurden. Die

revidierten Kriterien wurden 1998 von der WHO und 2000 von der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) übernommen.

1.2. Definition und Epidemiologie

Der Diabetes mellitus ist eine Stoffwechselkrankheit, die auf einem absoluten oder relativen Mangel an Insulin beruht. In den Diabetes-Leitlinien der Deutschen Diabetes-Gesellschaft wird er als „eine durch den Leitbefund chronischer Hyperglykämie charakterisierte Regulationsstörung des Stoffwechsels“ definiert. „Es liegt entweder eine gestörte Insulinsekretion oder eine verminderte Insulinwirkung oder auch beides zugrunde (6).“

1995 betrug die weltweite Prävalenz von Diabetes mellitus ungefähr 4%. Diese soll sich auf 5,4% im Jahre 2025 steigern (7). Gründe für diese Zunahme sind eine Steigerung der Prävalenz von Adipositas, die Verlängerung der Lebenserwartung von Diabetikern, die Verbesserung in der Diagnostik und eine Veränderung der Diagnosekriterien. In Deutschland geht man von einer Prävalenz von 7-8 % der erwachsenen Bevölkerung aus (8). Die Inzidenz liegt für alle Altersgruppen in Deutschland bei 358/100 000 und bezogen auf die über 60jährigen bei 1200/100 000 (9). Es gibt ungefähr zehnmal mehr Patienten mit Typ 2 Diabetes als solche mit Typ 1 Diabetes (10).

1.3. Klassifikation

Die 1997 von der American Diabetes Association (ADA) revidierte Klassifikation (5) teilt Diabetes nach der Ätiologie in 4 Gruppen ein: Diabetes mellitus Typ 1 (immunologisch vermittelt oder idiopathisch) und Diabetes mellitus Typ 2, bei dem entweder eine vorwiegende Verringerung der Insulinsekretion und eine Insulinresistenz oder eine vorwiegende Insulinresistenz und ein relativer Insulinmangel bestehen. Als dritte Gruppe werden andere spezifische Diabetestypen aufgeführt, die unterschiedlichste Ursachen haben, wie z.B. einen genetischen Defekt der β -Zellen (ehemals MODY), einen genetischen Defekt der Insulinresistenz, Endokrinopathien, Erkrankungen des exokrinen Pankreas, medikamenten- oder chemikalieninduziert, Infektionen oder genetische Syndrome, die mit einem Diabetes assoziiert sind. Die vierte Gruppe umfasst den Gestationsdiabetes.

1.4. Diagnose

Der Diabetes mellitus Typ II bleibt lange Zeit asymptomatisch und stellt meist einen Zufallsbefund dar. Der Diabetes mellitus Typ I geht hingegen meist mit den klassischen Symptomen einher: Polyurie, Polydipsie, Ketoazidose und Gewichtsverlust.

Die Diagnose Diabetes mellitus kann, wie in Tabelle 1 ersichtlich, in venöser Plasmaglukose prinzipiell auf Grund von drei verschiedenen Befunden gestellt werden: Ein Nüchternglukosewert (d.h. Bestimmung nach 8 Stunden Nahrungskarenz) ≥ 126 mg/dl (≥ 7 mmol/l), ein Gelegenheitsglukosewert (d.h. zu jeder beliebigen Tageszeit, unabhängig von den Mahlzeiten) ≥ 200 mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/l), sowie bei unklaren Fällen ein Zweistundenwert im oralen Glukosetoleranztest (OGTT) ≥ 200 mg/dl.

Stadium	Nüchternglukose	Gelegenheitsglukose	OGTT-2-h-Wert
Gesund	<110 mg/dl		<140 mg/dl
Impaired Fasting Glukose (IFG)	≥ 110 mg/dl < 126 mg/dl		
Impaired Glucose Tolerance (IGT)			≥ 140 mg/dl < 200 mg/dl
Diabetes mellitus	≥ 126 mg/dl	≥ 200 mg/dl	≥ 200 mg/dl

Tabelle 1: Diagnosekriterien für Diabetes mellitus in venösem Plasma

Bei einem Nüchternglukosewert zwischen 110 (6,1 mmol/l) und 125 mg/dl wird von einer „abnormen Nüchternglukose“ (Impaired Fasting Glucose = IFG) gesprochen. Ein Zweistundenwert im OGTT zwischen 140 (7,8 mmol/l) und 199 mg/dl wird als „gestörte Glukosetoleranz“ (Impaired Glucose Tolerance = IGT) bezeichnet.

Die Diagnose „Diabetes“ wird im Zweifelsfall durch Wiederholungsbestimmungen gesichert und „darf nur mit Glukosewerten gestellt werden, die mit einer qualitätskontrollierten Labormethode gemessen wurden. Geräte zur Blutzucker-selbstmessung eignen sich hierfür unter keinen Umständen (6).“ Die WHO empfiehlt ausdrücklich die Verwendung von venösem Plasma zur Diagnosestellung. Das glykolyisierte Hämoglobin (HbA_{1c}) eignet sich derzeit noch nicht als Diagnosekriterium. Als Screening-Untersuchung wird ab 45 Jahren einmal alle 3 Jahre eine Bestimmung

der Nüchternblutglukose empfohlen, wenn Risikofaktoren vorliegen schon früher und in kürzeren Intervallen (11-15).

1.4.1. Akute Komplikationen

Das ketoazidotische Koma ist typisch für Typ I Diabetes. Durch den absoluten Insulinmangel kommt es sowohl zur Hyperglykämie und Hyperosmolarität mit osmotischer Diurese und Dehydratation, als auch zur gesteigerten Lipolyse mit Bildung von Ketonen, die wiederum zu einer metabolischen Azidose führen. Das hyperosmolare Koma tritt charakteristischerweise beim Typ II Diabetes auf. Hierbei verhindern geringe Mengen Insulin durch Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe eine Ketose. Ursächlich für den hypoglykämischen Schock ist ein relativer oder absoluter Insulinüberschuss, der z.B. durch körperliche Aktivität, weggelassene Mahlzeiten, unzureichende Kohlenhydratzufuhr, Insulinüberdosierung oder Alkoholgenuss zustande kommen kann.

1.4.2. Spätkomplikationen

Der Verlauf des Diabetes wird heutzutage überwiegend durch das Ausmaß der Gefäßschäden bestimmt. Gefäßbedingte Todesursachen beim Diabetes mellitus betragen gegenwärtig ca. 80%. Die diabetischen Gefäßschäden werden unterteilt in eine diabetesspezifische Mikroangiopathie mit Verdickung der Basalmembran und eine unspezifische Makroangiopathie mit Früharteriosklerose. Unter Makroangiopathie fallen koronare Herzkrankheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK) und zerebrale Durchblutungsstörungen. Klinisch manifestiert sich die Mikroangiopathie in Form von diabetischer Glomerulosklerose nach Kimmelstiel-Wilson, Retinopathie und Neuropathie. Die Neuropathien werden eingeteilt in periphere sensomotorische Polyneuropathie, Mononeuropathie und autonome Neuropathie. Der „diabetische Fuß“ kann sowohl eine neuropathische als auch eine ischämische (PAVK) Ätiologie haben sowie eine Kombination beider darstellen (16, 17).

1.5. Therapie

Die Behandlungsansätze bei Typ I und Typ II Diabetes unterscheiden sich voneinander. Während bei Patienten mit Diabetes Typ I eine optimale Abstimmung der Insulin- und Nahrungszufuhr unverzichtbar ist, kann bei den übergewichtigen Patienten mit Diabetes Typ II auch durch eine Gewichtsnormalisierung schon eine Besserung erreicht werden. Im Vordergrund stehen beim Typ II Diabetes daher zuerst Basistherapiemaßnahmen wie körperliche Bewegung und Umstellen der Ernährungsgewohnheiten mit dem Ziel der Gewichtsreduktion. Zeigt diese Therapie keinen Erfolg, ist eine medikamentöse

Therapie mit oralen Antidiabetika indiziert, die folgende Substanzen umfassen: Sulfonylharnstoffe, Glinide, α -Glukosidasehemmer, Biguanide und Glitazone. Im weiteren Verlauf kann der Diabetes Typ II insulinpflichtig werden. Die „United Kingdom Prospective Diabetes Study“ (18) bei Patienten mit Diabetes Typ II verdeutlichte, dass nicht die Art der Therapie, sondern die Senkung des Blutzuckers für die Prognose entscheidend ist.

Der Patient mit Diabetes mellitus Typ I wird gleich zu Beginn der Erkrankung mit Insulin behandelt. Hierzu stehen verschiedene Insulingruppen zur Verfügung: Die kurzwirkenden Insuline (Normalinsulin und kurz wirkende Insulinanaloga), die Verzögerungsinsuline (Intermediärinsuline und Langzeitinsuline), sowie Mischungen aus Normalinsulinen und Neutrale-Protamin-Hagedorn-Insulinen (NPH-Insuline sind Intermediärinsuline, die sich im Gegensatz zu den anderen Verzögerungsinsulinen frei mit Normalinsulinen mischen lassen). Es wird zwischen der konventionellen und der intensivierten Insulintherapie unterschieden. Bei der konventionellen Therapie unterliegt der Patient einem starren Spritzschema und festgelegten Mahlzeiten. Bei der intensivierten Insulintherapie wird nach dem Basis-Bolus-Konzept versucht, der physiologischen Insulinsekretion möglichst nahe zu kommen. Bei der Insulinpumpentherapie erfolgt durch eine externe Pumpe eine kontinuierliche subkutane Insulininfusion von ausschließlich Normalinsulin. Die „Diabetes Control and Complication Trial“ (19) bei Typ I Diabetikern hat gezeigt, dass die diabetischen Spätkomplikationen Neuropathie, Nephropathie und Retinopathie, durch die intensivierte Insulintherapie um über 50% gesenkt werden konnten im Vergleich zur konventionellen Insulintherapie. Das Risiko einer Hypoglykämie lag jedoch dreimal so hoch. Um die Behandlungsziele zu erreichen, muss der Patient weit mehr als bei anderen Erkrankungen in die Behandlung eingebunden und geschult werden. Schulungen sind strukturierte Fortbildungsprogramme, in denen der Patient den theoretischen Hintergrund der Krankheit, Therapie, Komplikationen und die benötigten praktischen Fähigkeiten (Patientenselbstmessung, Spritztechnik) erlernt, sowie praktische Ratschläge zu den Themen Ernährung, Sport, Reisen, Alkohol etc. erhält (16, 20, 21).

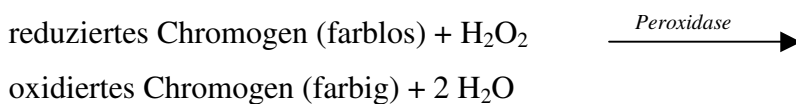
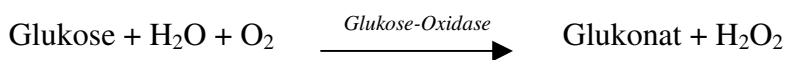
2. Blutzuckermessung

„Glukose ist unzweifelhaft der weltweit am häufigste bestimmte Blutbestandteil...(22).“ Die korrekte Einstellung der Blutglukose spielt bei der Diabetesdiagnose und –therapie eine herausragende Rolle. Dementsprechend sind spezifische Messmethoden entwickelt worden, die im Folgenden beschrieben und diskutiert werden. Außerdem wird in diesem Abschnitt auf die Problematik der Wahl des Probenmaterials und der Glykolyseinhibition eingegangen.

2.1. Messmethoden

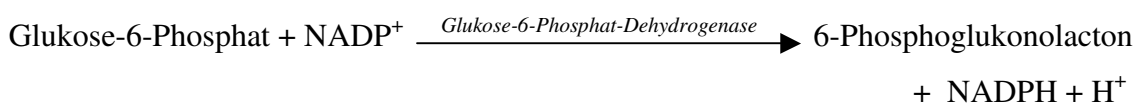
2.1.1. Enzymatische Messmethoden

Glukoseoxidase-Methode:



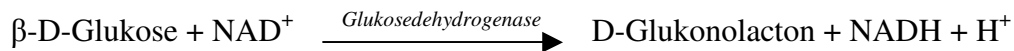
Diese Messmethode ist am weitesten verbreitet und wurde 1957 als erste enzymatische Messmethode eingeführt. Die Messreaktion ist hochspezifisch. Reduzierende Substanzen (Ascorbinsäure, Paracetamol) können jedoch die Indikatorreaktion stören, so dass es viele Modifikationen gibt. In manchen Methoden wird der O₂-Verbrauch direkt mit einer Sauerstoffelektrode (z. B. Clark-Elektrode) oder die H₂O₂-Entwicklung mit einem Wasserstoffperoxid-Sensor gemessen. Als Chromogene können z. B. o-Dianisidin, p-Aminophenazon (PAP) und Phenol, sowie Jodid und Molybdat eingesetzt werden.

Hexokinase-Methode:



Diese Methode gilt als Referenzmethode, da die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase spezifisch nur Glukose-6-Phosphat oxidiert.

Glukose Dehydrogenase-Methode:



Diese Methode ist die jüngste enzymatische Messmethode. Da die Glukosedehydrogenase nur β -D-Glukose und nicht α -D-Glukose umsetzt, kann dem Reaktionssystem Mutarotase zugesetzt werden, das die Umwandlung beschleunigt. Mannose und Xylose werden jedoch auch von der Glukosedehydrogenase umgewandelt und können somit das Ergebnis verändern (23-27).

2.1.2. Andere Messmethoden

Gegenwärtig wird von Standards, Richtigkeitskontrollen und Ringversuchsmaterialien als definitive Methode zur Bestimmung der Glukosekonzentration ein massenspektrometrisches Verfahren mit Isotopenverdünnungstechnik eingesetzt. Andere inzwischen verlassene Methoden stellen Redoxreaktionen und kolorimetrische Methoden dar. Bei der Redoxreaktion (z. B. Kupferreduktionsmethode nach Somoygi-Nelson oder Ferricyanidmethode nach Hagedorn-Jensen) bediente man sich der reduzierenden Eigenschaften der 1,2-Endiol-Form der Glukose unter alkalischen Bedingungen. Bei dieser Methode wurden jedoch alle reduzierenden Substanzen erfasst, und somit lag der Wert 10-13% über dem korrekten Wert. Die kolorimetrische Methode ist genauer und beruht auf der Reaktion der Glukose mit aromatischen Aminen in heißer Essigsäure zu farbigen Glykosylaminen, wird jedoch durch andere Aldohehexosen und hohe Lipid- und Billirubinkonzentrationen beeinflusst (22, 28, 29).

2.1.3. Kontinuierliche und nicht-invasive Blutzuckerbestimmung

1998 wurde das erste Gerät zur kontinuierlichen Blutzuckerbestimmung auf den Markt gebracht (CGMS® von Medtronic Minimed). Es verwendet eine enzymelektrische Methode. Eine Nadel-Enzymelektrode, d.h. eine Nadelspitze, die mit dem Enzym Glukoseoxidase beschichtet ist, wird ins Subkutangewebe eingestochen. Die Reaktion liefert ein Stromsignal, das der Glukosekonzentration entspricht. Ein anderes Gerät (GlucoDay® von Menarini) arbeitet auf Basis der Mikrodialysetechnik. Ein Katheter mit einer kleinen Dialysefaser, die mit glukosefreier Flüssigkeit durchspült wird, liegt im Subkutangewebe. Die Glukose diffundiert über die Dialysemembran und wird außerhalb des Körpers gemessen.

Das erste 2001 von der U.S. Food and Drug Administration zugelassene nicht-invasive Blutzuckermessgerät (Gluco Watch® von Cygnus) verwendet auch eine elektroenzymatische Methode. Ausgelöst durch einen an die Haut angelegten Stromfluss, wandern Natrium-Ionen und durch Konvektion auch Glukosemoleküle zur Kathode (Iontophorese). Durch Glukoseoxidation entsteht H_2O_2 , das amperometrisch gemessen wird. Weitere Verfahren, die bisher noch nicht zur Marktreife gelangt sind, arbeiten mit optischen Sensoren, die reflektiertes Licht messen. Bei der kontinuierlichen Blutzuckerbestimmung liegen die Hauptprobleme in der Biokompatibilität und der unterschiedlichen Glukosekonzentration im Gewebe im Vergleich zum Blut. Die Hauptprobleme bei der nicht-invasiven Blutzuckerbestimmung stellen die große Anfälligkeit durch Störfaktoren (z. B. Schwitzen, Temperaturschwankungen) und die geringe Glukosekonzentration in der Haut dar (30, 31).

2.2. Probenmaterialien für die Blutglukosebestimmung

Ein Problem in der Glukoseanalytik liegt in der Vielzahl der Möglichkeiten bei der Wahl von Probenmaterialien. So kommen prinzipiell venöses, kapilläres und arterielles Vollblut, Plasma und „Plasmawasser“ (das wässrige Blutkompartiment nach Enteiweißung) als Probenmaterialien zum Einsatz. Da arterielle Proben aufgrund der höheren Belastung für den Patienten nur in Ausnahmefällen (z. B. arterieller Katheter liegt bereits aus anderen Gründen) verwendet werden, verbleiben noch 6 verschiedene Probenmaterialien mit 24 Entscheidungsgrenzen (vergleiche Tabelle 2).

Diagnosekriterien bzw. Entscheidungsgrenzen sind für venöses Plasma ermittelt worden und wurden später auf andere Probenmaterialien konvertiert, was als nicht unproblematisch anzusehen ist (34). Für die Diagnosestellung von Diabetes empfiehlt die WHO ausschließlich die Verwendung von venösem Plasma. Viele POCT-Verfahren (Point-of-Care-Testing - patientennahe Sofortdiagnostik) verwenden jedoch Kapillarblut.

Es besteht ein Unterschied in den Blutglukosewerten arteriellen und venösen Blutes. Dieser auch als arterio-venöse Differenz bezeichnete Unterschied hängt entscheidend vom Ernährungszustand ab. Die Differenz beträgt nach Bürgi (35) bei gesunden Probanden im Nüchternzustand 9 mg/dl (0,5 mmol/l) und steigt 30 Minuten nach einer peroralen Glukosebelastung von 50 g auf 45 mg/dl (2,5 mmol/l) an. Nach 120 Minuten

fällt sie auf 14 mg/dl (0,8 mmol/l) ab. Bei Patienten mit einer peripheren Insulinresistenz fällt die Differenz niedriger aus.

Kompartiment	Plasmawasser / Aktivität (mg/100g H ₂ O)		Plasma (mg/dl)		Vollblut (mg/dl)	
	kapillär	venös	kapillär	venös	kapillär	venös
Prozent	100	91	95	86,67	83,33	75,83
Umrechnungsfaktor	1	1,1	1,05	1,16 (1,05 x 1,1)	1,2	1,32 (1,2 x 1,1)
Nüchternwert						
Diabetes	≥ 133	≥ 133	≥ 126	≥ 126	≥ 110	≥ 110
IFG	≥ 116	≥ 116	≥ 110	≥ 110	≥ 100	≥ 100
OGTT, 2h-Wert						
Diabetes	≥ 232	≥ 211	≥ 220	≥ 200	≥ 200	≥ 180
IGT	≥ 168	≥ 147	≥ 160	≥ 140	≥ 140	≥ 120

Tabelle 2: Verhältnis, Umrechnungsfaktoren und Diagnosekriterien von kapillärem und venösem Plasmawasser, Plasma und Vollblut (nach 32, 33)

Bei Verwendung von Plasma tritt der sogenannte Proteinfehler auf. Im Plasma besteht die Matrix aus Wasser und Proteinen und zu einem kleinen Teil aus Salzen (1%). Der Wassergehalt einer Probe ist abhängig vom Proteingehalt. Dieser Proteinfehler im Plasma beträgt 5% und gilt für alle Plasmaparameter. Er ist bei Patienten mit Hyperproteinämie höher und fällt bei Patienten mit Hypoproteinämie geringer aus.

Auch im Vollblut kommt der Proteinfehler zum Tragen. Darüber hinaus tritt auch noch der Hämatokritfehler auf. Dieser entsteht dadurch, dass der Wassergehalt von Plasma 93% und der Wassergehalt von Erythrozyten lediglich 71% beträgt. Vollblut hat also bei einem normalen Hämatokrit (0,43) einen Wassergehalt von $0,43 \times 0,71 + (1-0,43) \times 0,93 = 0,84$. Der Konversionsfaktor Vollblut zu Plasma beträgt demnach $0,93:0,84=1,11$. Mit unterschiedlichen Hämatokritwerten schwankt jedoch auch dieser Konversionsfaktor. Bei einem Hämatokrit von 0,7 läge er bei 1,20. Demnach würden sich bei einem Hämatokrit von 0,2 Abweichungen des Konversionsfaktors von 5% und bei einem Hämatokrit von 0,7 Abweichungen von 8% ergeben.

