

Wiener Medizinische Wochenschrift

Separatabdruck aus 121. Jahrgang, 1971, Nr. 22 (S. 453—455)

Alle Rechte vorbehalten. Es ist insbesondere nicht gestattet, ohne Genehmigung des Verlages diesen Sonderdruck oder Teile davon nachzudrucken oder auf sonstige Weise zu vervielfältigen. Verlag Brüder Hollinek, Wien

Aus der Internen Abteilung des Paracelsus-Institutes Bad Hall
(Leiter: Prof. Dr. E. Deutsch, Vorstand der I. Medizinischen
Universitätsklinik Wien)

Vergleichende Untersuchung über die Leistungsfähigkeit eines papierchromatographischen Schnelltests zur quantitativen Bestimmung des Serumharnstoffes

Von W. Reiterer

In einem Minimalprogramm zur Beurteilung der Nierenfunktion nimmt die Bestimmung des Harnstoff-N-Wertes im Serum (BUN) einen festen Platz ein.

Seit einigen Jahren wird im Handel ein papierchromatographischer Schnelltest zur BUN-Bestimmung¹⁾ angeboten, der von verschiedenen Autoren auf seine Zuverlässigkeit mehrmals überprüft wurde (1, 4, 5).

Eine neue Serie von Untersuchungen war nötig, weil nach unserer Meinung hinsichtlich der Präzision der Methode, der Richtigkeit der Meßwerte und der Zuverlässigkeit der Urastrat-Methode im Grenzbereich zwischen normalen und pathologischen BUN-Werten noch zu wenig Informationen vorlagen.

¹⁾ Urastrat, Firma Warner-Lambert, N. J., USA, Deutschland: Gödecke A. G., Freiburg, Postfach 569, Österreich: Montavit Ges. m. b. H., Absam, A-6060 Solbad Hall, Schweiz: Cosmopharm A. G., Zimmerlistraße 6, CH-8040 Zürich.

Eine Schnellmethode ist nur dann wertvoll, wenn die Präzision der Methode und die Richtigkeit der Ergebnisse nur unwesentlich zugunsten des Zeitgewinnes beeinträchtigt werden. Wir erprobten den Urastrat-Test als Screening-Test für eine eingeschränkte Nierenfunktion an stationären Patienten, die zur Rehabilitation wegen verschiedener Erkrankungen (siehe Tab. 1) aufgenommen waren.

Tab. 1. Relative Häufigkeit einzelner Erkrankungen bei 120 Patienten.

| | |
|---------------------------------|-----|
| Hypertonie | 33% |
| Arterielle Durchblutungsstörung | 29% |
| Status post zerebralem Insult | 15% |
| Myokardinfarkt | 5% |
| Diabetes mellitus | 28% |
| Hyperurikämie | 5% |
| Adipositas | 22% |
| Degenerative Arthropathie | 35% |

Material und Methodik

Bei 120 männlichen und weiblichen Patienten im Alter von 50 bis 80 Jahren wurden 154 Analysen als Doppelbestimmungen mit je zwei Methoden ausgeführt. Die BUN-Werte wurden jeweils nach der Urastrat-Methode und nach einer herkömmlichen enzymatischen Methode (Biochemica-Testkombination, Boehringer Mannheim; Normalwert für BUN 8 bis 23 mg%) ermittelt und die Ergebnisse auf ihre lineare Abhängigkeit hin statistisch ausgewertet.

Die Präzision und Richtigkeit der Ergebnisse bei beiden zu vergleichenden BUN-Bestimmungsmethoden wurden an Kontrollsera mit bekannten BUN-Werten von 12 und 30 mg% überprüft. (Versatol, Versatol A; Firma Warner Lambert.)

Das Prinzip und die Ausführung des papierchromatographischen Schnelltests wurden öfters ausführlich beschrieben (1, 4, 5).

