

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR PSYCHIATRIE UND PSYCHOTHERAPIE
PROF. DR. RAINER RUPPRECHT
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**DIE QUANTIFIZIERUNG
VON NEUROLEPTIKA UND TRANQUILLANZIEN**

**DIE BEDEUTUNG DER RICHTLINIE DER BUNDESÄRZTEKAMMER (RILI-BÄK)
ZUR QUALITÄTSSICHERUNG LABORATORIUMSMEDIZINISCHER
UNTERSUCHUNGEN**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Sophia Lindner

2011

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR PSYCHIATRIE UND PSYCHOTHERAPIE
PROF. DR. RAINER RUPPRECHT
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**DIE QUANTIFIZIERUNG
VON NEUROLEPTIKA UND TRANQUILLANZIEN**

**DIE BEDEUTUNG DER RICHTLINIE DER BUNDESÄRZTEKAMMER (RILI-BÄK)
ZUR QUALITÄTSSICHERUNG LABORATORIUMSMEDIZINISCHER
UNTERSUCHUNGEN**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Sophia Lindner

2011

Dekan:

Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Dr. Ekkehard Haen

2. Berichterstatter:

PD Dr. Sebastian Hahnel

Tag der mündlichen Prüfung:

14. Juni 2012

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung	9
1.1	Entwicklung der Qualitätssicherung von Laboranalysen	9
1.2	Richtlinien der Bundesärztekammer (Rili-BÄK)	11
1.3	Qualitätssicherung im klinisch-pharmakologischen Labor in Regensburg.....	11
1.4	Wirkstoffkonzentrationsbestimmung von Neuroleptika und Tranquillanzien.....	13
1.4.1	Therapeutisches Drug Monitoring (TDM).....	13
1.4.2	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	14
1.4.3	Neuroleptika.....	15
1.4.4	Tranquillanzien.....	16
1.5	Fragestellung	17
2	Material und Methoden	18
2.1	Kennenlernen der Laborabläufe	18
2.2	Zuordnung der Wirkstoffe zu den Analysenmethoden	18
2.3	Erstellen der Verfahrensanweisungen	19
2.4	Erstellen der Arbeitsanweisungen	20
2.5	Dokumentation der internen Qualitätssicherung	21
2.5.1	Berechnung des Mittelwerts	21
2.5.2	Berechnung der empirischen Standardabweichung	21
2.5.3	Berechnung des Variationskoeffizienten.....	22
2.5.4	Berechnung des quadratischen Mittelwerts der Messabweichung.....	22
2.5.5	Berechnung der systematischen Messabweichung (Unrichtigkeit)	22
2.5.6	Berechnung der laboratoriumsinternen Fehlergrenze.....	23
2.5.7	Erstellen der Graphiken.....	23

3	Ergebnisse	24
3.1	Verfahrensanweisungen.....	24
3.1.1	Verfahrensanweisung Abfallentsorgung	24
3.1.2	Verfahrensanweisung Blutabnahme.....	28
3.1.3	Verfahrensanweisung Kalibrierung.....	32
3.1.4	Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme	40
3.1.5	Verfahrensanweisung Pipettieren.....	43
3.1.6	Verfahrensanweisung Vorreinigung Poolserum.....	57
3.2	Arbeitsanweisungen Neuroleptika	63
3.2.1	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Amisulprid	63
3.2.2	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Aripiprazol	91
3.2.3	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Clozapin	120
3.2.4	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Haloperidol.....	149
3.2.5	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Olanzapin.....	176
3.2.6	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Paliperidon	176
3.2.7	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Perazin.....	176
3.2.8	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmungen von Quetiapin.....	176
3.2.9	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Risperidon.....	177
3.2.10	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Ziprasidon	177
3.3	Arbeitsanweisungen Tranquillanzien	178
3.3.1	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Alprazolam	178
3.3.2	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Bromazepam.....	191
3.3.3	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Chlordiazepoxid ..	191
3.3.4	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Clobazam.....	191
3.3.5	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Clonazepam.....	191
3.3.6	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Diazepam.....	191
3.3.7	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Nordiazepam.....	192
3.3.8	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Flunitrazepam	192
3.3.9	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Flurazepam	192

3.3.10	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Nitrazepam.....	192
3.3.11	Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Oxazepam.....	192
3.4	Dokumentation der internen Qualitätssicherung	193
3.4.1	Amisulprid (TDM 2-Verfahren).....	194
3.4.2	Aripiprazol (TDM 1a-Verfahren)	203
3.4.3	Clozapin (TDM 3a-Verfahren)	212
3.4.4	Haloperidol (TDM 3b-Verfahren)	218
3.4.5	Olanzapin (TDM 3a-Verfahren)	223
3.4.6	Paliperidon (TDM 3b-Verfahren).....	229
3.4.7	Perazin (TDM 3a-Verfahren)	230
3.4.8	Quetiapin (TDM 1a-Verfahren)	235
3.4.9	Quetiapin (TDM 2-Verfahren)	244
3.4.10	Quetiapin (TDM 3a-Verfahren)	253
3.4.11	Risperidon (TDM 3b-Verfahren)	259
3.4.12	Ziprasidon (TDM 3a-Verfahren).....	260
3.4.13	Diazepam (BZD-Verfahren).....	262
3.4.14	Weitere Tranquillanzien.....	267
4	Diskussion.....	268
4.1	Allgemeines.....	268
4.2	Verfahrensanweisungen.....	268
4.3	Arbeitsanweisungen	269
4.4	Interne Qualitätssicherung.....	271
5	Zusammenfassung	279

Literaturverzeichnis

Danksagung

Lebenslauf

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACN	Acetonitril
BZD	Benzodiazepine
d. h.	das heißt
H ₂ O demin.	demineralisiertes Wasser
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (engl.) Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Konz	Konzentration
µl bzw. µg	Mikroliter bzw. Mikrogramm (10^{-6} l bzw. g)
ml bzw. mg	Milliliter bzw. Milligramm (10^{-3} l bzw. g)
nl bzw. ng	Nanoliter bzw. Nanogramm (10^{-9} l bzw. g)
PCR	Polymerase Chain Reaction (engl.) Polymerase-Kettenreaktion
QUAMM	Quadratischer Mittelwert der Messabweichung
RAM	Restricted Access Materials (engl.) beschränkt durchlässiges Material
rel.	relative
Rili-BÄK	Richtlinie der Bundesärztekammer
SPE	Solid Phase Extraction (engl.) Festphasenextraktion
Std	Standard
TA	Technische Assistentin
TCA	Trizyklische Antidepressiva
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
TEMED	Tetramethylethyldiamin
U/min	Umdrehungen pro Minute

1 Einleitung

1.1 Entwicklung der Qualitätssicherung von Laboranalysen

Die Grundidee, biologisches Material des Menschen zu untersuchen und daraus eine Diagnose abzuleiten, entsteht bereits in der Antike. Beginnend mit Hippokrates entwickelt sich die Viersäftelehre des Blutes und zur Diagnosestellung werden Farbe und Beschaffenheit von Aderlassblut geprüft [1]. Ende des 17. Jahrhunderts führt Robert Boyle erste physikalisch-chemische Blutuntersuchungen durch und legt damit den Grundstein für die sich in den nächsten Jahrhunderten schnell weiterentwickelnde Methodik der Blutanalyse [2]. Heute stehen hochmoderne Analysegeräte in speziell dafür ausgestatteten Laboratorien zur Verfügung, welche die Untersuchung unzähliger verschiedener Parameter, unter anderem im Blut, ermöglichen.

Vor wenigen Jahrhunderten, ab dem 16. Jahrhundert, stand der Begriff Laboratorium (lat. labor: Anstrengung, Mühe, Arbeit [3]) noch hauptsächlich für Arbeitsstätten von Alchemisten und Apotheker. Aktuell wird das Laboratorium, auch Labor genannt, als Arbeitsstätte für naturwissenschaftliches oder technisches Arbeiten definiert [4]. Erst im Laufe der Zeit hat sich das Labor also zu einer Produktionsstätte wissenschaftlichen Wissens im heutigen Sinne entwickelt, das heißt es findet sich eine Kombination aus praktischer Forschung, Datensammlung und Dokumentation [5].

Technischer Fortschritt und Weiterentwicklungen in sämtlichen Bereichen der Gesellschaft lies in der Vergangenheit aber bald ein neues Problem aufkommen. Ohne Vorgaben und Regeln waren alle neugewonnene Ergebnisse und Untersuchungen nur auf regionaler Ebene wertvoll, der Austausch und die Vergleichbarkeit beispielsweise zwischen Ländern war dagegen nicht möglich. So erklären sich die Bemühungen zur Standardisierung, das heißt Festsetzen von Normen und Maßeinheiten, in Europa im späten 18. Jahrhundert. Zu dieser Zeit kann die Normung der Maßeinheiten in Frankreich zu den ersten Versuchen der Standardisierung gezählt werden [6].

Der Grundgedanke der Qualitätssicherung bei Untersuchungen von biologischem Material des Menschen wird Ende des 19. Jahrhunderts verwirklicht. Es herrschte Unzufriedenheit darüber, dass Untersuchungen und dabei gewonnene Messergebnisse unterschiedlicher Personen oder Institutionen nicht vergleichbar waren [7].

Eine Umsetzung findet die Idee der Qualitätssicherung mit der Gründung des Paul-Ehrlich-Instituts am 1. Juni 1896 als Institut für Serumforschung und Serumprüfung in

Steglitz bei Berlin, dessen Auftrag die Entwicklung und Umsetzung der Grundprinzipien staatlicher Arzneimittelkontrolle war [8]. Weiter wird die Idee der Qualitätssicherung in der Laboranalytik mit der Gründung der Hämometerprüfstelle 1936 durch Prof. Ludwig Heilmeyer in Jena umgesetzt [9]. Ein Hämometer ist eine Apparatur zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes [10]. Die Hämometerprüfstelle, die 1946 nach Freiburg umzieht, arbeitete zahlreiche Normentwürfe für hämatologische Geräte und Techniken aus [11], [12]. 1966 wird die Fachgesellschaft "Hämometerprüfstelle, Institut für Standardisierung und Dokumentation in der Hämatologie e.V." gegründet, wobei sie zwei Jahre später in "Hämometerprüfstelle, Institut für Standardisierung und Dokumentation in medizinischen Laboratorien" umbenannt und ihr Aufgabenfeld erweitert wird. Dies geschieht in Zusammenarbeit von Dr. Karl-Georg von Boroviczény, Dr. Albert von Klein-Wisenberg und Prof. Dr. Richard Merten. Seit 1968 führt die Fachgesellschaft Ringversuche im Rahmen der externen Qualitätssicherung auf dem Gebiet der Hämatologie und seit 1970 in allen Bereichen der Laboratoriumsdiagnostik durch [12].

„Ein Ringversuch (...) ist eine Methode der externen Qualitätssicherung für Messverfahren und Mess- und Prüflaboratorien. Grundsätzlich werden identische Proben mit identischen Verfahren oder mit unterschiedlichen Verfahren untersucht. Der Vergleich der Ergebnisse erlaubt es, Aussagen über die Messgenauigkeit generell bzw. über die Messqualität der beteiligten Institute zu machen“ [13].

1998 zieht die Gesellschaft nach Düsseldorf um und seit 2005 trägt sie den Namen „INSTAND e.V. Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V.“ [12].

Neben INSTAND gründen sich weitere Institute und Fachgesellschaften, bei denen die Qualitätssicherung einen hohen Stellenwert einnimmt. Ein Beispiel ist die Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie, die als Träger der ARVECON GmbH Ringversuche anbietet. Weiter zu nennen ist die Deutsche Vereinigte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V., die mit ihrem Referenzinstitut für Bioanalytik ebenfalls Ringversuche durchführt [14].

Die allgemeinen Ziele der Qualitätssicherung [15] werden anhand dem Beispiel von INSTAND dargestellt. „Das Ziel von INSTAND e.V. ist die Förderung der Forschung in der Qualitätssicherung und die Verbesserung der Patientenversorgung durch verbesserte Diagnostik, Therapieüberwachung, Nachsorge und Rehabilitation in der

Medizin sowie die Früherkennung von Erkrankungen durch Verbesserung der Analysen und deren Bewertung. Die interne und externe Qualitätssicherung und damit Verbesserung der Zuverlässigkeit von Laboranalysen im medizinischen Laboratorium ist der Schwerpunkt der Tätigkeit. Dieses Ziel wird erreicht durch eigene Forschung und durch Mitarbeit in Standardisierungsorganisationen (DIN, ISO, CEN), durch Zusammenarbeit mit verschiedenen wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften und durch Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Dachorganisationen (AWMF, WASPaLM), mit der Bundesärztekammer, der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt u.a.“ [16].

1.2 Richtlinien der Bundesärztekammer (Rili-BÄK)

1971 werden die ersten "Richtlinien zur Qualitätskontrolle im medizinischen Laboratorium" von der Bundesärztekammer herausgegeben. Nach Überarbeitung und Aktualisierung 1987 und 2001, erscheint am 23.11.2007 die aktuell gültige Richtlinie [12], [17]. Diese Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen tritt am 01.04.2008 mit einer Übergangsregelung von 24 Monaten in Kraft [17]. Das bedeutet, dass in dieser Übergangszeit noch nach der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen von 2001 [18] gearbeitet werden kann, spätestens ab 01.04.2010 müssen aber die Anforderungen der neuen Richtlinie erfüllt werden. Ausnahme bilden die Ringversuche, die bereits seit 01.01.2009 nach den Grenzen der neuen Richtlinie bewertet werden müssen.

In der Version der Rili-BÄK von 2001 [18] waren im Gegensatz zur aktuellen Version keine internen Qualitätssicherungsmaßnahmen für die Konzentrationsbestimmung von Psychopharmaka vorgesehen. Die neue Rili-BÄK betrifft nun auch das klinisch-pharmakologische Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie in Regensburg, welches Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen von Psychopharmaka im Serum durchführt.

Die Rili-BÄK vom 23.11.2007 [17] beschreibt im Teil A allgemeine Anforderungen für alle Bereiche der laboratoriumsmedizinischen Diagnostik und im Teil B spezifische Anforderungen an Laboratorien, die quantitative Untersuchungen durchführen.

Im Teil A werden der Geltungsbereich und die Ziele der Richtlinien definiert. Nach ausführlichen Begriffsbestimmungen folgen Bestimmungen über Struktur und Ressourcen wie Personal und Ausrüstung eines Labors. Der Abschnitt über laboratoriumsmedizinische Untersuchungen umfasst zum einen grundlegende Anforderungen an die Analytik im engeren Sinne, d.h. die genaue Beschreibung aller Laborprozesse. Zum anderen nehmen Forderungen an die Präanalytik, beispielsweise Proben Gewinnung, Transport und Probenvorbereitung, sowie an die Postanalytik, beispielsweise die Freigabe von Untersuchungsergebnissen, eine hohe Stellenwert ein. Weiter wird das Qualitätsmanagementsystem beschrieben und die Durchführung interner und externer Qualitätssicherung gefordert.

Im speziellen Teil B werden die Grundsätze und Durchführung der Qualitätssicherung erläutert. Die interne Qualitätssicherung umfasst ein laborinternes Kontrollprobensystem. Es werden die Anforderungen an die Durchführung der Kontrollprobeneinzelmessung und die Bewertung der Ergebnisse dieser Messungen gestellt. Weiter wird die Berechnung und Bewertung des quadratischen Mittelwerts der Messabweichung und für Messgrößen, die nicht in der gesonderten Tabelle B1 der Rili-BÄK aufgeführt sind, die Berechnung laboratoriumsinterner Fehlergrenzen gefordert.

Die externe Qualitätssicherung muss von allen Laboratorien, die Wirkstoffe aus der Tabelle B1 bestimmen, mittels Ringversuche alle drei Monate durchgeführt werden.

1.3 Qualitätssicherung im klinisch-pharmakologischen Labor in Regensburg

Im Regensburger Labor werden zur internen Qualitätssicherung kommerziell erworbene Kontrollproben mit bekannter Konzentration bei jeder Wirkstoffkonzentrationsbestimmung mitgemessen und kontrolliert, ob der gemessene Wert der Kontrolle im geforderten Referenzbereich des Herstellers liegt. Ist das der Fall, kann mit der Wirkstoffkonzentrationsbestimmung der Patientenproben begonnen werden. Liegt der Kontrollprobeneinzelmesswert außerhalb des Referenzbereichs, sollte neu kalibriert werden, bis dieser im geforderten Intervall liegt.

Als noch keine Kontrollproben kommerziell erworben werden konnten, wurden diese selbst im Labor hergestellt. Dafür wurden alle Reinsubstanzen einzeln eingewogen und in Serum gelöst. Bereits vor der Durchführung der Messung können diverse Ungenauigkeiten, zum Beispiel beim Einwiegen oder Pipettieren, die Kontrollprobe ver-

fälschen. Systematische Fehler des Labors konnten somit nicht effizient aufgedeckt werden. So erklärt sich das Bestreben der Rili-BÄK, nach Möglichkeit kommerziell erworbene Kontrollen zu verwenden.

Die externe Qualitätssicherung bedeutet die Teilnahme an Ringversuchen, die für das Regensburger Labor laut Rili-BÄK zwar nicht gefordert werden, zur Selbstkontrolle aber freiwillig durchgeführt werden. Dazu werden regelmäßig Proben mit unbekannter Konzentration gemessen, die von Referenzinstituten, momentan Heathcontrol und ARVECON, hergestellt werden. Das Ergebnis wird dem Institut übermittelt und von diesem geprüft, ob es im festgelegten Referenzbereich liegt. Bei Bestehen erhält das Labor ein für ein Jahr gültiges Zertifikat. Bei Nichtbestehen muss nach erfolgter Fehlerbehebung ein neuer Ringversuch vor Ablauf des Zertifikats erfolgreich abgelegt werden. Ansonsten ist das Labor für die Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen von Patientenproben gesperrt.

1.4 Wirkstoffkonzentrationsbestimmung von Neuroleptika und Tranquillanzien

1.4.1 Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)

Mit Hilfe des TDM wird eine medikamentöse Therapie kontrolliert und geleitet, es soll unter anderem Nebenwirkungen minimieren, die Effizienz der Behandlung steigern und Aufschluss über die Mitarbeit des Patienten geben [19], [20], [21], [22].

Es wird die Wirkstoffkonzentration des Pharmakons im regelmäßig abgenommenen Blut bestimmt und der behandelnde Arzt erhält somit Informationen darüber, ob der gemessene Wert im therapeutischen Referenzbereich liegt. Der therapeutische Referenzbereich bewegt sich zwischen einem unteren Grenzwert, der überschritten sein muss um eine erwünschte Wirkung des Pharmakons erwarten zu können, und einem oberen Grenzwert, der nicht überschritten werden sollte um unerwünschte Wirkungen zu vermeiden [23]. 2004 wurde eine Konsensusleitlinie der AGTDM der Arbeitsgemeinschaft Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP) veröffentlicht. Darin sind die validesten therapeutischen Referenzbereiche, basierend auf internationalen Studien und Literatur, zusammengestellt [24].

Während die meisten kommerziellen Laboratorien den gemessenen Wert nur in Relation zum therapeutischen Referenzbereich an den behandelnden Arzt übermitteln,

wird in Regensburg der gemessene Wert sowohl mit dem therapeutischen Referenzbereich als auch mit dem dosisbezogenen Referenzbereich abgeglichen.

Durch den dosisbezogenen Referenzbereich wird der gemessene Wert in Relation zur verabreichten Dosis gestellt. So können individuelle Veränderungen des Arzneimittelstoffwechsels wie zum Beispiel Interaktionen mit anderen Medikamenten oder Genussmitteln, zu schnelle bzw. langsame Metabolisierung aufgrund genetischer Besonderheiten und Erkrankungen der Ausscheidungsorgane aufgedeckt werden [23].

Anhand dieser Informationen und der Angaben über den Patienten und seiner Medikation, die im Anforderungsbogen vermerkt sind, wird mit Hilfe des eigens entwickelten Programms KONBEST ein klinisch-pharmakologischer Befund durch einen Arzt und/oder Apotheker erstellt [19].

1.4.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC, high performance liquid chromatography) stellt für Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen im Blut das Analyseverfahren der Wahl dar.

Bei diesem chromatographischen Trennverfahren werden die durch einen Probengeber eingespritzten Substanzlösungen zusammen mit einem Eluenten (mobile Phase) durch eine Trennsäule (stationäre Phase) mit Hochdruck gepumpt. Es kann zusätzlich noch eine Vorsäule, die Verunreinigungen abfiltert, vorgeschaltet werden. Je nach Stärke der Wechselwirkungen einer Substanz mit der stationären Phase durchwandern die verschiedenen Substanzen die stationäre Phase unterschiedlich schnell. Somit treffen sie entsprechend zeitversetzt am Detektor ein. Der Detektor registriert ein Signal und erstellt zur Auswertung ein sogenanntes Chromatogramm. Darin wird die Retentionszeit - die Zeit der Probeninjektion bis zum Signal- gegen die Signalstärke aufgetragen. Unbekannte Substanzkonzentrationen können so mit Hilfe von Standards mit bekannten Konzentrationen durch ihre Retentionszeiten identifiziert und durch die Intensität des Signals quantifiziert werden [25], [26], [27].



Abbildung 1: Flussschema einer HPLC-Apparatur (modifiziert nach [27])

1.4.3 Neuroleptika

Neuroleptika, auch Antipsychotika oder Nervendämpfungsmittel genannt, besitzen gute antipsychotische und oft auch sedierende Wirkung ohne Gefahr für die Entwicklung einer Abhängigkeit [28]. Dementsprechend stellen Psychosen, das heißt veränderte Gemütszustände mit Realitätsverlust wie beispielhaft Schizophrenie, die Hauptindikation für die Gabe von Neuroleptika dar [29], [30]. Allerdings heilen sie nicht die psychische Krankheit an sich, vielmehr werden die psychischen Symptome wie Halluzinationen oder Wahnvorstellungen abgemildert bzw. beseitigt.

Auf molekularer Ebene interagieren die Neuroleptika mit Rezeptoren im zentralen Nervensystem, unter anderem mit den Rezeptoren für Dopamin, Serotonin, Acetylcholin, Histamin und Noradrenalin [31], [32].

Die Neuroleptika der alten Generation, wie zum Beispiel Haloperidol und Perazin, binden hauptsächlich an die Dopamin-D₂-Rezeptoren und hemmen deren Wirkung. Aufgrund der zentralen Rolle des Dopamins bezüglich Wahrnehmung, Konzentration und Bewegung wird durch die Medikation zwar ein krankhafter Erregungszustand abgeschwächt, gleichzeitig treten aber auch diverse Nebenwirkungen auf [30], [33]. Zu nennen sind vor allem die extrapyramidal-motorischen Nebenwirkungen. Anfangs äußern sie sich als spontan auftretende Früh dyskinesien, beispielsweise Verkrampfung der Mimik, der Augen- und Zungenmuskulatur, und können bereits nach wenigen Wochen Symptome einer Parkinson-Erkrankung wie erhöhte Muskelspannung (Rigor) und Zittern (Tremor) aufweisen. Im weiteren Verlauf kommt es häufig zu Akathisie, einer subjektiv sehr quälend empfundenen inneren und Bewegungsunruhe. Bei Neuroleptikaeinnahme über einen längeren Zeitraum können Spätdyskinesien auftreten, die auch häufig nach dem Absetzen persistieren [28], [30], [34].

Neuere Neuroleptika wie Olanzapin, Risperidon und Ziprasidon greifen nicht nur Dopaminrezeptoren, sondern unter anderem auch Serotoninrezeptoren an, was ein Ausdruck für das Bemühen ist, die ausgeprägten unerwünschten Wirkungen zu vermeiden bzw. zu reduzieren. Dies gelang bei den verschiedenen Medikamenten aber nur zu einem gewissen Grad, denn nach wie vor lassen sich extrapyramidal-motorische Symptome beobachten. Einzig das Neuroleptikum Clozapin verursacht keine Dyskinesien, aber da es zu gefährlichen Blutbildveränderungen führen kann ist auch dessen Indikationsgebiet begrenzt [28]. Neben den deutlich abgemilderten Nebenwirkungen haben die neueren Neuroleptika den weiteren Vorteil, dass sie nicht

nur gut gegen die Positiv-Symptome der Schizophrenie wirken, sondern auch die Negativ-Symptome günstig beeinflussen [31], [33].

1.4.4 Tranquillanzien

Tranquillanzien, auch als Anxiolytika bezeichnet, sind Psychopharmaka mit angstlösender und sedierender Wirkung, die dem Patienten ein Gefühl der Beruhigung vermitteln. In höheren Dosierungen wirken sie auch muskelentspannend und schlaffördernd [30], [31]. Hauptindikationen für Tranquillanzien sind folglich unter anderem Angststörungen, Panikattacken, Kramp fzustände und Schlafstörungen. Allerdings wird durch die Medikation nicht das ursprüngliche Problem an sich, beispielsweise die innere Unruhe, gelöst, sondern lediglich überdeckt [28], [32], [33].

Auf molekularer Ebene binden Tranquillanzien an die wichtigsten hemmenden Rezeptoren des zentralen Nervensystems, die GABA (= gamma-Aminobuttersäure)-Rezeptoren. Die dadurch gesteigerte Wirkung des inhibitorischen Neurotransmitters GABA führt zu einer Hemmung der Nervenzellaktivität [29].

Hauptvertreter der Tranquillanzien, die am häufigsten verordneten Psychopharmaka, sind die Benzodiazepine mit ihrer Leitsubstanz Diazepam [31], [32]. Die verschiedenen Nebenwirkungen werden vorwiegend durch die zentrale Dämpfung des Gehirns hervorgerufen, wie beispielsweise die Veränderung der Sinneswahrnehmungen und des Wachheitszustandes, die Verringerung des Reaktionsvermögens und Appetitstörungen. Einnahme über einen längeren Zeitraum führt unter anderem zu verwachsener Sprache, Muskelschwäche und Einbruch der kognitiven Leistungsfähigkeit [28]. Besonders zu beachten ist der „Rebound-Effekt“, das heißt nach längerer Einnahme kann es zur körperlichen Abhängigkeit kommen und ein plötzliches Absetzen des Medikaments kann zur Verstärkung der ursprünglichen Symptome führen, zum Beispiel Schlafstörungen und psychische Labilität. Da die Gefahr der Abhängigkeit mit der Dauer der Einnahme steigt, sind Tranquillanzien nur für einen kurzen Zeitraum anzuwenden und die betroffenen Patienten gegebenenfalls auf alternative Medikationen ohne bzw. mit geringerem Abhängigkeitspotential umzustellen [31].

1.5 Fragestellung

Die Hauptaufgabe dieser Arbeit besteht darin, die Grundlagen für die Umsetzung der neuen Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen vom 23. November 2007 für das klinisch-pharmakologische Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie in Regensburg zu schaffen.

- Im Labor müssen alle Arbeitsschritte zur Durchführung der Konzentrationsbestimmungen ausführlich dokumentiert sein und in Form von standardisierten Anweisungen zur Verfügung stehen.

Wie können diese Verfahrens- bzw. Arbeitsanweisungen speziell für die Konzentrationsbestimmung von Neuroleptika und Tranquillanzien aussehen?

- Die interne Qualitätssicherung umfasst ein laborinternes Kontrollprobensystem, welches bei jedem Messzyklus überprüft, ob die Abläufe ordnungsgemäß funktionieren.

Auf welche Art und Weise werden die erforderlichen Kontrollprobenmessungen durchgeführt und welche Konsequenzen ergeben sich aus den gemessenen Werten? Wie lassen sich diese gemessenen Werte und weitere darauf basierende Berechnungen in einer standardisierten Tabelle dokumentieren und auswerten und der Verlauf der Kontrollproben in graphischer Form darstellen?

- Wie ist der Stand bezüglich der Forderungen der Rili-BÄK im Regensburger Labor zwischen März 2009 und Februar 2010, das heißt während der 24-monatigen Übergangsregelung der am 01.04.2008 inkraftgetretenen Richtlinie, zu beurteilen?

2 Material und Methoden

2.1 Kennenlernen der Laborabläufe

Zum Kennenlernen der Abläufe im klinisch-pharmakologischen Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie in Regensburg wurde zunächst zwei Wochen im täglichen Laborbetrieb mitgearbeitet und die Vorgehensweise bei der Bestimmung verschiedener Wirkstoffkonzentrationen beobachtet und stichpunktartig dokumentiert. Dabei konnte ein Einblick in die Probenannahme, Probenvorbereitung und die Vorreinigung von Serum für die Herstellung der Standards gewonnen werden. Weiterhin wurden die einzelnen Arbeitsschritte für die Konzentrationsbestimmung eines Wirkstoffs beobachtet. Pharmaka, deren Konzentrationsbestimmungen mit der gleichen Analyseverfahren durchgeführt werden können, werden in Gruppenanalysen zusammengefasst. Im Regensburger Labor haben sich für diese verschiedenen Methoden die Bezeichnungen TDM 1a, TDM 1b, TDM 2, TDM 3a, TDM 3b, TCA und BZD durchgesetzt.

Zuletzt wurden die Möglichkeiten des eigens entwickelten Programms KONBEST erklärt. Alle relevanten Angaben eines Patienten und die gewonnenen Untersuchungsergebnisse werden dokumentiert, von einem Arzt oder Apotheker interpretiert und dem anfordernden Arzt weitergegeben.

2.2 Zuordnung der Wirkstoffe zu den Analysenmethoden

Methode	Name
TDM 1a	Aripiprazol/ Dehydroaripiprazol
	Citalopram/ Desmethylcitalopram
	Quetiapin
	Venlafaxin/ o-Desmethylvenlafaxin
TDM 1b	10-OH-Carbazepin
	Oxcarbazepin
TDM 2	Amisulprid
	Citalopram/ Desmethylcitalopram
	Lamotrigin
	Mirtazapin
	Quetiapin
TDM 3a	Venlafaxin/ o-Desmethylvenlafaxin
	Clozapin/ Norclozapin
	Duloxetin

	Olanzapin/ Desmethyloanzapin
	Perazin
	Quetiapin
	Ziprasidon
TDM 3b	Haloperidol
	Risperidon
	Paliperidon
TCA	Amitriptylin
	Clomipramin
	Desipramin
	Doxepin
	Imipramin
	Maprotilin
	Norclomipramin
	Nordoxepin
	Nortriptylin
BZD	Trimipramin
	Alprazolam
	Bromazepam
	Chlordiazepoxid
	Clobazam
	Clonazepam
	Diazepam
	Flunitrazepam
	Flurazepam
	Nitrazepam
	Nordiazepam
	Oxazepam

Tabelle 2: Analysemethoden mit zugehörigen Wirkstoffen

2.3 Erstellen der Verfahrensanweisungen

Es wurden Verfahrensanweisungen verfasst, die allgemeine Arbeitsabläufe beschreiben. Zur Veranschaulichung sind an entsprechenden Stellen Fotos eingefügt, die im Regensburger Labor aufgenommen worden sind.