Werden verdünnte Proben gemessen, kommt es zum Verdünnungsfehler und einer Unterschätzung der Glukosekonzentration. Bei einer Verdünnung von 1:10 und einem normalen Hämatokrit wird dadurch effektiv 0,84:10 bzw. 1:11,9 verdünnt. Damit ergeben sich Unterschiede zwischen verdünnter und nichtverdünnter Messung von 19% (28, 32, 36-41).

Wie bereits erläutert, stellt die Wahl des Probematerials einen wesentlichen Einflussfaktor dar und führt zu viel Konfusion bei der Interpretation von Untersuchungsergebnissen. Laut Burrin (28) vermochte die Mehrheit der Beschäftigten in einer diabetischen Abteilung in einer Untersuchung nicht zu sagen, ob zur Blutzuckermessung Vollblut oder Plasma im Labor verwendet wird.

2.3. Glykolyseinhibitoren

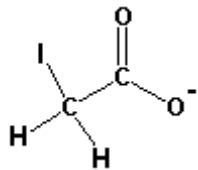
Das Ausmaß der Glykolyse beträgt in Proben ohne Zusatz von Glykolyseinhibitoren je nach Autor bei 25° Celsius ca. 10 mg/dl pro Stunde (27). Thomas (25) beschreibt bei Raumtemperatur eine Abnahme der Glukosekonzentration von 6 mg/dl pro Stunde unabhängig von der Ausgangskonzentration. Bei Müller-Wieland (42) beträgt die Geschwindigkeit der Glykolyse ca. 5 bis 7% oder 10 mg/dl pro Stunde.

Glykolyseinhibitoren sind Reagenzien, die in Blutproben über verschiedene Mechanismen die Abnahme der Glukosekonzentration verhindern sollen, die vor allem durch Glykolyse in Erythrozyten und Leukozyten entsteht. Bei der Glykolyseinhibition muss verhindert werden, dass diese mit den Methoden zur Bestimmung der Blutglukose oder anderer Blutwerte (siehe I.3.1.1) interferiert. In der Literatur werden als chemische Glykolyseinhibitoren z. B. Natriumfluorid, Iodacetat (die beide Gegenstand der Untersuchung sind), Mannose, Formaldehyd, Maleinimid, Natriumoxalat und Glyceraldehyd, sowie teilweise auch die Kombination dieser untereinander beschrieben. Kühlung, Absenkung des pH-Wertes und sofortiges Zentrifugieren werden als wirksame physikalische Methoden der Glykolyseinhibition aufgeführt. Als Mechanismen werden Inhibitionen der Enzyme der Glykolyse angenommen, wobei Natriumfluorid die Enolase und Iodacetat die Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase hemmt. Mannose soll über eine Kompetition mit Glukose beim Glukosetransport und bei der Hexokinasereaktion wirken (33). Im Folgenden wird die Studienlage zu den einzelnen Glykolyseinhibitoren genauer beschrieben:

Natriumfluorid (Na⁺F⁻): Die Studienlage zur Qualität des am häufigsten verwendeten Glykolysehemmers ist uneinheitlich. Ältere (43-47) aber auch neuere Studien (48, 49) beobachteten unter Natriumfluorid einen stabilen Glukosewert über bis zu 10 Tage. Young schrieb: „Fluoride at a concentration of 2mg/ml is the best available preservative for glucose (27).“

Andere Studien jedoch zeigten einen Abfall der Glukosekonzentration, der hauptsächlich in der ersten Stunde auftrat und dann langsamer wurde. Nach 4 Stunden waren die Werte stabil (50-54). Der Abfall wurde jedoch nicht auf statistische Signifikanz untersucht. Die Studien stellten teilweise die Wirkung der Glykolyseinhibition mit Natriumfluorid in diesem Zeitraum in Frage. In einer weiteren Studie berichteten Chan et al. (55), dass es bei Verwendung von Natriumfluorid unter realistischen Bedingungen (die Zeit bis zur Auswertung beträgt bis zu 4 Stunden) bei 7% der OGTT zu einer Fehlklassifikation kam. Sie zogen daraus den Schluss, dass sehr knappe Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren wären und im Falle des Auftretens einer Verspätung, der Test wiederholt werden müsste.

Jodacetat:



Bueding et al. (51) sahen erst eine komplette Hemmung der Glykolyse bei Kombination von 1% Jodacetat mit 1% Natriumfluorid. Foucher et al. (56) beobachteten in den ersten 2 Stunden trotz Zugabe von Jodacetat einen Abfall der Glukosewerte von 9%.

Mannose: Nakashima et al. (52) fanden heraus, dass D-Mannose nach 2 Stunden sehr viel effektiver als Natriumfluorid die Glykolyse inhibiert (2,1 mg/dl im Vergleich zu 9,3 mg/dl).

Glycerinaldehyd oder Glyceraldehyd: Landt (57) verwendete mit Erfolg das Racemat D,L-GA und L-GA als Inhibitor für bis zu 8 Stunden. Le Roux et al. (58) kamen bei Messungen bis zu 24 Stunden bei der Anwendung von 4,7, 11 bzw. 20,4 mmol/l Glycerinaldehyd kombiniert mit 119 mmol/l Natriumfluorid und 21,7 mmol/l Natriumoxalat zu keiner signifikanten Abnahme der Glukosekonzentration mit den besten Ergebnissen für die mittlere Konzentration Glycerinaldehyd.

Wasserstoffionen: Uchida et al. (59) untersuchten den glykolysehemmenden Effekt von Wasserstoffionen. Bei einem pH-Wert von 5,3 bis 5,9 kam es zu einer sofortigen Hemmung der Enzyme der Glykolyse, was mittels Nachweis der Zwischenprodukte bestätigt wurde. In den ersten 8 Stunden kam es zu keinem Abfall. Nach diesem Zeitraum fand aber eine Glykolyse statt (1,3 +/-1,1 mg/dl über den Zeitraum von 24 h).

Kühlung: Lin et al. (53) fanden bei einer Kühlung mit Eis lediglich eine Abnahme der Glukosekonzentration von 0,39 mg/dl pro Stunde bei Erwachsenen und 1,1 mg/dl bei Neugeborenen. Interferenzen mit der Kaliumbestimmung aufgrund von Hämolyse waren jedoch möglich.

Sofortiges Zentrifugieren: Neben sofortigem Messen und Aufbewahren der Probe bei 0 bis 4° Celsius, empfiehlt die WHO (11) zur Vermeidung der Glykolyse sofortiges Zentrifugieren. Die drei von der WHO vorgeschlagenen Verfahren sind jedoch relativ unpraktisch. Giampietro et al. (60) wiesen auf erniedrigte Werte im Langzeitverlauf bei sofortiger Zentrifugation und Kühlung bei -20° Celsius hin. Als ein möglicher Auslöser wurde z. B. bakterielle Kontamination der Proben genannt.

3. Patientennahe Sofortdiagnostik (Point-of-Care-Testing)

3.1. Definition und Anwendung

„Bei der patientennahen Sofortdiagnostik handelt es sich um Analysenverfahren, die ohne Probenvorbereitung im Rahmen der Krankenversorgung unmittelbar als Einzelprobenmessungen durchgeführt werden. Die Messsysteme sind so konzipiert, dass für ihre Handhabung keine eingehende medizinisch-technische Qualifikation auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin benötigt wird. Ein wesentliches Kriterium der patientennahen Sofortdiagnostik ist die unmittelbare Ableitung therapeutischer Konsequenzen aus der durchgeführten Laboratoriumsuntersuchung (61).“

„Als patientennahe Sofortdiagnostik werden alle Untersuchungen bezeichnet, die außerhalb des Zentrallabors, d. h. in unmittelbarer Nähe der Patienten durchgeführt werden, unabhängig von den Verantwortlichkeiten oder der eingesetzten apparativen Ausrüstung (62).“

Typische POCT-Parameter stellen Vitalparameter wie Blutgase, Säure-Base-Haushalt, Hämoglobin, Hämatokrit, Elektrolyte, Laktat sowie Glukose dar. Notfallparameter (Troponin, Myoglobin, CK-MB, Quick, PTT, D-Dimere, Ammoniak, Laktat, Drogenscreening) und Eilfallparameter wie Blutbild, Urinstatus, Schwangerschaftstest, HbA_{1C} sind ebenfalls mittels POCT-Verfahren bestimmbar (63).

3.2. POCT1-A

POCT1-A stellt einen medizinischen Kommunikationsstandard für POCT-Geräte dar. Dieser wurde vom Connectivity Industry Consortium (CIC), einem Industriekonsortium bestehend aus Geräteherstellern, Informationssystem-Lieferanten und Anbietern aus dem Gesundheitswesen, mit dem Ziel entwickelt, die Konnektivitätsprobleme der POCT-Geräte durch unterschiedliche Kommunikationsstandards zu beseitigen.

POCT1-A besteht wie in Abbildung 1 gezeigt, aus zwei Schnittstellen. Der Geräteanschluss (Device interface) dient der Informationsübertragung von POCT-Geräten zum Point-of-Care-Datenmanager. Die zweite Schnittstelle (Observation Reporting Interface) übermittelt die Daten vom Point-of-Care-Datenmanager zum Laborinformationssystem (LIS). Die Nachrichten sind im XML- (Extensible Markup Language Device interface) und im HL7- (Health Level 7) Format definiert.

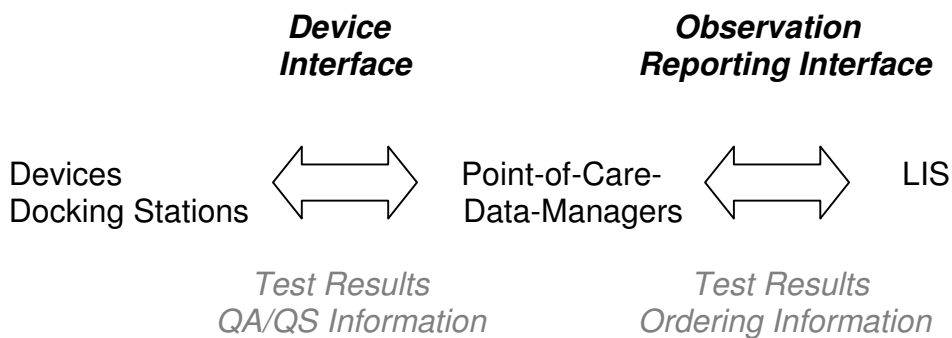


Abbildung 1: Darstellung der POCT1-A (nach 64)

4. Fragestellung

In der hier vorliegenden Dissertation wurde ein neues Blutzuckermessgerät zur patientennahen Glukosebestimmung, der HemoCue 201 DM, in folgenden Teilprojekten evaluiert:

1. Methodenvergleich des HemoCue 201DM mit dem Hitachi 917
2. Bestimmung der Unpräzision von Tag zu Tag und in der Serie
3. Eignung des HemoCue 201 DM für den praktischen Einsatz
4. Möglichkeiten zur Anbindung an das Laborinformationssystem (LIS)

Die Bearbeitung der einzelnen Teilprojekte warf zudem die Frage nach der Stabilität von Blutglukosewerten im zeitlichen Verlauf auf. Dafür wurde die Abnahme der Blutglukosekonzentration in Anwesenheit von Glykolyseinhibitoren (Natriumfluorid, Jodacetat) und ohne Glykolyseinhibitoren (nur mit Lithiumheparin) im zeitlichen Verlauf beschrieben. Die konkreten Fragestellungen hierzu lauteten:

1. Gibt es eine Abnahme der Glukosekonzentration bei Zusatz von Lithiumheparin, Natriumfluorid und Jodacetat nach einer, 2, 4 und 24 Stunden?
2. Besteht ein Wirkungsunterschied zwischen den verschiedenen Substanzen?
3. Ist die Abnahme der Glukose relativ oder absolut?

II MATERIAL UND METHODEN

1. *Evaluation des HemoCue 201 DM*

1.1. **Versuchsdesign**

Nach Messung von Blutzucker im venösen Vollblut von diabetischen und nichtdiabetischen Patienten mit dem HemoCue 201 DM® (HemoCue AB, Ängelholm/Schweden), mittels einzeln verpackter Mikroküvetten (HemoCue Microcouvettes 201®, Lot-Nr. 3110102), wurde sofort abzentrifugiert (6 Minuten bei 3000 Umdrehungen/Minute). Die Glukose wurde darauf mit der Standardmethode des Labors, dem Hitachi 917® (Roche Diagnostics, Mannheim), im Plasma bestimmt und verglichen.

Daneben erfolgte die Bestimmung der Unpräzision in der Serie. Dafür wurde EDTA-Vollblut zwanzigmal in Serie in vorher festgelegten Bereichen (<100 mg/dl, 100-300 mg/dl, >300mg/dl) bestimmt. Da die Messungen bei hohen Glukosewerten bis zu 2 Minuten benötigen, und dies zu relevanten Abnahmen in der Glukosekonzentration führen könnte (wie im zweiten Teil der Arbeit beschrieben), erfolgte bei den Werten, die größer als 300 mg/dl waren, die Messung von zwei Proben jeweils in Zehnerreihen. Durch diesen Aufbau sollte der Effekt der Glykolyse verringert werden.

Zur Bestimmung der Unpräzision von Tag zu Tag wurden die Kontrolllösungen (HemoCue GlucoTrol-NG®) „low“ (47+/-9 mg/dl, Lot-Nr. 34946) und „normal“ (143+/-20 mg/dl, Lot-Nr. 34947) an 15 aufeinander folgenden Tagen bestimmt. Jede Flasche enthält 1 ml Rinderplasma mit Glukose.

Abschließend wurden die Möglichkeiten der Anbindungen an das Laborinformationssystem (LIS) über einen USB bzw. Netzwerk-Port, die seit Mai 2002 erhältliche international standardisierte (CIC) Schnittstelle POCT1-A, sowie das Programm POCcelerator® (Conworx Technology, March, Wildau) überprüft. In der Diabetiker-Ambulanz des Universitätsklinikums Marburg erfolgte die praktische Testung unter realen Bedingungen.

1.2. Untersuchungsgut

Das Untersuchungsgut bestand aus 244 EDTA-Vollblutproben aus dem Zentrallabor der Universitätsklinik Marburg, deren Entnahme bereits mindestens 6 Stunden zurücklag, jedoch nie länger als 72 Stunden vorher stattgefunden hatte. Die Aufbewahrung der Proben fand zunächst bei Raumtemperatur (bis zu 6 Stunden) und anschließend im Kühlschrank bei 4° Celsius statt.

1.3. Analysegeräte

1.3.1. HemoCue 201 DM

Der HemoCue 201 DM ist ein Gerät zur quantitativen Bestimmung von Blutzucker im Vollblut. Zur Ermittlung von Plasmawerten müssen laut Hersteller die Vollblutwerte mit dem Konvertierungsfaktor 1,11 multipliziert werden (vergleiche I 2.2).

Reaktionsprinzip:

Das Gerät arbeitet nach einer modifizierten Glukose-Dehydrogenase-Methode (siehe Kapitel I 2.1.), die bei Banauch et al. (65) beschrieben wird. Die Reaktion besteht aus den beiden Phasen Hämolyse und Glukosereaktion. Die Erythrozytenmembran wird durch Saponin aufgelöst.

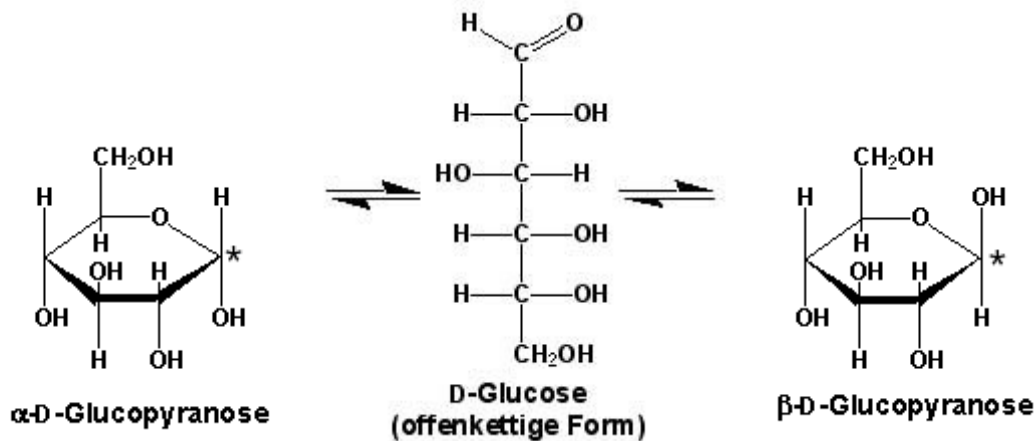


Abbildung 2: Umwandlung der α -D-Glukopyranose in β -D-Glukopyranose vom Enzym Mutarotase katalysiert (66)

Bei der Glukosereaktion wird zunächst, wie in Abbildung 2 dargestellt, α -D-Glukose mittels Mutarotase in β -D-Glukose überführt. Die Glukoseoxidation wird von der Glukose-Dehydrogenase katalysiert (Vergleiche I 2.1.1.). Das dabei entstehende NADH bildet in Gegenwart von Diaphorase mit MTT (Methylthiazolyldiphenyl Tetrazolium)

ein farbiges Formazan. Der Farbstoff wird, um mögliche Interferenzen auszugleichen, bei zwei verschiedenen Wellenlängen (660 und 840 nm) gemessen.

Reagenzien:

30% Saponin, 26% Polypropylenglycol 18% NAD, 15% MTT,
7% Enzymmischung: Glukose-Dehydrogenase, Diaphorase und Mutarotase,
3% Ammoniumchlorid und 1,5% Natriumfluorid

Gerätetechnische Bedingungen:

Die verwendeten Mikroküvetten sind bei 2 bis 8° Celsius 30 Tage lang haltbar. Vor Inbetriebnahme müssen die Mikroküvetten Raumtemperatur erreicht haben. Bei Raumtemperatur sind die einzeln verpackten Küvetten bis drei Tage haltbar. Der HemoCue 201 DM kann bei Temperaturen von 0 bis 50° Celsius gelagert werden. Die Betriebsbedingungen sollten bei Temperaturen zwischen 18 und 30° Celsius und bei einer Luftfeuchtigkeit kleiner 90% liegen. Die Proben müssen vor der Messung gut gemischt sein (z. B. durch mindestens zehnmaliges Hin- und Herschütteln) und Raumtemperatur besitzen. Der Messbereich liegt zwischen 0 und 400 mg/dl. Durch Kochsalzverdünnung im Verhältnis 1:1 kann der Messbereich bis auf 800 mg/dl erweitert werden.

Versuchsablauf:

Der Analyser führt nach dem Einschalten und bei eingeschaltetem Gerät alle zwei Stunden einen internen elektronischen Selbsttest durch, in dem die Leistung der optoelektronischen Einheit überprüft wird. Die Ergebnisse dieser Tests werden gespeichert. Qualitätskontrollen werden mit Testseren in einem vorher eingestellten Intervall durchgeführt. Die Küvette, die aus Polystyrol-Kunststoff besteht, nimmt 5 µl Vollblut auf und funktioniert sowohl als Pipette, als auch als Reaktionsgefäß und Messküvette. Der Küvettenhalter wird herausgezogen und in die Ladeposition gebracht. Nach Einlegen der Küvette wird der Küvettenhalter in die Messposition geschoben. Nach 40 Sekunden bis 2 Minuten, abhängig von der Höhe des Glukosewertes, erfolgt die Anzeige des Ergebnisses (67). Der Messvorgang wird in den Abbildungen 3 bis 6 für venöses oder arterielles Blut dargestellt. Hierbei wird mittels Pipette ein Blutstropfen auf die hydrophobe Parafilmoberfläche gebracht. Bei der häufigeren

Bestimmung der Blutglukose aus Kapillarblut wird die Küvette nach Punktion der Fingerbeere mit Hilfe einer Lanzette direkt am Finger des Patienten befüllt.



Abbildung 3: HemoCue 201 DM



Abbildung 4: Befüllen der Messküvette



Abbildung 5: Einlegen der Messküvette



Abbildung 6: Anzeigen des Messergebnisses

1.3.2. Hitachi 917

Der Hitachi 917 ist ein Gerät zur Bestimmung von Parametern der klinischen Chemie aus Serum, Plasma, Urin und Liquor. Im Folgenden wird nur auf die für die Arbeit relevanten Reaktionsprinzipien zur Glukose- und Laktatbestimmung eingegangen.