Wir führten den Test folgendermaßen durch: 0,2 ml frisches Serum werden exakt auf den Boden eines Standardröhrchens (75 × 10 mm) pipettiert. Ein Teststreifen wird genau senkrecht in seiner Lage fixiert. Das Serum

benetzt den mit Chemikalien präparierten Chromatographiepapierstreifen und beginnt bis zu einer Grenzschicht aus Krylon-Plastik hoch zu diffundieren. Der Serumharnstoff wird durch phosphatgepufferte Urease enzymatisch gespalten. Das freigesetzte Ammoniak diffundiert über den Benetzungsschranken in eine Indikatorschicht aus Bromkresolgrün und Tartrat und färbt sie durch pH-Änderung von gelb nach blau. Die Höhe der blauen Farbsäule ist nach einer Inkubationszeit von 30 ± 1 Minute der Serumharnstoffkonzentration proportional. Die konkav verlaufende Grenzlinie des Farbumschlages markierten wir an der Vorder- und Rückseite jeweils an der tiefsten Stelle mit einem Punkt und werteten die Farbsäulen mit einer beiliegenden Meßskala aus. Das arithmetische Mittel aus beiden Messungen ergab den BUN-Wert in mg%.

Der Meßbereich des Teststreifens liegt zwischen 10 und 65 mg% BUN. Höhere BUN-Werte können durch Serumverdünnungen bestimmt werden, wozu sich das Standardserum Versatol als geeignet erwies. Bei einem Verdünnungsverhältnis von z. B. 1 : 4 kann ein Bereich zwischen 190 und 250 mg% BUN bestimmt werden (1). Am Arbeitsplatz ist eine Raumtemperatur von 21 bis 26° C einzuhalten. Zigarettenrauch, Ammoniakdämpfe und Zugluft müssen vermieden werden.

Statistische Berechnungen wurden mit Hilfe eines programmierbaren elektronischen Tischrechners ausgeführt (Programm 101, Firma Olivetti): Arithmetischer Mittelwert \bar{x} , mittlerer Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$, Standardabweichung s , Variabilitätskoeffizient (*K. Pearson*) v , Gleichung der Regressionsgeraden $Y = A_{yx} + B_{yx} X$, Korrelationskoeffizient r , Prüfquotient auf Probabilität.

Für die Grundlagen der mathematisch-statistischen Betrachtungen sei auf die einschlägige Literatur verwiesen (2, 3, 7).

Ergebnisse

Bei 120 Patienten wurden die Harnstoff-N-Werte im Serum in 154 Doppelbestimmungen nach der Urastrat-Methode und nach einer enzymatischen Bestimmungsmethode ermittelt.

Der niedrigste Urastrat-BUN wurde mit 12 mg%, der höchste Urastrat-BUN mit 32 mg% gemessen. In der Mehrzahl fanden sich, bedingt durch die Erkrankungen der Patienten, BUN-Werte im oberen Grenzbereich des Normalen, und zwar von 20 bis 24 mg%. Bei 7 Patienten lagen die BUN-Werte mit 28 bis 32 mg% im leicht azotämischen Bereich.

Untersucht man die Abweichung der Urastrat-Werte von den Werten der quantitativen enzymatischen Methode, so findet sich ein im Durchschnitt unbedeutend höherer Urastrat-Wert mit einem 2 s-Bereich der Abweichung zwischen $-3,6$ und $+5,0$ mg% (Klassengröße der Differenz 0,5 mg%).

Die enge lineare Abhängigkeit der BUN-Werte aus je 154 Doppelbestimmungen beider Methoden zeigt sich bereits optisch durch die eng um die Regressionsgerade $Y = -2,4292 + 1,0907 X$ gruppierten Punkteschwärme (siehe Abb. 1). Die Korrelation der Meßwerte beider Methoden innerhalb eines von uns untersuchten Bereichs