Die Verfahrensanweisung Blutabnahme, welche die Blutabnahme und den Transport der Probe beschreibt, basiert auf den Hinweisen zur Abnahme und Einsendung von Blutproben und den Versandrichtlinien, die auf der Internetseite von KONBEST veröffentlicht sind [35].

In die Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme fließen sowohl eigene Beobachtungen als auch die Angaben der TAs ein.

Um möglichst standardisiertes Pipettieren zu ermöglichen wurde eine Verfahrensanweisung Pipettieren mit Hilfe der Gebrauchsanweisungen des Herstellers, der TAs und eigenen Erfahrungen erstellt.

Da die Vorbereitung des Poolserums für alle entsprechenden Methoden gleich abläuft, liegt eine gesonderte Verfahrensanweisung Vorreinigung Poolserum vor, die durch eigene Beobachtungen und mit Angaben der TAs entstanden ist.

Um das zentrale Thema der Kalibrierung der HPLC-Anlagen zu klären, wurde eine Verfahrensanweisung Kalibrierung mit Hilfe der Gebrauchsanweisung des Softwareprogramms Chromeleon und der Laborleiterin erstellt.

Für die Verfahrensanweisung Abfallentsorgung konnte sich an die Informationen aus dem Ordner „Sicherheit, Labor“ gehalten werden.

2.4 Erstellen der Arbeitsanweisungen

Für die Konzentrationsbestimmung jedes einzelnen Wirkstoffs wurden jeweils tabellarisch die benötigten Geräte, Verbrauchsmaterialien und Reagenzien aufgelistet. Vervollständigt wurde die Tabelle durch Angabe der Inventarnummer, Bestellnummer bzw. Produkt-ID, des Hersteller und des genauen Aufenthaltsortes und Raumes. Dazu wurden entsprechende Daten aus bereits vorhandenen Tabellen übernommen und aktualisiert und in Katalogen der Hersteller nachgeschlagen.

Anschließend wurden aus der Perspektive einer fachfremden Person alle Arbeitsschritte für die Konzentrationsbestimmung eines Wirkstoffes nachvollziehbar und detailliert beschrieben. Hierzu konnten eigene Aufzeichnungen, schriftliche Kurzanleitungen der TAs, Gebrauchsanweisungen der entsprechenden Hersteller und viele mündliche Aussagen der TAs sowie Dissertationsarbeiten ehemaliger Mitarbeiter des Labors genutzt werden [19], [36]. Als besondere Schwierigkeit stellte sich dabei die Angabe der Molaren Masse der einzelnen Wirkstoffe zur Herstellung der Standards heraus. Als Quelle dienten schließlich bereits vorhandene Datenblätter der Hersteller und neue Datenblätter der Hersteller nach Neubestellung einiger Wirkstoffe, zusätzlich wurde die Molare Masse einiger Wirkstoffe aus ihrer Summenformel berechnet.

Es wurde auch deutlich, dass bei einigen Arbeitsschritten wie beispielsweise im Umgang mit dem Softwareprogramm Chromeleon und der Wartung eine Einweisung durch eine TA des Labors unbedingt notwendig ist. In den Arbeitsanweisungen wird in solchen Fällen explizit darauf hingewiesen.

2.5 Dokumentation der internen Qualitätssicherung

Zunächst wurde in Zusammenarbeit mit der Laborleiterin eine Tabelle entworfen, in die dem Datum zugeordnet die Messergebnisse mit Retentionszeit (Ret.Time), Höhe (Height) und Konzentration (Amount) einer Wirkstoffkonzentrationsbestimmung eingetragen werden können. Zusätzlich können die vorgegebenen Konzentrationen, Wellenlänge der Messung, Angaben zu den Säulen und zum Herstellungszeitpunkt der Standards und internen Kontrollen vermerkt werden.

Die Daten jedes einzelnen Wirkstoffs wurden von den TAs und wissenschaftlichen Mitarbeitern seit März 2009 eingegeben, Ausnahme bildeten Haloperidol, Paliperidon und Risperidon, deren entsprechende Daten erst zu einem späteren Zeitpunkt vorhanden waren.

Zur Veranschaulichung und Auswertung der gewonnenen Daten wurden in der Regel jeweils für einen Zeitraum von drei Monaten Mittelwert, Standardabweichung, Variationskoeffizient, quadratischer Mittelwert der Messabweichung, systematische Messabweichung und die relativen laboratoriumsinternen Fehlergrenzen nach Rili-BÄK [17] berechnet und für die Kontrollen bzw. Serumkontrollen jeweils Grafiken entworfen (auf Ausnahmen wird entsprechend hingewiesen).

2.5.1 Berechnung des Mittelwerts

Der Mittelwert \bar{x} wird berechnet, indem eine Gruppe von Zahlen addiert und anschließend durch deren Anzahl dividiert wird.

2.5.2 Berechnung der empirischen Standardabweichung

Die empirische Standardabweichung s einer Stichprobe ist ein Maß für die Streuung der Messwerte um ihren Mittelwert. Sie berechnet sich als der quadratische Mittelwert der (geschätzten) zufälligen Messabweichungen, d. h.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Gleichung 1: empirische Standardabweichung (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 343, 3)

2.5.3 Berechnung des Variationskoeffizienten

Der Variationskoeffizient ergibt sich aus Division von der Standardabweichung s durch den Mittelwert \bar{x} . (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 343, 3)

2.5.4 Berechnung des quadratischen Mittelwerts der Messabweichung

Der quadratische Mittelwert der Messabweichung Δ (QUAMM) ist ein Maß für die Streuung der Messwerte um den (konventionellen) wahren Wert der Messgröße (hier: Zielwert der Kontrollprobe x_0). Er berechnet sich aus

$$\Delta = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - x_0)^2}$$

wobei

Δ quadratischer Mittelwert der Messabweichung
 x_0 wahrer Wert der Messgröße, hier: Zielwert der Kontrollprobe
 x_i Wert der Einzelmessung
 n Anzahl der zur Berechnung herangezogenen Einzelergebnisse

ist.

Gleichung 2: quadratischer Mittelwert der Messabweichung (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 342, 3)

Der relative quadratische Mittelwert der Messabweichung ergibt sich durch die Division des quadratischen Mittelwerts der Messabweichung Δ durch den Zielwert x_0 . (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 342, 3)

2.5.5 Berechnung der systematischen Messabweichung (Unrichtigkeit)

Als systematische Messabweichung δ bezeichnet man den Mittelwert, der sich aus einer unbegrenzten Anzahl von Wiederholungsmessungen derselben Messgröße ergeben würde, minus einen wahren Wert der Messgröße. Die systematische Messabweichung δ eines Messverfahrens wird geschätzt durch Bildung der Differenz des arithmetischen Mittelwertes \bar{x} aus einer angemessenen Anzahl von Wiederholungsmessungen zum Zielwert x_0 , d. h.

$$\delta = \bar{x} - x_0$$

Gleichung 3: systematische Messabweichung (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 342, 3)

Die relative systematische Messabweichung ergibt sich durch Division der systematischen Messabweichung δ durch den Zielwert x_0 . (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 342, 3)

2.5.6 Berechnung der laboratoriumsinternen Fehlergrenze

Δ_{max} stellt das Symbol für die laboratoriumsinterne Fehlergrenze dar.

$$\Delta_{max} = \sqrt{k^2 * s_{ep}^2 + \delta_{ep}^2}$$

wobei

$k = 3$, Erweiterungsfaktor für die Berechnung der laboratoriumsinternen Fehlergrenze

s_{ep} , empirische Standardabweichung der zur Berechnung herangezogenen Kontrollprobenmessungen in der Ermittlungsperiode (ep)

δ_{ep} , systematische Messabweichung der zur Berechnung herangezogenen Kontrollprobenmessungen in der Ermittlungsperiode (ep)

Zur Vereinfachung wird auf die Korrektur der Varianz mit $(n-1)/n$ verzichtet.

Gleichung 4: laboratoriumsinterne Fehlergrenze (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 348-349, 2.1.4)

Die relative laboratoriumsinterne Fehlergrenze erhält man durch Division der laboratoriumsinternen Fehlergrenze Δ_{max} durch den Zielwert x_0 . (modifiziert nach Rili-BÄK [17], A 349, 2.1.4)


2.5.7 Erstellen der Graphiken

Anhand des Programms Excel werden aus den gewonnenen Messdaten für die Kontrollen bzw. Serumkontrollen anschauliche Graphiken erstellt. In der Regel bezieht sich eine graphische Darstellung jeweils auf einen Zeitraum von drei Monaten (auf Ausnahmen wird entsprechend hingewiesen).

3 Ergebnisse

3.1 Verfahrensanweisungen

3.1.1 Verfahrensanweisung Abfallentsorgung

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Abfallentsorgung	Datum: 01.10.2009

Verfahrensanweisung Abfallentsorgung

Vorsichtsmaßnahmen


Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösem Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Feststoffabfälle und Flüssigabfälle

Für feste Abfälle stehen blaue Spannringdeckelfässer (F2) zur Verfügung, für flüssige Abfälle weiße 10l Kanister. Alle Fässer und Kanister müssen eindeutig mit den entsprechenden Etiketten beschriftet sein, wobei bei Feststoffabfällen der Inhalt angegeben werden sollte. Es dürfen keine Feststoffe wie Pipettenspitzen in die Behälter für Flüssigabfälle gelangen. Die Behälter sind stets fest zu verschließen und sollen keine äußeren Verschmutzungen aufweisen.

Die Entsorgung der vollen Abfallbehälter übernimmt Frau Lang (Tel.: 0941/9445731). Im Austausch erhält man entleerte Abfallbehälter zurück.

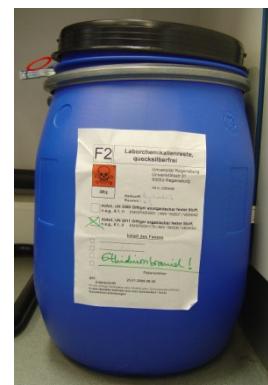
Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Abfallentsorgung	Datum: 01.10.2009

F2 quecksilberfreie Feststoffe

Quecksilber (Hg), Thallium (Tl), Arsen (As), Selen (Se), Beryllium (Be) sind nicht enthalten.

Beispiel: Ethidiumbromid-haltige PCR-Gele



A2 Lösemittelgemische, brennbar, halogenfrei

schwach sauer bis alkalisch ($\text{pH} > 4$), Wassergehalt $< 5\%$, Halogengehalt $< 2\%$

Beispiele: TEMED-haltige Eluenten, Ethanol

B2 Lösemittel-Wasser-Gemische, brennbar/ nicht brennbar, halogenfrei

schwach sauer bis alkalisch ($\text{pH} > 4$), Wassergehalt $> 5\%$, Halogengehalt $< 2\%$

Beispiele: Alkohol-Wasser-Gemische wie der Inhalt der Woulff'schen Flasche, Acetonitril-haltige Eluenten




E Wässrige organische Gemische, nicht brennbar

keine Lösemittel in größeren Mengen enthalten, auch anorganische/ organische Gemische möglich

Beispiele: stark verdünnte wässrige Lösungen mit organischen Substanzen wie Ethidiumbromid

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Abfallentsorgung	Datum: 01.10.2009

Infektiöse Abfälle

Infektiöses Material (z. B. alle mit Blut oder Serum kontaminierten S-Monovetten, Vials und SPE-Säulen) wird in die gelbe verschließbare Box im Raum 5, Labor Psy, entsorgt. Wenn die Box voll ist, wird der Deckel fest aufgedrückt und die Box zum Abholen in den Raum 13, Stickstofflager, gestellt.

Material, das in geringen Mengen mit Blut oder Serum kontaminiert ist (z. B. Pipettenspitzen, Papiertücher), wird in den kleinen Plastiktüten auf den Labortischen entsorgt. Diese Plastiktüten kommen in einen Sterilsationssack im Raum 6, Labor Psy. Wenn dieser voll ist, wird er in den Raum 13, Stickstofflager zum Abholen gestellt.

Die Abholung erfolgt automatisch einmal die Woche durch einen Dienst des Klinikums.

Sonstige Abfälle

Für die sonstigen Abfälle stehen entsprechend gekennzeichnete Behälter zur Verfügung.

Die Abholung erfolgt automatisch zweimal die Woche durch den Reinigungsdienst des Klinikums.


„gelber Sack“

für Verpackungen aus Kunststoff wie Folien, Flaschen, Becher, Schaumstoffe

„grüner Sack“

für Verpackungen aus Metall / Verbunde wie Dosen, Verschlüsse, Alufolien, Getränkekartons

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Abfallentsorgung	Datum: 01.10.2009

Restmüll

alle nicht mit Blut oder Serum kontaminierten Papiertücher, Handschuhe usw.


Altpapier

Kartonagen, Papier usw.

Für weitere Informationen siehe Ordner „Sicherheit, Labor“ (Raum 1, Büro).

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.1.2 Verfahrensanweisung Blutabnahme

 Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Blutabnahme	Datum: 01.10.2009

Verfahrensanweisung Blutabnahme

Vorsichtsmaßnahmen

Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösem Material einzuhalten. Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten.

Vorgehen


Die Medikation des Patienten sollte seit mindestens sieben Tagen stabil sein.

Dem Patienten wird am Morgen vor der nächsten Medikamentengabe venöses Vollblut in eine weiße S-Monovette (mit Kügelchen) ohne Zusätze entnommen. 7,5 ml reichen für drei Analysen.

Die S-Monovette wird mit den Patientendaten (mindestens Nachname, Vorname, Geburtsdatum, Geschlecht) beschriftet.

Es sollten keine Gelröhrchen (braune S-Monovetten) verwendet werden, da das Gel bestimmte Wirkstoffe absorbieren kann und so die Analyse verfälscht wird.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Blutabnahme	Datum: 01.10.2009

Der Anforderungsbogen ist vom zuständigen Stationspersonal möglichst genau auszufüllen und der Patientenprobe beizulegen.

Ein leerer Anforderungsbogen befindet sich im Anhang.

Der Transport erfolgt in einer speziellen T-Box, die beim Labor angefordert werden kann. Es sind die Richtlinien der Deutschen Post AG und der Verpackungsvorschrift P 650 IATA 2004 zu beachten. Näheres siehe „Richtlinien“ zum TDM“ im Anhang.

Paketanschrift des Labors

Klinikum der Universität Regensburg

Zentrale Warenannahme

Fobau H3/ Psychiatrie

Franz-Josef-Strauß-Allee 11

93053 Regensburg

Telefon: 0941/9448988

Fax: 0941/9448998

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

Anhang: "Anforderungsbogen"

Stand: 17.11.2008

Konzentrationsbestimmung von Psychopharmaka

Klinikanschrift: _____

Code

Station: _____ Tel: _____ Fax: _____

Patient (Aufkleber)	
Name, Vorname: _____	
Geburtsdatum (m/w): _____	
Gewicht: _____ Größe: _____	
Abnahmetag: _____	
Diagnose: _____	

Zu bestimmende(s) Medikament(e):

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Alprazolam | <input type="checkbox"/> Haloperidol |
| <input type="checkbox"/> Amisulprid | <input type="checkbox"/> Imipramin+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Amitriptylin+Metab. | <input type="checkbox"/> Lamotrigin |
| <input type="checkbox"/> Amitriptylin-Oxid | <input type="checkbox"/> Maprotilin |
| <input type="checkbox"/> Aripiprazol | <input type="checkbox"/> Mirtazapin |
| <input type="checkbox"/> Bromazepam | <input type="checkbox"/> Nitrazepam |
| <input type="checkbox"/> Chlordiazepoxid | <input type="checkbox"/> Nordiazepam |
| <input type="checkbox"/> Citalopram | <input type="checkbox"/> Nortriptylin |
| <input type="checkbox"/> Clobazam | <input type="checkbox"/> Olanzapin |
| <input type="checkbox"/> Clomipramin+Metab. | <input type="checkbox"/> Oxazepam |
| <input type="checkbox"/> Clonazepam | <input type="checkbox"/> Oxcarbazepin+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Clozapin | <input type="checkbox"/> Paliperidon |
| <input type="checkbox"/> Desipramin | <input type="checkbox"/> Perazin |
| <input type="checkbox"/> Diazepam | <input type="checkbox"/> Quetiapin |
| <input type="checkbox"/> Doxepin+Metab. | <input type="checkbox"/> Risperidon+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Duloxetin | <input type="checkbox"/> Trimipramin |
| <input type="checkbox"/> Escitalopram | <input type="checkbox"/> Venlafaxin+Metab. |
| <input type="checkbox"/> Flunitrazepam | <input type="checkbox"/> Ziprasidon |
| <input type="checkbox"/> Flurazepam | |

Hinweis: Blutentnahme morgens vor der nächsten Tabletteneinnahme. Vollblut in S-Monovette 7,5ml Z (Sarstedt Art-Nr 01.1601)- reicht für 3 Bestimmungen!

Grund der Anforderung (bitte ankreuzen)

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Ersteinstellung | <input type="checkbox"/> Compliance - Kontrolle |
| <input type="checkbox"/> Umstellen der Medikation | <input type="checkbox"/> Arzneimittelinteraktion |
| <input type="checkbox"/> Verlaufskontrolle | <input type="checkbox"/> unerwünschte Arzneimittelwirkung (siehe unten) |
| <input type="checkbox"/> Konzentration im therapeutischen Bereich? | <input type="checkbox"/> Metabolisierungsstatus des Patienten |
| <input type="checkbox"/> Verhältnis von Konzentration zu eingesetzter Dosis? | |

Gesamtmedikation am Vortag der Abnahme oder Kopie des Krankenblattes

Präparatname / Arzneistoff	Tagesdosis [mg] morgens / mittags / abends / nachts	Seit wann oder letzte Dosisänderung? Wann 1. Depotinjektion?
		Seit: _____ <input type="checkbox"/> länger als eine Woche
		Seit: _____ <input type="checkbox"/> länger als eine Woche
		Seit: _____ <input type="checkbox"/> länger als eine Woche
		Seit: _____ <input type="checkbox"/> länger als eine Woche
		Seit: _____ <input type="checkbox"/> länger als eine Woche
		Seit: _____ <input type="checkbox"/> länger als eine Woche

Patient ist

- ☐ überhaupt nicht krank
☐ Grenzfall psychiatrischer Erkrankung
☐ leicht krank
☐ mäßig krank
☐ deutlich krank
☐ schwer krank
☐ extrem schwer krank

Patient ist Raucher:

Patient konsumiert Coffein?

Sind unerwünschte Arzneimittelwirkungen aufgetreten:

Wenn ja, welche?

und wurde in den letzten Tagen

- | | | |
|--|---|-------------------------------|
| <input type="checkbox"/> deutlich schlechter | <input type="checkbox"/> ja, _____ Zigaretten / Tag | <input type="checkbox"/> nein |
| <input type="checkbox"/> schlechter | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |
| <input type="checkbox"/> etwas schlechter | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |
| <input type="checkbox"/> gleich | | |
| <input type="checkbox"/> etwas besser | | |
| <input type="checkbox"/> besser | | |
| <input type="checkbox"/> deutlich besser | | |

Informationen: Fr. Doris Melchner / Fr. Tatjana Jahner / Fr. Anne Lohr / Fr. Sandra Beck - Tel.: +49 (0) 941 944-8988, Fax: +49 (0) 941 944-8998
 www.amuep-agate.de; e-mail: doris.melchner@klinik.uni-regensburg.de - tatjana.jahner@klinik.uni-regensburg.de
 anne.loehr@klinik.uni-regensburg.de - sandra.beck@klinik.uni-regensburg.de

Anschrift: Klinikum der Universität Regensburg, Zentrale Warenannahme, Fobau H3/Psychiatrie, Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg

Anhang: "Richtlinien" zum TDM

Bitte für die Blutabnahme NUR folgende S-Monovetten verwenden:

⇒ **Sarstedt Art-Nr 01.1601 50St. (VE) S-Monovette 7,5 ml Z**

Gemäß Regelungen der Deutschen Post AG und Verpackungsvorschrift P 650 **IATA 2004**, darf medizinisches Untersuchungsgut / diagnostische Proben NUR wie folgt versendet werden:

⇒ **Sarstedt Art-Nr 78.898 50St. (kleinste VE) Schutzgefäße, 126 x 30 mm plus**

⇒ **Sarstedt Art-Nr 65.679 50St. (kleinste VE) Standard-Schraubverschluß, farblos**

Je nach Anforderung:

⇒ **Sarstedt Art-Nr 95.900 50St. (VE) T-Box für 3 Versandflaschen
Briefmarke: 2,20€**

oder

⇒ **Sarstedt Art-Nr 95.902 50St. (VE) T-Box für 8 Versandflaschen
Briefmarke: 2,20€**

An folgende Anschrift versenden:

Klinikum der Universität Regensburg
Zentrale Warenannahme
Fobau H3 / Psychiatrie
Franz-Josef-Strauss-Allee 11
93053 Regensburg

Abrechnung – HPLC-Messung:

GOÄ-Ziffer 4202 (20,98 €)

Abrechnung - Befundung:

Zu der HPLC-Messung werden Sie von uns eine klinisch-pharmakologische Befundung bekommen, d.h. wir liefern Ihnen zur Messung auch eine Beurteilung, ob die gemessene Konzentration zur verabreichten Dosis passt. Im Abweichungsfall bemühen wir uns, die Ursache hierfür aufzudecken: Compliance, Interaktion mit Arznei-, Genuß- und Nahrungsmitteln, genetische Veränderung im Arzneistoff-metabolismus, Erkrankungen der Ausscheidungsorgane etc. Die Befundung gibt es im Augenblick für umsonst, dafür hoffen wir auf einen regen Meinungs- und Informationsaustausch mit den behandelnden Ärzten.

*Den aktuellsten Erhebungsbogen finden Sie unter
<http://www.amuep-agate.de/>*


Herzlichen Dank für Ihre Hilfe

Melchner & Jahner & Beck

Kontakt Daten: Tel.: +49 (0) 941 944-8988, Fax: +49 (0) 941 944-8998

e-mail: doris.melchner@klinik.uni-regensburg.de
tatjana.jahner@klinik.uni-regensburg.de
sandra.beck@klinik.uni-regensburg.de

3.1.3 Verfahrensanweisung Kalibrierung

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC

Vorsichtsmaßnahmen


Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösem Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Kalibrierung für die TDM-Verfahren

Zur Veranschaulichung werden im Folgenden die Einzelschritte am Beispiel von Olanzapin (TDM 3a-Verfahren) beschrieben.

Die Kalibrierung für die Therapeutischen Drug Monitoring (TDM)-Verfahren erfolgt mittels einer Dreipunktkalibration. Dazu werden zu Beginn jeder Messreihe drei Proben mit bekannten Konzentrationen gemessen. Das sind drei Standards mit einer niedrigen (Standard L = Std L), einer mittleren (Standard M = Std M) und einer hohen (Standard H = Std H) Konzentration aller Wirkstoffe.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

 Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

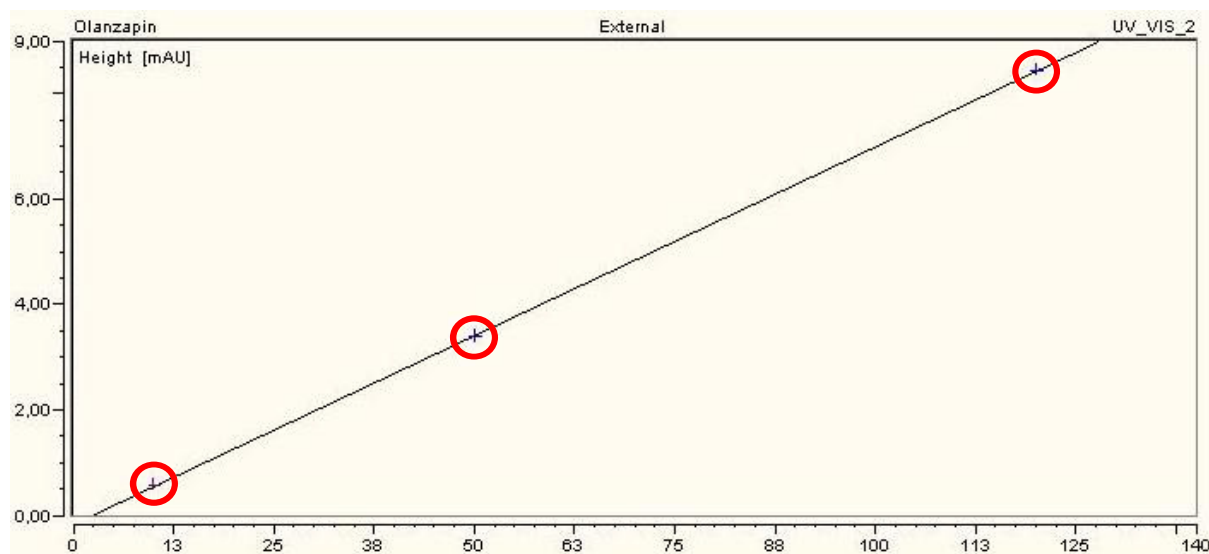
Das Programm der HPLC-Anlagen Chromeleon 6.80 misst die Retentionszeit (Ret.Time), die Fläche des Peaks (Area) und die Höhe des Peaks (Height) der drei Standards.

Hier sind die Werte des Std L markiert:


Sample No.	Sample Name	Ret.Time min Olanzapin UV_VIS_2	Area mAU*min Olanzapin UV_VIS_2	Height mAU Olanzapin UV_VIS_2	Amount Olanzapin UV_VIS_2	Type Olanzapin UV_VIS_2	Plates (EP) Olanzapin UV_VIS_2
1	8%ACN	10,443	0,0890	1,3770	21,4	Rd	n.a.
2	Std L	10,592	0,0734	0,5794	10,3	BMB	43891
3	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4	Std M	10,589	0,4647	3,3877	49,5	BMB	44115
5	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6	Std H	10,586	1,1058	8,4418	120,2	BMB	47635
7	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

In einem Diagramm werden die Höhen der Peaks zu den bekannten Konzentrationen aufgetragen.

Im Beispiel wird die bekannte Konzentration von Std L 10 ng/ml gegen die gemessene Höhe des Peaks in das Diagramm eingetragen. Mit Std M (50 ng/ml) und Std H (120 ng/ml) wird ebenso verfahren.



Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

Das Programm erstellt mit Hilfe dieser drei Punkte eine gemittelte Gerade, die nicht durch den Nullpunkt laufen muss. Das ist die Eichgerade, die für die Messung der folgenden Proben verwendet wird.


Da die Eichgerade durch die Mittelung nicht exakt durch alle drei Punkte laufen muss, ordnet das Programm den Höhen der Standards neue Konzentrationen (Amounts) zu.

Im Beispiel beträgt die bekannte Konzentration von Std L 10,0 ng/ml und bei der Messung ergab die Höhe des Peaks 0,5794 mAU. Durch die Eichgerade wird der Höhe des Peaks die Konzentration (Amount) 10,3 ng/ml zugeordnet. Mit Std M und Std H wird ebenso verfahren.

Sample No.	Sample Name	Ret.Time	Area	Height	Amount	Type	Plates
		min	mAU*min	mAU			(EP)
		Olanzapin	Olanzapin	Olanzapin	Olanzapin	Olanzapin	Olanzapin
		UV VIS 2	UV VIS 2	UV VIS 2	UV VIS 2	UV VIS 2	UV VIS 2
1	8%ACN	10,443	0,0890	1,3770	21,4	Rd	n.a.
2	Std L	10,592	0,0734	0,5794	10,3	BMB	43891
3	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4	Std M	10,589	0,4647	3,3877	49,5	BMB	44115
5	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6	Std H	10,586	1,1058	8,4418	120,2	BMB	47635
7	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Mit Hilfe einer kommerziell erworbenen Kontrolle mit bekannter Konzentration wird die Genauigkeit der ermittelten Eichgerade geprüft. Fällt das Ergebnis positiv aus, d.h. der ermittelte Wert liegt im vom Hersteller festgelegten Bereich, werden die Patientenproben anhand dieser Eichgerade ausgewertet. Fällt das Ergebnis negativ aus, d.h. der ermittelte Wert liegt außerhalb des festgelegten Bereichs, muss die Kalibration wiederholt werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

Bei der Messung der Patientenproben wird der Höhe des Peaks der jeweiligen Patientenprobe mit Hilfe der Eichgerade eine Konzentration zugeordnet.

Im Beispiel wird der Patientenprobe 01_2610 der Höhe des Peaks 1,0331 mAU die Konzentration (Amount) 16,6 ng/ml zugeordnet.

Sample No.	Sample Name	Ret.Time min	Area mAU*min	Height mAU	Amount	Type	Plates (EP)
		Olanzapin UV_VIS_2	Olanzapin UV_VIS_2	Olanzapin UV_VIS_2	Olanzapin UV_VIS_2	Olanzapin UV_VIS_2	Olanzapin UV_VIS_2
12	01_26710_O_	10,622	0,2230	1,0331	16,6	BMb	32662
13	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
14	02_26709_O	10,603	0,4469	3,0611	45,0	BMB	41169
15	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
16	03_26641_O	10,611	0,0678	0,3648	7,3	BMb	31154
17	8%ACN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Kalibrierung für das TCA- und BZD-Verfahren


Zur Veranschaulichung werden im Folgenden die Einzelschritte am Beispiel von Diazepam (BZD) beschrieben.

Die Kalibrierung bei der Analyse der Tricyclischen Antidepressiva (TCA) und der Benzodiazepine (BDZ) erfolgt mittels Einpunktkalibration.

Dazu wird zu Beginn jeder Messreihe der Serumkalibrator (Std Inj1) mit bekannter Konzentration gemessen.