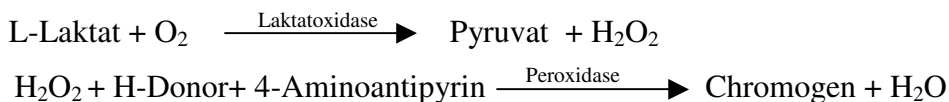
Glukosebestimmung:

Diese funktioniert nach der in Kapitel I. 2.1 beschriebenen Hexokinase-Methode. Die Geschwindigkeit der NADPH-Zunahme ist direkt proportional der Glukosekonzentration und wird photometrisch gemessen.

Reagenzien:

1. TRIS (Trishydroxymethylaminomethan)-Puffer: 100 mmol/l, pH 7,8, Mg^{2+} 4 mmol/l, ATP \geq 1,7 mmol/l, NADP \geq 1,0 mmol/l, Konservierungsmittel
2. HEPES (2-4-2-Hydroxyethyl-1-piperazinyl-ethansulfonsäure): 30 mmol/l, pH 7,0, Mg^{2+} 4 mmol/l, Hexokinase \geq 8,3 U/ml (Hefe), Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase \geq 15 U/ml (E. coli), Konservierungsmittel.

Laktatbestimmung:



Bei dieser enzymatischen Reaktion wird Laktat zu Pyruvat umgesetzt. Das dabei entstehende Wasserstoffperoxid wird mittels der Peroxidase in einer zweiten Reaktion zu einem Farbstoff umgesetzt, dessen Farbe der L-Laktatkonzentration proportional ist.

Reagenzien:

1. Wasserstoffdonor, Ascorbatoxidase (Gurke) \geq 30 U/ml, Puffer, Konservierungsmittel
2. 4-Aminoantipyrin 1 mg/ml, Laktatoxidase (Mikroorganismus) \geq 15 U/ml, Peroxidase (Meerrettich) \geq 24 U/ml, Puffer, Konservierungsmittel (68)

1.4. Statistische Auswertung

Zur Auswertung des Methodenvergleichs wurden die Verfahren nach Passing-Bablok (69, 70) und Bland-Altman (71) herangezogen. Es wurde das Programm Analyse-it for Microsoft Excel Version 1.73® (Analyse-it Software, Ltd., Leeds, UK) verwendet.

2. Evaluation der Glykolyseinhibitoren

2.1. Versuchsdesign

Experiment 1: Blutentnahme mit drei verschiedenen Sarstedt-Monovetten®

(alle Sarstedt AG, Nürnbergrecht):

- Monovette mit Lithiumheparin-Gel 4,7 ml (16 IU Lithiumheparin/ml)
- 2 Monovetten mit Natriumfluorid 2,7 ml (1 mg Natriumfluorid/ml, 1,2 mg EDTA/ml)
- Monovette mit Jodacetat 5,5 ml (0,5 mg Iodacetat mg/ml, 16 IU Lithiumheparin/ml)

Bei 20 gesunden Probanden wurde nach einmaliger Blutentnahme zu 9 festgelegten Zeitpunkten (0, 15, 30, 45, 60 Minuten und 2, 4, 8, 24 Stunden) die Glukose und das Laktat im Plasma mittels Hitachi 917 bestimmt. Vorher erfolgte die Verteilung des Inhaltes einer Monovette (Lithiumheparin, Jodacetat) bzw. von zwei Monovetten (Natriumfluorid) auf jeweils 9 verschiedene Eppendorf-Cups (ca. 500 µl). Die Eppendorf-Cups wurden zu den entsprechenden Messzeitpunkten zentrifugiert (5 Minuten bei 2000 Umdrehungen/Minute) und der Überstand abpipettiert. Der zeitliche Abstand zwischen der Blutentnahme und der ersten Zentrifugation lag stets unter 5 Minuten. Die Eppendorf Cups wurden bei Raumtemperatur aufbewahrt und luftdicht verschlossen.

Experiment 2: Hierbei erfolgte bei 9 Diabetikern zu den gleichen Zeitpunkten und nach der gleichen Methode wie im ersten Versuch die Bestimmung von Glukose und Laktat im Plasma. Jedoch wurden nur zwei verschiedene Monovetten verwendet (Lithiumheparin, Natriumfluorid).

2.2. Probanden

Experiment 1: 20 gesunde Probanden (7 weiblich, 13 männlich, Alter von 23 bis 30 Jahren, Durchschnittsalter 26 Jahre). Die Blutentnahme erfolgte unabhängig von Mahlzeiten (sogenannte Gelegenheitsglukose).

Experiment 2: 9 Patienten mit Diabetes (5 weiblich, 4 männlich, Alter von 44 bis 72 Jahren, Durchschnittsalter 62 Jahre) wurde im Rahmen der Kontrolluntersuchung in der endokrinologischen Ambulanz des Universitätsklinikums Marburg Blut entnommen. Es handelte sich hierbei um Nüchternglukosewerte. Einschlusskriterium waren erhöhte Nüchternglukosewerte (>126mg/dl).

2.3. Analysegerät

Die Bestimmung der Glukose- und Laktatkonzentrationen wurde mit dem in II 1.3.2 beschriebenen Hitachi 917 durchgeführt.

2.4. Statistische Auswertung

Der wichtigste Aspekt bei Verlaufsuntersuchungen stellt die Berechnung der „Area under the Curve“ (AUC) nach Matthews et al. dar (72). Für die berechneten Flächen wurden multiple t-Tests durchgeführt. Um die Zahl der statistischen Tests zu begrenzen, wurden nur die in der Praxis relevanten Intervalle nach 1, 2, 4 und 24 Stunden getestet. Hierbei erfolgte, zur besseren Vergleichbarkeit, die Bildung relativer Mittelwerte mit Hilfe des Ausgangswertes. Die anschließend gebildete Differenz zum vorherigen Wert wurde auf einen statistisch signifikanten Abfall getestet. Für jede der 3 Proben wurden 4 Differenzen beurteilt. Um falschpositive Ergebnisse für multiple Teste zu vermeiden, wurde eine Bonferoni-Adjustierung für diese 12 Differenzen durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm SAS Version 8® (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Die statistische Auswertung fand in Zusammenarbeit mit Herrn PD. Dr. Hans Helge Müller vom Institut für Biometrie und Epidemiologie in Marburg statt.

III ERGEBNISSE

1. Evaluation des HemoCue 201 DM

1.1. Bestimmung der Unpräzision

Zur Bestimmung der Unpräzision in der Serie wurden drei verschiedene Glukoselevels vorher bestimmt (1. < 100 mg/dl, 2. 100-300 mg/dl, 3. > 300 mg/dl) und die Messungen zwanzigmal schnellstmöglich hintereinander durchgeführt. Zur Bestimmung der Unpräzision im Bereich des dritten Glukoselevels wurden zweimal zehn Messungen einer Probe durchgeführt, um den Effekt der Glykolyse zu verringern. Es ergaben sich folgende Werte:

Anzahl der Messungen	Minimum mg/dl	Maximum mg/dl	Mittelwert mg/dl	Standardabweichung mg/dl	VK %
20	34	40	37,2	1,8	4,8
20	102	110	104,8	2,2	2,1
10	328	344	336,7	4,8	1,4
10	375	382	379,8	2,3	0,6

Tabelle 3: Bestimmung der Unpräzision in der Serie

Bei der Bestimmung der Unpräzision von Tag zu Tag wurden die Kontrolllösungen „Low“ und „High“ an 15 aufeinanderfolgenden Tagen gemessen. Dabei ergaben sich folgende Werte:

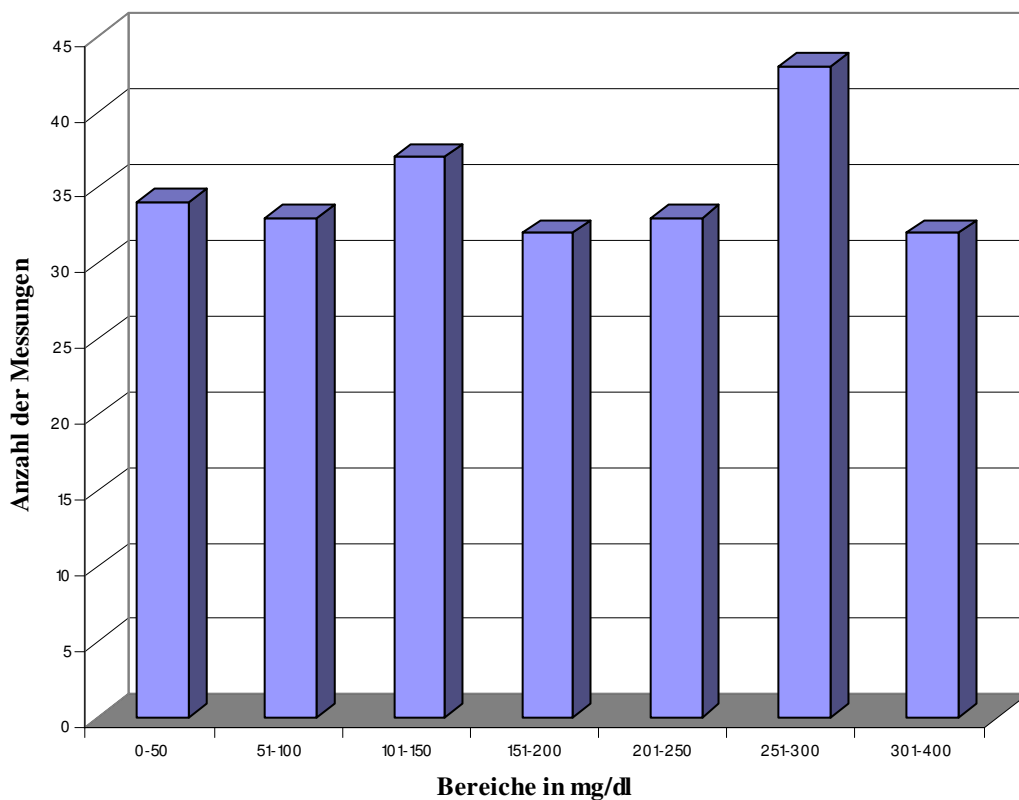
Testserum	Anzahl der Tage	Minimum mg/dl	Maximum mg/dl	Mittelwert mg/dl	Standardabweichung mg/dl	VK %
47 +/- 9	15	45	50	46,7	1,3	2,9
143 +/- 20	15	141	148	144,7	1,9	1,3

Tabelle 4: Bestimmung der Unpräzision von Tag zu Tag

1.2. Methodenvergleich

Abbildung 7 zeigt die Verteilung der 244 Messwerte. In jedem der vorher definierten Bereiche wurden mindestens 30 Messungen durchgeführt. In Tabelle 5 werden die Minimal- und Maximalwerte, Mittelwerte und Mediane der EDTA-Blutproben für die beiden Messmethoden angegeben.

Abbildung 7: Messwerteverteilung

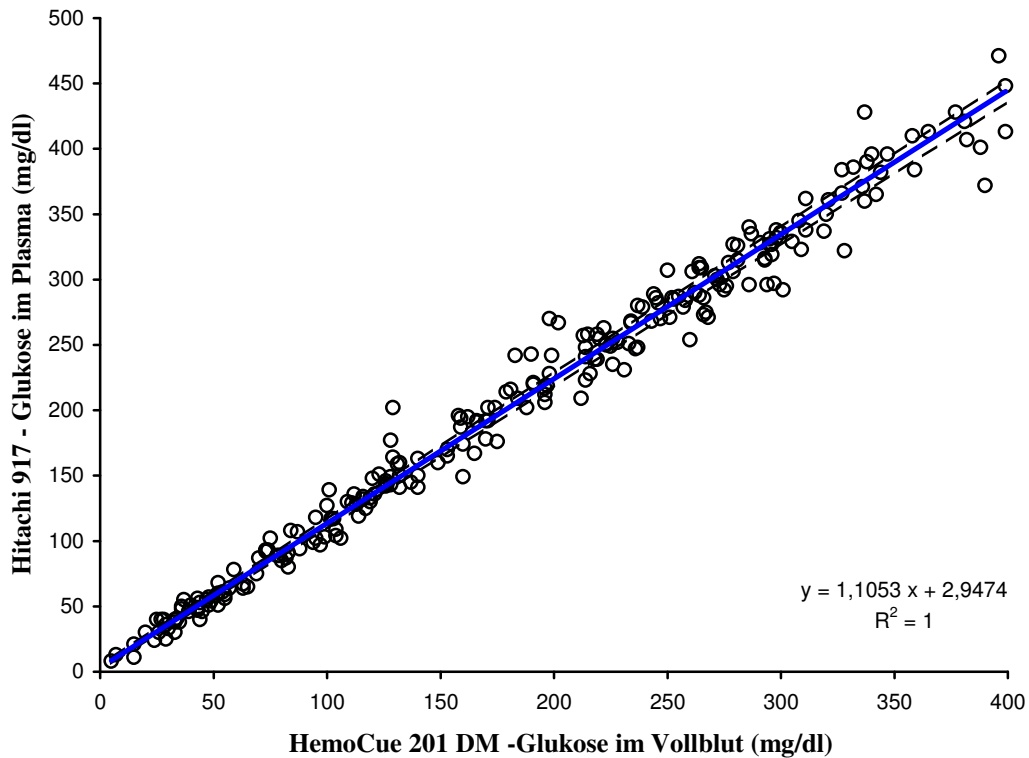


Gerät	Maximal-/ Minimalwert	Mittelwert	Median
HemoCue 201 DM	5-399 mg/dl	202,6 mg/dl	180 mg/dl
Hitachi 917	8-471 mg/dl	180,9 mg/dl	204 mg/dl

Tabelle 5: Charakterisierung der EDTA-Blutproben (n=244)

Bei der biometrischen Auswertung des Methodenvergleichs wurde das Regressionsverfahren nach Passing-Bablok angewendet (siehe Abbildung 8).

Abbildung 8: Methodenvergleich nach Passing-Bablok



$$y = 1,1053 x + 2,9474$$

$$r=1$$

$$n=244$$

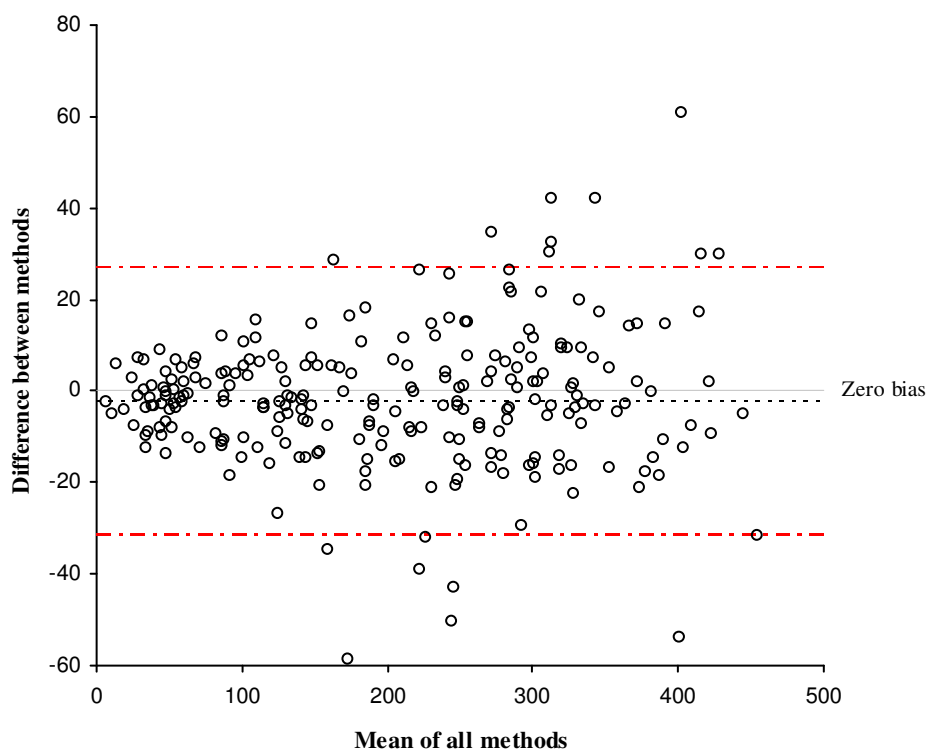
	Coefficient	95% CI
Intercept	2,947	0,819 to 4,851
Slope	1,105	1,088 to 1,120

Die Auswertung des Methodenvergleichs nach Passing-Bablok ergibt eine sehr gute Korrelation ($r=1$) zwischen Vollblutwerten und Plasmawerten mit einem Faktor von 1,105 im Vergleich zum werkseitig vorgesehenen Umrechnungsfaktor von 1,11.

Der Methodenvergleich nach Bland-Altman (Abbildung 9) stellt auf der Abszisse den Mittelwert beider Messverfahren (Hitachi 917 und HemoCue 201 DM) dar. Auf der

Ordinate sind die Differenzen zwischen den Messwerten der beiden Messverfahren aufgetragen. Hierbei wurden die HemoCue-Ergebnisse mit dem werkseitig angegebenen Faktor 1,11 multipliziert. Die Darstellung der Differenz über dem gemeinsamen Mittelwert nach Bland-Altman in Abbildung 9 schließt in diesem Fall das Vorliegen eines systematischen Fehlers aus. Einige Messwerte liegen außerhalb des Konfidenzintervalls. Bei höheren Messwerten zeigt sich eine größere Streuung als bei niedrigeren Glukosekonzentrationen. Insgesamt zeigt die Bland-Altman-Darstellung eine gute Übereinstimmung des HemoCue mit dem Hitachi 917.

Abbildung 9: Methodenvergleich nach Bland-Altman



Bias	-1,885
95% CI	-3,759 to -0,010

95% limits of agreement		95% CI
Lower	-31,020	-34,208 to -27,832
Upper	27,250	24,063 to 30,438

1.3. Anschluss an das Laborinformationssystem (LIS) und praktische Anwendung

Die Anbindung an das Laborinformationssystem (LIS) sowohl über den USB- als auch über den Netzwerkport mittels der POCcelerator-Software verlief regelrecht. Es wurden alle relevanten Daten (Patienten-, Proben-, Geräte- und Benutzeridentifikation, Messzeitpunkte, Ergebnisse) vollständig an das LIS übermittelt. In Abbildung 10 ist der Resultat-Monitor dargestellt. Die Qualitätskontrollen können im Qualitätskontroll-Monitor (Vergleiche Abbildung 11) graphisch dargestellt und in Berichten ausgedruckt werden, die den Anforderungen der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen“ entsprechen. Auch die Funktion der regelbasierten Autovalidation funktionierte einwandfrei. Die praktische Anwendung in der Diabetiker-Ambulanz des Universitätsklinikums Marburg verlief für den Zeitraum von einer Woche problemlos. Es zeigte sich eine gute Übereinstimmung der Messergebnisse, sowie eine Benutzerfreundlichkeit des Gerätes. Als Kritikpunkte fielen der eingeschränkte Messbereich (bis maximal 400 mg/dl) und die längeren Messzeiten (bis zu 2 Minuten) auf.

