



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Evaluation einer vollmechanisierten HPLC-Anlage für die
toxikologische Screening-Untersuchung**

Autor: Frank Gebhard
Einrichtung: Institut für klinische Chemie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. J. Aufenanger

Die Identifikation von toxisch relevanten Substanzen in Blut und Urin ist eine der Aufgaben des Instituts für klinische Chemie (IKC) des Klinikums Mannheim. Für die toxikologische Notfall-Analytik am IKC werden immunochemische Screening-Tests verwendet, die zwar auf wenige Substanzklassen beschränkt sind, aber als vollmechanisierte Analysesysteme zur Verfügung stehen und somit eine praktikable Erst-Information innerhalb von Minuten für den behandelnden Arzt liefern können. Die Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) hat gegenüber den Immunoassays beim Nachweis von Pharmaka und Drogen den Vorteil, nicht nur die eingesetzten Pharmaka, sondern auch die im Organismus gebildeten Metaboliten, die sich unter Umständen einem Nachweis mit Immunoassays entziehen, nachweisen zu können. Für die Notfall-Analytik wurden diese Verfahren bisher nicht eingesetzt, da sie relativ zeitaufwendig sind und Erfahrung mit dem Umgang chromatographischer Methoden verlangt. Das Merck-Hitachi-Chromatographie-System stellt eine teilmechanisierte HPLC-Anlage dar, die dem Institut für klinische Chemie seit Mitte des Jahres 1995 für die Erprobung zur Verfügung steht. Dieses System ermöglicht durch die speziell entwickelte Software unbekannte Substanzen anhand einer Datenbank zu identifizieren. Damit steht dem klinisch-toxikologischen Institut eine Analyse-Methode zur Verfügung, die sich auf fast alle in Frage kommenden Intoxikationen einstellen kann. Die Anwendbarkeit dieses Systems auf den analytisch-toxikologischen Routinebetrieb des IKC wurde untersucht.

In der Zeit vom 28.08.1995 bis 01.11.1995 wurde für insgesamt 122 Patienten (Serum und Urin) aus der internistischen und chirurgischen Notfallaufnahme des Klinikums Mannheims ein Toxikologie-Screening mit dem etablierten immunochemischen Verfahren durchgeführt. Parallel wurden die Proben des Toxikologie-Screenings mit der Merck-Hitachi-HPLC-Anlage nachuntersucht.

Von den 122 untersuchten Blutproben des Notfallabors wiesen 68 nach dem Toxikologie-Screening mit immunochemischen Methoden eine Intoxikation auf. Die HPLC-MTSS-Analytik bestätigte für 41 (33,6% richtig positiv) Patienten die immunochemischen Ergebnisse. Für 27 Patienten konnte die HPLC das Ergebnis des immunochemischen Screenings nicht bestätigen. Eine eindeutige Identifikation der Intoxikation gelang für 20 der 27 falsch positiven Immunoassays. Hier hätte das immunochemische Screening allein die Diagnostik in eine falsche Richtung gelenkt. Dies bedeutet eine falsch positive immunochemische Analytik in 16,4% der Fälle.

Eine erfolgreiche HPLC-Analytik bei negativem Immunoassay konnte für 2 Patienten zur weiteren Diagnostik beitragen. Hier wurden zwei Benzodiazepine gefunden, die mit dem immunochemischen Gruppentest schwer oder nicht nachweisbar sind. Für insgesamt 52 Patienten fiel die HPLC wie das immunochemische Screening negativ aus. Die HPLC konnte insbesondere zur weiteren Differenzierung der Benzodiazepine und Trizyklischen Antidepressiva beitragen. Es konnte gezeigt werden, daß die HPLC-Anlage sehr gut in der Lage ist, das zur Intoxikation führende Agens als Einzelsubstanz oder Metabolit zu identifizieren.

Eine entsprechende Anamnese und Klinik bestätigten in 85,2% der Fälle die richtig positiven Ergebnisse (Immunoassay und HPLC positiv). Eine positive Klinik auf eine mögliche Vergiftung hin bei negativem Toxikologie-Screening hatten insgesamt 16 (13,1%) der 122 Patienten. In dieser Gruppe war die spätere Diagnose z.B. eine Erkrankung aus dem internistischen Formenkreis (Hypoglycämie, Hypothyreose). Für 45 (36,9%) Patienten war die Anamnese und das Toxikologie-Screening sicher negativ, da schon die Arbeits- und spätere Diagnose eine andere war (z.B. Herzinfarkt, Lungenembolie).

Ein Routinebetrieb der Merck-Hitachi-Chromatographie-Anlage ist aufgrund der komplexen Probenvorbereitung und des Meßvorganges nur mittels eines hohen Aufwandes an Material und geschulten Personals möglich. Ein Einsatz der Merck-Hitachi-Chromatographie-Anlage allein erscheint nicht sinnvoll, da ein Lauf zur Datengewinnung $2\frac{3}{4}$ Stunden benötigt und eine frühzeitige Entdeckung der Intoxikation maßgebend für die Therapie und Prognose des Intoxikierten ist. Eine ideale Kombination ist demnach die Verbindung aus einer immunochemischen Anlage für die schnelle Erst-Analyse mit einer chromatographischen Anlage, wie sie hier im vorliegenden Fall untersucht worden ist.