Das Programm der HPLC-Anlage Chromeleon 6.80 misst die Retentionszeit (Ret.Time), die Fläche des Peaks (Area) und die Höhe des Peaks (Height) des Serumkalibrators.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

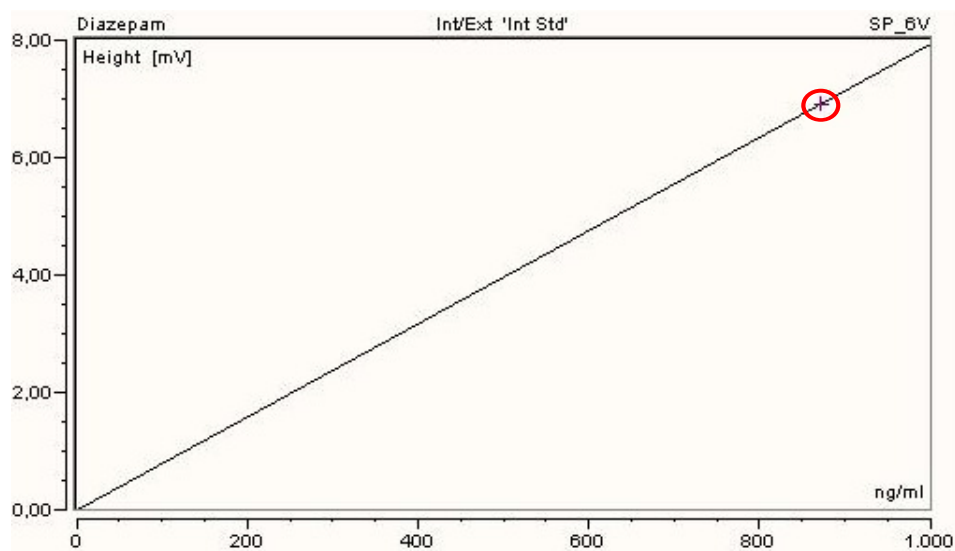
 UKR Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

Hier sind die Werte markiert:

Sample No.	Sample Name	Ret.Time min Diazepam SP_6V	Area mV*min Diazepam SP_6V	Height mV Diazepam SP_6V	Amount ng/ml Diazepam SP_6V	Type Diazepam SP_6V
1	Std Inj1	28,716	5,9777	7,0356	872,78	BMB
2	Std Inj1	28,715	5,7493	6,8991	872,00	BMB
3	Benzo_Level I_Lot 2908	28,829	1,1502	1,2479	149,87	BMB
4	Benzo_Level II_Lot 3108	28,780	11,0454	13,6396	1654,46	BMB


In einem Diagramm wird die Höhe des Peaks zu der bekannten Konzentration des Serumkalibrators aufgetragen.

Im Beispiel wird die bekannte Konzentration des Serumkalibrators von 872 ng/ml gegen die gemessene Höhe des Peaks 6,8991 mV in das Diagramm eingetragen.

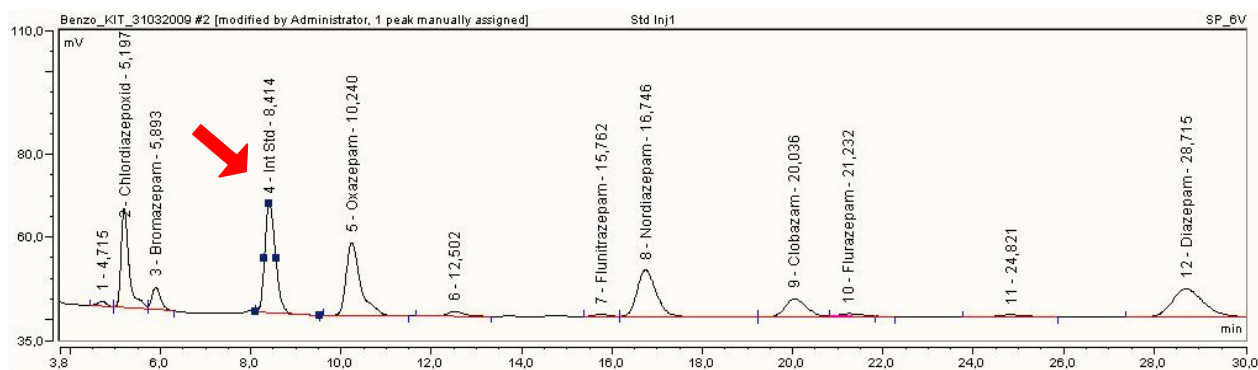


Das Programm erstellt mit Hilfe dieses Punktes eine Gerade durch den Nullpunkt. Das ist die Eichgerade, die für die Messung der folgenden Proben verwendet wird.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

 Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

Um Verluste und Störungen, die bei der Probenvorbereitung und Messung auftreten können, zu kompensieren, wird der Interne Standard verwendet. Es wird zu jeder Probe (Serumkalibrator, Serumkontrolle Level I, Serumkontrolle Level II und allen Patientenproben) die gleiche Menge Interner Standard gegeben. Somit erscheint in jedem Chromatogramm ein Peak des Internen Standards, die alle identisch hoch sein sollten.




Im Chromatogramm des Serumkalibrators wird dessen Konzentration mit dem Wert 1 ng/ml festgelegt.

Sample No.	Sample Name	Ret.Time min	Area mV*min	Height mV	Amount ng/ml	Type
		Int Std	Int Std	Int Std	Int Std	Int Std
		SP_6V	SP_6V	SP_6V	SP_6V	SP_6V
1	Std Inj1	8,414	7,4930	26,6368	1,02	MB
2	Std Inj1	8,414	7,0504	26,1434	1,00	BMB* ^A
3	Benzo_Level I_Lot 2908	8,418	7,7267	27,5129	1,05	MB
4	Benzo_Level II_Lot 3108	8,417	7,8562	27,2415	1,04	bMB ^A

Zur Berechnung der unbekannten Konzentration des Wirkstoffs A (c_{Probe}) in der Probe verwendet das Programm folgende Formel:

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009

$$C_{\text{Probe}} = \frac{A_{\text{Probe}} \times IS_{\text{Serumkalibrator}} \times C_{\text{Serumkalibrator}}}{A_{\text{Serumkalibrator}} \times IS_{\text{Probe}}}$$

A_{Probe} : Peakhöhe des Wirkstoffs A im Chromatogramm der Probe

$A_{\text{Serumkalibrator}}$: Peakhöhe des Wirkstoffs A im Chromatogramm des Serumkalibrators

IS_{Probe} : Peakhöhe des Internen Standards im Chromatogramm der Probe


$IS_{\text{Serumkalibrator}}$: Peakhöhe des Internen Standards im Chromatogramm des Serumkalibrators

$C_{\text{Serumkalibrator}}$: Konzentration des Wirkstoffs A im Serumkalibrator

Mit Hilfe der im Kit enthaltenen Serumkontrollen mit bekannten Konzentrationen wird die Genauigkeit der ermittelten Eichgerade geprüft. Bei der Messung der Kontrollen wird der Höhe des Peaks der jeweiligen Serumkontrolle mit Hilfe der Eichgerade und des Internen Standards eine Konzentration (Amount) zugeordnet. Fällt das Ergebnis positiv aus, d.h. der ermittelte Wert liegt im vom Hersteller festgelegten Bereich, werden die Patientenproben anhand dieser Eichgerade ausgewertet. Fällt das Ergebnis negativ aus, d.h. der ermittelte Wert liegt außerhalb des festgelegten Bereichs, muss die Kalibration wiederholt werden.

Bei der Messung der Patientenproben wird der Höhe des Peaks der jeweiligen Patientenprobe mit Hilfe der Eichgerade und des Internen Standards eine Konzentration zugeordnet.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Kalibrierung der HPLC	Datum: 01.10.2009


Im Beispiel ergibt sich für die Patientenprobe 07_24881 mit der Höhe des Peaks von 1,8287 mV die Konzentration (Amount) 62,18 ng/ml.

<i>Sample No.</i>	<i>Sample Name</i>	<i>Ret.Time min</i> <i>Diazepam</i> <i>SP 6V</i>	<i>Area mV*min</i> <i>Diazepam</i> <i>SP 6V</i>	<i>Height mV</i> <i>Diazepam</i> <i>SP 6V</i>	<i>Amount ng/ml</i> <i>Diazepam</i> <i>SP 6V</i>	<i>Type</i> <i>Diazepam</i> <i>SP 6V</i>
1	Std Inj1	28,716	5,9777	7,0366	872,78	BMB
2	Std Inj1	28,715	5,7493	6,8991	872,00	BMB
3	Benzo_Level I_Lot 2908	28,829	1,1502	1,2479	149,87	BMB
4	Benzo_Level II_Lot 3108	28,780	11,0454	13,6396	1654,46	BMB
5	Std Inj1	28,881	5,7148	6,9270	n.a.	BMB
6	07_24881_Diazepam	28,973	1,5448	1,8287	62,18	bMB
7	spülen	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Average:		28,816	5,1970	6,2630	722,26	
Rel.Std.Dev:		0,349 %	69,431 %	71,645 %	0,90	

Für weitere Informationen steht ein Handbuch für die Chromeleon-Software (Raum 8, HPLC Psy) und die „Arbeitsvorschrift für die HPLC-Bestimmung der Benzodiazepine und Tricyclische Antidepressiva im Serum“ der Firma Chromsystems (Raum 5, Labor Psy) zur Verfügung.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.1.4 Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Patientenprobenannahme	Datum: 01.10.2009

Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

Vorsichtsmaßnahmen

Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösem Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Anlieferung


Die Patientenproben gelangen entweder durch den Lieferdienst des Bezirksklinikums oder per Post über die zentrale Warenannahme zum Forschungsbau H3.

Zunächst wird überprüft, ob zu jeder Patientenprobe ein entsprechend vollständig ausgefüllter Anforderungsbogen vorliegt und ob zu jedem Anforderungsbogen die entsprechende Patientenprobe vorhanden ist. (Leerer Anforderungsbogen siehe Anhang der Verfahrensanweisung Blutabnahme).

Zentrifugation

Die S-Monovetten der Patientenproben werden mit der Megafuge 2.0 R (Raum 6, Labor Psy) mit 4000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten bei 20 °C zentrifugiert.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Patientenprobenannahme	Datum: 01.10.2009

Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Erste Dateneingabe und Erzeugung der Probennummer in Konbest

Durch Eingabe von Nachname, Vorname, Geburtsdatum und Geschlecht des Patienten teilt Konbest jeder Patientenprobe einen eindeutigen und einmaligen Code (Probennummer) zu. Desweiteren werden gleich Einsender der Probe, zu bestimmende Substanz und Grund der Anforderung eingeben.

Mit der Probennummer werden der Anforderungsbogen und die S-Monovette gekennzeichnet. Entsprechende Vordrucke auf selbstklebenden Etiketten gibt es in zweifacher Ausführung im Raum1, Büro (Ordner „Konbest“).

In einer Tabelle (Pfad K:\ Konbestdaten_Konbest_Gesamtdaten ab 20000) werden der Nach- und Vorname des Patienten, der zugewiesene Code, die zu bestimmende Substanz und das Eingangsdatum der Patientenprobe vermerkt. Man erstellt einen Ausdruck mit den eingegebenen Informationen eines Datums.

Anonymisierung der Patientenproben

Nach dem Zentrifugieren wird jede Patientenprobe unter Zuhilfenahme der ausgedruckten Tabelle mit dem ihr zugewiesenen Code und mit der zu bestimmende Substanz beklebt. Damit es nicht zu Verwechslungen kommt, ist ein sehr sorgfältiges und konzentriertes Arbeiten nötig.

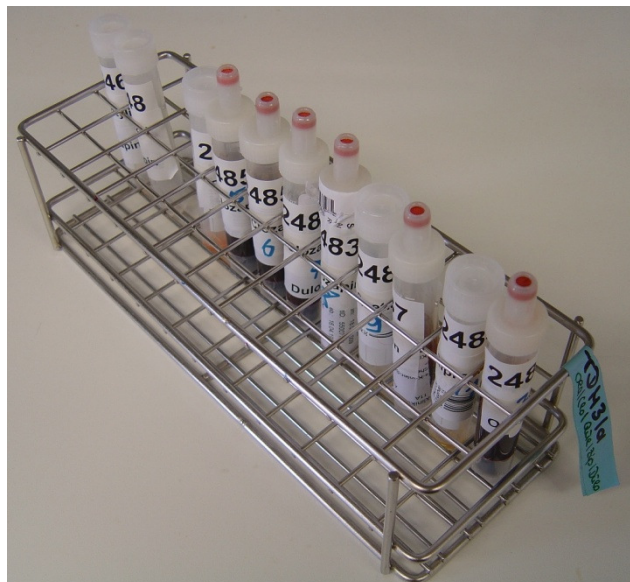


Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Patientenprobenannahme	Datum: 01.10.2009

Aufbewahrung

Die Patientenproben werden im Kühlschrank dunkel bei 4-8°C (Raum 5, Labor Psy) bis zur Messung aufbewahrt. Man sortiert die Patientenproben entsprechend der Analysemethode (TDM 1, TDM 2, TDM 3a, TDM 3b, TCA) in den gekennzeichneten Monovettenständer ein.




Weitere Dateneingabe in Konbest

Soweit auf den Anforderungsbogen vermerkt, werden Gewicht, Größe, Abnahmetag, Diagnose und die Gesamtmedikation des Patienten am Vortag der Abnahme in die entsprechenden Felder in Konbest eingetragen. Außerdem können noch genauere Angaben über den aktuellen Krankheitszustand und -verlauf des Patienten, sein Konsumverhalten im Bezug auf Nikotin und Koffein und unerwünscht aufgetretene Arzneimittelwirkungen gemacht werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.1.5 Verfahrensanweisung Pipettieren

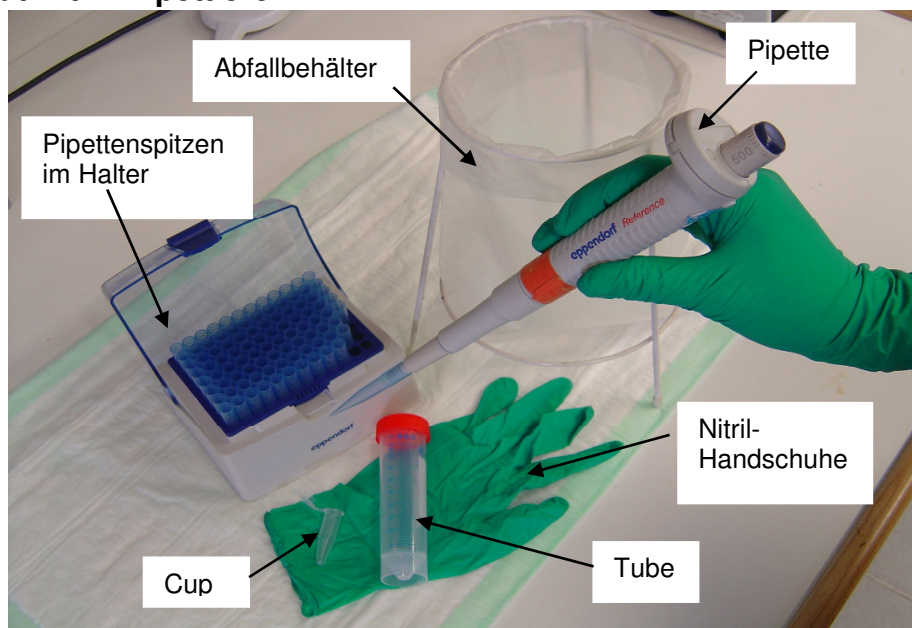
	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Verfahrensanweisung Pipettieren


Vorsichtsmaßnahmen

Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösem Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Arbeitsplatz zum Pipettieren



Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009


Eppendorf Reference

Die Bedienungsanleitung befindet sich im Ordner „Geräte R-Z, Bedienungsanleitungen“ unter R im Raum 1, Büro.

Pipettierhilfen

Bezeichnung	Seriennummer	Hersteller	Raum
500-2500 µl Pipette variabel (rot)	376696	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
1000 µl Pipette fix (blau)	277662	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500 µl Pipette fix (blau)	253014	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
200 µl Pipette fix (blau)	386846	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100-1000 µl Pipette variabel (blau)	310753	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100 µl Pipette fix (gelb)	265661	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 µl Pipette fix (gelb)	280901	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
20 µl Pipette fix (gelb)	281611, 081121	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10 µl Pipette fix (gelb)	274144	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10-100 µl Pipette variabel (gelb)	299646, 1198355	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
2-20 µl Pipette variabel (hellgrau)	4109984	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009


Pipettenspitzen und Sonstiges

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
weiße Pipettenspitzen (500-2500 µl)	0030 000.951	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
blaue Pipettenspitzen (50-1000 µl)	0030 000.919	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
gelbe Pipettenspitzen (2-200 µl)	0030 000.870	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
hellgraue Pipettenspitzen (0,5-20 µl)	0030 000.854	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy

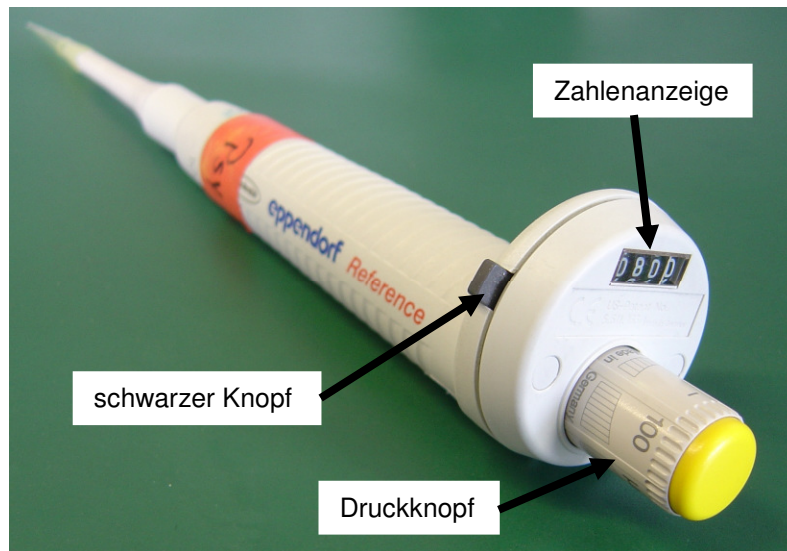
Auswahl der richtigen Pipette und Volumeneinstellung

Liegt eine auf das gewünschte Volumen fix eingestellte Pipette vor, so kann diese ohne weitere Voreinstellungen benutzt werden (z. B. bei 50 µl, 100 µl, 200 µl etc.).

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Bei allen anderen Volumina nimmt man die variablen Pipetten, wobei man die Pipette



mit dem entsprechenden Volumenintervall wählt. Während man den kleinen schwarzen Knopf am oberen Ende der Pipette drückt, kann das gewünschte Volumen mit dem Druckknopf durch Drehen eingestellt und an der Zahlenanzeige auf Richtigkeit überprüft werden.

Beachte:

Der Druckknopf der Pipette Eppendorf Reference besitzt drei verschiedene Stopps:


- erster Stopp: Aufziehen der Flüssigkeit
- zweiter Stopp: Abgeben der Flüssigkeit
- dritter Stopp = „Anschlag“: Abwurf der Pipettenspitze

Zusätzlich dient der Druckknopf auch zur Einstellung der Volumina als Drehrad!

Auswahl der richtigen Pipettenspitze

Entsprechend der farblichen Kennzeichnung der Pipette auf dem Druckknopf wird die Pipettenspitze ausgewählt. Man drückt die Pipette von oben auf die im Halter stehenden Spitzen um sie gegeneinander zu fixieren.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Aufziehen von Flüssigkeit

Der Druckknopf wird bis zum ersten Stopp gedrückt, die Spitze wird in die Flüssigkeit eingetaucht und bei möglichst senkrecht gehaltener Pipette wird langsam der Druck von dem Druckknopf genommen bis er wieder in seiner Normalposition ist. Sofern die Spitze permanent in die Flüssigkeit getaucht war, befindet sich nun genau das angegebene Volumen in der Spitze.

Abgeben von Flüssigkeit

Befindet sich keine Flüssigkeit im Zielgefäß, sollte Kontakt zwischen Spitze und Gefäßinnenwand bestehen. Der Druckknopf kann direkt bis zum zweiten Stopp durchgedrückt werden um die Flüssigkeit vollständig abzugeben.

Bei bereits vorhandener Flüssigkeit im Zielgefäß sollte die Spitze darin eingetaucht werden. Nun wird der Druckknopf mehrere Male bis zu ersten Stopp gedrückt und wieder losgelassen um den Spitzeninhalt in das Zielgefäß zu bringen. Dann wird der Druckknopf bis zum zweiten Stopp gedrückt und so fixiert aus der Flüssigkeit gezogen.


Abwerfen der Pipettenspitzen

Die Pipette wird über den entsprechenden Abfallbehälter gehalten und der Druckknopf wird bis zum Anschlag durchgedrückt.

Desinfektion der Pipetten

Nach Gebrauch der Pipette ist diese mit Sprühdesinfektion Pursept-A mit einigen Sprühstößen zu desinfizieren, mit einem Papiertuch abzuwischen und in den Pipettenständer zu stellen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Eppendorf Research


Pipettierhilfen

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
1-10 ml Pipette variabel (türkis)	2680053	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Pipettierspitzen und Sonstiges

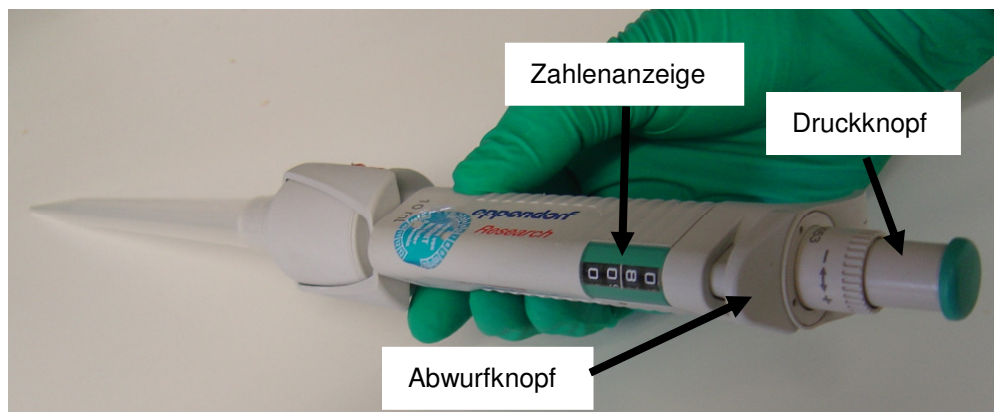
Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
weiße Pipettenspitzen (1-10 ml)	0030 000.765	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (50 ml)	62.559	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Volumeneinstellung

Das gewünschte Volumen kann mit dem Druckknopf durch Drehen eingestellt und an der Zahlenanzeige auf Richtigkeit überprüft werden.



Beachte:

Der Druckknopf der Pipette von Eppendorf Research besitzt zwei verschiedene Stopps:


- erster Stopp: Aufziehen der Flüssigkeit
- zweiter Stopp: Abgeben der Flüssigkeit

Zusätzlich dient der Druckknopf auch zur Einstellung der Volumina als Drehrad!

Auswahl der richtigen Pipettenspitze

Entsprechend des Volumenintervalls der Pipette wird die weiße Pipettenspitze mit 1-10 ml Fassungsvermögen gewählt. Man drückt die Pipette von oben auf die im Halter stehenden Spitzen um sie gegeneinander zu fixieren.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Aufziehen von Flüssigkeit

Der Druckknopf wird bis zum ersten Stopp gedrückt, die Spitze wird in die Flüssigkeit eingetaucht und bei möglichst senkrecht gehaltener Pipette wird langsam der Druck von dem Druckknopf genommen bis er wieder in seiner Normalposition ist. Sofern die Spitze permanent in die Flüssigkeit getaucht war, befindet sich nun genau das angegebene Volumen in der Spitze.

Abgeben von Flüssigkeit

Befindet sich keine Flüssigkeit im Zielgefäß, sollte Kontakt zwischen Spitze und Gefäßinnenwand bestehen. Der Druckknopf kann direkt bis zum zweiten Stopp durchgedrückt werden um die Flüssigkeit vollständig abzugeben.

Bei bereits vorhandener Flüssigkeit im Zielgefäß sollte die Spitze darin eingetaucht werden. Nun wird der Druckknopf mehrere Male bis zu ersten Stopp gedrückt und wieder losgelassen um den Spitzeninhalt in das Zielgefäß zu bringen. Dann wird der Druckknopf bis zum zweiten Stopp gedrückt und so fixiert aus der Flüssigkeit gezogen.


Abwerfen der Pipettenspitzen

Die Pipette wird über den entsprechenden Abfallbehälter gehalten und der Abwurfknopf wird kräftig gedrückt.

Desinfektion der Pipetten

Nach Gebrauch der Pipette ist diese mit Sprühdesinfektion Pursept-A mit einigen Sprühstößen zu desinfizieren, mit einem Papiertuch abzuwischen und in den Pipettenständer zu stellen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Eppendorf Multipette plus

Die Bedienungsanleitung befindet sich im Ordner „Geräte A-Q, Bedienungsanleitungen“ unter M im Raum 1, Büro.


Pipettierhilfen

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 ml Adapter (dunkelgrau)	4980	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
25 ml Adapter (dunkelblau)	----	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Pipettierspitzen und Sonstiges


Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Combitip (50 ml)	0030 069.277	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (25 ml)	0030 069.293	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (10 ml)	0030 069.269	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (5 ml)	0030 069.250	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (2,5 ml)	0030 069.242	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (1 ml)	0030 069.234	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (500 µl)	0030 069.226	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

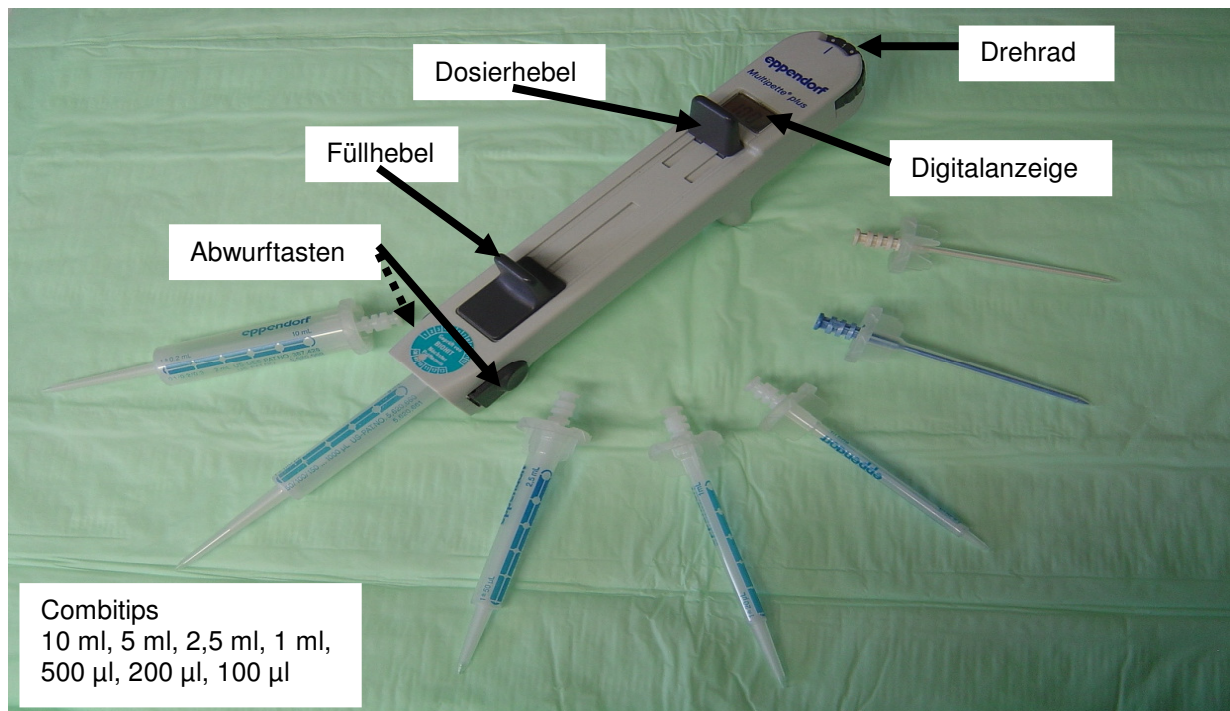
	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Combitip blau (200 µl)	0030 069.218	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip beige (100 µl)	0030 069.200	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (50 ml)	62.559	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy

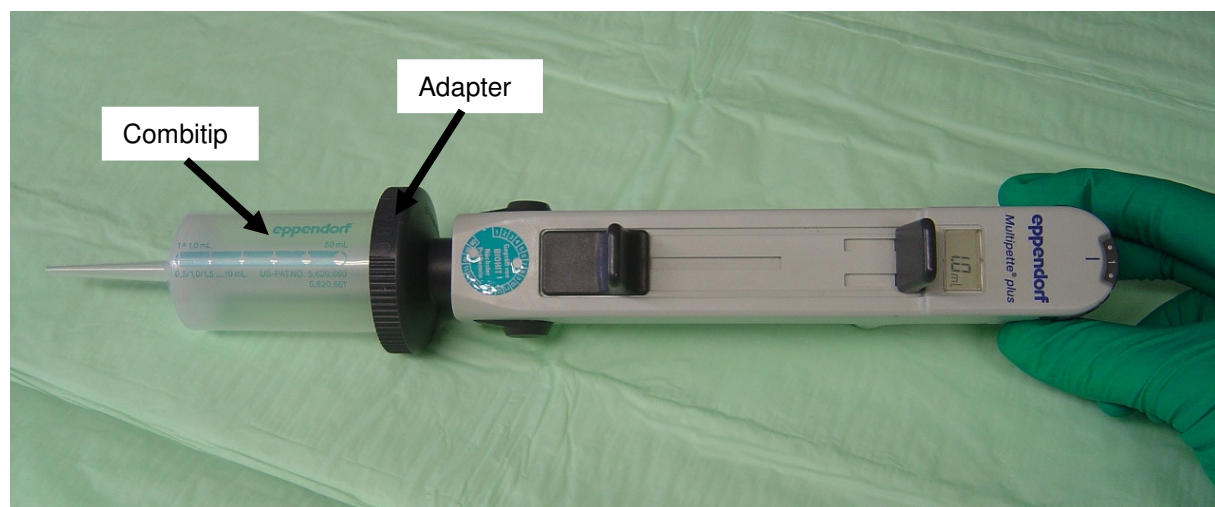
Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009


Multipette plus ohne Adapter



Multipette plus mit Adapter



Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Indikation für die Verwendung der Multipette plus

Soll direkt hintereinander mehrmals das gleiche Volumen derselben Flüssigkeit pipettiert werden, ohne dass zwischendurch ein Spitzenwechsel nötig ist, kann zur Verringerung des Arbeitsaufwandes die Multipette plus verwendet werden.