Messzeitpunkt	Benutzer	Fallnummer	Analyt	Wert	Einheit	Flag	LIS-Übertragungszeit	Status
07.10.2004 16:47:30	1001	162	Glu_phot	116.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:47:05	1001	161	Glu_phot	91.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:46:37	1001	160	Glu_phot	86.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:46:14	1001	159	Glu_phot	71.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:45:57	1001	158	Glu_phot	74.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:45:17	1001	167	Glu_phot	116.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:44:59	1001	166	Glu_phot	113.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:44:43	1001	165	Glu_phot	119.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:44:16	1001	164	Glu_phot	17.00000	mg/dL		08.10.2004 10:32:57	Übertragung läuft
07.10.2004 16:17:37	1001	153	Glu_phot	145.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:17:17	1001	152	Glu_phot	71.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:17:00	1001	151	Glu_phot	71.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:16:39	1001	150	Glu_phot	15.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:16:18	1001	149	Glu_phot	159.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:15:52	1001	148	Glu_phot	145.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:15:31	1001	147	Glu_phot	158.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:15:12	1001	146	Glu_phot	158.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:14:49	1001	145	Glu_phot	230.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:14:22	1001	144	Glu_phot	73.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:13:59	1001	143	Glu_phot	157.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:13:37	1001	142	Glu_phot	144.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:13:13	1001	141	Glu_phot	144.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft
07.10.2004 16:12:54	1001	140	Glu_phot	156.00000	mg/dL		07.10.2004 16:27:58	Übertragung läuft

Abbildung 10: POCcelerator Resultat-Monitor mit den Messwerten vom 7.10.2004

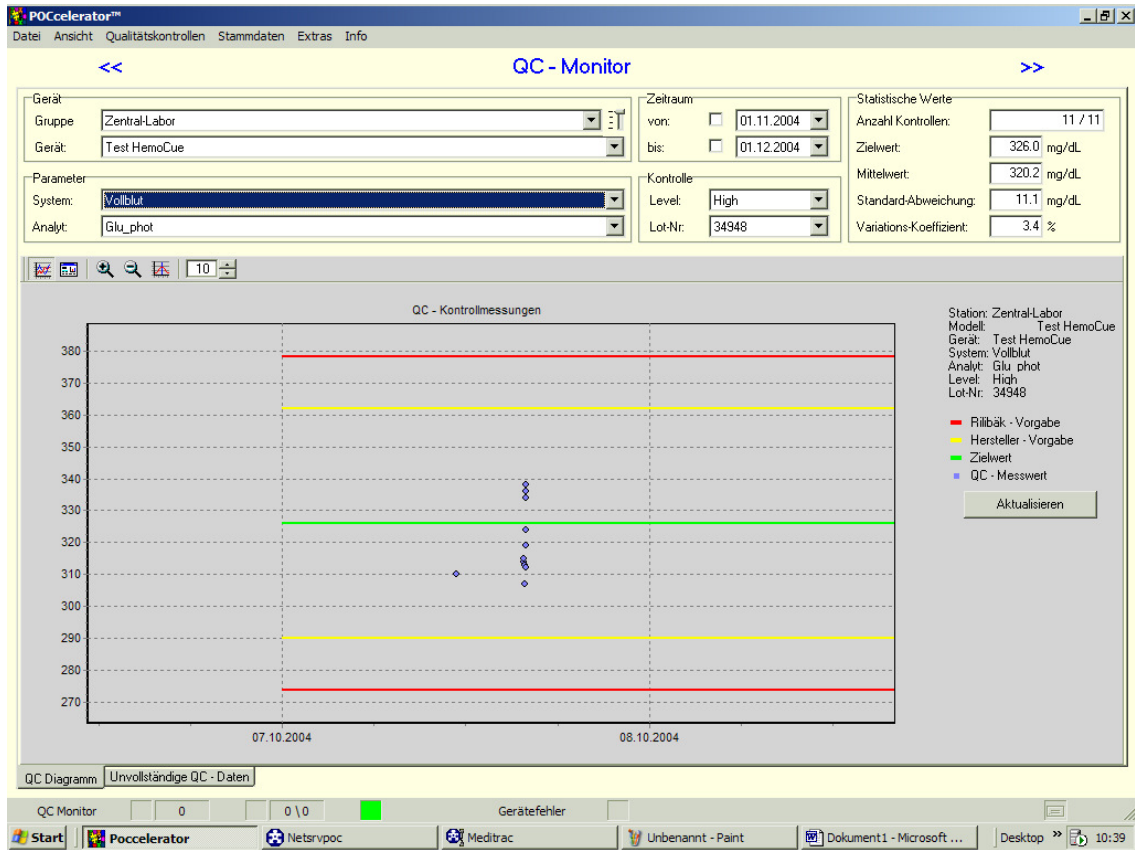


Abbildung 11: POCcelerator Qualitätskontroll-Monitor für das Testserum „High“

2. Evaluation der Glykolyseinhibitoren

2.1. Vergleich von Lithiumheparin, Natriumfluorid und Jodacetat bei gesunden Probanden

Nach einer Stunde und auch zu allen drei späteren untersuchten Zeitpunkten (nach 2, 4, 24 Stunden) lässt sich für die drei Substanzen Natriumfluorid, Jodacetat und Lithiumheparin ein statistisch signifikanter Abfall der Glukosekonzentration im Vergleich zum vorherigen Wert nachweisen. Die entsprechende „Area under the Curve“ (AUC – „Fläche unter der Kurve“) der relativen Mittelwerte, deren Differenzen, die Minimal- bzw. Maximalwerte sowie die dazugehörigen p-Werte sind in den Tabellen 6-8 dargestellt.

Zeit in Stunden	MW der AUC in % (SD)	Minimum-Maximum in %	MW der Differenz in % (SD)	Signifikanz der Differenz
1	97,23 (1,65)	93,93-99,85	2,77 (1,65)	p<0,0001
2	93,25 (3,62)	85,29-100,00	3,98 (2,67)	p<0,0001
4	90,95 (4,94)	79,41-102,94	2,30 (2,07)	p<0,0001
24	89,32 (5,16)	76,03-103,53	1,64 (2,13)	p=0,0027

Tabelle 6: Relative Mittelwerte (MW) der Glukosekonzentration als „Area under the Curve“ (AUC) und deren Differenzen unter Verwendung von **Natriumfluorid-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20)

Zeit in Stunden	MW der AUC in % (SD)	Minimum-Maximum in %	MW der Differenz in % (SD)	Signifikanz der Differenz
1	98,55 (1,67)	95,71-101,65	1,45 (1,67)	p<0,0001
2	94,75 (2,10)	91,04-98,90	3,80 (1,15)	p<0,0001
4	88,33 (2,85)	82,09-93,55	6,41 (1,76)	p<0,0001
24	57,1 (9,28)	35,98-72,69	31,23 (7,29)	p<0,0001

Tabelle 7: Relative Mittelwerte der Glukosekonzentration als „Area under the Curve“ (AUC) und deren Differenzen unter Verwendung **Lithiumheparin-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20)

Zeit in Stunden	MW der AUC in % (SD)	Minimum-Maximum in %	MW der Differenz in % (SD)	Signifikanz der Differenz
1	96,63 (1,84)	91,21-98,82	3,37 (1,84)	p<0,0001
2	93,44 (2,74)	85,16-96,77	3,19 (1,57)	p<0,0001
4	91,51 (2,85)	84,38-95,27	1,93 (1,36)	p<0,0001
24	90,40 (3,31)	81,72-94,07	1,11 (1,49)	p=0,0035

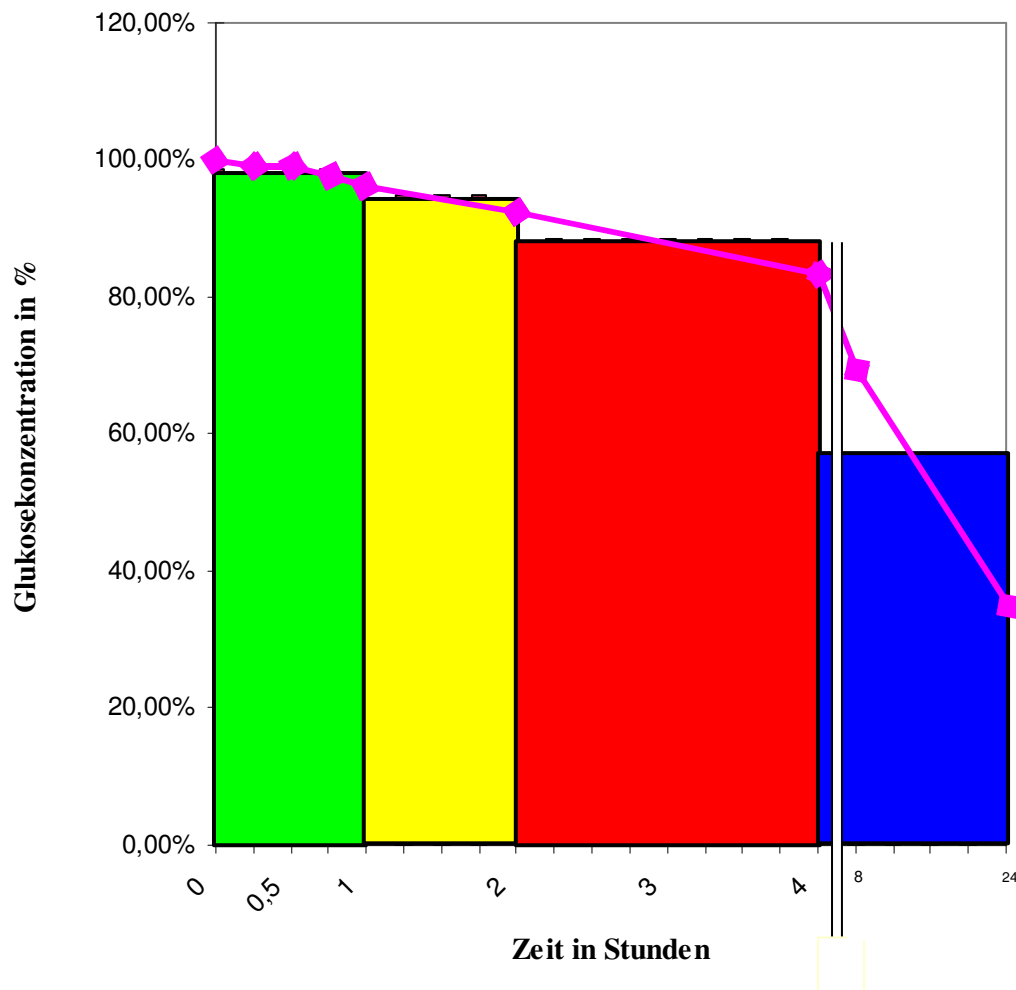
Tabelle 8: Relative Mittelwerte der Glukosekonzentration als „Area under the Curve“ (AUC) und deren Differenzen unter Verwendung von **Jodacetat-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20)

Zeit in h	Absoluter MW (SD) in mg/dl JAc	Absoluter MW (SD) in mg/dl LiH	Absoluter MW (SD) in mg/dl NaF	Relativer MW (SD) in % JAc	Relativer MW (SD) in % LiH	Relativer MW (SD) in % NaF
0	92,50 (3,87)	93,90 (4,14)	94,40 (4,18)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)
0,25	90,30 (3,91)	93,15 (4,01)	93,50 (4,07)	97,5 (0,4)	99,3 (0,3)	99,1 (0,3)
0,5	89,20 (3,98)	92,70 (4,01)	91,50 (4,07)	96,2 (0,5)	98,8 (0,5)	96,9 (0,5)
0,75	88,50 (3,79)	91,90 (4,03)	90,40 (4,07)	95,6 (0,6)	97,9 (0,5)	95,7 (0,6)
1	87,65 (3,88)	90,80 (4,05)	89,30 (4,16)	94,5 (0,7)	96,7 (0,6)	94,5 (0,8)
2	85,65 (3,81)	87,22 (3,87)	86,92 (3,90)	92,3 (0,6)	92,8 (0,5)	92,0 (1,1)
4	84,15 (3,78)	79,05 (3,86)	84,95 (3,93)	90,7 (0,7)	83,8 (0,8)	89,9 (1,1)
8	83,50 (3,73)	65,20 (3,58)	83,75 (3,90)	90,0 (0,7)	69,0 (1,7)	88,6 (1,1)
24	84,35 (3,89)	34,40 (3,71)	85,25 (4,08)	90,8 (0,9)	35,6 (2,9)	90,1 (1,3)

Tabelle 9: Absolute und relative Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) der Glukosekonzentration bei gesunden Probanden (n=20)

Tabelle 9 fasst die relativen und absoluten Mittelwerte sowie deren Standardabweichung für die drei Substanzen zusammen. In Abbildung 12 wird die Beziehung zwischen der „Area under the Curve“ und den relativen Mittelwerten der Glukosekonzentration am Beispiel des Lithiumheparins verdeutlicht. Die Graphik zeigt die Unterschiede zwischen der Kurve, die aus den 9 relativen Mittelwerten entstanden ist, und den vier Säulen als „Area under the Curve“ für die vier in der Praxis besonders relevanten Zeitintervalle. Diese „Area under the Curve“ wurden für den Nachweis der statistischen Signifikanz verwendet. Für die beschreibende Analyse werden im Folgenden die relativen und absoluten Mittelwerte benutzt.

Abbildung 12: Beziehung der relativen Mittelwerte und der AUC in Lithiumheparin-Monovetten



Die Abbildungen 13 und 15 zeigen den Verlauf der relativen bzw. absoluten Mittelwerte der Glukosekonzentration bei gesunden Probanden (n=20) über 24 Stunden. Die Graphiken 14 und 16 stellen Ausschnittsvergrößerungen des Intervalls bis zu 4 Stunden dar. Nach einer Stunde beträgt der relative Mittelwert der Glukosekonzentration in Natriumfluorid- und Jodacetat-Monovetten jeweils 94,5% bei einer Standardabweichung von 0,8% bzw. 0,7% (siehe Tabelle 7). In Lithiumheparin-Monovetten liegt der relative Mittelwert der Glukosekonzentration hingegen zu diesem Zeitpunkt bei 96,7% bei einer Standardabweichung von 0,6%. Auch der relative 2-Stunden-Wert liegt in der Monovette ohne Glykolyseinhibitor mit 92,8% über der Glukosekonzentration in Monovetten mit Glykolyseinhibitoren mit 92,3% (Jodacetat) und 92,0% (Natriumfluorid).

Nach vier Stunden liegt der absolute und relative Mittelwert der Glukosekonzentration in der Lithiumheparin-Monovetten erstmals niedriger als in den Monovetten mit Zusatz von Glykolyseinhibitoren. Während die Glukosekonzentrationen unter Zusatz von Glykolyseinhibitoren sich relativ stabil halten (aber immer noch einen statistisch signifikanten Abfall im Vergleich zum vorherigen Wert zeigen, vergleiche Tabelle 4-6), wird der Abstand zur Lithiumheparin-Monovette immer größer bis in dieser nach 24 Stunden nur noch 35,6% der ursprünglichen Glukosekonzentration enthalten ist oder absolut gesehen ein Abfall um 59,5 mg/dl Glukose stattgefunden hat.

Absolut betrachtet nimmt die Glukosekonzentration in Lithiumheparin-Monovetten in der ersten Stunde um 3,10 mg/dl und in der zweiten Stunde um 3,58 mg/dl ab. Die Abnahme der Glukosekonzentration liegt mit 5,10 mg/dl (Natriumfluorid) und 4,85 mg/dl (Jodacetat) in der ersten Stunde höher als in Lithiumheparin-Monovetten. In der zweiten Stunde ist die Abnahme mit 2,38 mg/dl (Natriumfluorid) und 2,00 mg/dl (Jodacetat) im Vergleich zu Lithiumheparin-Monovetten jedoch niedriger.

Über 24 Stunden zeigt Jodacetat (90,8%) bei Betrachtung des relativen Mittelwertes im Vergleich zu Natriumfluorid eine geringfügig stärkere Hemmung (90,1%). Bis zum Ende der ersten Stunde liegen die relativen Mittelwerte aber in Natriumfluorid-Monovetten etwas höher und nach einer Stunde sind die Werte in beiden Monovetten gleich hoch (94,5%). Zu späteren Zeitpunkten liegt jedoch die relative Glukosekonzentration in den Jodacetat-Monovetten stets höher. Absolut betrachtet liegt die Glukosekonzentration in Natriumfluorid-Monovetten jedoch stets höher als in Monovetten unter Zusatz von Jodacetat.

Abbildung 13: Verlauf der relativen Mittelwerte von Glukose in 24 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)

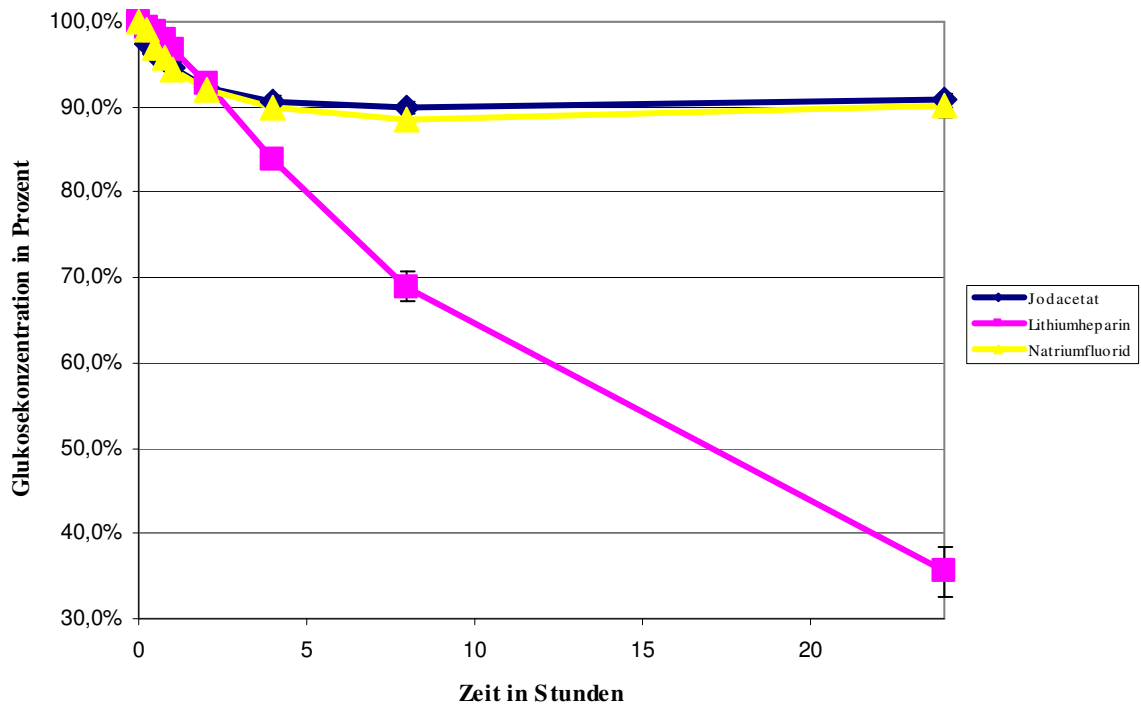


Abbildung 14: Verlauf der relativen Mittelwerte von Glukose in 4 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)

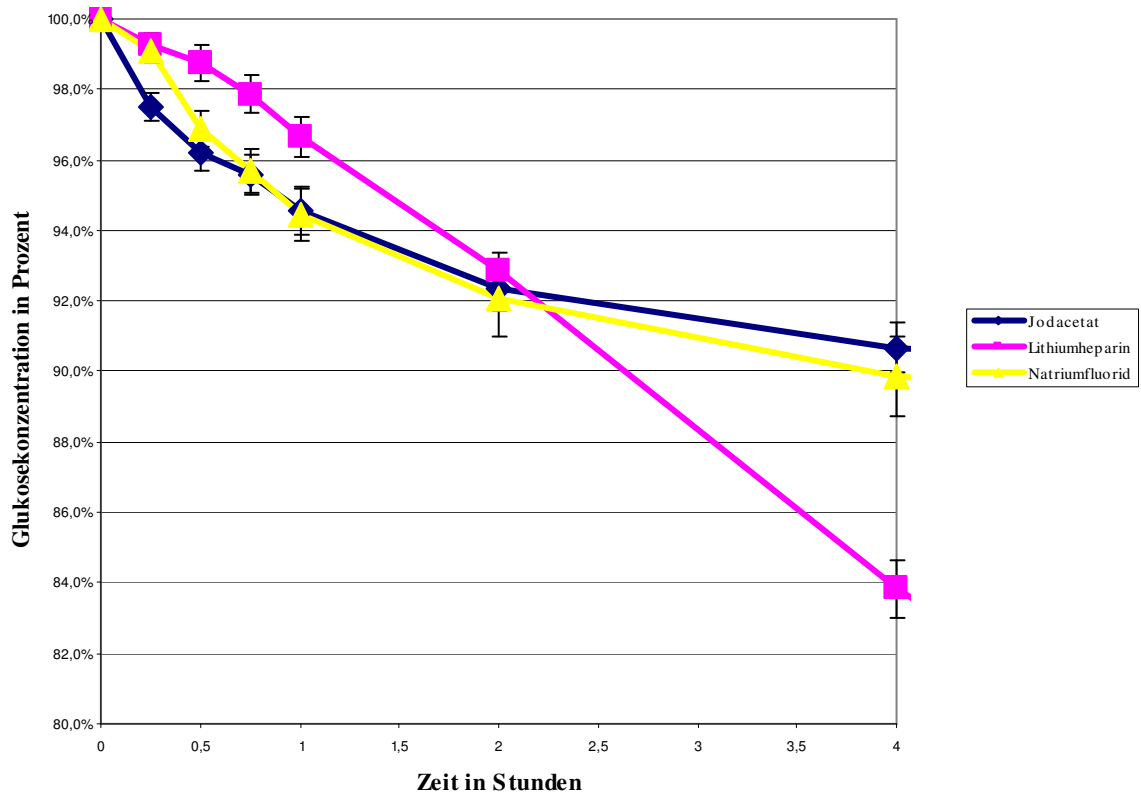


Abbildung 15: Verlauf der absoluten Mittelwerte von Glukose in 24 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)