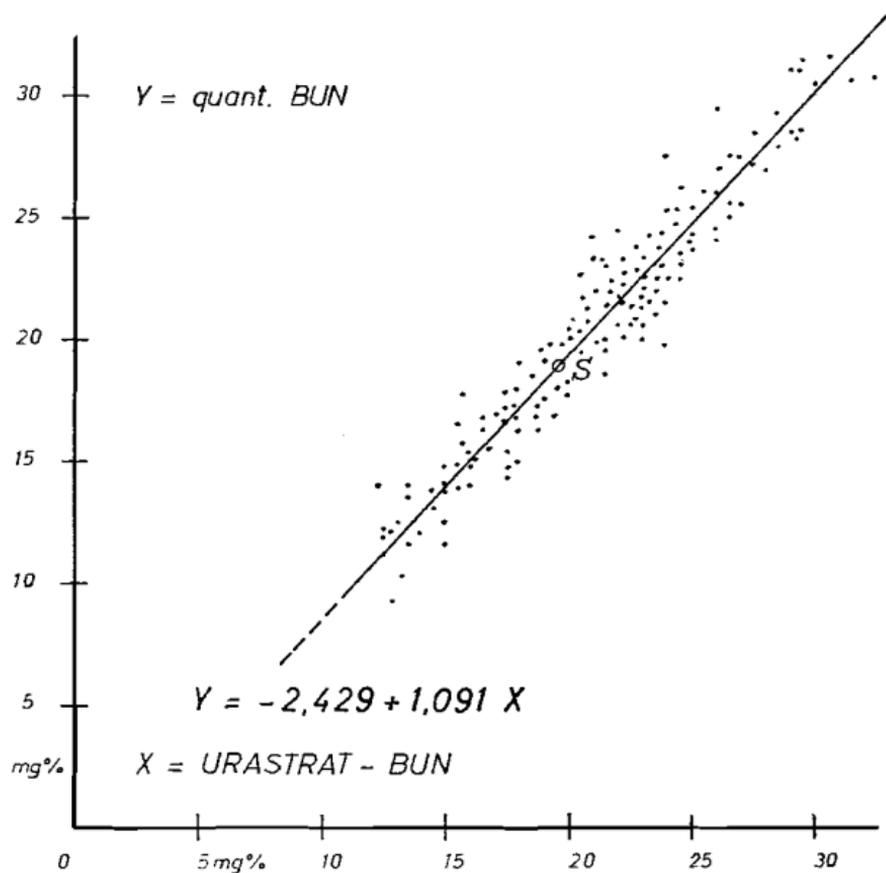


Abb. 1.

von 12 bis 32 mg% BUN ist statistisch hoch signifikant gesichert: Korrelationskoeffizient $r = 0,91235$; Probabilität $< 0,001$ (siehe Tab. 2).

Zusätzlich wurden beide zu vergleichenden Methoden (Urastrat-Test und Biochemica-Testkombination) an standardisierten Sera mit einer BUN-Konzentration von jeweils 30 und 12 mg% auf Präzision und Reproduzierbarkeit und Richtigkeit der gemessenen Werte untersucht (siehe Tab. 3). Der Schnelltest Urastrat erreichte ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit (Variabilitätskoeffizient $v = 5\%$). Die BUN-Werte des Kontrollserums liegen noch innerhalb des 2 s-Bereiches der Urastrat-Methode.

Die herkömmliche enzymatische BUN-Bestimmungsmethode charakterisiert sich durch einen Variabilitätskoeffizienten von 3%. Der wahre Wert des Kontrollserums liegt innerhalb des 1 s-Bereiches der Methode.

Diskussion

Mit minimalem Zeitaufwand kann auch von einem Ungeübten der Urastrat-Test jederzeit ausgeführt werden, da besondere Vorbereitungen nicht notwendig sind. Die Arbeitsvorschrift ist genau zu beobachten, insbesondere die Art der verwendeten Glasröhrchen, die Raumtemperatur und die Inkubationszeit (4, 5).

Die Höhe der blauen Farbsäule (siehe Methodik) differiert an der Vorder- und Rückseite immer geringfügig. Wir konnten den Ablesefehler, der bei einfacher Auswertung der Höhe der Farbsäule entsteht, verringern, in dem wir entgegen den ursprünglichen Angaben der Herstellerfirma die Höhe der Farbsäule auf der Vorder- und Rückseite des Teststreifens bestimmten. Den arithmetischen Mittelwert betrachteten wir als Ergebnis.

In dem von uns untersuchten Bereich von 12 bis 32 mg% waren die gemessenen Werte gut reproduzierbar und „richtig“. Diese Befunde decken sich mit den Angaben anderer Autoren (1, 4, 5).

Stark azotämische Sera haben wir nicht beobachtet. Sera mit BUN-Werten höher als 65 mg% können nach Verdünnen mit dem Standardserum Versatol untersucht werden. Bei verdünnten Sera fanden *Bangerter* u. *Ma.* (1) eine gleich gute Korrelation zwischen Urastrat-

Tab. 2. Statistische Auswertung von je 154 Doppelbestimmungen beider zu vergleichenden Methoden.

| | |
|---------------------------------|----------------------------------|
| Anzahl N | 154 |
| Koordinaten des Schwerpunktes S | |
| X+ | 19,6279 |
| Y+ | 18,9785 |
| Regressionsgerade $Y = A + B X$ | $Y = - 2,4292 + 1,0906 X$ |
| Streuung s_x s_y | 3,589 4,291 |
| Korrelationskoeffizient r | 0,91235 |
| Probabilität 2 p | < 0,001 |

Y+ = BUN quant., X+ = Urastrat-BUN.