Auswahl des richtigen Combipips

Das gewünschte Auswurfvolumen muss im Auswurfvolumenintervall des Combipips liegen und über das Drehrad einstellbar sein.

Gesamtvolumen Combipip	Auswurfvolumenintervall	Schritte einstellbar in
50 ml	0,5 ml – 10 ml	0,5 ml
10 ml	100 µl – 2 ml	100 µl
5 ml	50 µl – 1 ml	50 µl
2,5 ml	25 µl – 500 µl	25 µl
1 ml	10 µl – 200 µl	10 µl
500 µl	5 µl – 100 µl	5 µl
200 µl	2 µl – 40 µl	2 µl
100 µl	1 µl – 20 µl	1 µl

Eine weitere Hilfestellung bietet die Tabelle auf Seite 6 der Bedienungsanleitung sowie das beiliegende Slide-Chart.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Fixieren des Combitips

Für den Combitip mit Gesamtvolumen von 50 ml und 25 ml muss ein Adapter verwendet werden. Hierfür führt man den Adapter auf das offene Ende des Combitips und dreht ihn fest. Jetzt drückt man den Füllhebel der Multipette mit dem Daumen an den unteren Anschlag und führt den Adapter mit Combitip bis zum Einrasten in die Öffnung der Multipette ein, ohne dabei die Abwurftasten zu drücken. Abschließend wird der feste Sitz des Adapters überprüft.

Bei allen anderen Combitips ist kein Adapter notwendig. Man drückt den Füllhebel mit dem Daumen an den unteren Anschlag und führt das gewünschte Combitip bis zum Einrasten in die Öffnung der Multipette ein, ohne dabei die Abwurftasten zu drücken. Abschließend wird der feste Sitz des Combitips überprüft.


Einstellen des gewünschten Auswurfvolumens

Über das Drehrad wird das gewünschte Auswurfvolumen eingestellt, welches an der Digitalanzeige ablesbar ist.

Aufziehen der Flüssigkeit

Die Spitze des Combitips wird in die Flüssigkeit eingetaucht. Durch gleichmäßiges Hochziehen des Füllhebels wird die Flüssigkeit in den Combitip aufgenommen und die Spitze kann aus der Flüssigkeit herausgezogen werden. Um überschüssige Luft aus dem Combitip zu entfernen, drückt man einmal den Dosierhebel nach unten und entlässt die austretende Flüssigkeit zurück ins Gefäß. Sobald die Digitalanzeige nicht mehr blinkt, kann begonnen werden zu pipettieren.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

 Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Pipettieren	Datum: 01.10.2009

Abgeben der Flüssigkeit

Die Spitze des Combitips wird an die Wand des Zielgefäßes geführt und durch einmaliges Durchdrücken des Dosierhebels wird exakt das eingestellte Auswurfvolumen freigegeben. Sobald der Druck vom Dosierhebel genommen wird, bewegt sich dieser selbständig in seine ursprüngliche Position. Dabei erklingt ein markantes Einrastgeräusch, sofern ein weiteres vollständiges Auswurfvolumen im Combitip vorhanden ist. Bleibt das Geräusch aus, muss erneut Flüssigkeit aufgezogen werden.

Abwerfen des Combitips


Die Multipette wird über den entsprechenden Abfallbehälter gehalten und die beiden Abwurf Tasten werden gleichzeitig kräftig gedrückt.

Desinfektion der Pipetten

Nach Gebrauch der Multipette ist diese mit Sprühdesinfektion Pursept-A (Raum 5, Labor Psy) mit einigen Sprühstößen zu desinfizieren, mit einem Papiertuch abzuwischen und in den Pipettenständer zu stellen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.1.6 Verfahrensanweisung Vorreinigung Poolserum

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Vorreinigung Poolserum	Datum: 01.10.2009

Verfahrensanweisung Vorreinigung Poolserum

Vorsichtsmaßnahmen

Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösem Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).


Poolserum

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Poolserum	-----	Routinelabor BZK Regensburg	Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy

Das Poolserum befindet sich im Gefrierschrank und muss vor der Verwendung mindestens 60 min bei Raumtemperatur aufgetaut werden.

Das Poolserum stammt aus überschüssigem Blut von Mitarbeitern des Bezirksklinikums Regensburg, das bei regelmäßigen betriebsärztlichen Untersuchungen anfällt. Alternativ wird Poolserum verwendet, das von Blutspendeorganisationen erworben wird.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Vorreinigung Poolserum	Datum: 01.10.2009

Laborgeräte


Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
Kühlschrank (4-8 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Gefrierschrank (-20 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Milli-Q-System A10 Gradient (Millipore)	45888	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte
Vakuumpumpe	31502	Waters, Milford USA	Raum 5, Labor Psy
Vakuumabsaugstation	Katalog: WAT200677	Waters, Milford USA	Raum 5, Labor Psy
Ständer für Reagenz- gläser (sog. Rack)	Katalog: WAT200606	Waters, Milford USA	Raum 5, Labor Psy

Pipettierhilfen

Zur Bedienung der Pipette siehe Verfahrensanweisung Pipettieren!

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 ml Adapter (dunkelgrau)	4980	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (50 ml)	0030 069.277	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Vorreinigung Poolserum	Datum: 01.10.2009

Glaswaren

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Becherglas (100 ml)	213-1122	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Reagenzglas, Außendurchmesser 16 mm, Länge 100 mm (15 ml)	212-0016	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Woulff'sche Flasche	16610	Sartorius AG, Göttingen	Raum 5, Labor Psy

Säulen

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
SPE-Säule: Sep-Pak Vac RC (500mg) C18 Cartridges	WAT 036945	Waters, Milford USA	Raum 5, Labor Psy


Lösungsmittel

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Methanol (LiChrosolv)	1.06007.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
H ₂ O demin. > 5 ppb TOC	----	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte

Sonstiges

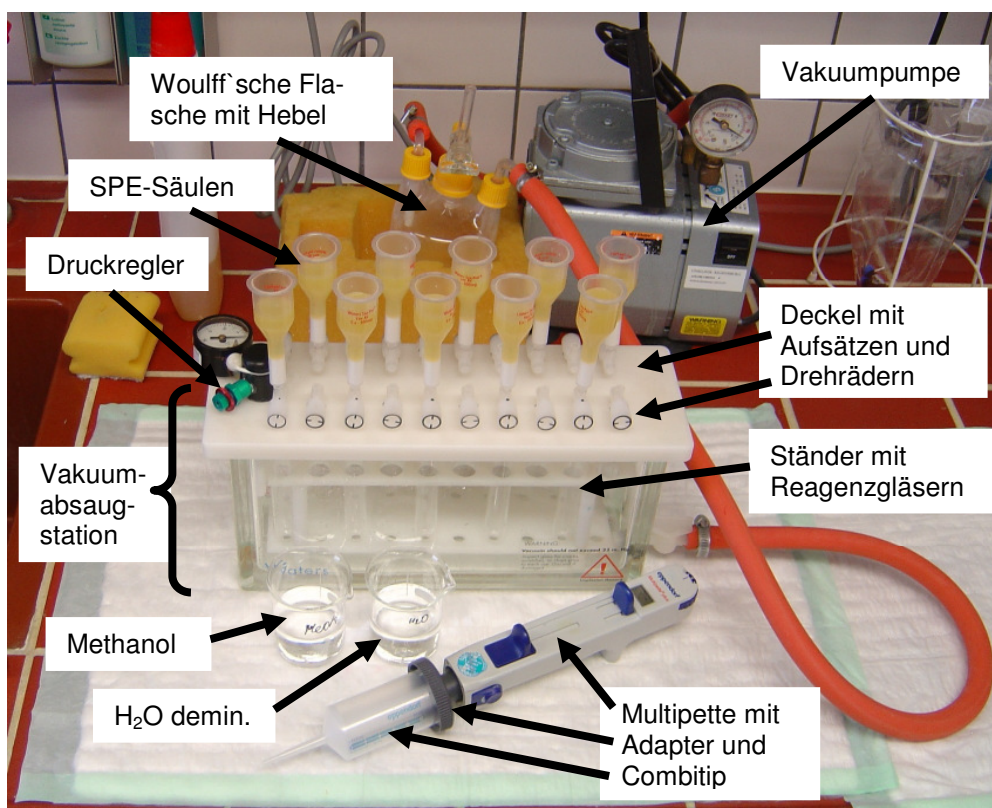
Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Aufsatz mit Drehrad (= Needle)	WAT 200685	Waters, Milford USA	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Vorreinigung Poolserum	Datum: 01.10.2009

Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel Belgien	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy

Arbeitsplatz



Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Vorreinigung Poolserum	Datum: 01.10.2009

Vorreinigung des Poolserums

Beschreibung für die Vorreinigung von circa 100 ml Poolserum:

Man füllt jeweils ein 100 ml Becherglas mit H₂O demin. und Methanol (unter dem Abzug) und beschriftet diese zur sicheren Unterscheidung.

Zehn SPE-Säulen werden gleichmäßig auf jeden zweiten Aufsatz der Vakuumsaugstation gesteckt und der Aufsatz wird geöffnet (Linien des Drehrades vertikal). Die unbenutzten Aufsätze werden geschlossen, indem die Linien des Drehrades in eine horizontale Position gebracht werden.


Man gibt mit Hilfe der Multipette plus, bestückt mit Adapter und 50 ml Combitip, 5 ml Methanol auf jede SPE-Säule. Das Methanol wird mit 5-10 bar abgesaugt, indem die Vakuumpumpe eingeschaltet wird und der Druckregler an der Vakuumsaugstation entsprechend eingestellt wird. Der Hebel des Auffangbehälters (sog. Woulff'sche Flasche) muss dabei unbedingt horizontal („offen“) stehen, damit ein geschlossener Vakuumkreislauf vorliegt.

Nach dem vollständigen Absaugen schaltet man die Vakuumpumpe aus und gibt 5 ml H₂O demin. mit Hilfe der Multipette plus, bestückt mit Adapter und 50 ml Combitip, auf jede Säule. Das H₂O demin. wird mit circa 10 bar abgesaugt. Mögliche Tröpfchen am Unterrand der Aufsätze werden mit einem Papiertuch abgewischt.

In den Ständer für die Vakuumsaugstation stellt man zehn 15 ml Reagenzgläser entsprechend der Anordnung der SPE-Säulen auf den Aufsätzen. Der Ständer wird in die Vakuumsaugstation hineingestellt, welche wieder mit dem Deckel samt Aufsätzen und SPE-Säulen verschlossen wird.

8-10 ml Poolserum werden auf jede SPE-Säule gegeben und mit 15-20 bar (Druckrad bis zum Stopp aufdrehen) abgesaugt. Das vorgereinigte Poolserum befindet sich nun in den Reagenzgläsern in der Vakuumsaugstation und kann in entsprechend beschriftete 50 ml Tubes zur Aufbewahrung umgefüllt werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

 Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Vorreinigung Poolserum	Datum: 01.10.2009

Vorgereinigtes Poolserum, welches nicht direkt anschließend für das Analyseverfahren verwendet wird, friert man bei -20 °C ein (Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Alle Geräte werden abschließend mit Pursept-A desinfiziert.


Prüfung des Poolserums auf störende Komponenten

Eine vorgereinigte Poolserumprobe ohne Wirkstoffzusatz wird in dem jeweiligen Analyseverfahren mit gemessen, um festzustellen ob der Serumpool störende Komponenten enthält.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.2 Arbeitsanweisungen Neuroleptika

3.2.1 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Amisulprid

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Konzentrationsbestimmung von Amisulprid

Zielsetzung: Es soll sichergestellt werden, dass nach den Grundsätzen der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK), in der Fassung vom 23. November 2007 [Deutsches Ärzteblatt, 105 (7), A341-A355] gearbeitet wird.

Verantwortlich für die Ausführung: Marlen Fuchs und Sophia Lindner

Gültig ab: 01.10.2009


Ersetzt die Fassung vom: -----

Anlagen:

- Verfahrensanweisung Abfallentsorgung
- Verfahrensanweisung Blutabnahme
- Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC
- Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme
- Verfahrensanweisung Pipettieren
- Verfahrensanweisung Vorreinigung
- Poolserum
- Screenshots Softwareprogramm Chromeleon

Verteiler: Gruppe: Labor klinische Pharmakologie

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Vorsichtsmaßnahmen: Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösen Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Methode: Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) 2

Untersuchungsmaterial: Serum

Blutabnahme: siehe Verfahrensanweisung Blutabnahme


Probenannahme: siehe Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

Probenlagerung: dunkel, 4-8°C (Kühlschrank)

Probenhaltbarkeit: gekühlt (4-8°C), bis zu einer Woche
eingefroren (-20°C), bis zu drei Monate

Analyse - Arbeitsplatz: HPLC-3-Arbeitsplatz, Raum 8, HPLC Psy,
Forschungsbau H3

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Geräte


Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-3)

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
HPLC-Pumpe: P680, DGP	Medbo 0366 00 1900	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Säulenofen: TCC 100, mit Elektronischen 6- Port-Schaltventil (Electronic Valva Actuator)	Medbo 0366 00 1900	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Autosampler: Gina 50T (Probengeber)	39912	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Detektor: DAD PDA 100	41266	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Degaser: Solvent Rack SOR 100	Medbo 0366 00 1900	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
PC zur Datenaufnah- me; Integration durch Chromleon 6.80 (Dionex)	55954	Dell, Frankfurt/ Main	Raum 8, HPLC Psy

weitere Laborgeräte

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
Kühlschrank (4-8 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Gefrierschrank (-20 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Kühlschrank (4-8 °C), Liebherr profi line	1405240 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
Gefrierschrank (-20 °C), Liebherr comfort	1405241 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009


pH-Meter: Basic Meter, PB-20	41563	Sartorius AG, Göttingen	Raum 6, Labor Psy
Ultraschallbad: Sonorex Super RK 106	28948	Bandelin electronic, Berlin	Raum 5, Labor Psy
Analysen-Waage: AC121S	28593	Sartorius AG, Göttingen	Raum 8, HPLC Psy
Oberschalen-Waage 1219MP	28594	Sartorius AG, Göttingen	Raum 5, Labor Psy
Magnetrührer: Ikamag Reo	35475	Jahnke & Kunkel GmbH & Co.KG, Staufen	Raum 6, Labor Psy
Rührfisch	Katalog: S. 442.52	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
magnetische Angel	Katalog: S. 442.58	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Milli-Q-System A10 Gradient (Millipore)	45888	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte
Tischzentrifuge: Megafuge 2.0 R, gekühlt	29036	Heraeus, Osterode	Raum 6, Labor Psy
Tischzentrifuge: Biofuge pico, ungekühlt	35437	Heraeus, Osterode	Raum 5, Labor Psy
Monovettenständer (= Reagenzglasständer 4x12)	Katalog: 212-6480	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Pipettierhilfen

Zur Bedienung der verschiedenen Pipetten siehe Verfahrensanweisung Pipettieren!

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
1-10 ml Pipette (türkis), Research	2680053	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500-2500 µl Pipette (rot), Reference	376696	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

1000 µl Pipette (blau), Reference	277662	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500 µl Pipette (blau), Reference	253014	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
200 µl Pipette (blau), Reference	386846	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100-1000 µl Pipette (blau), Reference	310753	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100 µl Pipette (gelb), Reference	265661	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 µl Pipette (gelb), Reference	280901	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
20 µl Pipette (gelb), Reference	281611, 081121	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10 µl Pipette (gelb), Reference	274144	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10-100 µl Pipette (gelb), Reference	299646, 1198355	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
2-20 µl Pipette (hellgrau), Reference	4109984	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 ml Adapter (dunkelgrau)	4980	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Dispensette III (10-100 ml)	01X7469, 10V0275, 05G73352	Brand GmbH, Wertheim	Raum 6, Labor Psy

Glaswaren

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Messkolben NS 29/32 (2000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-2735	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Messkolben NS 24/29 (1000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5072	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Messkolben NS 12/21 (25 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5063	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Becherglas (100 ml)	213-1122	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Laborflasche (500 ml)	215-1536	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (1000 ml)	215-1537	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (2000 ml)	215-1538	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy

Verbrauchsmaterial

Säulen


Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
RAM- Vorreinigungssäule: LiChrocart 25-4 LiChrospher RP-4 ADS, 25 µm	1.50208.0001	Merck KGaA, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Analysensäule: Betasil C6, 5 µm, 250 x 4,6mm	MZ-Analysentechnik, Mainz 70305-254630	Thermo Fisher Scientific, England	Raum 8, HPLC Psy

Die oben genannten Säulen müssen entsprechend der Herstellerangaben in die HPLC-3-Anlage eingebaut werden. Dazu ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Säulenzubehör

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Dichtringe und Siebe (In-Line Filter)	FK 7340	RECIPE GmbH, München	Raum 8, HPLC Psy


Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Sonstiges

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Eluentenfilter	6000.0041	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
weiße Pipettenspitze (1-10 ml)	0030 000.765	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
weiße Pipettenspitze (500-2500 µl)	0030 000.951	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
blaue Pipettenspitze (50-1000 µl)	0030 000.919	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
gelbe Pipettenspitze (2-200 µl)	0030 000.870	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
graue Pipettenspitze (0,5-20 µl)	0030 000.854	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Combitip (50 ml)	0030 069.277	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial braun (1,5 ml)	70 2284	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
geschlitzter blauer Deckel für Vial braun (1,5 ml)	70 22 88.1	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (50 ml)	62.559	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy
Wägeschiffchen (Aluminum weighing boat)	W1126-100EA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkir- chen/Steinheim	Raum 8, HPLC Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel Belgien	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy


Reagenzien

Die Schlüssel für den Glasschrank und den Gefahrstoffschrank hängen an beschrifteten Hacken, Raum 6, Labor Psy.

Pharmaka

Bezeichnung	Bestellnummer/ Produkt-ID	Hersteller	Raum
Amisulprid (freie Base)	A2729	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Citalopram (Hydrobromid)	C7861	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Desmethylcitalopram (Hydrochlorid)	LU-11-109-C	Lundbeck A/S, Copenhagen Dänemark	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Mirtazapin (freie Base)	M0443	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Quetiapin (Hemifumerat)	----	Astra Zeneca, Wedel	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Venlafaxin (Hydrochlorid)	V-7264	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
o-Desmethylvenlafaxin (freie Base)	WY-45 233	Wyeth	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Kontrolle Level 1	Bestellung über Invicon diagnostic concepts GmbH	UTAK Laboratories Inc., Valencia USA	Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy
Kontrolle Level 2	Bestellung über Invicon diagnostic concepts GmbH	UTAK Laboratories Inc., Valencia USA	Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Lösungsmittel

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Acetonitril (LiChrosolv)	1.00030.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
Ethanol (LiChrosolv)	1.11727.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
2-Propanol (LiChrosolv)	1.01040.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
H ₂ O demin. > 5 ppb TOC	----	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte

weitere Chemikalien


Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Ammoniumformiat	17843-50G	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Ameisensäure (98-100%)	1.00264.100	Merck KGaA, Darmstadt	Gefahrstoffschrack, Raum 6, Labor Psy
Natronlauge	1.09137.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy

Poolserum

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Poolserum	----	Routinelabor BZK Regensburg	Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy

Zur Vorreinigung des Poolserums siehe Verfahrensanweisung Vorreinigung Poolserum.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Anmerkung:

Vor der Herstellung des analytischen Eluenten muss geprüft werden, ob das pH-Meter exakt eingestellt ist bzw. neu kalibriert werden muss (siehe Betriebsanleitung des Herstellers im Ordner „Geräte A-Q, Betriebsanleitungen“ unter P, Raum 1, Büro).

Herstellung:

Zuerst wird der Ammoniumformiatpuffer hergestellt.

Es werden 2,52 g Ammoniumformiat mit der Oberschalen-Waage abgewogen, in einen 2000 ml Messkolben gegeben und mit H₂O demin. bis knapp unterhalb der 2000 ml Markierung aufgefüllt.


Man stellt den Kolben auf den Magnetrührer, gibt einen Rührfisch hinein und stellt eine mittlere Rührgeschwindigkeit ein. Zur Einstellung des pH-Wertes auf 3,0 werden circa 6,8 ml Ameisensäure dazu gegeben und mit Hilfe des pH-Meters der pH-Wert des Eluenten gemessen. Falls der pH-Wert zu hoch ist, legt man Ameisensäure in µl-Schritten nach. Ist er zu niedrig, kann mit Natronlauge (im Abzug) in µl-Schritten ausgeglichen werden.

Danach erfolgt die Herstellung des analytischen Eluenten.

Unter dem Abzug (Raum 6) werden in einen 1000 ml Messkolben circa 100 ml des zuvor hergestellten Ammoniumformiatpuffer vorgelegt und aus der entsprechenden Flasche mit Hilfe der Dispensette 300 ml Acetonitril hinein gegeben. Der Messkolben wird mit dem Ammoniumformiatpuffer bis knapp unterhalb der 1000 ml Markierung aufgefüllt.

Anschließend wird der offene Kolben zum Entgasen für 3 min in das Ultraschallbad gestellt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Stammlösungen

Da mehrere Substanzen (Amisulprid, Citalopram mit Metabolit Desmethylcitalopram, Mirtazapin, Quetiapin und Venlafaxin mit Metabolit o-Desmethylvenlafaxin) gleichzeitig mit dem TDM 2-Verfahren untersucht werden können, müssen Stammlösungen für all diese Substanzen hergestellt werden.

Die Herstellung der Stammlösungen ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken. Die Stammlösungen sind zu kennzeichnen mit Substanznamen, Datum der Herstellung und Konzentration.

Abkürzungsdefinition:

m: Masse in mg bzw. µg bzw. ng

M: Molare Masse in g/mol bzw. mg/mmol

V: Volumen in ml bzw. µl


c_β: Massenkonzentration in mg/ml bzw. µg/ml

KF: Korrekturfaktor: Umrechnungsfaktor für Salz des Wirkstoffs in freie Base des Wirkstoffs;

bei freier Base = 1, bei Salz ≠ 1 (siehe Berechnungen)

Die Molaren Massen wurden den Datenblättern der Herstellerfirmen entnommen (Ordner „Reinsubstanzen A-Z“, Raum 1, Büro) bzw. mit Hilfe der Summenformel berechnet.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Amisulprid – Stammlösung I

Amisulprid liegt als freie Base vor.

Herstellung:

2,5 mg Amisulprid in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_B :

$m_{\text{Amisulprid (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Amisulprid (freie Base)}} = 369,48 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$


$c_B = m/V \quad \rightarrow \quad c_B \text{ Amisulprid (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ µg/ml}$

Citalopram und Desmethylocitalopram – Stammlösung I

Citalopram liegt als Salz (Hydrobromid) vor, Desmethylocitalopram liegt als Salz (Hydrochlorid) vor und ist der Metabolit von Citalopram.

Für die Muttersubstanz Citalopram und ihren Metaboliten Desmethylocitalopram wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Herstellung:

2,5 mg Citalopram und 2,5 mg Desmethylcitalopram in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Citalopram (Hydrobromid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Citalopram (Hydrobromid)}} = 405,30 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Citalopram (freie Base)}} = 324,39 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Citalopram (freie Base)}} / M_{\text{Citalopram (Hydrobromid)}}$
 $= 324,39 \text{ mg/mmol} / 405,30 \text{ mg/mmol} = 0,80$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Citalopram (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,80 = 80 \text{ µg/ml}$

$m_{\text{Desmethylcitalopram (Hydrochlorid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$


$M_{\text{Desmethylcitalopram (Hydrochlorid)}} = 346,83 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Desmethylcitalopram (freie Base)}} = 310,37 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Desmethylcitalopram (freie Base)}} / M_{\text{Desmethylcitalopram (Hydrochlorid)}}$
 $= 310,37 \text{ mg/mmol} / 346,83 \text{ mg/mmol} = 0,89$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Desmethylcitalopram (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,89 = 89 \text{ µg/ml}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Mirtazapin – Stammlösung I

Mirtazapin liegt als freie Base vor.

Herstellung:

2,5 mg Mirtazapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration:

$m_{\text{Mirtazapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Mirtazapin (freie Base)}} = 265,35 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Mirtazapin (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$


Quetiapin – Stammlösung I

Quetiapin liegt als Salz (Hemifumerat) vor.

Herstellung:

2,5 mg Quetiapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Quetiapin (Hemifumerat) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Quetiapin (Hemifumerat)}} = 441,60 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Quetiapin (freie Base)}} = 383,56 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Quetiapin (freie Base)}} / M_{\text{Quetiapin (Hemifumerat)}}$
 $= 383,56 \text{ mg/mmol} / 441,60 \text{ mg/mmol} = 0,87$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Quetiapin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,87 = 87 \mu\text{g/ml}$

Venlafaxin und o-Desmethylvenlafaxin – Stammlösung I


Venlafaxin liegt als Salz (Hydrochlorid) vor, o-Desmethylvenlafaxin liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Venlafaxin.

Für die Muttersubstanz Venlafaxin und ihren Metaboliten o-Desmethylvenlafaxin wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Venlafaxin und 2,5 mg o-Desmethylvenlafaxin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Venlafaxin (Hydrochlorid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Venlafaxin (Hydrochlorid)}} = 313,86 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Venlafaxin (freie Base)}} = 277,40 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Venlafaxin (freie Base)}} / M_{\text{Venlafaxin (Hydrochlorid)}}$
 $= 277,40 \text{ mg/mmol} / 313,86 \text{ mg/mmol} = 0,88$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Venlafaxin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,88 = 88 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$m_{\text{o-Desmethylenlafaxin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{o-Desmethylenlafaxin (freie Base)}} = 263,37 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$


$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ o-Desmethylenlafaxin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Die Anteile an Stammlösungen I, die nicht für den weiteren Verlauf benötigt werden, können in 1,5 ml Cups zu je 1 ml aliquotiert eingefroren werden (-20°C, Gefrierschrank, Raum 14, Geräte). Die Cups müssen mit Substanznamen, Konzentration und Datum eindeutig beschriftet werden.

Herstellung der Stammlösungen II

Durch die Verdünnung der Stammlösungen I, wie im Schema unten aufgeführt, erhält man die Stammlösungen II.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Fünf Cups werden mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es werden 900 µl bzw. 800 µl H₂O demin. in die Cups vorgelegt und 100 µl bzw. 200 µl der jeweiligen Stammlösung I dazugegeben.

H ₂ O demin.	Stammlösung I	neue Konzentration (Stammlösung II)
800 µl	+ 200 µl Amisulprid (100 µg/ml)	20 µg/ml
900 µl	+ 100 µl Citalopram/ Desmethylcitalopram (80 µg/ml / 89 µg/ml)	8 µg/ml / 8,9 µg/ml
900 µl	+ 100 µl Mirtazapin (100 µg/ml)	10 µg/ml
800 µl	+ 200 µl Quetiapin (87 µg/ml)	17,4 µg/ml
800 µl	+ 200 µl Venlafaxin/ o-Desmethylenlafaxin (88 µg/ml / 100 µg/ml)	17,6 µg/ml / 20 µg/ml

Rechenbeispiel mit Mirtazapin:

$$\Delta V_{\text{Mirtazapin Stammlösung I}} = 100 \mu\text{l}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O demin.}} = 900 \mu\text{l}$$

$$\rightarrow V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} = m/V \rightarrow m = c_{\beta} \times V$$

$$c_{\beta} \text{ Mirtazapin Stammlösung I} = 100 \mu\text{g/ml}; V_{\text{Citalopram Stammlösung I}} = 100 \mu\text{l}$$


$$m_{\text{Mirtazapin Stammlösung I}} = 100 \mu\text{g/ml} \times 100 \mu\text{l} = 10 \mu\text{g}$$

$$c_{\beta} = m/V$$

$$m_{\text{Mirtazapin Stammlösung I}} = 10 \mu\text{g}, V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} \text{ Mirtazapin Stammlösung II} = 10 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 10 \mu\text{g/ml}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Standards

Zur Kalibrierung der analytischen Serien werden durch Verdünnung der Stammlösungen II mit Poolserum Standards hergestellt. Dazu werden drei Standards mit einer niedrigen (Standard L = Std L), einer mittleren (Standard M = Std M) und einer hohen (Standard H = Std H) Konzentration aller Wirkstoffe hergestellt, da zur Erstellung der Kalibriergeraden drei Punkte erforderlich sind.

Die Herstellung der Standards ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken.

Die Genauigkeit der neu hergestellten Standards wird durch Gegenmessung mit alten Standards überprüft.


Herstellung von 1 ml Standard

Vorgehensweise:

Man beschriftet drei 1,5 ml Cups mit L, M und H und dem Datum.

Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	988 µl	925 µl	840 µl
Stammlösung II			
Amisulprid (20 µg/ml)	+ 2,5 µl	+ 10 µl	+ 25 µl
Citalopram/ Desmethylocitalopram (8 µg/ml / 8,9 µg/ml)	+ 1 µl	+ 10 µl	+ 20 µl
Mirtazapin (10 µg/ml)	+ 1 µl	+ 5 µl	+ 10 µl
Quetiapin (17,4 µg/ml)	+ 2,5 µl	+ 40 µl	+ 80 µl
Venlafaxin/ o-Desmethyivenlafaxin (17,6 µg/ml / 20 µg/ml)	+ 5 µl	+ 10 µl	+ 25 µl

Herstellung von 20 ml Standard


Die größere Menge Standard wird hergestellt, wenn ein Teil der Proben als Vorrat für spätere Messungen eingefroren werden soll (-20 °C, Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Vorgehensweise:

Man beschriftet drei 50 ml Tubes mit L, M und H und dem Datum.

Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

 UKR Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Pipettierschema:


	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	19760 µl	18500 µl	16800 µl
Stammlösung II			
Amisulprid (20 µg/ml)	+ 50 µl	+ 200 µl	+ 500 µl
Citalopram/ Desmethylocitalopram (8 µg/ml / 8,9 µg/ml)	+ 20 µl	+ 200 µl	+ 400 µl
Mirtazapin (10 µg/ml)	+ 20 µl	+ 100 µl	+ 200 µl
Quetiapin (17,4 µg/ml)	+ 50 µl	+ 800 µl	+ 1600 µl
Venlafaxin/ o-Desmethyivenlafaxin (17,6 µg/ml / 20 µg/ml)	+ 100 µl	+ 200 µl	+ 500 µl

Man verteilt die drei verschiedenen 20 ml Standards zu je 700 µl in 1,5 ml Cups und friert sie ein, wobei man sie eindeutig mit Std L, Std M bzw. Std H, dem Volumen 700 µl, der Methode TDM 2 und dem Datum beschriftet oder mit entsprechenden Etiketten beklebt.