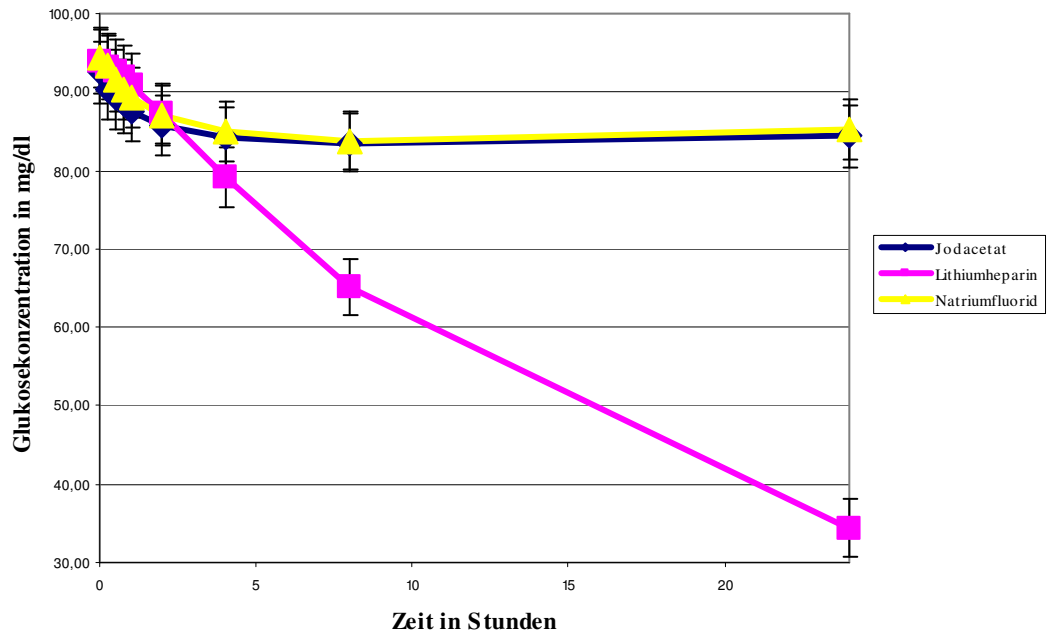
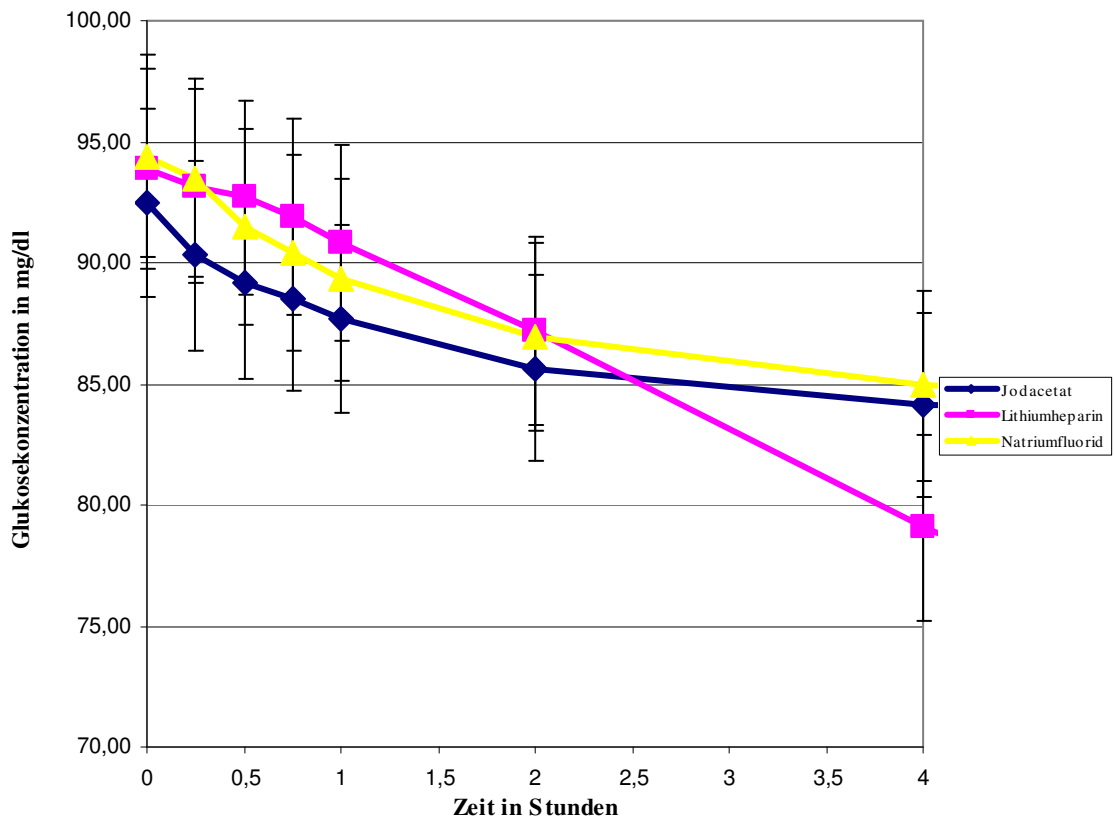


Abbildung 16: Verlauf der absoluten Mittelwerte von Glukose in 4 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)



Die Abbildungen 17 und 19 zeigen den Verlauf der relativen bzw. absoluten Mittelwerte der Laktatkonzentration über 24 Stunden. Die Graphiken 18 und 20 stellen Ausschnittsvergrößerungen des Intervalls bis zu 4 Stunden dar. Tabelle 10 fasst die relativen und absoluten Mittelwerte der Laktatkonzentration zusammen. Die Laktatkonzentration in der Lithiumheparin-Monovette liegt zu jedem Zeitpunkt außer dem Ausgangswert sowohl relativ als auch absolut über der Laktatkonzentration in Monovetten mit Zusatz von Glykolyseinhibitoren. Nach 24 Stunden hat sich die Ausgangskonzentration des Laktats in Lithiumheparin-Monovetten mehr als versechsfacht, wobei der stärkste Anstieg mit 0,63 mg/dl in der ersten Stunde stattfindet. Der absolute Mittelwert des Laktats in Natriumfluorid-Monovetten liegt mit 1,44 mg/dl deutlich unter den Ausgangswerten der anderen Stoffe (1,61 mg/dl). Nach 24 Stunden ist relativ betrachtet in Jodacetat-Monovetten mehr Laktat entstanden (127,0%) als in Natriumfluorid-Monovetten (121,6%).

Abbildung 17: Verlauf der relativen Mittelwerte von Laktat in 24 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)

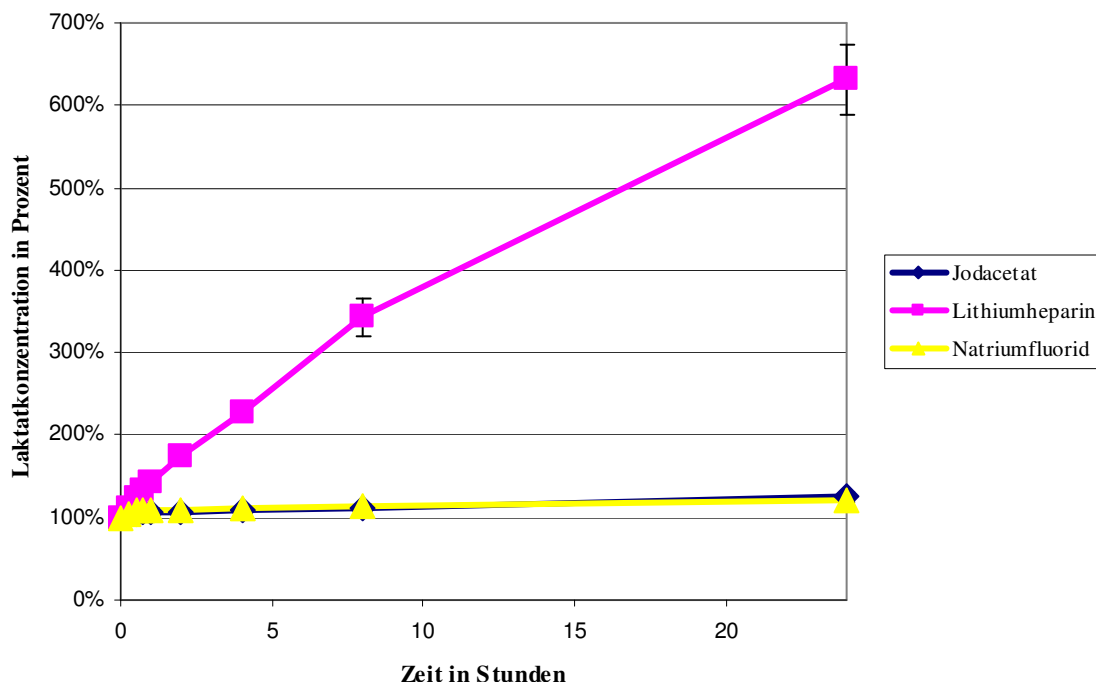


Abbildung 18: Verlauf der relativen Mittelwerte von Laktat in 4 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)

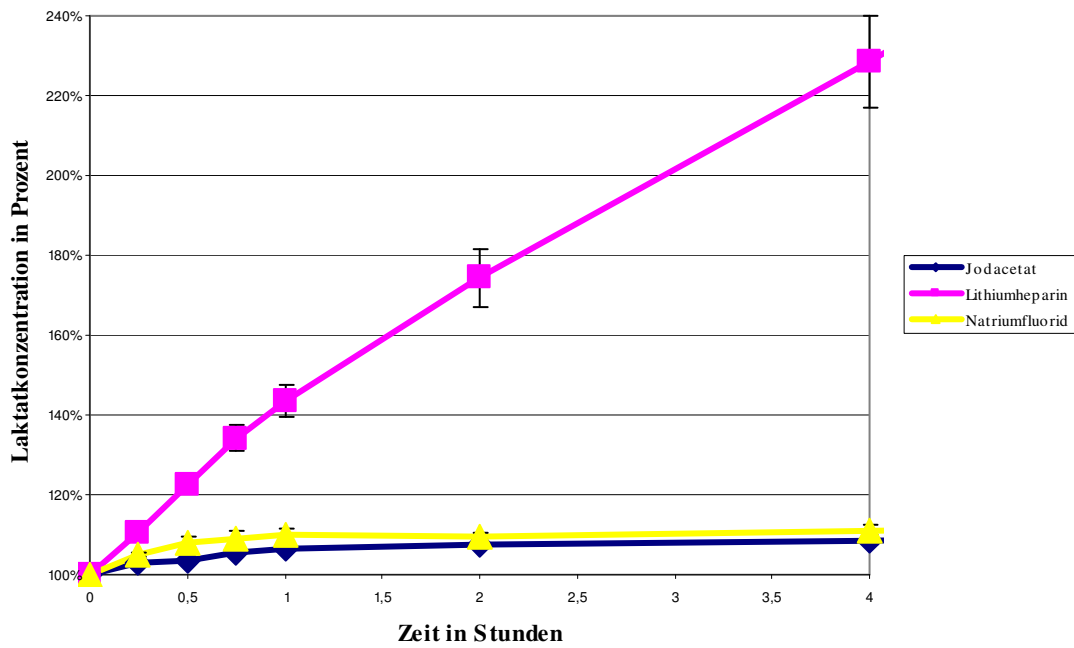


Abbildung 19: Verlauf der absoluten Mittelwerte von Laktat in 24 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)

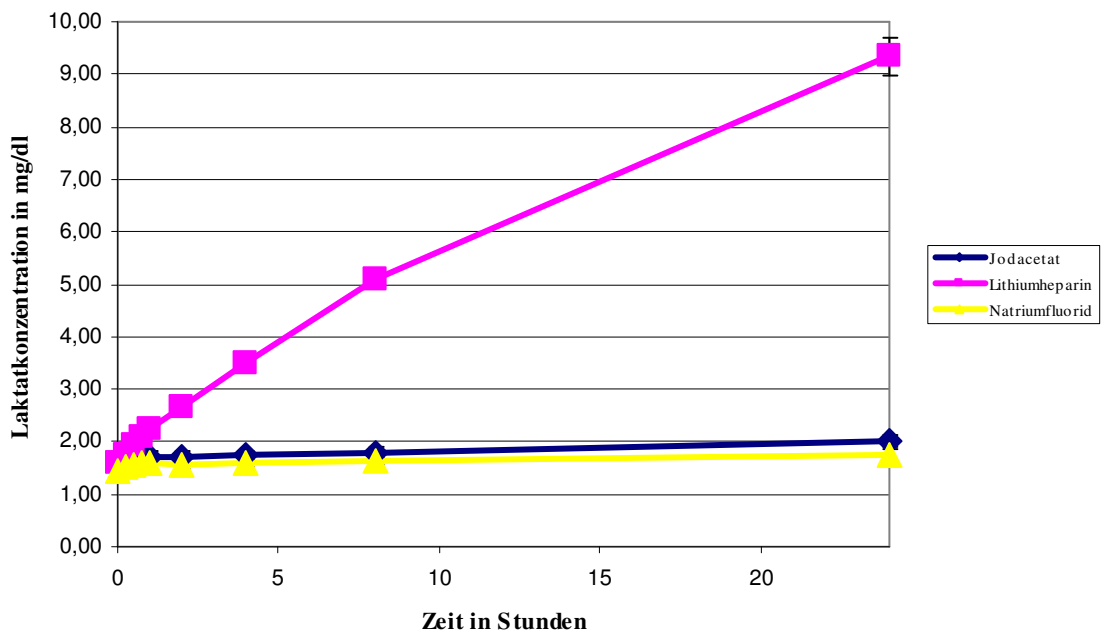
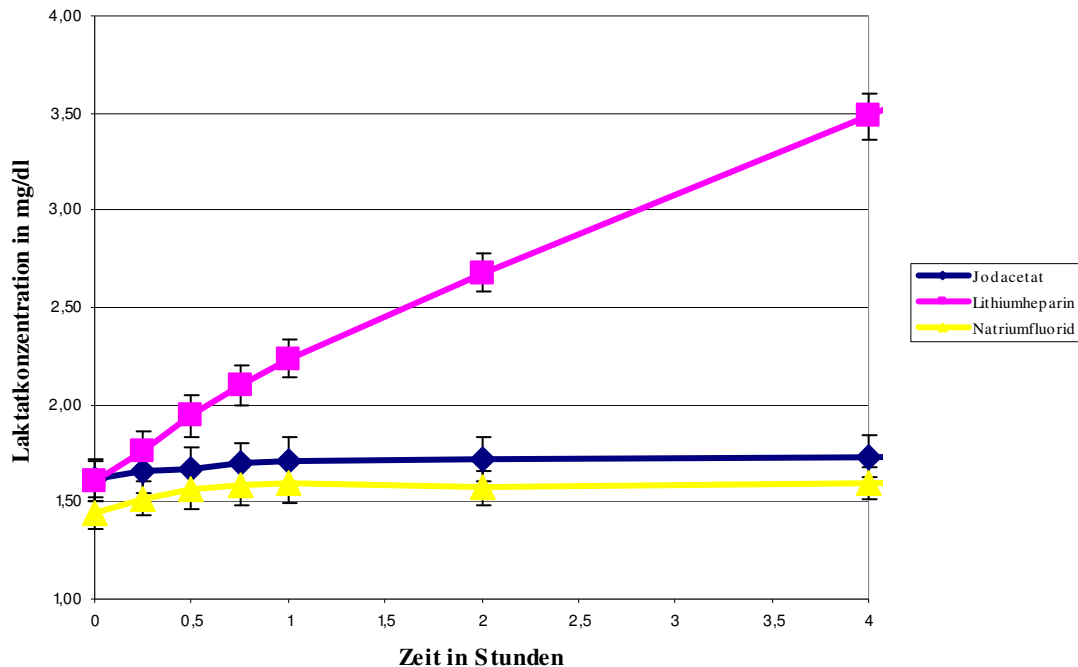


Abbildung 20: Verlauf der absoluten Mittelwerte von Laktat in 4 Stunden bei gesunden Probanden (n=20)



Zeit in h	Abs. MW (SD) in mg/dl JAc	Abs. MW (SD) in mg/dl LiH	Abs. MW (SD) in mg/dl NaF	Rel. MW (SD) in % JAc	Rel. MW (SD) in % LiH	Rel. MW (SD) in % NaF
0	1,61	1,61	1,44	100,0	100,0	100,0
0,25	1,66	1,76	1,52	103,0	110,7	104,9
0,5	1,67	1,94	1,57	103,6	122,7	107,9
0,75	1,69	2,10	1,58	105,4	134,2	109,1
1	1,71	2,24	1,59	106,5	143,4	109,9
2	1,72	2,68	1,57	107,3	174,4	109,4
4	1,73	3,48	1,60	108,3	228,5	111,0
8	1,79	5,10	1,63	112,4	343,2	113,9
24	2,00	9,34	1,75	127,0	631,4	121,6

Tabelle 10: Absolute und relative Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) der Laktatkonzentration bei gesunden Probanden (n=20)

2.2. Vergleich von Lithiumheparin und Natriumfluorid bei diabetischen Patienten und gesunden Probanden

Die Tabellen 11 und 12 zeigen die Verläufe der absoluten und relativen Mittelwerte der Glukose für die beiden Versuchsgruppen in Lithiumheparin-Monovetten und Natriumfluorid-Monovetten. Bezogen auf die Lithiumheparin-Monovetten haben die neun Proben der Diabetes-Patienten im Durchschnitt eine Ausgangskonzentration von 170,56 mg/dl und die Messwerte liegen zwischen 137 mg/dl und 210 mg/dl. Bei den 20 gesunden Probanden reicht die Bandbreite der Ausgangskonzentrationen von 55 mg/dl bis 144 mg/dl bei einem absoluten Mittelwert von 93,90. Der Abfall vom Ausgangswert bis zum 24-Stunden-Wert beträgt bei den Diabetikern 67,44 mg/dl und bei den Nichtdiabetikern 59,50 mg/dl bzw. 41,4% (Diabetiker) und 64,4% (Nichtdiabetiker).

Zeit in Stunden	Diabetiker absoluter MW (SD) in mg/dl	Gesunde absoluter MW (SD) in mg/dl	Diabetiker relativer MW (SD) in Prozent	Gesunde relativer MW (SD) in Prozent
0	170,56 (9,09)	93,90 (4,14)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)
0,25	168,11 (9,03)	93,15 (4,01)	98,5 (0,5)	99,3 (0,3)
0,5	168,22 (9,11)	92,70 (4,01)	98,6 (0,3)	98,8 (0,5)
0,75	166,44 (9,15)	91,90 (4,03)	97,5 (0,5)	97,9 (0,5)
1	165,22 (9,27)	90,80 (4,05)	96,8 (0,6)	96,7 (0,6)
2	162,44 (9,17)	87,22 (3,87)	95,1 (0,6)	92,8 (0,5)
4	155,56 (8,84)	79,05 (3,86)	91,1 (0,7)	83,8 (0,8)
8	141,44 (8,92)	65,20 (3,58)	82,6 (1,1)	69,0 (1,7)
24	103,00 (11,57)	34,40 (3,71)	59,6 (3,8)	35,6 (2,9)

Tabelle 11: Absolute bzw. relative Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) der Glukosekonzentration in **Lithiumheparin-Monovetten** bei Diabetikern (n=9) und gesunden Probanden (n=20)

Zeit in Stunden	Diabetiker absoluter MW (SD) in mg/dl	Gesunde absoluter MW (SD) in mg/dl	Diabetiker relativer MW (SD) in Prozent	Gesunde relativer MW (SD) in Prozent
0	170,33 (9,30)	94,40 (4,18)	100,00 (0,0)	100,0 (0,0)
0,25	168,56 (8,77)	93,50 (4,07)	99,08 (0,4)	99,1 (0,3)
0,5	167,22 (8,82)	91,50 (4,07)	98,26 (0,3)	96,9 (0,5)
0,75	166,44 (8,99)	90,40 (4,07)	97,75 (0,5)	95,7 (0,6)
1	164,78 (8,72)	89,30 (4,16)	96,82 (0,4)	94,5 (0,8)
2	163,56 (8,92)	86,92 (3,90)	96,03 (0,3)	92,0 (1,1)
4	162,89 (9,08)	84,95 (3,93)	95,59 (0,4)	89,9 (1,1)
8	161,56 (9,01)	83,75 (3,90)	94,81 (0,5)	88,6 (1,1)
24	159,88 (9,18)	85,25 (4,08)	95,28 (0,5)	90,1 (1,3)

Tabelle 12: Absolute bzw. relative Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) der Glukosekonzentration in **Natriumfluorid-Monovetten** bei Diabetikern (n=9) und gesunden Probanden (n=20)

Die Abbildungen 21 und 22 zeigen die relativen und absoluten Verläufe der Glukosekonzentration für Natriumfluorid und Lithiumheparin bei diabetischen Patienten (n=9) über den gesamten Messzeitraum. Dem sind die schon aus den Abbildungen 13 und 15 bekannten Verläufe bei gesunden Probanden (n=20) gegenübergestellt.