Tab. 3. Präzision und Richtigkeit beider BUN-Bestimmungsmethoden.

| Kontrollserum BUN in mg% | N | Urastrat-BUN | | | N | quant. BUN | | |
|-----------------------------|----|-------------------|--------|--------|----|-------------------|--------|--------|
| | | $\bar{x} \pm s_x$ | s | v in % | | $\bar{x} \pm s_x$ | s | v in % |
| 30,0 | 30 | 28,1 ± 0,29 | ± 1,25 | 4,5 | 30 | 31,0 ± 0,21 | ± 0,93 | 3,0 |
| 12,2 | 20 | 12,6 ± 0,10 | ± 0,44 | 3,5 | 18 | 13,0 ± 0,10 | ± 0,40 | 3,0 |

Zeichenerklärung siehe Methodik.

Werten und herkömmlich bestimmten BUN-Werten wie bei unverdünnten Sera.

Verschiedene Autoren berichten, daß mit der weniger störanfälligen Urastrat-Methode gelegentlich eine Fehlbestimmung der klassischen quantitativen Harnstoffbestimmungsmethode aufgedeckt wurde (1, 4).

Wir erprobten den Urastrat-Test im Rahmen einer umfassenden klinischen Betreuung von 120 Patienten. In unserer Versuchsserie haben wir durch den Urastrat-Test kein falsch positives oder falsch negatives Ergebnis erhalten. Im Grenzbereich zwischen normalen und pathologischen BUN-Werten und im leicht azotämischen Bereich fanden wir verlässliche Ergebnisse mit dem Urastrat-Test.

Wir beurteilen den Urastrat-Schnelltest als eine zuverlässige und genaue Methode, die an Stelle der quantitativen Methoden für orientierende und Reihenuntersuchungen in der Praxis und im Kliniklabor eingesetzt werden kann. Für wissenschaftliche Fragestellungen wird man weiterhin den genaueren quantitativen Harnstoffbestimmungsmethoden den Vorzug geben.

Zusammenfassung

Zur quantitativen Bestimmung des Serumharnstoffes erweist sich der papierchromatographische Schnelltest Urastrat als eine technisch einfache, jedoch präzise Methode, die gut reproduzierbare Ergebnisse liefert (Variabilitätskoeffizient $v = 5\%$; der BUN-Wert von Kontrollsera — Versatol: 12 mg%, Versatol A: 30 mg% — liegt innerhalb des 2 s-Bereiches der Urastrat-Methode).

Bei 154 Seren fand sich im Bereich zwischen 12 und 32 mg% BUN eine statistisch gesicherte Übereinstimmung zwischen den Doppelbestimmungswerten, die mit der Urastrat-BUN-Methode und der Harnstoff-N-Bestimmungsmethode gefunden wurden (Korrelationskoeffizient $r = 0,91235$; $2 p < 0,001$). Für orientierende Untersuchungen in der Praxis und für Reihenuntersuchungen im klinischen Labor kann der Schnelltest empfohlen werden.

Frau Karoline Neubauer danke ich für die technische Assistenz und Mitarbeit.

Literatur

- (1) S. Bangerter, K. Rytz und P. Cottier: Schweiz. med. Wschr. 99 (1969): 110. — (2) L. Cavalli-Sforza: Biometrie. Gustav Fischer, Stuttgart 1969. — (3) Geigy Documenta: Wissenschaftliche Tabellen 1968. — (4) U. C. Dubach und A. Walser: Schweiz. med. Wschr. 94 (1964): 1684. — (5) E. Grabener: Dtsch. med. Wschr. 88 (1963): 907. — (6) E. Heintz: Nierenfibel. Georg Thieme, Stuttgart 1968. — (7) E. Weber: Grundriß der biologischen Statistik. VEB Gustav Fischer, Jena 1967.

Anschrift des Verfassers: Dr. W. Reiterer, I. Medizinische Universitätsklinik, Lazarettgasse 23, A-1090 Wien IX.