Endkonzentrationen der Wirkstoffe in den hergestellten Standards

	Standard L	Standard M	Standard H
Amisulprid	50 ng/ml	200 ng/ml	500 ng/ml
Citalopram/ Desmethylocitalopram	8 ng/ml/ 8,9 ng/ml	80 ng/ml/ 89 ng/ml	160 ng/ml/ 178 ng/ml
Mirtazapin	10 ng/ml	50 ng/ml	100 ng/ml

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Quetiapin	43,5 ng/ml	696 ng/ml	1392 ng/ml
Venlafaxin/ o-Desmethylenlafaxin	88 ng/ml/ 100 ng/ml	176 ng/ml/ 200 ng/ml	440 ng/ml/ 500 ng/ml

Analysenvorbereitungen

Vorbereitung der Patientenproben

Alle Patientenproben befinden sich entsprechend dem Analyseverfahren geordnet im Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy). Man wählt aus dem Monovettenständer „TDM 2“ die mit Amisulprid beklebten Patientenproben aus.


700 µl Serum werden aus diesen Monovetten entnommen und jeweils in ein 1,5 ml Cup gegeben. Die Cups werden von eins an fortlaufend durchnummeriert, wobei man diese Nummer zusätzlich zu der Probennummer auf die Etikette der Monovette mit wasserfestem Filzstift schreibt. Die Cups werden bei 13000 U/min 3 min in der Tischzentrifuge Biofuge pico zentrifugiert. Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Von dem zentrifugierten Serum der Proben wird 600 µl klarer Überstand in ein der Probe zugeordnetes Vial (1,5 ml) pipettiert. Die Vials verschließt man mit einem blauen geschlitzten Deckel.

Vorbereitung der Standards

Verwendet man eingefrorene Standards, müssen diese zum Auftauen mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur gelagert werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Von den drei Standards L, M und H werden jeweils 600 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) gegeben und mit einem blauen geschlitzten Deckel verschlossen.

Vorbereitung der Kontrollen

Zur internen Qualitätssicherung werden zwei Kontrollen (Kontrolle Level 1 und Kontrolle Level 2) von UTAK mitanalysiert.


Normalerweise befinden sich die Kontrolllösungen im Kühlschrank. Man entnimmt aus dem jeweiligen Fläschchen je 600 µl und gibt es in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml), das man mit einem blauen geschlitzten Deckel verschließt.

Ist der Vorrat an Kontrolllösungen aufgebraucht, muss neue hergestellt werden. Dazu gibt man in beide Fläschchen des Herstellers jeweils 5 ml H₂O demin., wartet bis sich das gefriergetrocknete Pulver homogen gelöst hat und mischt es gut durch. Man gibt jeweils 600 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) und verschließt es mit einem blauen geschlitzten Deckel. Die restliche Lösung wird in den Fläschchen belassen und im Kühlschrank bei 4-8 °C dunkel verwahrt.

Vorbereitung der Spüllösung für die Nadel des Injectors

Als Spüllösung für die Nadel des Injectors verwendet man den Vorreinigungssäulen-Eluenten. Sechs Vials (1,5 ml) wurden im Zuge der Herstellung der Eluenten bereits mit dem Vorreinigungssäulen-Eluenten befüllt und stehen am HPLC-3-Arbeitsplatz zur Verfügung.

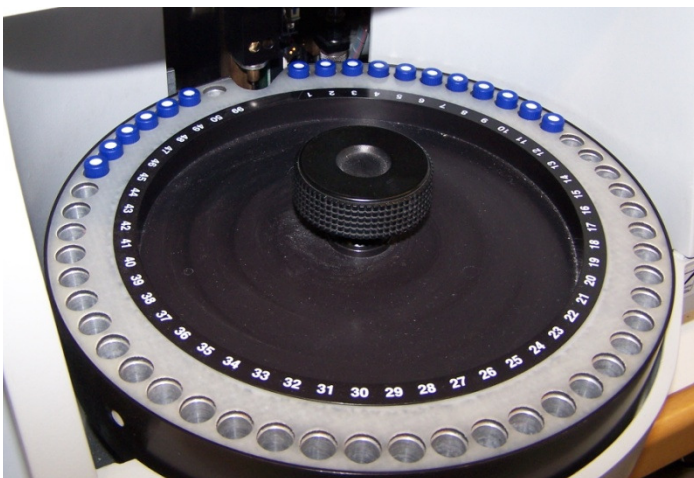
Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Vorbereitung der HPLC Geräte

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Vials werden in einer festgelegten Reihenfolge in den Autosampler hineingestellt:

- 1 Standard L
- 2 Standard M
- 3 Standard H
- 4 Kontrolle Level 1
- 5 Kontrolle Level 2
- 6 Patientenprobe 1
- 7 Patientenprobe 2
- usw.
- 45-50 Vials mit Spüeluent




Durchführung der Messung

Für folgende Schritte ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Desweiteren steht ein Handbuch für die Chromeleon-Software zur Verfügung (Raum 8, HPLC Psy) sowie als Anlage einige Screenshots zur Veranschaulichung.

- alle Geräte des HPLC-3-Arbeitsplatzes (Pumpe, Autosampler, Detektor, Säulenofen) einschalten
- PC starten
- Chromeleonserver starten
- Programm „Chromeleon“ starten, Browser öffnet sich automatisch
- im Browser entsprechendes „Panel“ (Benutzeroberfläche) der jeweiligen Anlage auswählen, in diesem Fall „TDM 2_HPLC-3_Routine_2009“

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

- Geräte anwählen („connect“)
- Säulenofen TCC 100 auf 30 °C einstellen
- Eluenten (Vorreinigungssäulen-Eluent und Analytischer Eluent) anwählen
- Flussrate von jeweils 0,8 ml/min für die Vorreinigungssäule und analytische Säule einstellen
- zurück in den Browser: alte (= Messung vom Vortag) als neue Sequenz (mit Datum der aktuellen Messung) unter entsprechenden Ordner speichern → gemessene Daten gehen auf „single“
- Probennummern eintragen, zugewiesenen Platz eintragen und entsprechendes Programm auswählen
- zwischen den Messungen der Proben wird mit dem Spüleluent für die analytische Säule gespült (im Programm bereits eingestellt)
- jede gemessene Probe geht von „single“ auf „finished“
- nach der letzten gemessenen Probe wird automatisch ein Wartungsprogramm gestartet

Auswertung und Befundung

- die gemessenen Konzentrationen werden in Form von „Peaks“ graphisch dargestellt, von der TA ausgewertet und die Werte (in ng/ml) ausgedruckt. Zum genaueren Verständnis der Kalibrierung und des Zustandekommens der Werte im Programm Chromeleon siehe Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC.
- die Werte und das Messdatum werden entsprechend der Probennummer in den offenen Befund in Konbest eingetragen und nach Ermessen der TA freigegeben (Kriterien festlegen!)

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

- die Werte werden durch einen Befunder (Arzt und/oder Apotheker) interpretiert und in Konbest schriftlich festgehalten. Der offene Befund ist nun abgeschlossen.
- der abgeschlossene Befund wird ausgedruckt und an den Einsender gefaxt

Wartung

Auch hier ist eine Einweisung durch eine TA nötig!

Spülen der Säulen

Erfolgt automatisch durch das Wartungsprogramm.

Eluentenerneuerung und Flaschenwechsel

Eluenten werden nicht recycelt und nach Bedarf neu hergestellt und in die jeweilige Laborflasche nachgefüllt.

Die Laborflaschen für die Eluenten werden nach spätestens vier Wochen ausgetauscht, wobei das Wechseldatum mit wasserfestem Filzstift auf der Laborflasche notiert wird.

Im Zuge dessen werden auch die Eluentenfilter gewechselt.


Die benutzten Laborflaschen werden gespült und können wieder verwendet werden.

Säulen- und Säulenzubehörwechsel

Die analytische Säule wird nach Bedarf gewechselt, die RAM-Vorreinigungssäule circa alle vier Monate und Dichtringe und Siebe jede Woche.

Die Wechseldaten werden in Chromeleon im Comment-Feld der jeweiligen Sequenz im Browser festgehalten.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Amisulprid (TDM 2)	Datum: 01.10.2009

Säulen, die länger als eine Woche nicht im Gebrauch sind, sollten im Kühlschrank (Raum 14, Geräte) gelagert werden.

Lampenwechsel


Die Lampe des UV-Detektors muss bei signifikantem Leistungsverlust, circa halbjährlich, gewechselt werden (Lampenleistung ist im Panel der HPLC ablesbar). Nach Einbau der neuen Lampe ist der Zähler auf null zu setzen, um die Brenndauer der Lampe ablesen zu können. Das Datum des Einbaus einer neuen Lampe ist auf einem Aufkleber auf dem Gehäuse des UV-Detektors zu vermerken.

Dokumentation der Wartungsarbeiten

Alle Wartungsarbeiten, unabhängig davon ob sie regelmäßig nach oben angegebenen Wechselrhythmen oder außer der Reihe erfolgen, sind im „Wartung- und Service“-Ordner (Raum 8, HPLC Psy) und digital auf dem HPLC-Laufwerk unter „Serviceberichte“ für jede HPLC-Anlage zu hinterlegen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.2.2 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Aripiprazol

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Konzentrationsbestimmung von Aripiprazol

Zielsetzung: Es soll sichergestellt werden, dass nach den Grundsätzen der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK), in der Fassung vom 23. November 2007 [Deutsches Ärzteblatt, 105 (7), A341-A355] gearbeitet wird.

Verantwortlich für die Ausführung: Marlen Fuchs und Sophia Lindner

Gültig ab: 01.10.2009


Ersetzt die Fassung vom: -----

Anlagen:

- Verfahrensanweisung Abfallentsorgung
- Verfahrensanweisung Blutabnahme
- Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC
- Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme
- Verfahrensanweisung Pipettieren
- Verfahrensanweisung Vorreinigung
- Poolserum
- Screenshots Softwareprogramm Chromeleon

Verteiler: Gruppe: Labor klinische Pharmakologie

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Vorsichtsmaßnahmen: Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösen Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Methode: Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) 1a

Untersuchungsmaterial: Serum

Blutabnahme: siehe Verfahrensanweisung Blutabnahme


Probenannahme: siehe Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

Probenlagerung: dunkel, 4-8°C (Kühlschrank)

Probenhaltbarkeit: gekühlt (4-8°C), bis zu einer Woche
eingefroren (-20°C), bis zu drei Monate

Analyse - Arbeitsplatz: HPLC-3-Arbeitsplatz, Raum 8, HPLC Psy,
Forschungsbau H3

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Geräte


Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-3)

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
HPLC-Pumpe: P680, DGP	Medbo 0366 00 1900	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Säulenofen: TCC 100, mit Elektronischen 6- Port-Schaltventil (Electronic Valva Actuator)	Medbo 0366 00 1900	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Autosampler: Gina 50T (Probengeber)	39912	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Detektor: DAD PDA 100	41266	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Degaser: Solvent Rack SOR 100	Medbo 0366 00 1900	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
PC zur Datenaufnah- me; Integration durch Chromleon 6.80 (Dionex)	55954	Dell, Frankfurt/ Main	Raum 8, HPLC Psy

weitere Laborgeräte

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
Kühlschrank (4-8 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Gefrierschrank (-20 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Kühlschrank (4-8 °C), Liebherr profi line	1405240 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
Gefrierschrank (-20 °C), Liebherr comfort	1405241 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009


pH-Meter: Basic Meter, PB-20	41563	Sartorius AG, Göttingen	Raum 6, Labor Psy
Ultraschallbad: Sonorex Super RK 106	28948	Bandelin electronic, Berlin	Raum 5, Labor Psy
Analysen-Waage: AC121S	28593	Sartorius AG, Göttingen	Raum 8, HPLC Psy
Oberschalen-Waage 1219MP	28594	Sartorius AG, Göttingen	Raum 5, Labor Psy
Magnetrührer: Ikamag Reo	35475	Jahnke & Kunkel GmbH & Co.KG, Staufen	Raum 6, Labor Psy
Rührfisch	Katalog: S. 442.52	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
magnetische Angel	Katalog: S. 442.58	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Milli-Q-System A10 Gradient (Millipore)	45888	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte
Tischzentrifuge: Megafuge 2.0 R, gekühlt	29036	Heraeus, Osterode	Raum 6, Labor Psy
Tischzentrifuge: Biofuge pico, ungekühlt	35437	Heraeus, Osterode	Raum 5, Labor Psy
Monovettenständer (= Reagenzglasständer 4x12)	Katalog: 212-6480	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Pipettierhilfen

Zur Bedienung der verschiedenen Pipetten siehe Verfahrensanweisung Pipettieren!

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
1-10 ml Pipette (türkis), Research	2680053	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500-2500 µl Pipette (rot), Reference	376696	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

1000 µl Pipette (blau), Reference	277662	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500 µl Pipette (blau), Reference	253014	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
200 µl Pipette (blau), Reference	386846	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100-1000 µl Pipette (blau), Reference	310753	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100 µl Pipette (gelb), Reference	265661	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 µl Pipette (gelb), Reference	280901	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
20 µl Pipette (gelb), Reference	281611, 081121	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10 µl Pipette (gelb), Reference	274144	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10-100 µl Pipette (gelb), Reference	299646, 1198355	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
2-20 µl Pipette (hellgrau), Reference	4109984	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 ml Adapter (dunkelgrau)	4980	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Dispensette III (10-100 ml)	01X7469, 10V0275, 05G73352	Brand GmbH, Wertheim	Raum 6, Labor Psy

Glaswaren

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Messkolben NS 29/32 (2000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-2735	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Messkolben NS 24/29 (1000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5072	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Messkolben NS 12/21 (25 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5063	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Becherglas (100 ml)	213-1122	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Laborflasche (500 ml)	215-1536	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (1000 ml)	215-1537	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (2000 ml)	215-1538	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy


Verbrauchsmaterial

Säulen

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Vorreinigungssäule: PerfectBond C8, 20 µm, 20 x 4,0 mm	VK.20.4.0.1022	MZ-Analysentechnik, Mainz	Raum 8, HPLC Psy
Analysen-Vorsäule: Betasil C6, 5 µm, 10 x 4 mm	MZ-Analysentechnik, Mainz 70305-014001	Thermo Fisher Scientific, England	Raum 8, HPLC Psy
Analysensäule: Betasil C6, 5 µm, 250 x 4,6mm	MZ-Analysentechnik, Mainz 70305-254630	Thermo Fisher Scientific, England	Raum 8, HPLC Psy

Die oben genannten Säulen müssen entsprechend der Herstellerangaben in die HPLC-3-Anlage eingebaut werden. Dazu ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009


Säulenzubehör

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Dichtringe und Siebe (In-Line Filter)	FK 7340	RECIPE GmbH, München	Raum 8, HPLC Psy

Sonstiges

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Eluentenfilter	6000.0041	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
weiße Pipettenspitze (1-10 ml)	0030 000.765	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
weiße Pipettenspitze (500-2500 µl)	0030 000.951	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
blaue Pipettenspitze (50-1000 µl)	0030 000.919	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
gelbe Pipettenspitze (2-200 µl)	0030 000.870	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
graue Pipettenspitze (0,5-20 µl)	0030 000.854	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Combitip (50 ml)	0030 069.277	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial braun (1,5 ml)	70 2284	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
geschlitzter blauer Deckel für Vial braun (1,5 ml)	70 22 88.1	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (50 ml)	62.559	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Wägeschiffchen (Aluminum weighing boat)	W1126-100EA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkir- chen/Steinheim	Raum 8, HPLC Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel Belgien	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE- Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy


Reagenzien

Die Schlüssel für den Glasschrank und den Gefahrstoffschrank hängen an beschrifteten Hacken, Raum 6, Labor Psy.

Pharmaka

Bezeichnung	Bestellnummer/ Produkt-ID	Hersteller	Raum
Aripiprazol (freie Base)	----	Bristol-Myers Squibb Company, Princeton USA	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Dehydroaripiprazol (freie Base)	----		Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Citalopram (Hydrobromid)	C7861	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Desmethylcitalopram (Hydrochlorid)	LU-11-109-C	Lundbeck A/S, Copen- hagen Dänemark	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Venlafaxin (Hydrochlorid)	V-7264	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
o-Desmethylvenlafaxin (freie Base)	WY-45 233	Wyeth	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Quetiapin (Hemifumerat)	----	Astra Zeneca, Wedel	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Lamotrigin (freie Base)	L3791	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Kontrolle Level 1	Bestellung über Invicon diagnostic concepts GmbH	UTAK Laboratories Inc., Valencia USA	Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy
Kontrolle Level 2	Bestellung über Invicon diagnostic concepts GmbH	UTAK Laboratories Inc., Valencia USA	Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy


Lösungsmittel

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Acetonitril (LiChrosolv)	1.00030.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
Ethanol (LiChrosolv)	1.11727.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
2-Propanol (LiChrosolv)	1.01040.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
H ₂ O demin. > 5 ppb TOC	----	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte

weitere Chemikalien

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Kaliumdihydrogen- phosphat	1.04873.0250	Merck KGaA, Darmstadt	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
ortho-Phosphorsäure (suprapur, 85%)	1.00552.0250	Merck KGaA, Darmstadt	Gefahrstoffschränk, Raum 6, Labor Psy
Natronlauge	1.09137.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Vermischung einige Male vorsichtig gewendet. Zum Entgasen wird der offene Kolben für 3 min in das Ultraschallbad gestellt.

Der hergestellte Spüeluent wird in die entsprechend beschriftete Laborflasche (1000 ml) am HPLC-3-Arbeitsplatz im Raum 8 gefüllt.

Stammlösungen

Da mehrere Substanzen (Aripiprazol mit Metabolit Dehydroaripiprazol, Citalopram mit Metabolit Desmethylcitalopram, Lamotrigin, Quetiapin und Venlafaxin mit Metabolit o-Desmethylvenlafaxin) gleichzeitig mit dem TDM 1a-Verfahren untersucht werden können, müssen Stammlösungen für all diese Substanzen hergestellt werden.

Die Herstellung der Stammlösungen ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken. Die Stammlösungen sind zu kennzeichnen mit Substanznamen, Datum der Herstellung und Konzentration.

Abkürzungsdefinition:

m: Masse in mg bzw. µg bzw. ng

M: Molare Masse in g/mol bzw. mg/mmol


V: Volumen in ml bzw. µl

c_B: Massenkonzentration in mg/ml bzw. µg/ml

KF: Korrekturfaktor: Umrechnungsfaktor für Salz des Wirkstoffs in freie Base des Wirkstoffs;

bei freier Base = 1, bei Salz ≠ 1 (siehe Berechnungen)

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Die Molaren Massen wurden den Datenblättern der Herstellerfirmen entnommen (Ordner „Reinsubstanzen A-Z“, Raum 1, Büro) bzw. mit Hilfe der Summenformel berechnet.

Aripiprazol und Dehydroaripiprazol – Stammlösung I

Aripiprazol liegt als freie Base vor, Dehydroaripiprazol liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Aripiprazol.

Für die Muttersubstanz Aripiprazol und ihren Metaboliten Dehydroaripiprazol wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Aripiprazol und 2,5 mg Dehydroaripiprazol in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Aripiprazol (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$


$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Aripiprazol (freie Base)}} = 448,40 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta \text{ Aripiprazol (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

$m_{\text{Dehydroaripiprazol (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Dehydroaripiprazol (freie Base)}} = 447,40 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Dehydroaripiprazol (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \mu\text{g/ml}$

Citalopram und Desmethylcitalopram – Stammlösung I

Citalopram liegt als Salz (Hydrobromid) vor, Desmethylcitalopram liegt als Salz (Hydrochlorid) vor und ist der Metabolit von Citalopram.

Für die Muttersubstanz Citalopram und ihren Metaboliten Desmethylcitalopram wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Citalopram und 2,5 mg Desmethylcitalopram in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :


$m_{\text{Citalopram (Hydrobromid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Citalopram (Hydrobromid)}} = 405,30 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Citalopram (freie Base)}} = 324,39 \text{ mg/mmol}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Citalopram (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

$$KF = M_{\text{Citalopram (freie Base)}} / M_{\text{Citalopram (Hydrobromid)}}$$

$$= 324,39 \text{ mg/mmol} / 405,30 \text{ mg/mmol} = 0,80$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Citalopram (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,80 = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$m_{\text{Desmethylocitalopram (Hydrochlorid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$$

$$M_{\text{Desmethylocitalopram (Hydrochlorid)}} = 346,83 \text{ mg/mmol}$$

$$M_{\text{Desmethylocitalopram (freie Base)}} = 310,37 \text{ mg/mmol}$$

$$KF = M_{\text{Desmethylocitalopram (freie Base)}} / M_{\text{Desmethylocitalopram (Hydrochlorid)}}$$

$$= 310,37 \text{ mg/mmol} / 346,83 \text{ mg/mmol} = 0,89$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Desmethylocitalopram (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,89 = 89 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Lamotrigin – Stammlösung I

Lamotrigin liegt als freie Base vor.

Herstellung:

5 mg Lamotrigin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 5 ml Messkolben geben. Man gibt 4 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 0,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 5 ml mit H₂O demin. auf.


Berechnung der Konzentration c_{β} :

$$m_{\text{Lamotrigin (freie Base) Einwaage}} = 5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{I gesamt}} = 5 \text{ ml}$$

$$M_{\text{Lamotrigin (freie Base)}} = 256,09 \text{ mg/mmol}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

$$KF = 1$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Lamotrigin (freie Base)} = 5 \text{ mg} / 5 \text{ ml} \times 1 = 1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Quetiapin – Stammlösung I

Quetiapin liegt als Salz (Hemifumerat) vor.

Herstellung:

2,5 mg Quetiapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$$m_{\text{Quetiapin (Hemifumerat) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{gesamt}} = 25 \text{ ml}$$


$$M_{\text{Quetiapin (Hemifumerat)}} = 441,60 \text{ mg/mmol}$$

$$M_{\text{Quetiapin (freie Base)}} = 383,56 \text{ mg/mmol}$$

$$KF = M_{\text{Quetiapin (freie Base)}} / M_{\text{Quetiapin (Hemifumerat)}} \\ = 383,56 \text{ mg/mmol} / 441,60 \text{ mg/mmol} = 0,87$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Quetiapin (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,87 = 87 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Venlafaxin und o-Desmethylvenlafaxin – Stammlösung I

Venlafaxin liegt als (Hydrochlorid) vor, o-Desmethylvenlafaxin liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Venlafaxin.

Für die Muttersubstanz Venlafaxin und ihren Metaboliten o-Desmethylvenlafaxin wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Venlafaxin und 2,5 mg o-Desmethylvenlafaxin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Venlafaxin (Hydrochlorid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Venlafaxin (Hydrochlorid)}} = 313,86 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Venlafaxin (freie Base)}} = 277,40 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Venlafaxin (freie Base)}} / M_{\text{Venlafaxin (Hydrochlorid)}}$
 $= 277,40 \text{ mg/mmol} / 313,86 \text{ mg/mmol} = 0,88$


$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Venlafaxin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,88 = 88 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$m_{\text{o-Desmethylvenlafaxin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{o-Desmethylvenlafaxin (freie Base)}} = 263,37 \text{ mg/mmol}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

$$KF = 1$$

$$C_B = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad C_B \text{ o-Desmethylvenlafaxin (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Die Anteile an Stammlösungen I, die nicht für den weiteren Verlauf benötigt werden, können in 1,5 ml Cups zu je 1 ml aliquotiert eingefroren werden (-20°C, Gefrierschrank, Raum 14, Geräte). Die Cups müssen mit Substanznamen, Konzentration und Datum eindeutig beschriftet werden.

Herstellung der Stammlösungen II für Citalopram/ Desmethylcitalopram


Durch die Verdünnung der Stammlösung I, wie im Schema unten aufgeführt, erhält man über die Zwischenstufe Stammlösung Ia die Stammlösung II. Die Herstellung der Stammlösung II erfolgt also in zwei Schritten.

Ein Cup wird mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es werden 900 µl H₂O demin. in den Cup vorgelegt und 100 µl der Stammlösung I dazugegeben.

H ₂ O demin.	Stammlösung I	neue Konzentration (Stammlösung Ia)
900 µl	+ 100 µl Citalopram/ Desmethylcitalopram (80 µg/ml/ 89 µg/ml)	8 µg/ml/ 8,9 µg/ml

Ein weiterer Cup wird mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es werden 900 µl H₂O demin. in den Cup vorgelegt und 100 µl der Stammlösung Ia dazugegeben.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

H ₂ O demin.	Stammlösung Ia	neue Konzentration (Stammlösung II)
500 µl	+ 500 µl Citalopram/ Desmethylocitalopram (8 µg/ml/ 8,9 µg/ml)	4 µg/ml/ 4,45 µg/ml

Rechenbeispiel mit Citalopram:

$$\Delta V_{\text{Citalopram Stammlösung I}} = 100 \mu\text{l}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O demin.}} = 900 \mu\text{l}$$

$$\rightarrow V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} = m/V \rightarrow m = c_{\beta} \times V$$

$$c_{\beta} \text{ Citalopram Stammlösung I} = 80 \mu\text{g/ml}; V_{\text{Citalopram Stammlösung I}} = 100 \mu\text{l}$$

$$m_{\text{Citalopram Stammlösung I}} = 80 \mu\text{g/ml} \times 100 \mu\text{l} = 8 \mu\text{g}$$

$$c_{\beta} = m/V$$

$$m_{\text{Citalopram Stammlösung I}} = 8 \mu\text{g}, V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} \text{ Citalopram Stammlösung Ia} = 8 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 8 \mu\text{g/ml}$$

$$\Delta V_{\text{Citalopram Stammlösung Ia}} = 500 \mu\text{l}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O demin.}} = 500 \mu\text{l}$$

$$\rightarrow V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} = m/V \rightarrow m = c_{\beta} \times V$$

$$c_{\beta} \text{ Citalopram Stammlösung Ia} = 8 \mu\text{g/ml}; V_{\text{Citalopram Stammlösung Ia}} = 500 \mu\text{l}$$


$$m_{\text{Citalopram Stammlösung Ia}} = 8 \mu\text{g/ml} \times 500 \mu\text{l} = 4 \mu\text{g}$$

$$c_{\beta} = m/V$$

$$m_{\text{Citalopram Stammlösung Ia}} = 4 \mu\text{g}, V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} \text{ Citalopram Stammlösung II} = 4 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 4 \mu\text{g/ml}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Herstellung der Stammlösungen II für Aripiprazol/ Dehydroaripiprazol, Lamotrigin, Quetiapin und Venlafaxin/ o-Desmethylvenlafaxin

Durch die Verdünnung der Stammlösungen I, wie im Schema unten aufgeführt, erhält man die Stammlösungen II.


Vier Cups werden mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es wird H₂O demin. in die Cups vorgelegt und die angegebene Menge der jeweiligen Stammlösung I dazugegeben.

H ₂ O demin.	Stammlösung I	neue Konzentration (Stammlösung II)
900 µl	+ 100 µl Aripiprazol/ Dehydroaripiprazol (100 µg/ml/ 100 µg/ml)	10 µg/ml/ 10 µg/ml
800 µl	+ 200 µl Lamotrigin (1000 µg/ml)	200 µg/ml
800 µl	+ 200 µl Quetiapin (87 µg/ml)	17,4 µg/ml
800 µl	+ 200 µl Venlafaxin/ o-Desmethylvenlafaxin (88 µg/ml/ 100 µg/ml)	17,6 µg/ml/ 20 µg/ml

Standards

Zur Kalibrierung der analytischen Serien werden durch Verdünnung der Stammlösungen II mit Poolserum Standards hergestellt. Dazu werden drei Standards mit einer niedrigen (Standard L = Std L), einer mittleren (Standard M = Std M) und einer hohen (Standard H = Std H) Konzentration aller Wirkstoffe hergestellt, da zur Erstellung der Kalibriergeraden drei Punkte erforderlich sind.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Die Herstellung der Standards ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken.

Die Genauigkeit der neu hergestellten Standards wird durch Gegenmessung mit alten Standards überprüft.

Herstellung von 1 ml Standard

Vorgehensweise:


Man beschriftet drei 1,5 ml Cups mit L, M und H und dem Datum.

Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	983 µl	885 µl	720 µl
Stammlösung II			
Aripiprazol/ Dehydroaripiprazol (10 µg/ml/ 10 µg/ml)	+ 5 µl	+ 20 µl	+ 60 µl
Citalopram/ Desmethylcitalopram (4 µg/ml/ 4,45 µg/ml)	+ 2 µl	+ 20 µl	+ 40 µl
Lamotrigin (200 µg/ml)	+ 2,5 µl	+ 25 µl	+ 75 µl
Quetiapin (17,4 µg/ml)	+ 2,5 µl	+ 40 µl	+ 80 µl
Venlafaxin/ o-Desmethylvenlafaxin (17,6 µg/ml/ 20 µg/ml)	+ 5 µl	+ 10 µl	+ 25 µl

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Herstellung von 20 ml Standard

Die größere Menge Standard wird hergestellt, wenn ein Teil der Proben als Vorrat für spätere Messungen eingefroren werden soll (-20°C, Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Vorgehensweise:


Man beschriftet drei 50 ml Tubes mit L, M und H und dem Datum.

Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	19660 µl	17700 µl	14400 µl
Stammlösung II			
Aripiprazol/ Dehydroaripiprazol (10 µg/ml/ 10 µg/ml)	+ 100 µl	+ 400 µl	+ 1200 µl
Citalopram/ Desmethylocitalopram (4 µg/ml/ 4,45 µg/ml)	+ 40 µl	+ 400 µl	+ 800 µl
Lamotrigin (200 µg/ml)	+ 50 µl	+ 500 µl	+ 1500 µl
Quetiapin (17,4 µg/ml)	+ 50 µl	+ 800 µl	+ 1600 µl
Venlafaxin/ o-Desmethylenlafaxin (17,6 µg/ml/ 20 µg/ml)	+ 100 µl	+ 200 µl	+ 500 µl

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Man verteilt die drei verschiedenen 20 ml Standards zu je 700 µl in 1,5 ml Cups und friert sie ein, wobei man sie eindeutig mit Std L, Std M bzw. Std H, dem Volumen 700 µl, der Methode TDM 1a und dem Datum beschriftet oder mit entsprechenden Etiketten beklebt.