Abbildung 21: Verlauf der relativen Mittelwerte von Glukose in 24 Stunden bei gesunden Probanden und Diabetikern

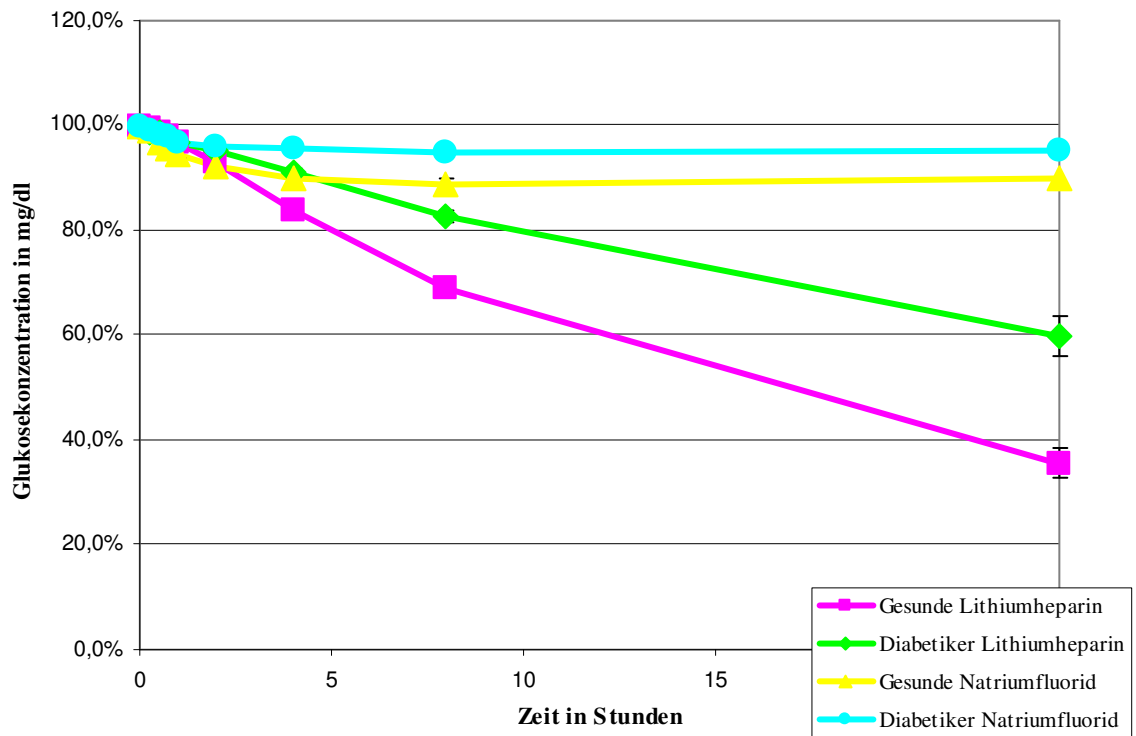
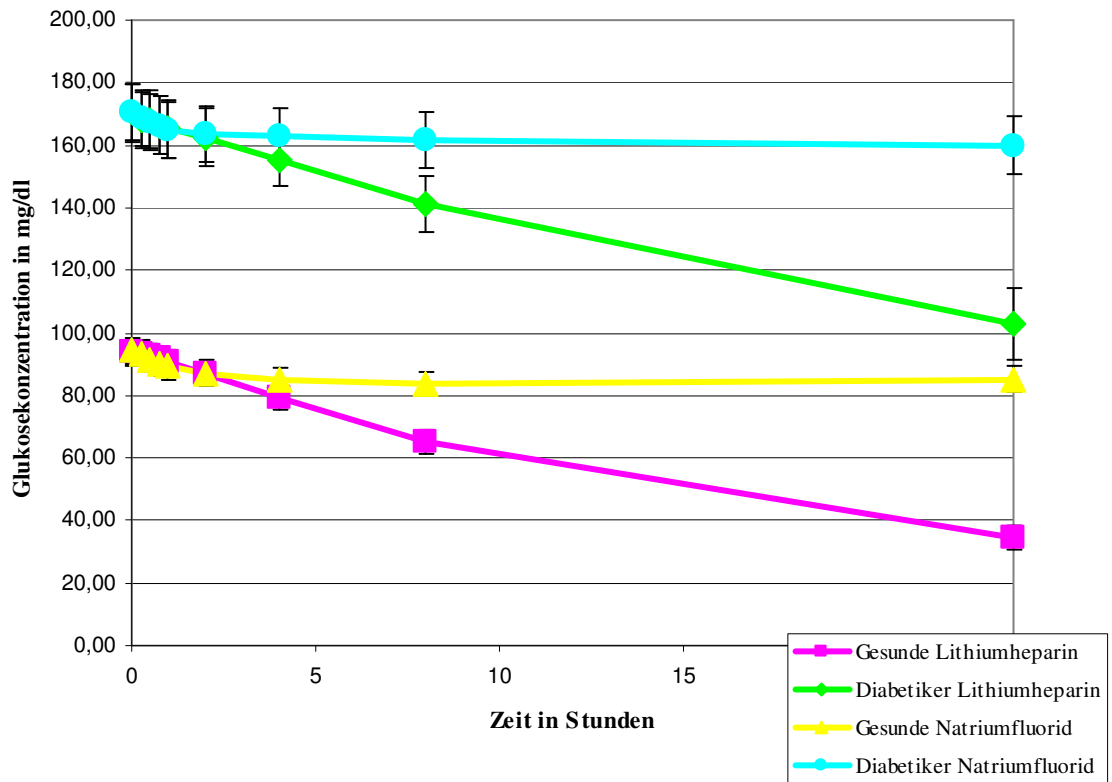


Abbildung 22: Verlauf der absoluten Mittelwerte von Glukose in 24 Stunden bei gesunden Probanden und Diabetikern



ERGEBNISSE

In den Tabellen 13 und 14 werden die Geschwindigkeiten des Abfalls der Glukosekonzentration für Diabetiker und Nichtdiabetiker in Lithiumheparin- und Natriumfluorid-Monovetten in bestimmten Zeitintervallen dargestellt. Zur Kalkulation der Geschwindigkeit wurde näherungsweise die Differenz zum vorherigen Wert durch die dazwischenliegenden Stunden dividiert. Hierbei fällt auf, dass absolut der Abfall in der ersten Stunde bei den Diabetikern mit 5,33 (Lithiumheparin) bzw. 5,56 mg/dl (Natriumfluorid) pro Stunde herausragt, während die anderen Geschwindigkeiten deutlich darunter liegen. Relativ betrachtet ist der Abfall in den Proben ohne Inhibitor bei den gesunden Probanden stets höher, teilweise sogar mehr als doppelt so hoch.

In den Stunden	Gesunde mg/dl/h	Diabetiker mg/dl/h	Gesunde %/h	Diabetiker %/h
0-1	3,10	5,33	3,3%	3,2%
1-2	3,58	2,78	3,8%	1,6%
2-4	4,08	3,44	4,5%	2,0%
4-8	3,46	3,53	3,7%	2,1%
8-24	1,93	2,40	2,1%	1,4%

Tabelle 13: Geschwindigkeit der Glukoseabnahme in **Lithiumheparin-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20) und diabetischen Patienten (n=9)

In den Stunden	Gesunde mg/dl/h	Diabetiker mg/dl/h	Gesunde %/h	Diabetiker %/h
0-1	5,10	5,56	5,5%	3,2%
1-2	2,38	1,22	2,4%	0,8%
2-4	0,98	0,33	1,1%	0,2%
4-8	0,30	0,33	0,3%	0,2%
8-24	-0,09	0,11	-0,1%	0,0%

Tabelle 14: Geschwindigkeit der Glukoseabnahme in **Natriumfluorid-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20) und diabetischen Patienten (n=9)

In den Tabellen 15 und 16 werden die Gesamtgeschwindigkeiten des Abfalls der Glukosekonzentration für Diabetiker und Nichtdiabetiker in Lithiumheparin- und Natriumfluorid-Monovetten bestimmt. Hierbei wurden die Differenzen zum Ausgangswert gebildet und durch die Anzahl der dazwischenliegenden Stunden dividiert.

In den Stunden	Gesunde mg/dl/h	Diabetiker mg/dl/h	Gesunde %/h	Diabetiker %/h
0-1	3,10	5,33	3,3%	3,2%
0-2	3,34	4,06	3,6%	2,4%
0-4	3,71	3,75	4,0%	2,2%
0-8	3,59	3,64	3,9%	2,2%
0-24	2,48	2,81	2,7%	1,7%

Tabelle 15: Gesamtgeschwindigkeit der Glukoseabnahme in **Lithiumheparin-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20) und diabetischen Patienten (n=9)

In den Stunden	Gesunde mg/dl/h	Diabetiker mg/dl/h	Gesunde %/h	Diabetiker %/h
0-1	5,10	5,56	5,5%	3,2%
0-2	3,74	3,39	4,0%	2,0%
0-4	2,36	1,86	2,5%	1,1%
0-8	1,33	1,10	1,4%	0,6%
0-24	0,38	0,44	0,4%	0,2%

Tabelle 16: Gesamtgeschwindigkeit der Glukoseabnahme in **Natriumfluorid-Monovetten** bei gesunden Probanden (n=20) und diabetischen Patienten (n=9)

IV DISKUSSION

1. *Evaluation des HemoCue 201 DM*

1.1. **Bestimmung der Unpräzision**

Um die Unpräzision des HemoCue 201 DM zu bestimmen, wurden zehnfach bzw. zwanzigfach Bestimmungen in der Serie durchgeführt, sowie an 15 aufeinander folgenden Tagen mit Hilfe von Kontrolllösungen die Unpräzision von Tag zu Tag bestimmt. Die „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen“ fordert für die Glukosemessung im Vollblut und Plasma eine maximal zulässige Unpräzision (Variationskoeffizienten) von 5% (73).

Der Variationskoeffizient in der Serie lag in dieser Studie bei 4,8% im Glukosebereich < 100 mg/dl, bei 2,1% für den Bereich 100 bis 300 mg/dl und bei 1,4% bzw. 0,6% für den Bereich >300 mg/dl. Bei der Unpräzision von Tag zu Tag (n=15 Tage) ergaben sich Variationskoeffizienten für das Testserum „Low“ (47+/-9 mg/dl) von 2,9% und für das Testserum „High“ (143+/-20 mg/dl) von 1,3%. Damit lagen die Variationskoeffizienten stets unter dem geforderten Variationskoeffizient von 5% und sind insgesamt als gut zu bewerten.

Die „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (73)“ aus dem Jahr 2001 schreibt vor, wie die Qualitätssicherung für POCT durchzuführen ist. Neben interner Qualitätssicherung wird durch diesen Beschluss auch die externe Qualitätssicherung Pflicht, d.h. die Teilnahme an vierteljährlichen Ringversuchen jeder Organisationseinheit ist obligatorisch. „Diese Verpflichtung entfällt, wenn die interne Qualitätssicherung für die patientennahe Sofortdiagnostik in der Verantwortung des Zentrallabors durchgeführt wird... Verantwortung ist hier als Anleitung und Aufsicht zu verstehen. Für die interne Qualitätssicherung müssen nachvollziehbare Regelungen getroffen werden (61).“

Die Richtlinie fordert weiterhin eine benutzungstägliche Kontrolle mit einem physikalischen oder elektronischen Standard, sofern ein solcher vorhanden ist. „Mindestens einmal je Woche, in der Patientenproben untersucht werden, muss eine

Kontrollprobe gemessen und nach Anlage 1 Spalte 7 beurteilt werden (73).“ Dabei beträgt die maximal zulässige Abweichung des Einzelwertes für Glukose in Vollblut und Plasma 16 %. Größere Abweichungen müssen dokumentiert, die Ursachen behoben, und die Messung wiederholt werden. Nach der Richtlinie beträgt die maximal zulässige Unrichtigkeit 6 % und wie oben bereits erwähnt die maximal zulässige Unpräzision 5 % für die Glukosemessung in Vollblut und Plasma. Die Ergebnisse der Messungen der Kontrollproben müssen protokolliert werden (62, 74, 75).

1.2. Methodenvergleich

Es wurde ein Methodenvergleich mit 244 Patientenproben durchgeführt. Die Auswertung nach Passing-Bablok (Abbildung 8) zwischen dem HemoCue 201 DM für Vollblutproben und dem Hitachi 917 für Plasmaproben bei sofortiger Zentrifugation ergab eine sehr gute Korrelation ($r=1$) der Vollblutwerte und Plasmawerte. Der Konvertierungsfaktor von Plasmawerten zu Vollblutwerten, der werksseitig mit 1,11 angegeben wird (67), wurde in dieser Studie mit 1,105 geringgradig niedriger bestimmt.

Eine Ursache könnte in dem leicht erniedrigten Hämatokrit (Mittelwert 0,36) des Patientenkollektivs liegen, der unabhängig von der Studie bereits vorher in den EDTA-Blutproben bestimmt wurde. Analog zu der Rechnung in I 2.2 würde sich damit ein erniedrigter Konversionsfaktor von 1,093 ergeben. Insgesamt betrachtet stimmten die ermittelten Ergebnisse der Geräte HemoCue 201 DM und Hitachi 917 sehr gut überein.

1.3. Anschluss an das Laborinformationssystem (LIS) und praktische Anwendung

Im Bereich der EDV-Anbindung wird der HemoCue 201 DM zum ersten Mal mit der seit Mai 2002 erhältlichen international standardisierten Schnittstelle POCT1-A (Siehe I 3.2) angeboten. Damit besteht die Möglichkeit einer direkten Anbindung als auch einer Anbindung über den Zwischenschritt des POCcelerator. Vorteile der EDV-Anbindung werden besonders auf den Gebieten der Dokumentation, der Überwachungsmöglichkeiten und der Qualitätssicherung deutlich. Statt handgeschriebener Zettel mit den entsprechenden Fehlermöglichkeiten, werden die Messergebnisse in den Patientendaten dokumentiert. Dadurch besteht die Möglichkeit des Zugriffs von verschiedenen Stellen auf die Daten. So könnten die Messergebnisse z. B. vom Labor zentral überwacht werden.

Der praktische Gebrauch in der Diabetikerambulanz verlief problemlos. Es fielen dabei die im Folgenden angeführten Kritikpunkte auf. Der eingeschränkte Messbereich von 0 bis 400 mg/dl (0-22,2, mmol/l) stellt einen der Schwachpunkte des HemoCue 201 DM dar. Der Hersteller empfiehlt in diesem Fall den Messbereich durch Verdünnung im Verhältnis von 1:1 auf 800mg/dl (44,4 mmol) zu erweitern. Dieses Verfahren hat jedoch den Nachteil, dass es umständlich ist und außerdem zu Ungenauigkeiten führt, da der Wassergehalt einer Blutprobe deutlich weniger als 100% beträgt. Der Wassergehalt in Erythrozyten liegt bei 71% und im Plasma bei 93%. Bei einem Hämatokrit von beispielsweise 43% ergibt sich dadurch ein tatsächlicher Wassergehalt des Blutes von 84% ($0,43 \times 0,71 + (1-0,43) \times 0,93 = 0,84$). Bei einer 1:1 Verdünnung liegt das effektive Verdünnungsverhältnis also mit 0,84:1 oder 1:1,19 bedeutend höher (38) und es kommt zu einer Unterschätzung der Glukosekonzentration.

Die unterschiedliche Messdauer von Proben mit niedrigen und hohen Glukosewerten fiel in der praktischen Anwendung als weiterer negativer Aspekt auf. So kann es bei höheren Glukosewerten bis zu 2 Minuten dauern bis ein Messwert angezeigt wird. Außerdem sind die Preise für die Messküvette relativ hoch. Der Hersteller gibt als weitere Einschränkungen des Verfahrens stark lipämische Proben, ungewöhnliche Methämoglobinkonzentrationen, sowie hohe Konzentrationen von Glukosamin (>90 mg/dl) an.

Der HemoCue 201 DM kann zusammenfassend jedoch trotz der oben angeführten Einschränkungen aufgrund seiner guten Messeigenschaften, sowie der Verbesserung des Datenmanagements mit standardisierten Schnittstellen für den POCT-Einsatz empfohlen werden.

1.4. Vor- und Nachteile des POCT

Zeitgleich mit dem rasanten Wachstum der POCT-Industrie (2002 betrug der Gesamtumsatz auf dem europäischen Markt ca. 500 Millionen Euro) ist eine große Diskussion in der Fachliteratur über den Sinn und Unsinn von POCT entbrannt. Als Vorteile werden deutlich geringere Probenvolumina und schnellere Verfügbarkeit von Messergebnissen (z. B. durch Wegfall der Transportwege, Vereinfachung der Probengewinnung) genannt, die zu erhöhtem Arzt- und Patientenkomfort führen und zeitnahe Kontrollen mit therapeutischen Konsequenzen erlauben.

Die unzureichende Aussagefähigkeit der Ergebnisse durch mangelhafte Qualitätskontrollen und Dokumentation, Verwendung unterschiedlicher Messverfahren, Bedienung durch fachfremdes Personal und Interferenzen wird als ein Hauptargument gegen POCT verwendet. Des Weiteren werden erhöhte Kosten angeführt, die durch die geringe Auslastung der Geräte, die Vorhaltung mehrerer Geräte und entsprechender Reagenzien, sowie durch eventuell verändertes ärztliches Anordnungsverhalten entstehen (75-80).

2. Evaluation der Glykolyseinhibitoren

2.1. Vergleich von Lithiumheparin, Natriumfluorid und Jodacetat bei gesunden Probanden

Der Wert des Glykolyseinhibitors Natriumfluorid wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Mehrere Studien (44-49) beobachteten unter Natriumfluorid einen stabilen Glukosewert über einen Zeitraum bis zu 10 Tagen. Andere Studien (50-54) zeigten hingegen einen Abfall der Glukosekonzentration bei Verwendung von Natriumfluorid als Glykolyseinhibitor. Dieser fand hauptsächlich in der ersten Stunde statt und wurde dann langsamer. Erst nach 4 Stunden waren die Werte stabil. Die Abfälle der Glukosekonzentration wurden jedoch nicht auf statistische Signifikanz untersucht.

Das vorzugsweise im Süden Europas verwendete Jodacetat als Glykolyseinhibitor war auch schon Gegenstand von Untersuchungen. Bueding und Goldfarb (51) sahen eine komplette Hemmung der Glykolyse bei Kombination von 1% Jodacetat mit 1% Natriumfluorid. Foucher et al. (56) beobachteten in den ersten zwei Stunden trotz Zugabe von Jodacetat einen Abfall der Glukosekonzentration um 9%. Danach blieben die Werte bei einem Abfall von 0,4% pro Stunde relativ stabil.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde für die beiden Glykolyseinhibitoren Natriumfluorid und Jodacetat sowie für Lithiumheparin ein statistisch signifikanter Abfall der Glukosekonzentration zu den vorher als relevant festgelegten Zeitpunkten nach einer, 2, 4 und 24 Stunden nachgewiesen (siehe Tabelle 6-8 und Abbildung 12). Dazu wurden die „Area under the Curve“ der relativen Mittelwerte nach Matthews et al. (72) bestimmt und die Differenzen der Flächen zum vorherigen Wert auf statistische Signifikanz untersucht. Da sich die Ausgangswerte absolut voneinander unterscheiden

(Lithiumheparin 92,5 mg/dl, Jodacetat 93,9 mg/dl und Natriumfluorid 94,4 mg/dl), sind zur Vergleichbarkeit untereinander die relativen Mittelwerte bzw. die Differenzen vom Ausgangswert besser geeignet (siehe Tabelle 10 und Abbildungen 13-16).

Nach einer Stunde liegt der relative Mittelwert der Glukosekonzentration in Lithiumheparin-Monovetten mit 96,7% und einer Standardabweichung von 0,6% höher als in Natriumfluorid- und Jodacetat-Monovetten mit jeweils 94,5% bei einer Standardabweichung von 0,8% bzw. 0,7%. Auch der relative Mittelwert nach zwei Stunden liegt in Lithiumheparin-Monovetten geringfügig höher.

Nach vier Stunden zeigt sich erstmals der Nutzen der Glykolyseinhibition. Sowohl der absolute als auch der relative Mittelwert der Glukosekonzentration in der Lithiumheparin-Monovetten liegt erstmals niedriger als in den Monovetten mit Zusatz von Glykolyseinhibitoren. Während sich die Proben mit Zusatz von Glykolyseinhibitoren relativ stabil halten, aber immer noch einen statistisch signifikanten Abfall im Vergleich zum vorherigen Wert zeigen, wird der Abstand zur Lithiumheparin-Kurve immer größer. Nach 24 Stunden sind lediglich noch 35,6% der ursprünglichen Glukosekonzentration in der Lithiumheparin-Monovette enthalten. Die Geschwindigkeit des Abfalls ist in den Monovetten unter Zugabe von Glykolyseinhibitoren während der ersten Stunden am höchsten. Danach kommt es zu einer langsamen Hemmung der Glykolyse. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Chan et al. (50) und Nakashima et al. (52).

Zu den oben zitierten älteren (44-47) aber auch zu neueren Studien (48, 49), die z. T. einen stabilen Glukosewert unter Natriumfluorid über einen Zeitraum von bis zu 10 Tagen unter Natriumfluorid zeigten, muss festgestellt werden, dass teilweise die Zeitabstände von der Blutentnahme bis zur Messung des Ausgangswertes nicht angegeben wurden. Der Ausgangswert könnte dadurch tiefer liegen, und die Glykolyse würde dementsprechend geringer ausfallen. In dieser Studie wurde strikt darauf geachtet, dass die Zeitabstände zwischen der Blutentnahme und der ersten Zentrifugation kleiner als 5 Minuten waren. Zu den älteren Studien ist ferner anzumerken, dass enzymatische Bestimmungsmethoden fehlten. Außerdem wurden in den anderen Studien teilweise unterschiedliche Konzentrationen von Natriumfluorid verwendet (Sarstedt-Monovette 1

mg Natriumfluorid/ml, Overfield et al. (47) 2,5 mg Natriumfluorid/ml und Denis et al. (45) 6 mg Natriumfluorid/ml).

Foucher et al. (56) kamen bei Verwendung von Jodacetat zu vergleichbaren Ergebnissen. In den ersten zwei Stunden nahm die Glukosekonzentration um 9% (in dieser Studie 7,7%) ab. Sie zogen daraus den gleichen Schluss wie in dieser Arbeit, dass es während dieser Zeitspanne keine Berechtigung für die Verwendung von Jodacetat als Glykolyseinhibitor gibt.

Die WHO empfiehlt zu der Glukosebestimmung: „Glucose concentrations should not be determined on serum unless red cells are immediately removed, otherwise glycolysis will result in an unpredictable underestimation of the true concentration. It should be stressed that glucose preservatives do not totally prevent glycolysis. If whole blood is used, the sample should be kept at 0-4° Celsius or centrifuged immediately or assayed immediately (11).“ Diese Aussage wird mit der vorliegenden Arbeit bestätigt.

In der Literatur gibt es verschiedene Erklärungen (33) für den verspäteten Eintritt der Wirkung der Glykolyseinhibitoren Jodacetat und Natriumfluorid. Zum Einen hemmen beide Stoffe erst spätere Schritte der Glykolyse, so dass die ersten Schritte der Glykolyse weiterhin stattfinden. Jodacetat hemmt den sechsten Schritt der Glykolyse, der von dem Enzym Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase katalysiert wird, und Natriumfluorid inhibiert erst das neunte Enzym, die Enolase (Vergleiche Tabelle 17). Zum Anderen benötigen die Inhibitoren Zeit, um an den Ort ihrer Wirkung, in das Zellinnere, zu gelangen. Außerdem werden durch die Inhibitoren nicht die Glukosetransporter gehemmt, so dass der Glukosetransport vom Plasma in die Erythrozyten weiterhin stattfinden kann.

Zu diesen Erklärungsansätzen passt auch der Sachverhalt, dass es in den Proben mit Glykolyseinhibitor, trotz einer stärkeren Glykolyse in den ersten zwei Stunden im Vergleich zu Lithiumheparin nur zu einem geringen Laktatanstieg (Vergleiche Abbildungen 17-20 und Tabelle 10) kommt. So steigt der Laktatwert in den ersten zwei Stunden nur um 0,11 mg/dl (Jodacetat) bzw. 0,13 mg/dl (Natriumfluorid) im Vergleich zu 1,07 mg/dl (Lithiumheparin), da die anaerobe Glykolyse aufgrund der spezifischen glykolyseinhibitorische Wirkungen von Jodacetat und Natriumfluorid nicht mit der

DISKUSSION

Bildung von Laktat vollendet werden kann. Um die Vorgänge genauer spezifizieren zu können, wäre die Bestimmung von Zwischenprodukten der Glykolyse sehr interessant, speziell von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und 2-Phosphoglycerat.

Schritt	Edukt	Enzym	Produkt
1	Glukose + ATP	Hexokinase	Glukose-6-Phosphat + ADP + H ⁺
2	Glukose-6-Phosphat	Glukosephosphat-Isomerase	Fruktose-6-Phosphat
3	Fruktose-6-Phosphat + ATP	Phosphofruktokinase	Fruktose-1,6-Bisphosphat + ADP + H ⁺
4	Fruktose-1,6-Bisphosphat	Aldolase	Dihydroxyacetonphosphat + Glycerinaldehyd-3-Phosphat
5	Dihydroxyacetonphosphat	Triosephosphat-Isomerase	Glycerinaldehyd-3-Phosphat
6	Glycerinaldehyd-3-Phosphat + P _i + NAD ⁺	Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase	1,3-Bisphosphoglycerat + NADH + H ⁺
7	1,3-Bisphosphoglycerat + ADP	Phosphoglycerat-Kinase	3-Phosphoglycerat + ATP
8	3-Phosphoglycerat	Phosphoglycerat-Mutase	2-Phosphoglycerat
9	2-Phosphoglycerat	Enolase	Phosphoenolpyruvat + H ₂ O
10	Phosphoenolpyruvat + ADP + H ⁺	Pyruvat-Kinase	Pyruvat + ATP
11	Pyruvat + NADH + H ⁺	Laktat-Dehydrogenase	Laktat + NAD ⁺
Gesamt	Glukose + 2 P _i + 2 ADP		2 Laktat + 2 ATP + 2 H ₂ O

Tabelle 17: Reaktionen der Glykolyse (nach 81)

Insgesamt betrachtet kann der Einsatz der Glykolysehemmer Jodacetat und Natriumfluorid in dieser Form nur bedingt empfohlen werden. Erst zu den

Messzeitpunkten, die später als zwei Stunden liegen, inhibieren diese Substanzen effektiv die Glykolyse. Zu diesen Zeitpunkten sind jedoch schon ca. 10% der ursprünglichen Konzentration glykolysiert.

2.2. Vergleich von Jodacetat und Natriumfluorid

Der Vergleich der beiden Glykolysehemmer auf Unterschiede in der Wirksamkeit ist schwer zu beurteilen. Relativ zeigt sich für Jodacetat eine geringfügig stärkere Hemmung der Glykolyse bezogen auf den gesamten Zeitraum. So beträgt nach 24 Stunden die Glukosekonzentration 90,8% in Jodacetat-Monovetten der Ursprungskonzentration gegenüber 90,1% in Natriumfluorid-Monovetten. Bis zum Ende der ersten Stunde liegen die relativen Mittelwerte in Natriumfluorid-Monovetten etwas höher und nach einer Stunde sind die Werte in beiden Monovetten gleich hoch (94,5%). Zu späteren Zeitpunkten liegt die relative Glukosekonzentration in den Jodacetat-Monovetten stets höher. Absolut betrachtet ist die Glukosekonzentration in Natriumfluorid-Monovetten jedoch stets höher als in Monovetten unter Zusatz von Jodacetat.

Die Konzentration des Glykolyseproduktes Laktat liegt in Jodacetat-Monovetten absolut deutlich höher als in Natriumfluorid-Monovetten (siehe Tabelle 10 und Abbildungen 19-20). Relativ betrachtet liegen jedoch, bis auf den 24-Stunden-Wert, die Laktatkonzentration in den Natriumfluorid-Monovetten knapp über der in Jodacetat-Monovetten. Die Fähigkeit zur Glykolyseinhibition ist in den beiden Monovetten als vergleichbar zu beurteilen. Kritisch betrachtet muss jedoch angemerkt werden, dass für eine endgültige Beurteilung dieses Sachverhaltes die Probengröße zu gering war.

2.3. Vergleich von Lithiumheparin und Natriumfluorid bei diabetischen Patienten und gesunden Probanden

In den Abbildungen 21 und 22 und den Tabellen 11 und 13 geht es um die Frage, mit welcher Geschwindigkeit die Glukose abnimmt, und ob der Abfall der Glukose relativ oder absolut zum Ausgangswert stattfindet. Es werden dazu Geschwindigkeiten der Abnahme der Glukosekonzentration bei Diabetikern (MW=170,56 mg/dl, n=9) und Nichtdiabetikern (MW=93,90 mg/dl, n=20) in Lithiumheparin-Monovetten betrachtet. Thomas (25) beschreibt bei Raumtemperatur eine Abnahme um 6 mg/dl pro Stunde unabhängig von der Ausgangskonzentration. Bei Müller-Wieland (42) beträgt die Geschwindigkeit der Glykolyse ca. 5-7 % oder 10 mg/dl pro Stunde und bei Young (27) liegt die Glykolyserate ebenfalls bei 10 mg/dl pro Stunde.

Die Abbildungen 21 und 22 deuten bereits an, dass es sich in der Hauptsache um eine absolute, also eine Abnahme unabhängig von der Ausgangskonzentration, handelt. In Abbildung 21 der relativen Mittelwerte entfernen sich die Kurven für Lithiumheparin bei Gesunden und Diabetikern mit zunehmender Dauer immer stärker voneinander. In Abbildung 22 der absoluten Mittelwerte verlaufen diese hingegen relativ parallel. Außerdem müssten die Kurven von Lithiumheparin bei relativer Abnahme in Abbildung 22 eine exponentielle Form annehmen. Die Form deutet jedoch mehr auf eine lineare Abnahme hin.

In der ersten Stunde scheint es eine Abnahme der Glukosekonzentration zu geben, die abhängig von der Ausgangskonzentration der Glukose ist. Der Unterschied von 5,33 mg/dl bei Diabetikern zu 3,10 mg/dl bei Nichtdiabetikern in Lithiumheparin-Monovetten deutet dies an (vergleiche Tabelle 13). Zu späteren Zeitpunkten nähert sich die absolute Geschwindigkeit in den beiden Gruppen immer mehr an und liegt bei den Diabetikern zwischen 2,78 und 3,53 mg/dl/h und bei den Nichtdiabetikern zwischen 3,46 und 4,08 mg/dl/h in der zweiten bis zur achten Stunde.

Dementsprechend ist die relative Geschwindigkeit der Glykolyse in der Gruppe der gesunden Probanden in diesem Zeitraum im Vergleich zu den Diabetikern mehr als doppelt so groß. In dem letzten und längsten Intervall zwischen 8 und 24 Stunden verringert sich die absolute Geschwindigkeit der Glykolyse auf 1,93 mg/dl/h (Gesunde) bzw. 2,40 mg/dl/h (Diabetiker). Die Tabelle 13 deutet in der ersten Stunde auf eine Abhängigkeit der Glykolyse vom Ausgangswert und somit auf einen relativen Abfall hin. In späteren Intervallen scheint der Abfall der Glukose absolut und damit unabhängig vom Ausgangswert stattzufinden.

In Natriumfluorid-Monovetten ist der Unterschied der absoluten Geschwindigkeiten bei Diabetikern (5,56 mg/dl/h) und gesunden Probanden (5,10 mg/dl/h) in der ersten Stunde geringer ausgeprägt. Der Effekt der Glykolyseinhibition zeigt sich bei den diabetischen Patienten schon etwas früher. So liegt der relative Zweistundenwert mit 96,03% über dem von Lithiumheparin (95,1 %).

DISKUSSION

Betrachtet man die Gesamtgeschwindigkeiten über 24 Stunden in Lithiumheparin-Monovetten (Tabelle 15) fällt absolut gesehen eine höhere Abnahme bei den Diabetikern (2,81 mg/dl/h) als bei den Nichtdiabetikern (2,48 mg/dl/h) auf. Relativ liegt die Geschwindigkeit bei den Nichtdiabetikern (2,7%) höher als bei den Diabetikern (1,7%). Insgesamt gesehen ist der Abfall nicht vorhersagbar.

Glukose ist zwar der am häufigsten bestimmte Blutparameter, nimmt aber gleichzeitig durch die rasche Abnahme durch die Glykolyse eine Sonderstellung unter den Laborparametern ein. Die Problematik der Glukosemessung wird abschließend durch die Abbildung 23, den Laborbefund des Autors anlässlich eines Routinehausarztbesuches, verdeutlicht.

Hierbei wurde eine Hypoglykämie von 56 mg/dl im Plasma „diagnostiziert“. Diese „Hypoglykämie“ erklärt sich durch den langen Zeitraum zwischen Blutentnahme und Analytik. Durch Veränderungen im Gesundheitssystem ist es zu einer Konzentrierung auf wenige Laborarztpraxen und damit einhergehend zu teilweise deutlich verlängerten Transportwegen (bei dieser Probe ca. 100 km) gekommen. In diesem Fall stellen sicherlich die sofortige Messung (z.B. durch POCT) oder die sofortige Zentrifugation besseren Lösungen dar.

BMÄ-Nr	Untersuchung	Messwert	Dimension	Richtwert	Grafik
Eingesandtes Material: Vollblut					
3850	CRP qualitativ	negativ			
3841	Kleines Blutbild				
	Leukozyten	5.3	Tsd/ μ l	4.0 - 9.4	■
	Erythrozyten	5.38	Mio/ μ l	4.5 - 6.3	■
	Hämoglobin	17.2	g/dl	14 - 18	■
	Hämatokrit	47	%	38 - 52	■
	MCV (mittl. Ery.Vol)	87	fl	78 - 98	■
	MCH (HbE)	32	pg	26 - 32	■
	MCHC (mittl.Hb-Konz)	37	g/dl	32 - 36	■
	Thrombozyten	258	Tsd/ μ l	150 - 440	■
Profil 5					
3670	Kreatinin	0.77	mg/dl	bis 1.30	■
3668	Harnsäure	4.8	mg/dl	bis 7.0	■
3683	Gamma-GT 37°C	13	U/l	bis 66	■
3667	Triglyceride	117	mg/dl	bis 175	■
3664	Cholesterin	158	mg/dl	bis 200	■
3661	Blutzucker im Serum	56	mg/dl	60 - 125	■
Bestimmung der Glucose im Hämolytat empfohlen.					
3852	Antistrept. qual.	negativ			

Abbildung 23: Laborbefund

V ZUSAMMENFASSUNG

1. Evaluation des HemoCue 201 DM

In der vorliegenden Arbeit wurde der HemoCue 201 DM, ein Photometer mit speziellen Mikroküvetten zur patientennahen Glukosebestimmung im Vollblut und Plasma, evaluiert. Das Gerät verfügt über die Möglichkeit des Datenmanagements und eine Docking Station. Das Ziel der Studie war die Zuverlässigkeit der Glukosebestimmung, die Möglichkeiten der Anbindung an das Laborinformationssystem, die erstmalig über die international standardisierte Schnittstelle POCT1-A erfolgte, sowie den praktischen Einsatz in der Diabetiker-Ambulanz zu evaluieren. So wurde in der Studie die Unpräzision des HemoCue 201 DM in der Serie (n=20) und die Unpräzision von Tag zu Tag (n=15) bestimmt. Darüber hinaus wurde ein Methodenvergleich (n=244) durchgeführt zwischen dem HemoCue 201 DM, der mittels einer modifizierten Glukose-Dehydrogenase-Methode die Glukosekonzentration im Vollblut misst, und dem Hitachi 917, der mit Hilfe der Hexokinase-Methode die Glukosekonzentration im Plasma bestimmt und den Standard der Glukosebestimmung des Labors darstellt.

Die Bestimmung der Unpräzision in der Serie ergab Variationskoeffizienten von 0,6 bis 4,8%. Die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag führte zu Variationskoeffizienten von 2,9% für die Kontrolllösung „Low“ (47+/-9 mg/dl) und 1,3% für die Kontrolllösung „High“ (143+/-20 mg/dl). Der Methodenvergleich mit dem Hitachi 917 nach Passing-Bablok ergab eine sehr gute Korrelation (r=1,0). Der Umrechnungsfaktor zwischen Vollblutwerten und Plasmawerten lag bei 1,105 im Vergleich zum werkseitig angegebenen Faktor 1,11. Sowohl die EDV-Anbindung als auch der praktische Einsatz in der Diabetikerambulanz verliefen problemlos. Aufgrund der guten Messeigenschaften sowie der Verbesserung des Datenmanagements mit standardisierter Schnittstelle kann das Gerät für den POCT-Einsatz empfohlen werden.

2. Evaluation der Glykolyseinhibitoren

Im Rahmen der Evaluation des HemoCue 201 DM wurde die Frage nach der Stabilität der Blutglukosewerte im zeitlichen Verlauf aufgeworfen. Dafür wurde die Entwicklung der Glukosekonzentrationen in Anwesenheit der Glykolyseinhibitoren Natriumfluorid bzw. Jodacetat und ohne Glykolyseinhibitor (Lithiumheparin) beobachtet und der

Nutzen der Glykolyseinhibitoren evaluiert, der in der Literatur kontrovers diskutiert wird. In der Arbeit sollten die Fragen beantwortet werden, ob es zu einer signifikanten Abnahme der Glukosekonzentration in Anwesenheit von Lithiumheparin, Natriumfluorid und Jodacetat nach einer, 2, 4 und 24 Stunden kommt, und ob ein Wirkungsunterschied zwischen den verschiedenen Substanzen besteht.

Dafür wurde 20 gesunden Probanden mittels drei verschiedener Sarstedt-Monovetten Blut entnommen. Das Blut wurde auf Eppendorf-Cups verteilt und vor den entsprechenden Messungen zentrifugiert. Die Messungen erfolgten mit Hilfe des Hitachi 917 und fanden zu den Zeitpunkten 0, 15, 30, 60 Minuten und 2, 4, 8, 24 Stunden statt. Für die statistische Analyse wurden die „Area under the Curve“ berechnet, die Differenzen dieser Flächen zur vorherigen Fläche bestimmt und multiple t-Tests durchgeführt. Um die Zahl der statistischen Tests zu begrenzen, wurden für jede der drei Substanzen nur die in der Praxis relevanten Intervalle nach einer, 2, 4 und 24 Stunden getestet. Um falschpositive Ergebnisse für multiple Tests zu vermeiden, erfolgte eine Bonferoni- Adjustierung für diese 12 Differenzen.

Nach einer Stunde und auch zu allen drei späteren untersuchten Zeitpunkten (nach 2, 4, 24 Stunden), lässt sich für die drei Substanzen Natriumfluorid, Jodacetat und Lithiumheparin ein statistisch signifikant niedrigerer Wert der Glukosekonzentration im Vergleich zum vorherigen Wert nachweisen. Der relative Mittelwert der Glukose in Lithiumheparin-Monovetten ergab mit 92,8% der Ausgangskonzentration nach zwei Stunden im Vergleich zu Natriumfluorid (92,0%) und Jodacetat (92,3%) keinen wesentlichen Unterschied. Erstmals nach 4 Stunden wurde der Nutzen der Glykolyseinhibition deutlich. Zu diesem Zeitpunkt war aber schon knapp 10% der ursprünglichen Glukosekonzentration verbraucht. Nach 24 Stunden betrug die Glukosekonzentration 90,8% (Jodacetat), 90,1% (Natriumfluorid) und 35,6% (Lithiumheparin).

Insgesamt betrachtet kann der Einsatz der Glykolysehemmer Jodacetat und Natriumfluorid in dieser Form nur bedingt empfohlen werden. Erst zu den Messzeitpunkten, die später als zwei Stunden liegen, inhibieren diese Substanzen effektiv die Glykolyse. Die besten Wege zur Vermeidung von falschniedrigen Glukosewerten stellen das sofortige Messen oder Zentrifugieren der Proben dar.