Endkonzentrationen der Wirkstoffe in den hergestellten Standards

	Standard L	Standard M	Standard H
Aripiprazol/ Dehydroaripiprazol	50 ng/ml/ 50 ng/ml	200 ng/ml/ 200 ng/ml	600 ng/ml/ 600 ng/ml
Citalopram/ Desmethylcitalopram	8 ng/ml/ 8,9 ng/ml	80 ng/ml/ 89 ng/ml	160 ng/ml/ 178 ng/ml
Lamotrigin	500 ng/ml	5000 ng/ml	15000 ng/ml
Quetiapin	43,5 ng/ml	696 ng/ml	1392 ng/ml
Venlafaxin/ o-Desmethylvenlafaxin	88 ng/ml/ 100 ng/ml	176 ng/ml/ 200 ng/ml	440 ng/ml/ 500 ng/ml


Analysenvorbereitungen

Vorbereitung der Patientenproben

Alle Patientenproben befinden sich entsprechend dem Analyseverfahren geordnet im Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy). Man wählt aus dem Monovettenständer „TDM 1a“ die mit Citalopram beklebten Patientenproben aus.

700 µl Serum werden aus diesen Monovetten entnommen und jeweils in ein 1,5 ml Cup gegeben. Die Cups werden von eins an fortlaufend durchnummeriert, wobei man diese Nummer zusätzlich zu der Probennummer auf die Etikette der Monovette mit wasserfestem Filzstift schreibt. Die Cups werden bei 13000 U/min 3 min in der

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Tischzentrifuge Biofuge pico zentrifugiert. Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Von dem zentrifugierten Serum der Proben wird 600 µl klarer Überstand in ein der Probe zugeordnetes Vial (1,5 ml) pipettiert. Die Vials verschließt man mit einem geschlitzten blauen Deckel.

Vorbereitung der Standards

Verwendet man eingefrorene Standards, müssen diese zum Auftauen mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur gelagert werden.

Von den drei Standards L, M und H werden jeweils 600 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial gegeben und mit einem geschlitzten blauen Deckel verschlossen.


Vorbereitung der Kontrollen

Zur internen Qualitätssicherung werden zwei Kontrollen (Kontrolle Level 1 und Kontrolle Level 2) von UTAK mitanalysiert.

Normalerweise befinden sich die Kontrolllösungen im Kühlschrank. Man entnimmt aus dem jeweiligen Fläschchen je 600 µl und gibt es in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml), das man mit einem geschlitzten blauen Deckel verschließt.

Ist der Vorrat an Kontrolllösungen aufgebraucht, muss neue hergestellt werden. Dazu gibt man in beide Fläschchen des Herstellers jeweils 5 ml H₂O demin., wartet bis sich das gefriergetrocknete Pulver homogen gelöst hat und mischt es gut durch. Man gibt jeweils 600 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) und verschließt es mit einem geschlitzten blauen Deckel. Die restliche Lösung wird in den Fläschchen belassen und im Kühlschrank bei 4-8°C dunkel verwahrt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

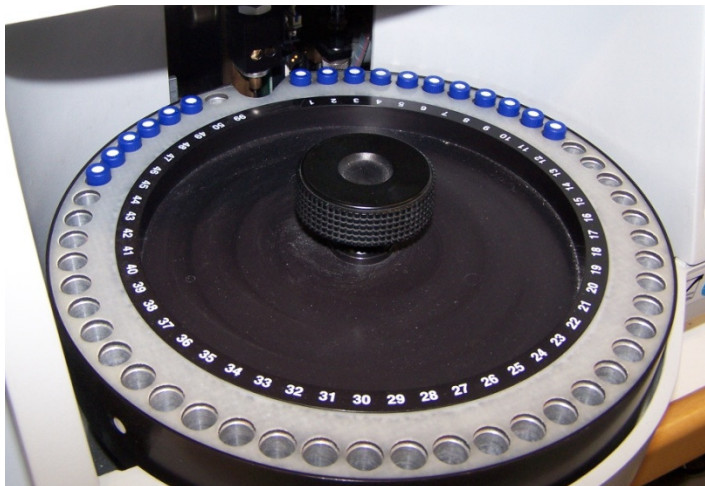
Vorbereitung der Spüllösung für die Nadel des Injectors

Als Spüllösung für die Nadel des Injectors verwendet man den Vorreinigungssäulen-Eluenten. Sechs Vials (1,5 ml) wurden im Zuge der Herstellung der Eluenten bereits mit dem Vorreinigungssäulen-Eluenten befüllt und stehen am HPLC-3-Arbeitsplatz zur Verfügung.


Vorbereitung der HPLC Geräte

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Vials werden in einer festgelegten Reihenfolge in den Autosampler hineingestellt:

- 1 Standard L
- 2 Standard M
- 3 Standard H
- 4 Kontrolle Level 1
- 5 Kontrolle Level 2
- 6 Patientenprobe 1
- 7 Patientenprobe 2
- usw.
- 45-50 Vials mit Spüleluent



Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009


Durchführung der Messung

Für folgende Schritte ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Desweiteren steht ein Handbuch für die Chromeleon-Software zur Verfügung (Raum 8, HPLC Psy) sowie als Anlage einige Screenshots zur Veranschaulichung.

- alle Geräte des HPLC-3-Arbeitsplatzes (Pumpe, Autosampler, Detektor, Säulenofen) einschalten
- PC starten
- Chromeleonserver starten
- Programm „Chromeleon“ starten, Browser öffnet sich automatisch
- im Browser entsprechendes „Panel“ (Benutzeroberfläche) der jeweiligen Anlage auswählen, in diesem Fall „TDM 1_HPLC-3_Routine_2009“
- Geräte anwählen („connect“)
- Säulenofen TCC 100 auf 25 °C einstellen
- Eluenten (Vorreinigungssäulen-Eluent und Analytischer Eluent) anwählen
- Flussrate von jeweils 1,0 ml/min für die Vorreinigungssäule und analytische Säule einstellen
- zurück in den Browser: alte (= Messung vom Vortag) als neue Sequenz (mit Datum der aktuellen Messung) unter entsprechenden Ordner speichern → gemessene Daten gehen auf „single“
- Probennummern eintragen, zugewiesenen Platz eintragen und entsprechendes Programm auswählen
- zwischen den Messungen der Proben wird mit dem Spüleluent für die analytische Säule gespült (im Programm bereits eingestellt)

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

- jede gemessene Probe geht von „single“ auf „finished“
- nach der letzten gemessenen Probe wird automatisch ein Wartungsprogramm gestartet

Auswertung und Befundung

- die gemessenen Konzentrationen werden in Form von „Peaks“ graphisch dargestellt, von der TA ausgewertet und die Werte (in ng/ml) ausgedruckt. Zum genaueren Verständnis der Kalibrierung und des Zustandekommens der Werte im Programm Chromeleon siehe Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC.
- die Werte und das Messdatum werden entsprechend der Probennummer in den offenen Befund in Konbest eingetragen und nach Ermessen der TA freigegeben (Kriterien festlegen!)
- die Werte werden durch einen Befunder (Arzt und/oder Apotheker) interpretiert und in Konbest schriftlich festgehalten. Der offene Befund ist nun abgeschlossen.
- der abgeschlossene Befund wird ausgedruckt und an den Einsender gefaxt

Wartung

Auch hier ist eine Einweisung durch eine TA nötig!


Spülen der Säulen

Erfolgt automatisch durch das Wartungsprogramm.

Eluentenerneuerung und Flaschenwechsel

Eluenten werden nicht recycelt und nach Bedarf neu hergestellt und in die jeweilige Laborflasche nachgefüllt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Aripiprazol (TDM 1a)	Datum: 01.10.2009

Die Laborflaschen für die Eluenten werden nach spätestens vier Wochen ausgetauscht, wobei das Wechseldatum mit wasserfestem Filzstift auf der Laborflasche notiert wird.

Im Zuge dessen werden auch die Eluentenfilter gewechselt.

Die benutzten Laborflaschen werden gespült und können wieder verwendet werden

Säulen- und Säulenzubehörwechsel

Die analytische Säule wird nach Bedarf gewechselt, die analytische Vorsäule und die Vorreinigungssäule alle zwei Wochen und Dichtringe und Siebe jede Woche.

Die Wechseldaten werden in Chromeleon im Comment-Feld der jeweiligen Sequenz im Browser festgehalten.

Säulen, die länger als eine Woche nicht im Gebrauch sind, sollten im Kühlschrank (Raum 14, Geräte) gelagert werden.

Lampenwechsel


Die Lampe des UV-Detektors muss bei signifikantem Leistungsverlust, circa halbjährlich, gewechselt werden (Lampenleistung ist im Panel der HPLC ablesbar). Nach Einbau der neuen Lampe ist der Zähler auf null zu setzen, um die Brenndauer der Lampe ablesen zu können. Das Datum des Einbaus einer neuen Lampe ist auf einem Aufkleber auf dem Gehäuse des UV-Detektors zu vermerken.

Dokumentation der Wartungsarbeiten

Alle Wartungsarbeiten, unabhängig davon ob sie regelmäßig nach oben angegebenen Wechselrhythmen oder außer der Reihe erfolgen, sind im „Wartung- und Service“-Ordner (Raum 8, HPLC Psy) und digital auf dem HPLC-Laufwerk unter „Serviceberichte“ für jede HPLC-Anlage zu hinterlegen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.2.3 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Clozapin

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Konzentrationsbestimmung von Clozapin

Zielsetzung: Es soll sichergestellt werden, dass nach den Grundsätzen der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK), in der Fassung vom 23. November 2007 [Deutsches Ärzteblatt, 105 (7), A341-A355] gearbeitet wird.

Verantwortlich für die Ausführung: Marlen Fuchs und Sophia Lindner

Gültig ab: 01.10.2009


Ersetzt die Fassung vom: -----

Anlagen:

- Verfahrensanweisung Abfallentsorgung
- Verfahrensanweisung Blutabnahme
- Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC
- Verfahrensanweisung Patientenproben-
annahme
- Verfahrensanweisung Pipettieren
- Verfahrensanweisung Vorreinigung
Poolserum
- Screenshots Softwareprogramm Chromeleon

Verteiler: Gruppe: Labor klinische Pharmakologie

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Vorsichtsmaßnahmen: Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösen Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Methode: Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) 3a

Untersuchungsmaterial: Serum

Blutabnahme: siehe Verfahrensanweisung Blutabnahme


Probenannahme: siehe Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

Probenlagerung: dunkel, 4-8°C (Kühlschrank)

Probenhaltbarkeit: gekühlt (4-8°C), bis zu einer Woche
eingefroren (-20°C), bis zu drei Monate

Analyse - Arbeitsplatz: HPLC-6-Arbeitsplatz, Raum 8, HPLC Psy,
Forschungsbau H3

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Geräte


Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-6)

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
HPLC-Pumpe: P680, DGP	50970	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Säulenofen: TCC 100, mit Elektronischen 6- Port-Schaltventil (Electronic Valva Actuator)	Medbo 0366 00 2100	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Autosampler: UltiMate 3000 (Probengeber)	50985	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Detektor: UVD 170U	Medbo 0366 00 2200	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
PC zur Datenaufnah- me; Integration durch Chromeleon 6.80 (Dionex)	55954	Dell, Frankfurt/ Main	Raum 8, HPLC Psy

weitere Laborgeräte

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
Kühlschrank (4-8 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Gefrierschrank (-20 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Kühlschrank (4-8 °C), Liebherr profi line	1405240 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
Gefrierschrank (-20 °C), Liebherr comfort	1405241 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
pH-Meter: Basic Meter, PB-20	41563	Sartorius AG, Göttingen	Raum 6, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009


Ultraschallbad: Sonorex Super RK 106	28948	Bandelin electronic, Berlin	Raum 5, Labor Psy
Analysen-Waage: AC121S	28593	Sartorius AG, Göttingen	Raum 8, HPLC Psy
Magnetrührer: Ikamag Reo	35475	Jahnke & Kunkel GmbH & Co.KG, Staufen	Raum 6, Labor Psy
Rührfisch	Katalog: S. 442.52	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
magnetische Angel	Katalog: S. 442.58	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Milli-Q-System A10 Gradient (Millipore)	45888	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte
Tischzentrifuge: Megafuge 2.0 R, gekühlt	29036	Heraeus, Osterode	Raum 6, Labor Psy
Tischzentrifuge: Biofuge pico, ungekühlt	35437	Heraeus, Osterode	Raum 5, Labor Psy
Monovettenständer (= Reagenzglasständer 4x12)	Katalog: 212-6480	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Pipettierhilfen

Zur Bedienung der verschiedenen Pipetten siehe Verfahrensanweisung Pipettieren!

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
1-10 ml Pipette (türkis), Research	2680053	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500-2500 µl Pipette (rot), Reference	376696	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
1000 µl Pipette (blau), Reference	277662	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500 µl Pipette (blau), Reference	253014	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

200 µl Pipette (blau), Reference	386846	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100-1000 µl Pipette (blau), Reference	310753	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100 µl Pipette (gelb), Reference	265661	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 µl Pipette (gelb), Reference	280901	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
20 µl Pipette (gelb), Reference	281611, 081121	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10 µl Pipette (gelb), Reference	274144	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10-100 µl Pipette (gelb), Reference	299646, 1198355	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
2-20 µl Pipette (hellgrau), Reference	4109984	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 ml Adapter (dunkelgrau)	4980	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Dispensette III (10-100 ml)	01X7469, 10V0275, 05G73352	Brand GmbH, Wertheim	Raum 6, Labor Psy

Glaswaren

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Messkolben NS 29/32 (2000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-2735	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Messkolben NS 24/29 (1000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5072	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Messkolben NS 12/21 (25 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5063	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Becherglas (100 ml)	213-1122	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Laborflasche (500 ml)	215-1536	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (1000 ml)	215-1537	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (2000 ml)	215-1538	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy

Verbrauchsmaterial

Säulen


Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
RAM- Vorreinigungssäule: LiChrocart 25-4 LiChrospher RP-4 ADS, 25 µm	1.50208.0001	Merck KGaA, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Analysen-Vorsäule: PerfectSil 120 ODS-L 5µm 10 x 4,6mm	VK.10.4,6.1680	MZ-Analysentechnik, Mainz	Raum 8, HPLC Psy
Analysensäule: PerfectSil 120 ODS-L 5µm 250 x 4,6mm	250.4,6.1680.N	MZ-Analysentechnik, Mainz	Raum 8, HPLC Psy

Die oben genannten Säulen müssen entsprechend der Herstellerangaben in die HPLC-6-Anlage eingebaut werden. Dazu ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Säulenzubehör

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Dichtringe und Siebe (In-Line Filter)	FK 7340	RECIPE GmbH, München	Raum 8, HPLC Psy


Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Sonstiges

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Eluentenfilter	6000.0041	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
weiße Pipettenspitze (1-10 ml)	0030 000.765	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
weiße Pipettenspitze (500-2500 µl)	0030 000.951	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
blaue Pipettenspitze (50-1000 µl)	0030 000.919	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
gelbe Pipettenspitze (2-200 µl)	0030 000.870	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
graue Pipettenspitze (0,5-20 µl)	0030 000.854	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Combitip (50 ml)	0030 069.277	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial braun (1,5 ml)	70 2284	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
geschlitzter blauer Deckel für Vial braun (1,5 ml)	70 22 88.1	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial (10 ml) mit geschlitztem Deckel	6820.0023	Dionex GmbH, Idstein	Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (50 ml)	62.559	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy
Wägeschiffchen (Aluminum weighing boat)	W1126-100EA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkir- chen/Steinheim	Raum 8, HPLC Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel Belgien	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy


Reagenzien

Die Schlüssel für den Glasschrank und den Gefahrstoffschränk hängen an beschrifteten Hacken, Raum 6, Labor Psy.

Pharmaka

Bezeichnung	Bestellnummer/ Produkt-ID	Hersteller	Raum
Clozapin (freie Base)	C6305	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Norclozapin (Clozapin N-Oxid) (freie Base)	C0832	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Duloxetin (Hydrochlorid)	246916	Lilly, Indianapolis USA	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Olanzapin (freie Base)	170222	Lilly, Indianapolis USA	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
N-Desmethyloanzapin (freie Base)	602601	Mark Chem. Labor, Worms	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Perazin (Bishydrogenmalonat)	----	Altana Pharma AG, Konstanz	Kühlschrank, Raum 14, Geräte
Quetiapin (Hemifumerat)	----	Astra Zeneca, Wedel	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Ziprasidon (Hydrochlorid)	88059-01	Pfizer, Kalsruhe	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Kontrolle Level 1 Bio-Rad	195-6609	BIO-RAD Laboratories GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
Kontrolle Level 2 Bio-Rad	195-6611	BIO-RAD Laboratories GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
Kontrolle UTAK	Bestellung über Invicon diagnostic concepts GmbH	UTAK Laboratories Inc., Valencia USA	Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy


Lösungsmittel

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Acetonitril (LiChrosolv)	1.00030.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
Ethanol (LiChrosolv)	1.11727.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
Methanol (LiChrosolv)	1.06007.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
2-Propanol (LiChrosolv)	1.01040.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
H ₂ O demin. > 5 ppb TOC	-----	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte

weitere Chemikalien

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Tetramethylethylen- diamin (TEMED) Reagent Plus, 99%	T22500	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Eisessig	1.00063.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Gefahrstoffschrank, Raum 6, Labor Psy
Natronlauge	1.09137.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Stammlösungen

Da mehrere Substanzen (Clozapin mit Metabolit Norclozapin, Duloxetin, Olanzapin mit Metabolit Desmethylolanzapin, Perazin, Quetiapin und Ziprasidon) gleichzeitig mit dem TDM 3a-Verfahren untersucht werden können, müssen Stammlösungen für all diese Substanzen hergestellt werden.

Die Herstellung der Stammlösungen ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken. Die Stammlösungen sind zu kennzeichnen mit Substanznamen, Datum der Herstellung und Konzentration.

Abkürzungsdefinition:

m: Masse in mg bzw. µg bzw. ng

M: Molare Masse in g/mol bzw. mg/mmol

V: Volumen in ml bzw. µl


c_B: Massenkonzentration in mg/ml bzw. µg/ml

KF: Korrekturfaktor: Umrechnungsfaktor für Salz des Wirkstoffs in freie Base des Wirkstoffs;

bei freier Base = 1, bei Salz ≠ 1 (siehe Berechnungen)

Die Molaren Massen wurden den Datenblättern der Herstellerfirmen entnommen (Ordner „Reinsubstanzen A-Z“, Raum 1, Büro) bzw. mit Hilfe der Summenformel berechnet.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Clozapin und Norclozapin – Stammlösung I

Clozapin liegt als freie Base vor, Norclozapin liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Clozapin.

Für die Muttersubstanz Clozapin und ihren Metaboliten Norclozapin wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Clozapin und 2,5 mg Norclozapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Clozapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Clozapin (freie Base)}} = 326,83 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta \text{ Clozapin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$m_{\text{Norclozapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$


$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Norclozapin (freie Base)}} = 342,80 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta \text{ Norclozapin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Duloxetin – Stammlösung I

Duloxetin liegt als Salz (Hydrochlorid) vor.

Herstellung:

2,5 mg Duloxetin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Duloxetin (Hydrochlorid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Duloxetin (Hydrochlorid)}} = 333,88 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Duloxetin (freie Base)}} = 297,42 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Duloxetin (freie Base)}} / M_{\text{Duloxetin (Hydrochlorid)}}$
 $= 297,42 \text{ mg/mmol} / 333,88 \text{ mg/mmol} = 0,89$


$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Duloxetin (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,89 = 89 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Olanzapin und Desmethyloanzapin – Stammlösung I

Olanzapin liegt als freie Base vor, Desmethyloanzapin liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Olanzapin.

Für die Muttersubstanz Olanzapin und ihren Metaboliten Desmethyloanzapin wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Herstellung:

2,5 mg Olanzapin und 2,5 mg Desmethyloanzapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Olanzapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Olanzapin (freie Base)}} = 326,47 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Olanzapin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$m_{\text{Desmethyloanzapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Desmethyloanzapin (freie Base)}} = 312,44 \text{ mg/mmol}$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta \text{ Desmethyloanzapin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$


Perazin – Stammlösung I

Perazin liegt als Salz (Bishydrogenmalonat) vor.

Herstellung:

2,5 mg Perazin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug)

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Perazin(Bishydrogenmalonat) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Perazin (Bishydrogenmalonat)}} = 571,70 \text{ mg/mmol}$

$M_{\text{Perazin (freie Base)}} = 339,55 \text{ mg/mmol}$

$KF = M_{\text{Perazin (freie Base)}} / M_{\text{Perazin (Bishydrogenmalonat)}}$
 $= 339,55 \text{ mg/mmol} / 571,70 \text{ mg/mmol} = 0,59$

$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta \text{ Perazin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,59 = 59 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Quetiapin – Stammlösung I

Quetiapin liegt als Salz (Hemifumerat) vor.

Herstellung:


2,5 mg Quetiapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Quetiapin (Hemifumerat) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

$$M_{\text{Quetiapin (Hemifumerat)}} = 441,60 \text{ mg/mmol}$$

$$M_{\text{Quetiapin (freie Base)}} = 383,56 \text{ mg/mmol}$$

$$\begin{aligned} \text{KF} &= M_{\text{Quetiapin (freie Base)}} / M_{\text{Quetiapin (Hemifumerat)}} \\ &= 383,56 \text{ mg/mmol} / 441,60 \text{ mg/mmol} = 0,87 \end{aligned}$$

$$c_{\beta} = m/V \times \text{KF} \quad \rightarrow c_{\beta \text{ Quetiapin (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,87 = 87 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Ziprasidon – Stammlösung I

Ziprasidon liegt als Salz (Hydrochlorid) vor.

Herstellung:

2,5 mg Ziprasidon in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$$m_{\text{Ziprasidon (Hydrochlorid) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{gesamt}} = 25 \text{ ml}$$


$$M_{\text{Ziprasidon (Hydrochlorid)}} = 449,44 \text{ mg/mmol}$$

$$M_{\text{Ziprasidon (freie Base)}} = 412,98 \text{ mg/mmol}$$

$$\begin{aligned} \text{KF} &= M_{\text{Ziprasidon (freie Base)}} / M_{\text{Ziprasidon (Hydrochlorid)}} \\ &= 412,98 \text{ mg/mmol} / 449,44 \text{ mg/mmol} = 0,92 \end{aligned}$$

$$c_{\beta} = m/V \times \text{KF} \quad \rightarrow c_{\beta \text{ Ziprasidon (freie Base)}} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 0,92 = 92 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Die Anteile an Stammlösungen I, die nicht für den weiteren Verlauf benötigt werden, können in 1,5 ml Cups zu je 1 ml aliquotiert eingefroren werden (-20 °C, Gefrierschrank, Raum 14, Geräte). Die Cups müssen mit Substanznamen, Konzentration und Datum eindeutig beschriftet werden.


Herstellung der Stammlösungen II

Durch die Verdünnung der Stammlösungen I, wie im Schema unten aufgeführt, erhält man die Stammlösungen II.

Sechs Cups werden mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es wird H₂O demin. in die Cups vorgelegt und die angegebene Menge der jeweiligen Stammlösung I dazugegeben.

H ₂ O demin.	Stammlösung I	neue Konzentration (Stammlösung II)
900 µl	+ 100 µl Clozapin/ Norclozapin (100 µg/ml/ 100 µg/ml)	10 µg/ml/ 10 µg/ml
950 µl	+ 50 µl Duloxetin (89 µg/ml)	4,45 µg/ml
950 µl	+ 50 µl Olanzapin/ Desmethylolanzapin (100 µg/ml/ 100 µg/ml)	5 µg/ml/ 5 µg/ml
800 µl	+ 200 µl Perazin (59 µg/ml)	11,8 µg/ml
900 µl	+ 100 µl Quetiapin (87 µg/ml)	8,7 µg/ml
950 µl	+ 50 µl Ziprasidon (92 µg/ml)	4,6 µg/ml

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Beispiel für die Berechnung der neuen Konzentration der Stammlösung II:

$$\Delta V_{\text{Olanzapin Stammlösung I}} = 50 \mu\text{l}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O demin.}} = 950 \mu\text{l}$$

$$\rightarrow V_{\text{II gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} = m/V \rightarrow m = c_{\beta} \times V$$

$$c_{\beta} \text{ Olanzapin Stammlösung I} = 100 \mu\text{g/ml}; \Delta V_{\text{Olanzapin Stammlösung I}} = 50 \mu\text{l}$$

$$m_{\text{Olanzapin Stammlösung I}} = 100 \mu\text{g/ml} \times 50 \mu\text{l} = 5 \mu\text{g}$$

$$c_{\beta} = m/V$$

$$m_{\text{Olanzapin Stammlösung I}} = 5 \mu\text{g}, V_{\text{II gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} \text{ Olanzapin Stammlösung II} = 5 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 5 \mu\text{g/ml}$$


Standards

Zur Kalibrierung der analytischen Serien werden durch Verdünnung der Stammlösungen II mit Poolserum Standards hergestellt. Dazu werden drei Standards mit einer niedrigen (Standard L = Std L), einer mittleren (Standard M = Std M) und einer hohen (Standard H = Std H) Konzentration aller Wirkstoffe hergestellt, da zur Erstellung der Kalibriergeraden drei Punkte erforderlich sind.

Die Herstellung der Standards ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken.

Die Genauigkeit der neu hergestellten Standards wird durch Gegenmessung mit alten Standards überprüft.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Herstellung von 1 ml Standard

Vorgehensweise:

Man beschriftet drei 1,5 ml Cups mit L, M und H und dem Datum.

Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.


Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	976 µl	822 µl	608 µl
Stammlösung II			
Clozapin/ Norclozapin (10 µg/ml/ 10 µg/ml)	+ 2 µl	+ 50 µl	+ 120 µl
Duloxetine (4,45 µg/ml)	+ 6 µl	+ 16 µl	+ 32 µl
Olanzapin/ Desmethyloanzapin (5 µg/ml/ 5 µg/ml)	+ 2 µl	+ 10 µl	+ 24 µl
Perazin (11,8 µg/ml)	+ 5 µl	+ 10 µl	+ 20 µl
Quetiapin (8,7 µg/ml)	+ 5 µl	+ 80 µl	+ 160 µl
Ziprasidon (4,6 µg/ml)	+ 4 µl	+ 12 µl	+ 36 µl

Herstellung von 20 ml Standard

Die größere Menge Standard wird hergestellt, wenn ein Teil der Proben als Vorrat für spätere Messungen eingefroren werden soll (-20 °C, Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Vorgehensweise:

Man beschriftet drei 50 ml Tubes mit L, M und H und dem Datum.


Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	19520 µl	16440 µl	12160 µl
Stammlösung II			
Clozapin/ Norclozapin (10 µg/ml/ 10 µg/ml)	+ 40 µl	+ 1000 µl	+ 2400 µl
Duloxetine (4,45 µg/ml)	+ 120 µl	+ 320 µl	+ 640 µl
Olanzapin/ Desmethyloanzapin (5 µg/ml/ 5 µg/ml)	+ 40 µl	+ 200 µl	+ 480 µl
Perazin (11,8 µg/ml)	+ 100 µl	+ 200 µl	+ 400 µl
Quetiapin (8,7 µg/ml)	+ 100 µl	+ 1600 µl	+ 3200 µl
Ziprasidon (4,6 µg/ml)	+ 80 µl	+ 240 µl	+ 720 µl

Man verteilt die drei verschiedenen 20 ml Standards zu je 700 µl in 1,5 ml Cups und friert sie ein, wobei man sie eindeutig mit Std L, Std M bzw. Std H, dem Volumen 700 µl, der Methode TDM 3a und dem Datum beschriftet oder mit entsprechenden Etiketten beklebt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Endkonzentrationen der Wirkstoffe in den hergestellten Standards

	Standard L	Standard M	Standard H
Clozapin/ Norclozapin	20 ng/ml	500 ng/ml	1200 ng/ml
Duloxetin	26,7 ng/ml	71,2 ng/ml	142,4 ng/ml
Olanzapin/ Desmethyloanzapin	10 ng/ml	50 ng/ml	120 ng/ml
Perazin	59 ng/ml	118 ng/ml	236 ng/ml
Quetiapin	43,5 ng/ml	696 ng/ml	1392 ng/ml
Ziprasidon	18,4 ng/ml	55,2 ng/ml	165,6 ng/ml


Analysenvorbereitungen

Vorbereitung der Patientenproben

Alle Patientenproben befinden sich entsprechend dem Analyseverfahren geordnet im Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy). Man wählt aus dem Monovettenständer „TDM 3a“ die mit Duloxetin beklebten Patientenproben aus.

700 µl Serum werden aus diesen Monovetten entnommen und jeweils in ein 1,5 ml Cup gegeben. Die Cups werden von eins an fortlaufend durchnummeriert, wobei man diese Nummer zusätzlich zu der Probennummer auf die Etikette der Monovette mit wasserfestem Filzstift schreibt. Die Cups werden bei 13000 U/min 3 min in der Tischzentrifuge Biofuge pico zentrifugiert. Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Von dem zentrifugierten Serum der Proben wird 600 µl klarer Überstand in ein der Probe zugeordnetes Vial (1,5 ml) pipettiert. Die Vials verschließt man mit einem blauen geschlitzten Deckel.

Vorbereitung der Standards

Verwendet man eingefrorene Standards, müssen diese zum Auftauen mindestens 15 min bei Raumtemperatur gelagert werden.

Von den drei Standards L, M und H werden jeweils 600 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) gegeben und mit einem blauen geschlitzten Deckel verschlossen.


Vorbereitung der Kontrollen

Zur internen Qualitätssicherung werden zwei Kontrollen (Kontrolle Level 1 und Kontrolle Level 2) von Bio-Rad oder eine Kontrolle von UTAK mitanalysiert.

Normalerweise befinden sich die Kontrollen, aliquotiert zu je 600 µl und entsprechend beschriftet mit Namen, Datum und Volumen, im Gefrierschrank (-20 °C, Raum 5, Labor Psy).

Die Cups werden entnommen und mindestens 15 min bei Raumtemperatur aufgetaut. Der gesamte Inhalt wird in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) überführt und dieses mit einem blauen geschlitzten Deckel verschlossen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Ist der Vorrat an aliquotierten Kontrollen aufgebraucht, müssen neue hergestellt werden. Dazu gibt man in beide Fläschchen des Herstellers jeweils 5 ml H₂O demin., wartet bis sich das gefriergetrocknete Pulver homogen gelöst hat und mischt es gut durch. Man gibt jeweils 600 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) und verschließt es mit einem blauen geschlitzten Deckel. Die restliche Lösung wird zu je 600 µl in Cups aliquotiert und entsprechend beschriftet mit Namen, Datum und Volumen eingefroren (-20°C, Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Vorbereitung der Spüllösung für die Nadel des Injectors


Als Spüllösung für die Nadel des Injectors verwendet man den Vorreinigungssäulen-Eluenten. Zwei Vials (10 ml) wurden im Zuge der Herstellung der Eluenten bereits mit dem Vorreinigungssäulen-Eluenten befüllt und stehen am HPLC-6-Arbeitsplatz zur Verfügung.

Vorbereitung der HPLC Geräte

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Vials werden in einer festgelegten Reihenfolge in den Autosampler hineingestellt:

Die Plätze des Autosamplers sind in drei farbliche Bereiche eingeteilt (B = blau, R = rot, G = grün). In jedem Bereich wird jeder Platz durch einen Buchstaben (A-E) und eine Zahl (1-8) eindeutig definiert.

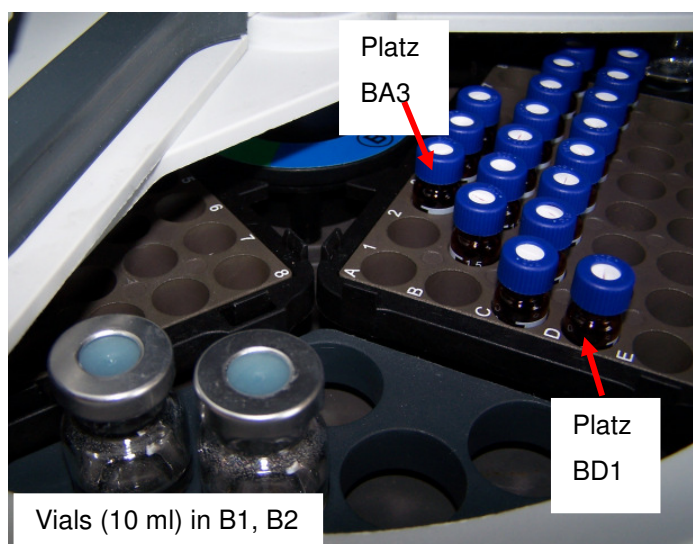
Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Für das TDM 3a Verfahren wählt man den blauen Bereich.

BA1	Standard L
BA2	Standard M
BA3	Standard H
BA4	Kontrolle Level 1
BA5	Kontrolle Level 2
BB1	Patientenprobe 1
BB2	Patientenprobe 2
BB3	Patientenprobe 3
BB4	Patientenprobe 4
BB5	Patientenprobe 5

usw.



Die zwei Vials mit dem Spüleluent für die Nadel des Injectors werden links des blauen Bereichs in die beiden linken wie im Bild dargestellten Vertiefungen gestellt. Die Vertiefungen sind von B1 bis B5 durchnummeriert.


Durchführung der Messung

Für folgende Schritte ist eine Einweisung durch eine MTA unbedingt nötig!

Desweiteren steht ein Handbuch für die Chromeleon-Software zur Verfügung (Raum 8, HPLC Psy) sowie als Anlage einige Screenshots zur Veranschaulichung.

- alle Geräte des HPLC-6-Arbeitsplatzes (Pumpe, Autosampler, Detektor, Säulenofen) einschalten
- PC starten

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

- Chromeleonserver starten
- Programm „Chromeleon“ starten, Browser öffnet sich automatisch
- im Browser entsprechendes „Panel“ (Benutzeroberfläche) der jeweiligen Anlage auswählen, in diesem Fall „TDM 3_HPLC-6_Routine_2009“
- Geräte anwählen („connect“)
- Säulenofen TCC 100 auf 30 °C einstellen
- Autosampler UltiMate 3000 „Prime Syringe“ starten (zweimaliges automatisches Spülen)
- Eluenten (Vorreinigungssäulen-Eluent und Analytischer Eluent) anwählen
- Flussrate von jeweils 1,3 ml/min für die Vorreinigungssäule und analytische Säule einstellen
- zurück in den Browser: alte (= Messung vom Vortag) als neue Sequenz (mit Datum der aktuellen Messung) unter entsprechenden Ordner speichern → gemessene Daten gehen auf „single“
- Probennummern eintragen, zugewiesenen Platz eintragen und entsprechendes Programm auswählen
- zwischen den Messungen der Proben wird mit dem Spüleluent für die analytische Säule gespült (im Programm bereits eingestellt)
- jede gemessene Probe geht von „single“ auf „finished“
- nach der letzten gemessenen Probe wird automatisch ein Wartungsprogramm gestartet

Auswertung und Befundung

- die gemessenen Konzentrationen werden in Form von „Peaks“ graphisch dargestellt, von der MTA ausgewertet und die Werte (in ng/ml) ausgedruckt. Zum genaueren Verständnis der Kalibrierung und des Zustandekommens der Werte im

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Programm Chromeleon siehe Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC.

- die Werte und das Messdatum werden entsprechend der Probennummer in den offenen Befund in Konbest eingetragen und nach Ermessen der MTA freigegeben (Kriterien festlegen!)
- die Werte werden durch einen Befunder (Arzt und/oder Apotheker) interpretiert und in Konbest schriftlich festgehalten. Der offene Befund ist nun abgeschlossen.
- der abgeschlossene Befund wird ausgedruckt und an den Einsender gefaxt

Wartung

Auch hier ist eine Einweisung durch eine TA nötig!

Spülen der Säulen

Erfolgt automatisch durch das Wartungsprogramm.

Eluentenerneuerung und Flaschenwechsel


Eluenten werden nicht recycelt und nach Bedarf neu hergestellt und in die jeweilige Laborflasche nachgefüllt.

Die Laborflaschen für die Eluenten werden nach spätestens vier Wochen ausgetauscht, wobei das Wechseldatum mit wasserfestem Filzstift auf der Laborflasche notiert wird.

Im Zuge dessen werden auch die Eluentenfilter gewechselt.

Die benutzten Laborflaschen werden gespült und können wieder verwendet werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Clozapin (TDM 3a)	Datum: 01.10.2009

Säulen- und Säulenzubehörwechsel

Die analytische Säule wird alle vier bis sechs Wochen gewechselt, die analytische Vorsäule alle zwei Wochen, die RAM-Vorreinigungssäule circa alle vier Monate und Dichtringe und Siebe jede Woche.

Die Wechseldaten werden in Chromeleon im Comment-Feld der jeweiligen Sequenz im Browser festgehalten.

Säulen, die länger als eine Woche nicht im Gebrauch sind, sollten im Kühlschrank (Raum 14, Geräte) gelagert werden.

Wartung des Probengebers

Einmal wöchentlich werden die Kapillaren des Probengebers gespült um ein Verstopfen zu verhindern.

Lampenwechsel


Die Lampe des UV-Detektors muss bei signifikantem Leistungsverlust, circa halbjährlich, gewechselt werden (Lampenleistung ist im Panel der HPLC ablesbar). Nach Einbau der neuen Lampe ist der Zähler auf null zu setzen, um die Brenndauer der Lampe ablesen zu können. Das Datum des Einbaus einer neuen Lampe ist auf einem Aufkleber auf dem Gehäuse des UV-Detektors zu vermerken.

Dokumentation der Wartungsarbeiten

Alle Wartungsarbeiten, unabhängig davon ob sie regelmäßig nach oben angegebenen Wechselrhythmen oder außer der Reihe erfolgen, sind im „Wartung- und Service“-Ordner (Raum 8, HPLC Psy) und digital auf dem HPLC-Laufwerk unter „Serviceberichte“ für jede HPLC-Anlage zu hinterlegen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.2.4 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Haloperidol

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Konzentrationsbestimmung von Haloperidol

Zielsetzung: Es soll sichergestellt werden, dass nach den Grundsätzen der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK), in der Fassung vom 23. November 2007 [Deutsches Ärzteblatt, 105 (7), A341-A355] gearbeitet wird.

Verantwortlich für die Ausführung: Marlen Fuchs und Sophia Lindner

Gültig ab: 01.10.2009


Ersetzt die Fassung vom: -----

Anlagen:

- Verfahrensanweisung Abfallentsorgung
- Verfahrensanweisung Blutabnahme
- Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC
- Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme
- Verfahrensanweisung Pipettieren
- Verfahrensanweisung Vorreinigung
- Poolserum
- Screenshots Softwareprogramm Chromeleon

Verteiler: Gruppe: Labor klinische Pharmakologie

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Vorsichtsmaßnahmen: Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösen Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Methode: Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) 3b

Untersuchungsmaterial: Serum

Blutabnahme: siehe Verfahrensanweisung Blutabnahme


Probenannahme: siehe Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

Probenlagerung: dunkel, 4-8°C (Kühlschrank)

Probenhaltbarkeit: gekühlt (4-8°C), bis zu einer Woche
eingefroren (-20°C), bis zu drei Monate

Analyse - Arbeitsplatz: HPLC-6-Arbeitsplatz, Raum 8, HPLC Psy,
Forschungsbau H3

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Geräte


Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-6)

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
HPLC-Pumpe: P680, DGP	50970	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Säulenofen: TCC 100, mit Elektronischen 6- Port-Schaltventil (Electronic Valva Actuator)	Medbo 0366 00 2100	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Autosampler: UltiMate 3000 (Probengeber)	50985	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
Detektor: UVD 170U	Medbo 0366 00 2200	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
PC zur Datenaufnah- me; Integration durch Chromeleon 6.80 (Dionex)	55954	Dell, Frankfurt/ Main	Raum 8, HPLC Psy

weitere Laborgeräte

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
Kühlschrank (4-8 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Gefrierschrank (-20 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Kühlschrank (4-8 °C), Liebherr profi line	1405240 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
Gefrierschrank (-20 °C), Liebherr comfort	1405241 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
pH-Meter: Basic Meter, PB-20	41563	Sartorius AG, Göttingen	Raum 6, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009


Ultraschallbad: Sonorex Super RK 106	28948	Bandelin electronic, Berlin	Raum 5, Labor Psy
Analysen-Waage: AC121S	28593	Sartorius AG, Göttingen	Raum 8, HPLC Psy
Magnetrührer: Ikamag Reo	35475	Jahnke & Kunkel GmbH & Co.KG, Staufen	Raum 6, Labor Psy
Rührfisch	Katalog: S. 442.52	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
magnetische Angel	Katalog: S. 442.58	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Milli-Q-System A10 Gradient (Millipore)	45888	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte
Tischzentrifuge: Megafuge 2.0 R, gekühlt	29036	Heraeus, Osterode	Raum 6, Labor Psy
Tischzentrifuge: Biofuge pico, ungekühlt	35437	Heraeus, Osterode	Raum 5, Labor Psy
Monovettenständer (= Reagenzglasständer 4x12)	Katalog: 212-6480	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Pipettierhilfen

Zur Bedienung der verschiedenen Pipetten siehe Verfahrensanweisung Pipettieren!

Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
1-10 ml Pipette (türkis), Research	2680053	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500-2500 µl Pipette (rot), Reference	376696	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
1000 µl Pipette (blau), Reference	277662	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500 µl Pipette (blau), Reference	253014	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

200 µl Pipette (blau), Reference	386846	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100-1000 µl Pipette (blau), Reference	310753	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100 µl Pipette (gelb), Reference	265661	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 µl Pipette (gelb), Reference	280901	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
20 µl Pipette (gelb), Reference	281611, 081121	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10 µl Pipette (gelb), Reference	274144	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10-100 µl Pipette (gelb), Reference	299646, 1198355	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
2-20 µl Pipette (hellgrau), Reference	4109984	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
50 ml Adapter (dunkelgrau)	4980	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Dispensette III (10-100 ml)	01X7469, 10V0275, 05G73352	Brand GmbH, Wertheim	Raum 6, Labor Psy

Glaswaren

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Messkolben NS 29/32 (2000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-2735	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Messkolben NS 24/29 (1000 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5072	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Messkolben NS 12/21 (25 ml) mit Stopfen	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte: 612-5063	Brand GmbH, Wertheim	Raum 5, Labor Psy
Becherglas (100 ml)	213-1122	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Laborflasche (500 ml)	215-1536	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (1000 ml)	215-1537	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Laborflasche (2000 ml)	215-1538	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy

Verbrauchsmaterial

Säulen


Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
RAM- Vorreinigungssäule: LiChrocart 25-4 LiChrospher RP-4 ADS, 25 µm	1.50208.0001	Merck KGaA, Darmstadt	Raum 8, HPLC Psy
Analysen-Vorsäule: PerfectSil 120 ODS-L 5µm 10 x 4,6mm	VK.10.4,6.1680	MZ-Analysentechnik, Mainz	Raum 8, HPLC Psy
Analysensäule: PerfectSil 120 ODS-L 5µm 250 x 4,6mm	250.4,6.1680.N	MZ-Analysentechnik, Mainz	Raum 8, HPLC Psy

Die oben genannten Säulen müssen entsprechend der Herstellerangaben in die HPLC-6-Anlage eingebaut werden. Dazu ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Säulenzubehör

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Dichtringe und Siebe (In-Line Filter)	FK 7340	RECIPE GmbH, München	Raum 8, HPLC Psy


Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Sonstiges

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Eluentenfilter	6000.0041	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
weiße Pipettenspitze (1-10 ml)	0030 000.765	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
weiße Pipettenspitze (500-2500 µl)	0030 000.951	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
blaue Pipettenspitze (50-1000 µl)	0030 000.919	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
gelbe Pipettenspitze (2-200 µl)	0030 000.870	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
graue Pipettenspitze (0,5-20 µl)	0030 000.854	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Combitip (50 ml)	0030 069.277	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial braun (1,5 ml)	70 2284	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
geschlitzter blauer Deckel für Vial braun (1,5 ml)	70 22 88.1	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial (10 ml) mit geschlitztem Deckel	6820.0023	Dionex GmbH, Idstein	Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (50 ml)	62.559	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy
Wägeschiffchen (Aluminum weighing boat)	W1126-100EA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkir- chen/Steinheim	Raum 8, HPLC Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel Belgien	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009


Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy

Reagenzien

Die Schlüssel für den Glasschrank und den Gefahrstoffschränk hängen an beschrifteten Hacken, Raum 6, Labor Psy.

Pharmaka

Bezeichnung	Bestellnummer/ Produkt-ID	Hersteller	Raum
Haloperidol (freie Base)	H-1512	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Olanzapin (freie Base)	170222	Lilly, Indianapolis USA	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
N-Desmethylolanzapin (freie Base)	602601	Mark Chem. Labor, Worms	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Paliperidon (=9-OH-Risperidon) (freie Base)	H-953350	Bio Trend	Tiefkühlschrank, Raum 14, Geräte
Risperidon (freie Base)	R-3030	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Kontrolle Level 1 Bio-Rad	195-6609	BIO-RAD Laboratories GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
Kontrolle Level 2 Bio-Rad	195-6611	BIO-RAD Laboratories GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
Kontrolle UTAK	Bestellung über Invicon diagnostic concepts GmbH	UTAK Laboratories Inc., Valencia USA	Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy
Verfasser	Prüfer	Freigeber	
Fuchs, Lindner			

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Lösungsmittel

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Acetonitril (LiChrosolv)	1.00030.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
Ethanol (LiChrosolv)	1.11727.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
Methanol (LiChrosolv)	1.06007.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
2-Propanol (LiChrosolv)	1.01040.2500	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy
H ₂ O demin. > 5 ppb TOC	----	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte

weitere Chemikalien


Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Tetramethylethylen- diamin (TEMED) 99,5+%	411019	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim	Glasschrank, Raum 6, Labor Psy
Eisessig	1.00063.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Gefahrstoffschrank, Raum 6, Labor Psy
Natronlauge	1.09137.1000	Merck KGaA, Darmstadt	Abzug, Raum 6, Labor Psy

Poolserum

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Poolserum	----	Routinelabor BZK Regensburg	Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy

Zur Vorreinigung des Poolserums siehe Verfahrensanweisung Vorreinigung Poolserum.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Analytischer Eluent, pH = 7,0: v/v

- Acetonitril 25 Vol%
- Methanol 10 Vol%
- TEMED 0,4 Vol%
- H₂O demin. 64,6 Vol%
- Eisessig

Anmerkung:

Vor der Herstellung des analytischen Eluenten muss geprüft werden, ob das pH-Meter exakt eingestellt ist bzw. neu kalibriert werden muss (siehe Betriebsanleitung des Herstellers im Ordner „Geräte A-Q, Betriebsanleitungen“ unter P, Raum 1, Büro).


Herstellung:

Unter dem Abzug (Raum 6) werden in einen 1000 ml Messkolben ca. 200 ml H₂O demin. vorgelegt. Aus den entsprechenden Flaschen werden mit Hilfe der Dispensetten 250 ml Acetonitril und 100 ml Methanol dazu gegeben. Man gibt, wiederum unter dem Abzug, 4 ml TEMED hinzu und füllt den Messkolben mit H₂O demin. bis knapp unterhalb der 1000 ml Markierung auf.

Anschließend wird der offene Kolben zum Entgasen für 3 min in das Ultraschallbad gestellt.

Danach stellt man den Kolben auf den Magnetrührer, gibt einen Rührfisch hinein und stellt eine mittlere Rührgeschwindigkeit ein. Zur Einstellung des pH-Wertes auf 7,0 werden circa 1000 µl Eisessig dazu gegeben und mit Hilfe des pH-Meters der pH-Wert des Eluenten gemessen. Falls der pH-Wert zu hoch ist, legt man Eisessig in µl-Schritten nach. Ist er zu niedrig, kann mit Natronlauge (im Abzug) in µl-Schritten ausgeglichen werden. Sobald der pH-Wert 7,0 beträgt kann der Rührfisch mit einer magnetischen Angel entnommen und der Kolben mit H₂O demin. exakt auf 1000 ml aufgefüllt werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Abkürzungsdefinition:

m: Masse in mg bzw. µg bzw. ng

M: Molare Masse in g/mol bzw. mg/mmol

V: Volumen in ml bzw. µl

c_B: Massenkonzentration in mg/ml bzw. µg/ml

KF: Korrekturfaktor: Umrechnungsfaktor für Salz des Wirkstoffs in freie Base des Wirkstoffs;

bei freier Base = 1, bei Salz ≠ 1 (siehe Berechnungen)

Die Molaren Massen wurden den Datenblättern der Herstellerfirmen entnommen (Ordner „Reinsubstanzen A-Z“, Raum 1, Büro) bzw. mit Hilfe der Summenformel berechnet.


Haloperidol – Stammlösung I

Haloperidol liegt als freie Base vor.

Herstellung:

2,5 mg Haloperidol in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Haloperidol (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Haloperidol (freie Base)}} = 375,87 \text{ mg/mmol}$

$KF = 1$

$c_{\beta} = m/V \times KF \rightarrow c_{\beta} \text{ Haloperidol (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \mu\text{g/ml}$

Olanzapin und Desmethyloanzapin – Stammlösung I

Olanzapin liegt als freie Base vor, Desmethyloanzapin liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Olanzapin.

Für die Muttersubstanz Olanzapin und ihren Metaboliten Desmethyloanzapin wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Olanzapin und 2,5 mg Desmethyloanzapin in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.


Berechnung der Konzentration c_{β} :

$m_{\text{Olanzapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$

$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$

$M_{\text{Olanzapin (freie Base)}} = 326,47 \text{ mg/mmol}$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

$$KF = 1$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Olanzapin (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$m_{\text{Desmethyloanzapin (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$$

$$M_{\text{Desmethyloanzapin (freie Base)}} = 312,44 \text{ mg/mmol}$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Desmethyloanzapin (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Risperidon und Paliperidon (= 9-OH-Risperidon) – Stammlösung I

Risperidon liegt als freie Base vor, Paliperidon liegt als freie Base vor und ist der Metabolit von Risperidon.

Für die Muttersubstanz Risperidon und ihren Metaboliten Paliperidon wird eine gemeinsame Stammlösung I hergestellt.

Herstellung:

2,5 mg Risperidon und 2,5 mg Paliperidon in einem Aluminiumschälchen mit der Analysen-Waage abwiegen und in einen 25 ml Messkolben geben. Man gibt 20 ml Ethanol (unter dem Abzug) und 4,8 ml H₂O demin. unter Berücksichtigung der Volumenausdehnung durch Erwärmung dazu, d.h. man wartet circa eine Stunde bis die Lösung wieder abgekühlt ist und füllt anschließend den Messkolben auf exakt 25 ml mit H₂O demin. auf.


Berechnung der Konzentration c_{β} :

$$m_{\text{Risperidon (freie Base) Einwaage}} = 2,5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$$

$$M_{\text{Risperidon (freie Base)}} = 410,48 \text{ g/mol}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

$$KF = 1$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Risperidon (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$m \text{ Paliperidon (freie Base) Einwaage} = 2,5 \text{ mg}$$

$$V_{\text{I gesamt}} = 25 \text{ ml}$$

$$M \text{ Paliperidon (freie Base)} = 426,48 \text{ mg/mmol}$$

$$KF = 1$$

$$c_{\beta} = m/V \times KF \quad \rightarrow \quad c_{\beta} \text{ Paliperidon (freie Base)} = 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \times 1 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$


Die Anteile an Stammlösungen I, die nicht für den weiteren Verlauf benötigt werden, können in 1,5 ml Cups zu je 1 ml aliquotiert eingefroren werden (-20°C, Gefrierschrank, Raum 14, Geräte). Die Cups müssen mit Substanznamen, Konzentration und Datum eindeutig beschriftet werden.

Herstellung der Stammlösungen II für Haloperidol und Risperidon/ Paliperidon

Durch die Verdünnung der Stammlösungen I, wie im Schema unten aufgeführt, erhält man über die Zwischenstufen Stammlösungen Ia die Stammlösungen II. Die Herstellung der Stammlösung II erfolgt also in zwei Schritten.

Zwei Cups werden mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es werden 900 µl H₂O demin. in die Cups vorgelegt und 100 µl der jeweiligen Stammlösung I dazugegeben.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

H ₂ O demin.	Stammlösung I	neue Konzentration (Stammlösung Ia)
900 µl	+ 100 µl Haloperidol (100 µg/ml)	10 µg/ml
900 µl	+ 100 µl Risperidon/ Paliperidon (100 µg/ml)	10 µg/ml

Zwei weitere Cups werden mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es werden 900 µl H₂O demin. in die Cups vorgelegt und 100 µl der Stammlösung Ia dazugegeben.

H ₂ O demin.	Stammlösung Ia	neue Konzentration (Stammlösung II)
900 µl	+ 100 µl Haloperidol (10 µg/ml)	1 µg/ml
900 µl	+ 100 µl Risperidon/ Paliperidon (10 µg/ml)	1 µg/ml

Rechenbeispiel mit Haloperidol:

$$\Delta V_{\text{Haloperidol Stammlösung I}} = 100 \mu\text{l}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O demin.}} = 900 \mu\text{l}$$

$$\rightarrow V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} = m/V \rightarrow m = c_{\beta} \times V$$

$$c_{\beta} \text{ Haloperidol Stammlösung I} = 100 \mu\text{g/ml}; V_{\text{Haloperidol Stammlösung I}} = 100 \mu\text{l}$$


$$m_{\text{Haloperidol Stammlösung I}} = 100 \mu\text{g/ml} \times 100 \mu\text{l} = 10 \mu\text{g}$$

$$c_{\beta} = m/V$$

$$m_{\text{Haloperidol Stammlösung I}} = 10 \mu\text{g}, V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$$

$$c_{\beta} \text{ Haloperidol Stammlösung Ia} = 10 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 10 \mu\text{g/ml}$$

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

$\Delta V_{\text{Haloperidol Stammlösung Ia}} = 100 \mu\text{l}$

$V_{\text{H}_2\text{O demin.}} = 900 \mu\text{l}$

$\rightarrow V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$

$c_{\beta} = m/V \rightarrow m = c_{\beta} \times V$

$c_{\beta} \text{ Haloperidol Stammlösung Ia} = 10 \mu\text{g/ml}; V_{\text{Haloperidol Stammlösung Ia}} = 100 \mu\text{l}$

$m_{\text{Haloperidol Stammlösung Ia}} = 10 \mu\text{g/ml} \times 100 \mu\text{l} = 1 \mu\text{g}$

$c_{\beta} = m/V$

$m_{\text{Haloperidol Stammlösung Ia}} = 1 \mu\text{g}, V_{\text{gesamt}} = 1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$

$c_{\beta} \text{ Haloperidol Stammlösung II} = 1 \mu\text{g} / 1 \text{ ml} = 1 \mu\text{g/ml}$

Herstellung der Stammlösung II für Olanzapin/ Desmethyloanzapin

Durch die Verdünnung der Stammlösung I, wie im Schema unten aufgeführt, erhält man die Stammlösung II.


Ein Cup wird mit wasserfestem Filzstift mit Substanznamen, Konzentration und Datum beschriftet. Es wird $\text{H}_2\text{O demin.}$ in den Cup vorgelegt und die angegebene Menge der Stammlösung I dazugegeben.

$\text{H}_2\text{O demin.}$	Stammlösung I	neue Konzentration (Stammlösung II)
950 μl	+ 50 μl Olanzapin/ Desmethyloanzapin (100 $\mu\text{g/ml}$ / 100 $\mu\text{g/ml}$)	5 $\mu\text{g/ml}$ / 5 $\mu\text{g/ml}$

Standards

Zur Kalibrierung der analytischen Serien werden durch Verdünnung der Stammlösungen II mit Poolserum Standards hergestellt. Dazu werden drei Standards mit einer niedrigen (Standard L = Std L), einer mittleren (Standard M = Std M) und einer

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

hohen (Standard H = Std H) Konzentration aller Wirkstoffe hergestellt, da zur Erstellung der Kalibriergeraden drei Punkte erforderlich sind.

Die Herstellung der Standards ist in einem Protokoll (siehe Ordner „Protokolle“, Raum 1, Büro) schriftlich zu vermerken.

Die Genauigkeit der neu hergestellten Standards wird durch Gegenmessung mit alten Standards überprüft.

Herstellung von 1 ml Standard

Vorgehensweise:


Man beschriftet drei 1,5 ml Cups mit L, M und H und dem Datum.

Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	991 µl	955 µl	896 µl
Stammlösung II			
Haloperidol (1 µg/ml)	+ 2 µl	+ 10 µl	+ 30 µl
Olanzapin/ Desmethyloanzapin (5 µg/ml/ 5 µg/ml)	+ 2 µl	+ 10 µl	+ 24 µl
Risperidon/ Paliperidon (1 µg/ml)	+ 5 µl	+ 25 µl	+ 50 µl

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Herstellung von 20 ml Standard

Die größere Menge Standard wird hergestellt, wenn ein Teil der Proben als Vorrat für spätere Messungen eingefroren werden soll (-20°C, Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Vorgehensweise:

Man beschriftet drei 50 ml Tubes mit L, M und H und dem Datum.


Das entsprechende Volumen des vorgereinigten Poolserums wird in L, M bzw. H vorgelegt und mit den jeweiligen Stammlösungen II, wie im Pipettierschema aufgeführt, ergänzt.

Pipettierschema:

	Standard L	Standard M	Standard H
vorgereinigtes Poolserum	19820 µl	19100 µl	17920 µl
Stammlösung II			
Haloperidol (1 µg/ml)	+ 40 µl	+ 200 µl	+ 600 µl
Olanzapin/ Desmethyloanzapin (5 µg/ml/ 5 µg/ml)	+ 40 µl	+ 200 µl	+ 480 µl
Risperidon/ Paliperidon (1 µg/ml)	+ 100 µl	+ 500 µl	+ 1000 µl

Man verteilt die drei verschiedenen 20 ml Standards zu je 1000 µl in 1,5 ml Cups und friert sie ein, wobei man sie eindeutig mit Std L, Std M bzw. Std H, dem Volumen 1000 µl, der Methode TDM 3b und dem Datum beschriftet oder mit entsprechenden Etiketten beklebt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Endkonzentrationen der Wirkstoffe in den hergestellten Standards

	Standard L	Standard M	Standard H
Haloperidol	2 ng/ml	10 ng/ml	30 ng/ml
Olanzapin/ Desmethyloanzapin	10 ng/ml	50 ng/ml	120 ng/ml
Risperidon/ Paliperidon	5 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml

Analysenvorbereitungen


Vorbereitung der Patientenproben

Alle Patientenproben befinden sich entsprechend dem Analyseverfahren geordnet im Kühlschrank (Raum 5). Man wählt aus dem Monovettenständer „TDM 3b“ die mit Haloperidol beklebten Patientenproben aus.

1000 µl Serum werden aus diesen Monovetten entnommen und jeweils in ein 1,5 ml Cup gegeben. Die Cups werden von 1 an fortlaufend durchnummeriert, wobei man diese Nummer zusätzlich zu der Probennummer auf die Etikette der Monovetten mit wasserfestem Filzstift schreibt. Die Cups werden bei 13000 U/min 3 min in der Tischzentrifuge Biofuge pico zentrifugiert. Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Von dem zentrifugierten Serum der Proben wird 900 µl klarer Überstand in ein der Probe zugeordnetes Vial (1,5 ml) pipettiert. Die Vials verschließt man mit einem geschlitzten blauen Deckel.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Vorbereitung der Standards

Verwendet man eingefrorene Standards, müssen diese zum Auftauen mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur gelagert werden.

Von den drei Standards L, M und H werden jeweils 900 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial gegeben und mit einem geschlitzten blauen Deckel verschlossen.

Vorbereitung der Kontrollen


Zur internen Qualitätssicherung werden zwei Kontrollen (Kontrolle Level 1 und Kontrolle Level 2) von Bio-Rad oder eine Kontrolle von UTAK mitanalysiert.

Normalerweise befinden sich die Kontrollen, aliquotiert zu je 900 µl und entsprechend beschriftet mit Namen, Datum und Volumen, im Gefrierschrank (-20°C, Raum 5, Labor Psy).

Die Cups werden entnommen und mindestens 15 min bei Raumtemperatur aufgetaut. Der gesamte Inhalt wird in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) überführt und dieses mit einem geschlitzten blauen Deckel verschlossen.