VI LITERATURVERZEICHNIS

1. Müller I. W., Roelcke V., Wolf-Braun B., Schadewaldt H. In: Schott H. (Hrsg.) Die Chronik der Medizin 1. Auflage. Chronik Verlag. München (1997): 404.
2. <http://www.diabetesinfo.de/geschichte/geschichte5.php> (15-6-2006).
3. Dominiczak M. H. "Linking research and innovative clinical practice: The Story of Diabetes mellitus." Clin.Chem.Lab Med 41.9 (2003): 1104-06.
4. WHO. "Diabetes mellitus. Report of a WHO Expert committee". Health Organ Tech Rep Ser 310 (1965): 1-44.
5. ADA. "Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus." Diabetes Care 20.7 (1997): 1183-97.
6. Kerner W., Brückel J., Böhm H. "Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinie - Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus." Deutsche Diabetes Gesellschaft (1-11. 2004): 1-11.
7. King H., Aubert R. E., Herman W. H. "Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections." Diabetes Care 21.9 (1998): 1414-31.
8. Palitzsch K.-D., Nusser J., Arndt H., Enger I. "Die Prävalenz des Diabetes mellitus wird in Deutschland deutlich unterschätzt - eine bundesweite epidemiologische Studie auf der Basis einer HbA1C-Analyse." Diabetes und Stoffwechsel 8 (1999): 189-200.
9. Michaelis D., Jutzi E. "Epidemiologie des Diabetes mellitus in der Bevölkerung der ehemaligen DDR - alters- und geschlechtsspezifische Inzidenz- und Prävalenzrends im Zeitraum 1960-1987." Z klin Med 46 (1991): 59-64.
10. Giani G., Janka H. U., Hauner H., Standl E., Schiel R., Neu A., Rathmann W., Rosenbauer J. "Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinie - Epidemiologie und Verlauf des Diabetes mellitus in Deutschland. " Deutsche Diabetes Gesellschaft. (1-12. 2004): 1-12.
11. WHO. "Definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and its complications." WHO (1999).
12. Alberti K. G., Zimmet P. Z. "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications." Diabet.Med 15.7 (1998): 539-53.

13. Kernohan A. F., Perry C. G., Small M. "Clinical impact of the new criteria for the diagnosis of diabetes mellitus." Clin.Chem.Lab Med 41.9 (2003): 1239-45.
14. Miedema K. "Laboratory tests in diagnosis and management of diabetes mellitus. Practical considerations." Clin.Chem.Lab Med 41.9 (2003): 1259-65.
15. Spinass G. A., Lehmann R. "Der Diabetes mellitus: Diagnose, Klassifikation, und Pathogenese." Schweiz Med Forum 20 (2001): 519-25.
16. Powers A. C. "Diabetes mellitus." In: Fauci A. S., Braunwald E. (Hrsg.) Harrison's Principles of Internal Medicine 15. Auflage. McGraw-Hill New York (2001): 2109-37.
17. Dominiczak M. H. "Obesity, glucose intolerance and diabetes and their links to cardiovascular disease. Implications for laboratory medicine." Clin.Chem.Lab Med 41.9 (2003): 1266-78.
18. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. "Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group." Lancet 352.9131 (1998): 837-53.
19. The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group. "The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group." N.Engl.J.Med 329.14 (1993): 977-86.
20. Häring H. U., Joost H. G., Laube H., Matthaer S., Meissner H. P., Panten U., Scherthaner G. "Evidenzbasierte Leitlinie - Antihyperglykämische Therapie des Diabetes mellitus Typ 2." Deutsche Diabetes Gesellschaft (2003): 1-38.
21. Dreyer M., Berger M., Kiess W., Lüdecke H. J., Redaelli M., Schatz H., Waldhäusl W. "Evidenzbasierte Leitlinie - Therapie des Diabetes mellitus Typ 1." Deutsche Diabetes Gesellschaft (2003): 1-41.
22. Marks V. "Blood glucose: its measurement and clinical importance." Clin.Chim.Acta 251.1 (1996): 3-17.
23. Dörner K. "Kohlenhydratstoffwechsel." In: Dörner K. (Hrsg.) Klinische Chemie und Hämatologie 3. Auflage. Georg Thieme Verlag. Stuttgart (1998): 163-88.

24. Keller H. "Glukose." In: Keller H. (Hrsg.) Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis – Analyse, Befund, Interpretation 2. Auflage. Georg-Thieme Verlag Stuttgart (1986): 249-58.
25. Thomas L. "Blutglukose." In: Thomas L. (Hrsg.) Labor und Diagnose 4. Auflage. Herbert Utz Verlag. München (1996): 134-40.
26. "Blutglukoseanalytik - Stand und Perspektiven." Nachr.Chem.Techn.Lab 41.1 (1993): 1100-05.
27. Young D. S., Bermes E. W. "Specimen Collection and Processing Source of Biological Variation." In: Tietz N. R. (Hrsg.) Textbook of Clinical Chemistry 1. Auflage. Saunders. Philadelphia (1986): 478-518.
28. Burrin J. M., Alberti K. G. "What is blood glucose: can it be measured?" Diabet.Med 7.3 (1990): 199-206.
29. Wendell T. C., Nelson B. W. "Carbohydrates." In: Tietz N. R. (Hrsg.) Textbook of Clinical Chemistry 1. Auflage. Saunders. Philadelphia (1986): 775-828.
30. Meinhardt U. "Nicht-/ minimal-invasives Glukosemonitoring - Methoden und deren Anwendbarkeit." Pediatrica 14.1 (2003): 39-42.
31. Robert J. J. "Continuous monitoring of blood glucose." Horm.Res 57 Suppl 1 (2002): 81-84.
32. Haeckel R., Hänecke P., Koschinsky T., Schlebusch H., Wahl H. G. "Patientennahe Laboratoriumsdiagnostik (Point-of-Care Testing) Empfehlungen zum Einsatz von unterschiedlichen Probematerialien zur Diagnostik des Diabetes mellitus." Klinische Chemie Mitteilungen 34.3 (2003): 61-65.
33. Banfi G., Bauer K., Deom A., Fraser C. G., Hagemann P., Kallner A., Leppänen E. A., Narayanan S., Gomes M. A. "Die Qualität diagnostischer Proben." <http://www.diagnosticsample.com/other-text.php3?id=1&lang=de> (1-6-2004).
34. Jørgensen L., Brandslund I., Hyltoft Petersen P., de Fine Olivarius N., Stahl M. "The effect of the new ADA and WHO guidelines on the number of diagnosed cases of diabetes mellitus." Clin.Chem.Lab Med 41.9 (2003): 1246-50.
35. Bürgi W. "The volume displacement effect in quantitative analyses in red cell constituents." Klin Chem Klin Biochem 7 (1969): 458-60.

36. Fogh-Andersen N., D'Orazio P. "Proposal for standardizing direct-reading biosensors for blood glucose." Clin.Chem 44.3 (1998): 655-59.
37. Wiener K. "Whole blood glucose: what are we actually measuring?" Ann.Clin.Biochem 32 (Pt 1) (1995): 1-8.
38. Maley T. C., D'Orazio P. "Biosensors for blood Glucose: a new question of what is measured and what should be reported." Clin Lab News 21 (1995): 12-13.
39. Haeckel R., Hanecke P. "Problems of comparing blood glucose molality and molarity determined with an Omni, an EML 105 and an Ebio analyser." Clin.Chem.Lab Med 41.7 (2003): 950-57.
40. Berger W. "Kapillär-venöse Blutzuckerdifferenz." DMW 27 (1986): 1079.
41. Tustison W. A., Bowen A. J., Crampton J. H. "Clinical interpretation of plasma glucose values." Diabetes 15.11 (1966): 775-77.
42. Müller-Wieland D. "Kohlenhydratstoffwechsel." In: Renz H. (Hrsg.) Integrative Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin 1. Auflage. de Gruyter. Berlin (2003): 45-66.
43. Major R. H. "Potassium fluorid as a preservative for blood." J Am Med Assoc 81 (1923): 1952.
44. Sander F. V. "The preservation of blood for chemical analysis." J Biol Chem 58 (1923): 1-15.
45. Denis W., Beven J. L. "Methods of Preservation of Specimens of Blood intended for the Determination of the Nonprotein Organic Constituents." J Lab Clin Med 9 (1923): 674-79.
46. Roe J. H., Irish O. J., Boyd J. I. "The preservation of blood for chemical analysis by the use of sodium fluoride." J Biol Chem 75 (1927): 685-95.
47. Overfield C. V., Savory J., Heintges M. G. "Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose." Clin Chim.Acta 39.1 (1972): 35-40.
48. Khan I. I., Usmani H. A., Mughal F. H. "To re-emphasize the need for fluoride in blood samples for glucose-level testing." J.Pak.Med Assoc 48.4 (1998): 113-14.

49. Sanders E., Deadman M. "Errors in blood glucose determination." Lancet 1.8424 (1985): 341.
50. Chan A. Y., Swaminathan R., Cockram C. S. "Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood." Clin Chem 35.2 (1989): 315-17.
51. Bueding E., Goldfarb W. "The Effect of sodium fluoride and sodium iodacetate on glycolysis in human blood." J Biol Chem 141 (1941): 539-44.
52. Nakashima K., Takei H., Nasu Y., Andoh Y. "D-mannose as a preservative of glucose in blood samples." Clin Chem 33.5 (1987): 708-10.
53. Lin Y. L., Smith C. H., Dietzler D. N. "Stabilization of blood glucose by cooling with ice: an effective procedure for preservation of samples from adults and newborns." Clin Chem 22.12 (1976): 2031-33.
54. Kantor N., Wilkerson H. L.. "The preservation of blood sugar for diabetes detection." Diabetes 6.2 (1957): 176-79.
55. Chan A. Y., Cockram C. S., Swaminathan R. "Effect of delay in separating plasma for glucose measurement upon the interpretation of oral glucose tolerance tests." Ann.Clin.Biochem 27 (Pt 1) (1990): 73-74.
56. Foucher B., Pina G., Desjeux G., Cheminel V., Prevosto J.-M. "Stabilité de la glycémie avant centrifugation avec ou sans antiglycolytique." Ann.Biol Clin (Paris) 62.5 (2004): 601-04.
57. Landt M. "Glyceraldehyde preserves glucose concentrations in whole blood specimens." Clin Chem 46.8 Pt 1 (2000): 1144-49.
58. Le Roux C. W., Wilkinson S. D., Pavitt D.V., Muller B. R., Alaghband-Zadeh J. "A new antiglycolytic agent." Ann.Clin Biochem 41.Pt 1 (2004): 43-46.
59. Uchida K., Matuse R., Toyoda E., Okuda S., Tomita S. "A new method of inhibiting glycolysis in blood samples." Clin Chim.Acta 172.1 (1988): 101-08.
60. Giampietro O., Navalesi R., Buzzigoli G., Boni C., Benzi L. "Decrease in plasma glucose concentration during storage at -20 degrees C." Clin.Chem 26.12 (1980): 1710-12.
61. Bundesärztekammer. "Kommentar zur Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen."

- Bundesärztekammer (2004).
62. Haenecke P. "Qualitätssicherung der patientennahen Sofortdiagnostik (Point-of-Care-Testing) im Krankenhaus: Muster für eine hausinterne Richtlinie." Klinische Chemie Mitteilungen 34 (2003): 65-69.
63. Schlüter B., Junker R. "Schneller ist nicht immer besser." Deutsches Ärzteblatt 3 (2003): A87-A89.
64. http://www.iis.fraunhofer.de/medtech/med_com/standards/poct/index_d.html. (14-6-2006).
65. Banauch D., Brümmer W., Ebeling W., Metz H., Rindfrey H., Lang H. "A glucose dehydrogenase for the determination of glucose concentrations in body fluids (author's transl)." Z Klin Chem Klin Biochem 13.3 (1975): 101-07.
66. <http://www.biochem.unizh.ch/bipweb/lexikon/>. (14-6-2006).
67. HemoCue. "Referenzhandbuch HemoCue Glucose 201 DM Analyser & HemoCue DM Docking Station." HemoCue (2003).
68. Zentrallabor Marburg. "Arbeitsanweisung Hitachi 917" Zentrallabor Marburg (2003).
69. Passing H., Bablok W. "A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III." J Clin Chem Clin Biochem 26.11 (1988): 783-90.
70. Passing H., Bablok W. "A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I." J Clin Chem Clin Biochem 21.11 (1983): 709-20.
71. Bland J. M., Altman D. G. "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement." Lancet 1.8476 (1986): 307-10.
72. Matthews J. N., Altman D. G., Campbell M. J., Royston P. "Analysis of serial measurements in medical research." BMJ 300.6719 (1990): 230-35.
73. Bundesärztekammer. "Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen." Bundesärztekammer (14-11-2003).

74. Luppá P. B., Blobner M. "Online-Qualitätssicherung der Sofortdiagnostik." Deutsches Ärzteblatt 9 (2004): A590.
75. Briedigkeit L., Müller-Plathe O., Schlebusch H., Ziems J. "Patientennahe Laboratoriumsdiagnostik (Point-of-Care-Testing)." J Lab Med 1998 22 (2004): 414-20.
76. Price C. P. "Point-of-care testing in diabetes mellitus." Clin.Chem.Lab Med 41.9 (2003): 1213-19.
77. Hicks J. M., Haeckel R., Price C. P., Lewandrowski K., Wu A. H. "Recommendations and opinions for the use of point-of-care testing for hospitals and primary care: summary of a 1999 symposium." Clin Chim.Acta 303.1-2 (2001): 1-17.
78. Janssen H. W., Bookelman H., Dols J. L., Gerritzen W. E., de Keyzer R. H.. "Point-of-care testing: the views of the working group of the Dutch Association of Clinical Chemistry." Clin Chem Lab Med 37.6 (1999): 675-80.
79. Keffer J. H. "Economic considerations of point-of-care testing." Am.J Clin Pathol 104.4 Suppl 1 (1995): S107-S110.
80. Kleesiek K. "Unzureichende Qualität patientennaher Glukosebestimmung." Deutsches Ärzteblatt 38 (2003): A2454-A2455.
81. Stryer L. "Die Glykolyse" In: Stryer L.(Hrsg.) Biochemie. 4 Auflage Spektrum. Akademischer Verlag, Heidelberg (1999): 507-533.

VII LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Daniel Opitz
Geboren: 17. Februar 1979 in Hamburg
Eltern: Dr. Martin Opitz und Anette Kovang Opitz, geb. Kovang
Verheiratet: 15. Juli 2006 mit Sylvia Heling-Opitz, geb. Heling

Schulzeit und Zivildienst

08/1985-06/1989 Besuch der Grundschule Lohkampstraße in Hamburg
08/1989-06/1998 Besuch des Gymnasiums Dörpsweg in Hamburg
09/1998-09/1999 Zivildienst beim Arbeiter-Samariter-Bund als Rettungssanitäter in Hamburg

Studienablauf

10/1999-06/2006 Medizinstudium an der Philipps-Universität Marburg
09/2002-07/2003 Studium an der Universität von Poitiers, Frankreich
08/2001 Ärztliche Vorprüfung
08/2002 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2005 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2006 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Pflegepraktikum

10/1998 Anästhesie und Notaufnahme, Albertinen-Krankenhaus, Hamburg
08/2000 Pädiatrie, Rigshospital, Kopenhagen

Famulatur

09/2001 Innere Medizin und Allgemeinmedizin, Policlinica Alemana, Paguera/Mallorca bei Dr. Wolfgang Czichon, Dr. Rainer Büngeler, Dr. Andreas Leonhard und Dr. Heike Jung
02/2002 Innere Medizin, Diakonie Krankenhaus Alten Eichen, Hamburg bei Prof. Dr. Christian Krüger und Dr. Hinrich Reese
08/2003 Anästhesie, Allgemeines Krankenhaus St. Georg, Hamburg bei Prof. Dr. Wolfgang Heß

08/2004 Traditionelle Chinesische Medizin und Akupunktur, First Affiliated Hospital der Jinan-Universität, Guangzhou, China bei Prof. Sirun Liu und Prof. Changying Zhao

Praktisches Jahr

04/2005-06/2005 Innere Medizin, Pneumologie, Universitätsklinikum Marburg bei Prof. Dr. Jürgen Schneider und Prof. Dr. Claus Franz Vogelmeier

06/2005-08/2005 Innere Medizin, Hämatologie und Onkologie, Lombardi Cancer Center, Georgetown University, Washington D.C. bei Dr. Bruce Cheson und Dr. John Marshall

09/2005-11/2005 Pädiatrie, Københavns Amtssygehuset Glostrup, Kopenhagen bei Prof. Hendrik Mortensen

12/2005-03/2006 Chirurgie, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genf bei Prof. Philippe Morel und Prof. Daniel Fritschy

Nebentätigkeiten

03/2001-05/2004 Tutor in den Fächern Physiologie und Neuroanatomie, sowie Aushilfstätigkeit im pflegerischen Bereich am Universitätsklinikum Marburg

09/2004 Praktikum im Deutschen Bundestag bei Dr. Wolfgang Wodarg mit den Schwerpunkten Gesundheitsausschuss und Enquete-Kommission „Ethik und Recht in der modernen Medizin“

Berufstätigkeit

Seit 09/2006 Assistenzarzt in der Abteilung für Kardiologie des Albertinen-Krankenhauses in Hamburg bei Dr. Peter Kremer

VIII VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER

Meine akademischen Lehrer waren folgende Damen und Herren:

Marburg: Albert, Anlauf, Arnold, Aumüller, Barth, Basler, Battmann, Baum, Becker, Behr, Bernstein, Bertallanfy, Beyer, Bien, Bolm, Boudriot, Büch, Cetin, Czubayko, Daut, Deichert, Diedrich, Dietz, Donner-Banzhoff, Duda, Feuser, Funck, von Garell, Geks, Gemsa, Gerdes, Görg, Görg, Gotthardt, Gotzen, Grimm, Grzeschik, Gudermann, Hamer, Hasilik, Havemann, Helwig-Rolig, Herzum, Höffken, Hörle, Hörsch, Holst, Jones, Jungclas, Kajdan, Kann, Kern, Klaus, Klenk, Klose, Köhler, König, Koolman, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroll, Kuhlmann, Kuni, Lang, Leonhardt, Lill, Lippert, Lohoff, Löffler, Lorenz, Mandrek, Martin, Mennel, Meyer, Miko, Mittag, Möller, Moll, Moosdorf, Mronga, Müller, Müller, Müller, Mutters, Neubauer, Neumüller, Oertel, Printz, Preis, Radsack, Renz, Ramaswamy, Remschmidt, Richter, Ritter, Ritter, Röhm, Rosenow, Rothmund, Schäfer, Schäfer, Schepelmann, Schmidt, Schmitt, Schneider, Schu, Schunk, Schwarz, Schwella, Seitz, Seyberth, Sommer, Steiniger, Stein, Stief, Stiletto, Storck, Sure, Tackenberg, Tebbe, Theisen, Vogelmeier, Vogt, Voigt, Wagner, Wagner, Wahl, Walthers, Weihe, Werner, Westermann, Wilke, Winter, Wissner, Wulf, Zeiler, Zielke, Zimmermann.

Hamburg: Deimel, Föll, Heß, Kohlhage, Krüger, Maass, Putensen, Reese, Schwager.

Paguera: Büngeler, Czichon, Jung, Leonhard.

Guangzhou: Liu, Zhao, Yang Donghua.

Poitiers: Berthier, Cardona, Corutchet, Doré, Fontanel, Guillet, Irani, Lefavre, Magnin, Oriot, Pries.

Washington: Acs, Cheson, Cohen, Gellman, Hwang, Isaacs, Kessler, Malik, Marshall, Mavromatis, Warren.

Kopenhagen: Cortes, Hertel, Hjalgrim, Hjelt, Holst Ravn, Knabe, Kölmel, Lang, Lavard, Matthiesen, Mortensen, Simonsen, Skov, Ursin Knudsen, Vitting Andersen.

Genf: Buhler, Charbonnet, Chillcott, De Raemy, Durmishi, Fritschy, Gervaz, Hoffmeyer, Huber, Majno, Menetrey, Mentha, Morel, Roche, Steinbronn, Vettorel, Wuthrich, Zürcher.

IX DANKSAGUNG

Folgenden Personen möchte ich meinen Dank aussprechen:

- Herrn PD Dr. Dr. Hans Günther Wahl danke ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung der Versuche, die anregenden Gespräche und die Unterstützung bei der Auswertung.
- Herrn Prof. Dr. Harald Renz möchte ich dafür danken, dass ich die Untersuchungen für meine Doktorarbeit in seinem Institut durchführen konnte, für die angenehme Arbeitsatmosphäre und dafür, dass er stets ein offenes Ohr für mich hatte.
- Herzlichsten Dank gebührt den Medizinisch Technischen Assistentinnen und den anderen Mitarbeitern des Labors. Stellvertretend hierfür möchte ich Frau Beate Bruder-Burzlauff und Frau Britta Kosche nennen.
- Ebenso besten Dank den Mitarbeitern der Diabetesambulanz. Stellvertretend sind hier Herr Dr. Ulrich Kaydan und Frau Jutta Schick zu nennen.
- Herrn PD Dr. Hans Helge Müller möchte ich für die Hilfe und Beratung bei der statistischen Analyse und die interessanten Gespräche danken.
- Mein besonderer Dank gilt allen Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben.
- Ein herzliches Dankeschön gebührt meinen akademischen Lehrern für ein wundervolles Studium.
- Meinen Eltern Anette und Martin, meinen Geschwistern Marie und Christian und meiner Ehefrau Sylvia möchte ich ganz herzlich für die Unterstützung und das Verständnis während des Studiums und der Promotion danken.