Ist der Vorrat an aliquotierten Kontrollen aufgebraucht, müssen neue hergestellt werden. Dazu gibt man in beide Fläschchen des Herstellers jeweils 5 ml H₂O demin., wartet bis sich das gefriergetrocknete Pulver homogen gelöst hat und mischt es gut durch. Man gibt jeweils 900 µl in ein entsprechend beschriftetes Vial (1,5 ml) und verschließt es mit einem blauen geschlitzten Deckel. Die restliche Lösung wird zu je 900 µl in Cups aliquotiert und entsprechend beschriftet mit Namen, Datum und Volumen eingefroren (-20°C, Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy).

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Vorbereitung der Spüllösung für die Nadel des Injectors

Als Spüllösung für die Nadel des Injectors verwendet man den Vorreinigungssäulen-Eluenten. Zwei Vials (10 ml) wurden im Zuge der Herstellung der Eluenten bereits mit dem Vorreinigungssäulen-Eluenten befüllt und stehen am HPLC-6-Arbeitsplatz zur Verfügung.

Vorbereitung der HPLC Geräte

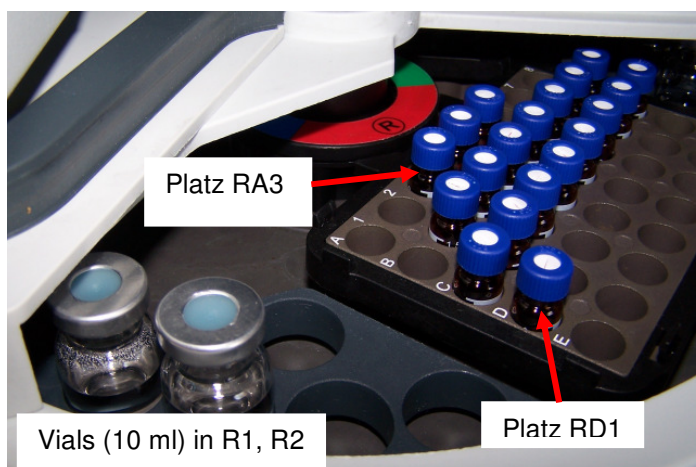
Die wie oben beschrieben vorbereiteten Vials werden in einer festgelegten Reihenfolge in den Autosampler hineingestellt:

Die Plätze des Autosamplers sind in drei farbliche Bereiche eingeteilt (B = blau, R = rot, G = grün). In jedem Bereich wird jeder Platz durch einen Buchstaben (A-E) und eine Zahl (1-8) eindeutig definiert.


Für das TDM 3b Verfahren wählt man den roten Bereich.

RA1	Standard L
RA2	Standard M
RA3	Standard H
RA4	Kontrolle Level 1
RA5	Kontrolle Level 2
RB1	Patientenprobe 1
RB2	Patientenprobe 2
RB3	Patientenprobe 3
RB4	Patientenprobe 4
RB5	Patientenprobe 5

usw.



Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Die zwei Vials mit dem Spüleluent für die Nadel des Injectors werden links des roten Bereichs in die beiden linken wie im Bild dargestellten Vertiefungen gestellt. Die Vertiefungen sind von R1 bis R5 durchnummeriert.


Durchführung der Messung

Für folgende Schritte ist eine Einweisung durch eine TA unbedingt nötig!

Desweiteren steht ein Handbuch für die Chromeleon-Software zur Verfügung (Raum 8, HPLC Psy) sowie als Anlage einige Screenshots zur Veranschaulichung.

- alle Geräte des HPLC-6-Arbeitsplatzes (Pumpe, Autosampler, Detektor, Säulenofen) einschalten
- PC starten
- Chromeleonserver starten
- Programm „Chromeleon“ starten, Browser öffnet sich automatisch
- im Browser entsprechendes „Panel“ (Benutzeroberfläche) der jeweiligen Anlage auswählen, in diesem Fall „TDM 3_HPLC-6_Routine_2009“
- Geräte anwählen („connect“)
- Säulenofen TCC 100 auf 30 °C einstellen
- Autosampler UltiMate 3000 „Prime Syringe“ starten (zweimaliges automatisches Spülen)
- Eluenten (Vorreinigungssäulen-Eluent und Analytischer Eluent) anwählen
- Flussrate von jeweils 1,0 ml/min für die Vorreinigungssäule und analytische Säule einstellen

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

- zurück in den Browser: alte (= Messung vom Vortag) als neue Sequenz (mit Datum der aktuellen Messung) unter entsprechenden Ordner speichern → gemessene Daten gehen auf „single“
- Probennummern eintragen, zugewiesenen Platz eintragen und entsprechendes Programm auswählen
- zwischen den Messungen der Proben wird mit dem Spüleluent für die analytische Säule gespült (im Programm bereits eingestellt)
- jede gemessene Probe geht von „single“ auf „finished“
- nach der letzten gemessenen Probe wird automatisch ein Wartungsprogramm gestartet

Auswertung und Befundung

- die gemessenen Konzentrationen werden in Form von „Peaks“ graphisch dargestellt, von der TA ausgewertet und die Werte (in ng/ml) ausgedruckt. Zum genaueren Verständnis der Kalibrierung und des Zustandekommens der Werte im Programm Chromeleon siehe Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC.
- die Werte und das Messdatum werden entsprechend der Probennummer in den offenen Befund in Konbest eingetragen und nach Ermessen der TA freigegeben (Kriterien festlegen!)
- die Werte werden durch einen Befunder (Arzt und/oder Apotheker) interpretiert und in Konbest schriftlich festgehalten. Der offene Befund ist nun abgeschlossen.
- der abgeschlossene Befund wird ausgedruckt und an den Einsender gefaxt

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Wartung

Auch hier ist eine Einweisung durch eine TA nötig!

Spülen der Säulen

Erfolgt automatisch durch das Wartungsprogramm.

Eluentenerneuerung und Flaschenwechsel

Eluenten werden nicht recycelt und nach Bedarf neu hergestellt und in die jeweilige Laborflasche nachgefüllt.

Die Laborflaschen für die Eluenten werden nach spätestens vier Wochen ausgetauscht, wobei das Wechseldatum mit wasserfestem Filzstift auf der Laborflasche notiert wird. Im Zuge dessen werden auch die Eluentenfilter gewechselt.

Die benutzten Laborflaschen werden gespült und können wieder verwendet werden.


Säulen- und Säulenzubehörwechsel

Die analytische Säule wird alle vier bis sechs Wochen gewechselt, die analytische Vorsäule alle zwei Wochen, die RAM-Vorreinigungssäule circa alle vier Monate und Dichtringe und Siebe jede Woche.

Die Wechseldaten werden in Chromeleon im Comment-Feld der jeweiligen Sequenz im Browser festgehalten.

Säulen, die länger als eine Woche nicht im Gebrauch sind, sollten im Kühlschrank (Raum 14, Geräte) gelagert werden.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Haloperidol (TDM 3b)	Datum: 01.10.2009

Wartung des Probengebers

Einmal wöchentlich werden die Kapillaren des Probengebers gespült um ein Verstopfen zu verhindern.

Lampenwechsel

Die Lampe des UV-Detektors muss bei signifikantem Leistungsverlust, circa halbjährlich, gewechselt werden (Lampenleistung ist im Panel der HPLC ablesbar). Nach Einbau der neuen Lampe ist der Zähler auf null zu setzen, um die Brenndauer der Lampe ablesen zu können. Das Datum des Einbaus einer neuen Lampe ist auf einem Aufkleber auf dem Gehäuse des UV-Detektors zu vermerken.

Dokumentation der Wartungsarbeiten

Alle Wartungsarbeiten, unabhängig davon ob sie regelmäßig nach oben angegebenen Wechselrhythmen oder außer der Reihe erfolgen, sind im „Wartung- und Service“-Ordner (Raum 8, HPLC Psy) und digital auf dem HPLC-Laufwerk unter „Serviceberichte“ für jede HPLC-Anlage zu hinterlegen.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.2.5 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Olanzapin

Für die Konzentrationsbestimmung von Olanzapin wird analog der Arbeitsanweisung für Clozapin vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Olanzapin beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 3a“.

3.2.6 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Paliperidon

Für die Konzentrationsbestimmung von Paliperidon wird analog der Arbeitsanweisung für Haloperidol vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Paliperidon beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 3b“.

3.2.7 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Perazin

Für die Konzentrationsbestimmung von Perazin wird analog der Arbeitsanweisung für Clozapin vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Perazin beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 3a“.

3.2.8 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmungen von Quetiapin

3.2.8.1 Konzentrationsbestimmung von Quetiapin mittels TDM 1a-Verfahren

Für die Konzentrationsbestimmung von Quetiapin wird analog der Arbeitsanweisung für Aripiprazol vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Quetiapin beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 1a“.

3.2.8.2 Konzentrationsbestimmung von Quetiapin mittels TDM 2-Verfahren

Für die Konzentrationsbestimmung von Quetiapin wird analog der Arbeitsanweisung für Amisulprid vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Quetiapin beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 2“.

3.2.8.3 Konzentrationsbestimmung von Quetiapin mittels TDM 3a-Verfahren

Für die Konzentrationsbestimmung von Quetiapin wird analog der Arbeitsanweisung für Clozapin vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Quetiapin beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 3a“.

3.2.9 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Risperidon


Für die Konzentrationsbestimmung von Risperidon wird analog der Arbeitsanweisung für Haloperidol vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Risperidon beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 3b“.

3.2.10 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Ziprasidon

Für die Konzentrationsbestimmung von Ziprasidon wird analog der Arbeitsanweisung für Clozapin vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Ziprasidon beklebten Proben aus den Monovettenständer „TDM 3a“.

3.3 Arbeitsanweisungen Tranquillanzien

3.3.1 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Alprazolam

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie	
Klinisch-pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Konzentrationsbestimmung von Alprazolam

Zielsetzung: Es soll sichergestellt werden, dass nach den Grundsätzen der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK), in der Fassung vom 23. November 2007 [Deutsches Ärzteblatt, 105 (7), A341-A355] gearbeitet wird.

Verantwortlich für die Ausführung: Marlen Fuchs und Sophia Lindner

Gültig ab: 01.10.2009


Ersetzt die Fassung vom: -----

Anlagen:

- Verfahrensanweisung Abfallentsorgung
- Verfahrensanweisung Blutabnahme
- Verfahrensanweisung Kalibrierung der HPLC
- Verfahrensanweisung Patientenproben-
annahme
- Verfahrensanweisung Pipettieren

Verteiler: Gruppe: Labor klinische Pharmakologie

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Vorsichtsmaßnahmen: Für den Umgang mit Reagenzien, Kontroll- und Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung für den Gesundheitsdienst beim Umgang mit infektiösen Material einzuhalten (siehe aktueller Hygieneplan über jedem Waschbecken). Für den Umgang mit chemischen Produkten sind die Sicherheitsdatenblätter (SDB) bzw. Arbeitsanweisungen des Herstellers sowie die Hinweise auf die besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschläge (S-Sätze) zu beachten (siehe Ordner „Sicherheit Labor“ und „Geräte, Bedienungsanleitungen“, Raum 1, Büro).

Methode: Bestimmung von Benzodiazepinen (BZD)

Untersuchungsmaterial: Serum

Blutabnahme: siehe Verfahrensanweisung Blutabnahme


Probenannahme: siehe Verfahrensanweisung Patientenprobenannahme

Probenlagerung: dunkel, 2-8°C (Kühlschrank)

Probenhaltbarkeit: gekühlt (2-8°C), bis zu einer Woche
eingefroren (-20°C) bis zu drei Monate, wobei Polypropylen-Gefäße verwendet werden sollten

Analyse - Arbeitsplatz: HPLC-1-Arbeitsplatz, Raum 5, Labor Psy,
Forschungsbau H3

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Geräte


Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-1)

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
HPLC-Pumpe: P680	41272	Dionex GmbH, Idstein	Raum 5, HPLC Psy
Autosampler: Gina 50 T (Probengeber)	Medbo 0366 00 1100	Dionex GmbH, Idstein	Raum 5, HPLC Psy
Detektor: SP6	Medbo 0366 00 1400	Dionex GmbH, Idstein	Raum 5, HPLC Psy
PC zur Datenaufnahme; Integration durch Chromeleon 6.80 (Dionex)	50828	Dell, Frankfurt/ Main	Raum 5, HPLC Psy

weitere Laborgeräte

Bezeichnung	Inventarnummer (Uniklinikum Regensburg)	Hersteller	Raum
Kühlschrank (4-8 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Gefrierschrank (-20 °C)	----	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 5, Labor Psy
Kühlschrank (4-8 °C), Liebherr profi line	1405240 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
Gefrierschrank (-20 °C), Liebherr comfort	1405241 0	Liebherr-International AG, Bulle Schweiz	Raum 14, Geräteraum
Milli-Q-System A10 Gradient (Millipore)	45888	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte
Megafuge 1.0	30883	Heraeus, Osterode	Raum 6, Labor Psy
Tischzentrifuge: Biofuge pico, ungekühlt	35437	Heraeus, Osterode	Raum 5, Labor Psy
Monovettenständer (= Reagenzglasständer 4x12)	Katalog: 212-6480	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Pipettierhilfen

Zur Bedienung der verschiedenen Pipetten siehe Verfahrensanweisung Pipettieren!


Bezeichnung	Seriennummer (Hersteller)	Hersteller	Raum
1-10 ml Pipette (türkis), Research	2680053	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
500-2500 µl Pipette (rot), Reference	376696	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
1000 µl Pipette (blau), Reference	277662	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100-1000 µl Pipette (blau), Reference	310753	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
100 µl Pipette (gelb), Reference	265661	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
10-100 µl Pipette (gelb), Reference	299646, 1198355	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Multipette plus	1777409	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy

Verbrauchsmaterial

Säulen

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
SPE-Säule (Sample Clean Up Columns)	49008	Chromsystems GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
TCA Analysen-Vorsäule	17049	Chromsystems GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
TCA Analysensäule	49100	Chromsystems GmbH, München	Raum 5, Labor Psy


Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Sonstiges

Bezeichnung	Bestellnummer	Hersteller	Raum
Eluentenfilter	6000.0041	Dionex GmbH, Idstein	Raum 8, HPLC Psy
weiße Pipettenspitze (1-10 ml)	0030 000.765	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
weiße Pipettenspitze (bis 2500 µl)	0030 000.951	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
blaue Pipettenspitze (50-1000 µl)	0030 000.919	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
gelbe Pipettenspitze (2-200 µl)	0030 000.870	Eppendorf AG, Hamburg	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Combitip (10 ml)	0030 069.269	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Combitip (2,5 ml)	0030 069.242	Eppendorf AG, Hamburg	Raum 5, Labor Psy
Reagiergefäß = Cup (1,5 ml)	72.690	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Vorratsschrank, Raum 5, Labor Psy
Glasgefäß mit Schraubgewinde = Vial braun (1,5 ml)	70 2284	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
geschlitzter blauer Deckel für Vial braun (1,5 ml)	70 22 88.1	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	Raum 5, Labor Psy
Plastikgefäß mit Schraubverschluss = Tube (15 ml)	62.554.001	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Raum 5, Labor Psy
Reagenzglas, Außendurchmesser 16 mm, Länge 100 mm (15 ml)	212-0016	VWR International GmbH, Darmstadt	Raum 5, Labor Psy
Nitril-Handschuhe: Touch N Tuff	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-0998	Ansell Healthcare, Brüssel Belgien	Raum 5, Labor Psy

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		


	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. M	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2439	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Handschuhe, PFE-Latex, ungepudert, Gr. S	VWR-Katalog Verbrauchsmaterialien und Geräte:112-2437	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Papiertücher (Kleenex)	Medizinlager, Klinik intern: 2501742	Kimberly-Clark, Reigate UK	Raum 5, Labor Psy
Pursept-A	Medizinlager, Klinik intern: 9100055	Merz Consumer Care GmbH, Frankfurt	Raum 5, Labor Psy

Reagenzien

Bezeichnung	Bestellnummer/ Produkt-ID	Hersteller	Raum
Reagenzienkit: Äquilibrationspuffer 1 (für BZD), Äquilibrationspuffer 2 (für TCA), Elutionspuffer 1, Elutionspuffer 2, Waschpuffer, Mobile Phase, Serumkalibrator, Interner Standard	49000	Chromsystems GmbH, München	Raum 5, Labor Psy
Serumkontrolle Level I	0052	Chromsystems GmbH, München	Kühlschrank, Raum 14, Geräteraum
Serumkontrolle Level II	0053	Chromsystems GmbH, München	Kühlschrank, Raum 14, Geräteraum
H ₂ O demin. > 5 ppb TOC	----	Millipore GmbH, Eschborn	Raum 14, Geräte

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Eluenten

Als Eluent wird die kommerziell erworbene Mobile Phase aus dem Reagenzienkit von Chromsystems verwendet.

Die Flasche wird an den Kreislauf der HPLC-1-Anlage im Raum 5 angeschlossen.

Serumkalibrator

Der Serumkalibrator (Serum Calibration Standard) wird zunächst rekonstituiert, indem exakt 2,5 ml H₂O demin. in das Fläschchen des Herstellers zugeben wird. Man lässt das Fläschchen circa 15 min stehen und schwenkt es mehrmals bis der Inhalt homogen gelöst ist.

Anschließend aliquotiert man die 2,5 ml Serumkalibrator zu je 1,2 ml in entsprechend beschriftete Cups (1,5 ml).


Der Serumkalibrator kann bei 2-8°C und dunkel (Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy) bis zu einer Woche gelagert werden. Tiefgefroren bei unter -18°C (Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy) kann er bis zu 3 Monate verwendet werden.

Serumkontrollen

Die Serumkontrollen (Serum Control) Level I und Level II werden zunächst rekonstituiert, indem exakt 5 ml H₂O demin. in die Fläschchen des Herstellers zugeben werden. Man lässt die Fläschchen circa 15 min stehen und schwenkt sie mehrmals bis der Inhalt homogen gelöst ist.

Anschließend aliquotiert man die 5 ml Serumkontrolle Level I und die 5 ml Serumkontrolle Level II zu je 1,2 ml in entsprechend beschriftete Cups (1,5 ml).

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Die Serumkontrollen können bei 2-8°C und dunkel (Kühlschrank, Raum 5, Labor Psy) bis zu einer Woche gelagert werden. Tiefgefroren bei unter -18°C (Gefrierschrank, Raum 5, Labor Psy) können sie bis zu 3 Monate verwendet werden.

Analysenvorbereitungen

Vorbereitung der Patientenproben

Alle Patientenproben befinden sich entsprechend dem Analyseverfahren geordnet im Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy). Man wählt aus dem Monovettenständer „TCA“ die mit Alprazolam beklebten Patientenproben aus.


Die Monovetten werden von eins an fortlaufend durchnummeriert, wobei man diese Nummer zusätzlich zu der Probennummer auf das Etikett der Monovette mit wasserfestem Filzstift schreibt.

Vorbereitung des Serumkalibrators

Der Cup mit dem Serumkalibrator wird aus dem Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy) genommen. Falls eingefrorener Serumkalibrator verwendet wird, muss dieser zum Auftauen mindestens 15 min bei Raumtemperatur gelagert werden.

Der Cup mit dem Serumkalibrator wird vor der Verwendung in der Tischzentrifuge Biofuge pico 1 min bei 1300 U/min zentrifugiert. Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Vorbereitung Serumkontrollen

Die Cups mit den Serumkontrollen Level I und Level II werden aus dem Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy) genommen. Falls eingefrorene Serumkontrollen verwendet werden, müssen diese zum Auftauen mindestens 15 min bei Raumtemperatur gelagert werden.

Die Cups der beiden Serumkontrollen werden vor der Verwendung in der Tischzentrifuge Biofuge pico 1 min bei 1300 U/min zentrifugiert. Austarieren der Fuge unbedingt beachten (siehe Gebrauchs- und Betriebsanweisung des Herstellers an der Zentrifuge)!

Vorbereitung des Internen Standards


Der Interne Standard (Internal Standard) befindet sich im Kühlschrank (Raum 5, Labor Psy). Er muss mindestens 5 min vor der Verwendung entnommen werden, damit er auf Raumtemperatur vorgewärmt ist.

Aufbereitung der Proben

Extrahieren

Man stellt für jede Patientenprobe eine SPE-Säule in ein Tube (15 ml). Die Tubes für die Patientenproben werden von eins an fortlaufend durchnummeriert entsprechend der Anzahl der Patientenproben. Die Monovetten mit den Patientenproben wurden bereits entsprechend nummeriert. Für den Serumkalibrator und die beiden Serumkontrollen benötigt man auch jeweils eine SPE-Säule in einem entsprechend beschrifteten Tube (15 ml). Zum Zentrifugieren wird die SPE-Säule mitsamt des Tubes bzw. die SPE-Säule mitsamt des Reagenzglases und Vial hineingestellt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Zur Konditionierung der SPE-Säulen wird zuerst 1 ml Äquilibrationspuffer (Equilibration Buffer) 1 auf jede Säule mit Hilfe einer Multipette gegeben und 1 min mit der Megafuge 1.0 bei 1000 U/min zentrifugiert. Dann wird 1 ml Äquilibrationspuffer 2 auf jede SPE-Säule mit Hilfe einer Multipette gegeben und wie zuvor zentrifugiert.

Danach wird 1 ml Serum jeder Patientenprobe auf die durch die Nummer zugeordnete SPE-Säule gegeben. Auf jede SPE-Säule, d. h. die für die Patientenproben, den Serumkalibrator und die beiden Serumkontrollen, gibt man 100 µl Internal Standard. Es erfolgt eine Zentrifugation mit der Megafuge 1.0 bei 1200 U/min für 2 min.

Waschen

Es wird auf jede SPE-Säule 1 ml Waschpuffer (Wash Buffer) gegeben und mit der Megafuge 1.0 bei 1000 U/min für circa 1 min zentrifugiert. Dieser Vorgang wird im Anschluss noch einmal wiederholt.

Zum Schluss erfolgt die Trockenzentrifugation bei 2500 U/min für circa 2 min.


Man stellt wie die Tubes beschriftete braune Vials (1,5 ml) in Reagenzgläser, entnimmt die SPE-Säulen aus den Tubes und stellt diese auf das der SPE-Säule zugeordnete Vial.

Die abzentrifugierte Flüssigkeit, die sich in den Tubes befindet, wird in den A2-Behälter verworfen.

Eluieren

400 µl Elutionspuffer (Elution Buffer) 1 (für BZD) werden auf jede SPE-Säule gegeben und 1 min bei 1000 U/min und 1 min bei 2500 U/min mit der Megafuge 1.0 vollständig trocken zentrifugiert.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Die SPE-Säulen können nun in den Feststoffabfall verworfen werden. Das jeweilige Vial entnimmt man am besten mit einer Pinzette vorsichtig aus dem Reagenzglas. In dem Eluat, das sich im Vial gesammelt hat, befinden sich die Benzodiazepine.

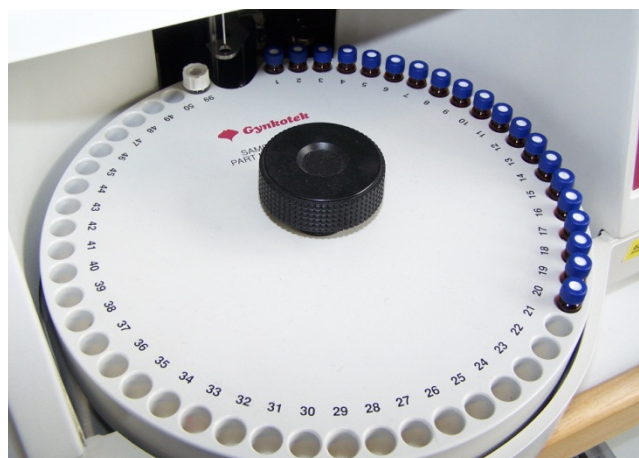
Zu jedem Eluat werden 200 µl H₂O demin. in das Vial gegeben, mit einem geschlitzten blauen Deckel verschlossen und durchgemischt.

Vorbereitung der HPLC Geräte

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Vials werden in einer festgelegten Reihenfolge in den Autosampler hineingestellt:

- 1 Serumkalibrator
- 2 Serumkontrolle Level I
- 3 Serumkontrolle Level II
- 4 Patientenprobe 1
- 5 Patientenprobe 2
- usw.

auf dem letzten Platz steht ein Vial mit H₂O demin. für die Wartung




Durchführung der Messung

Für folgende Schritte ist eine Einweisung durch eine MTA unbedingt nötig!


Desweiteren steht ein Handbuch für die Chromeleon-Software zur Verfügung (Raum 8, HPLC Psy).

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

- alle Geräte des HPLC-1-Arbeitsplatzes (Pumpe, Autosampler, Detektor) einschalten; der Detektor muss mindestens 30 min vor der Messung brennen
- PC starten
- Chromeleonserver starten
- Programm „Chromeleon“ starten, Browser öffnet sich automatisch
- im Browser entsprechendes „Panel“ (Benutzeroberfläche) der jeweiligen Anlage auswählen, in diesem Fall „TCA_HPLC-1_Routine_2009“
- Geräte anwählen („connect“)
- Autosampler Gina 50 anwählen und 250 µl H₂O demin. einspritzen
- Flussrate von jeweils 0,6 ml/min einstellen
- zurück in den Browser: alte (= Messung vom Vortag) als neue Sequenz (mit Datum der aktuellen Messung) unter entsprechenden Ordner speichern → gemessene Daten gehen auf „single“
- Probennummern eintragen, zugewiesenen Platz eintragen und entsprechende Programme auswählen
- jede gemessene Probe geht von „single“ auf „finished“
- nach der letzten gemessenen Probe wird das Wartungsprogramm gestartet
- die gemessenen Konzentrationen werden in Form von „Peaks“ graphisch dargestellt, von der TA ausgewertet und die Werte (in ng/ml) ausgedruckt
- die Werte und das Messdatum werden entsprechend der Probennummer in den offenen Befund in Konbest eingetragen und nach Ermessen der MTA freigegeben (Kriterien festlegen!)
- die Werte werden durch einen Befunder (Arzt und/oder Apotheker) interpretiert und in Konbest schriftlich festgehalten. Der offene Befund ist nun abgeschlossen.
- der abgeschlossene Befund wird ausgedruckt und an den Einsender gefaxt

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

 Universitätsklinikum Regensburg	Klinische Pharmakologie Klinik für Psychiatrie, Psychoso- matik und Psychotherapie	
Klinisch- pharmakologisches Labor	Alprazolam (BZD)	Datum: 01.10.2009

Wartung

Auch hier ist eine Einweisung durch eine MTA nötig!

Eluentenerneuerung

Die Mobile Phase wird alle 4 Wochen gewechselt.

Säulenwechsel

Die Säulen und Eluentenfilter werden je nach Bedarf von einer MTA gewechselt.

Dokumentation der Wartungsarbeiten

Alle Wartungsarbeiten, unabhängig davon ob sie regelmäßig nach oben vorgegebenen Wechselrhythmen oder außer der Reihe erfolgt sind, sind im „Wartung- und Service“-Ordner (Raum 8, HPLC Psy) und digital auf dem HPLC-Laufwerk unter „Serviceberichte“ für jede HPLC-Anlage hinterlegt.

Verfasser	Prüfer	Freigeber
Fuchs, Lindner		

3.3.2 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Bromazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Bromazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Bromazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.3 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Chlordiazepoxid

Für die Konzentrationsbestimmung von Chlordiazepoxid wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Chlordiazepoxid beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.4 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Clobazam

Für die Konzentrationsbestimmung von Clobazam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Clobazam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.5 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Clonazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Clonazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Clonazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.6 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Diazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Diazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Diazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.7 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Nordiazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Nordiazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Nordiazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.8 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Flunitrazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Flunitrazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Flunitrazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.9 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Flurazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Flurazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Flurazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.10 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Nitrazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Nitrazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Nitrazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.3.11 Arbeitsanweisung für die Konzentrationsbestimmung von Oxazepam

Für die Konzentrationsbestimmung von Oxazepam wird analog der Arbeitsanweisung für Alprazolam vorgegangen. Einziger Unterschied ist die Auswahl der mit Oxazepam beklebten Proben aus den Monovettenständer „TCA“.

3.4 Dokumentation der internen Qualitätssicherung

Gemäß der Rili-BÄK sind für jeden Wirkstoff zunächst die Zielwerte und die vom Hersteller angegebenen Intervalle der Kontrollproben aufgelistet.

Die exakte Bezeichnung dieser Kontrollproben unterscheidet sich bei den verschiedenen Messmethoden:

TDM 1a-Verfahren: Kontrolle Level 1 und Kontrolle Level 2

TDM 2-Verfahren: Kontrolle Level 1 und Kontrolle Level 2

TDM 3a-Verfahren: Kontrolle Level 1 Bio-Rad, Kontrolle Level 2 Bio-Rad und Kontrolle UTAK

TDM 3b-Verfahren: Kontrolle Level 1 Bio-Rad, Kontrolle Level 2 Bio-Rad und Kontrolle UTAK

BZD-Verfahren: Serumkontrolle Level I und Serumkontrolle Level II

Zusätzlich sind für jeden Wirkstoff der Mittelwert, die Standardabweichung, der Varianzkoeffizient (in Prozent), der quadratische Mittelwert der Messabweichung (QUAMM, in Prozent) und die berechnete relative laboratoriumsinterne Fehlergrenze (in Prozent) tabellarisch mit zeitlichem Bezug aufgeführt.

Sofern entsprechende Daten vorhanden sind, schließen sich den tabellarisch aufgelisteten Messergebnissen jeweils Grafiken an, die den Verlauf der Kontrollproben des jeweiligen Wirkstoffes vom März 2009 bis Februar 2010, aufgeteilt auf vier verschiedene Zeiträume, zeigen.

Besonderheiten des jeweiligen Wirkstoffs sind unter „Anmerkungen“ erläutert.

3.4.1 Amisulprid (TDM 2-Verfahren)

Kontrolle Level 1

Zielwert (Sollwert): 50 ng/ml

Intervall Hersteller: 42,5 - 57,5 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	54,05	52,82	54,27	55,35
Standardabweichung	0,72	1,76	4,07	1,83
Varianzkoeffizient	1,34%	3,34%	7,49%	3,31%
QUAMM	8,23%	6,58%	11,58%	11,25%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	9,20%	11,99%	25,85%	15,34%

Tabelle 2a: Berechnungen für Amisulprid Kontrolle Level 1

Kontrolle Level 2

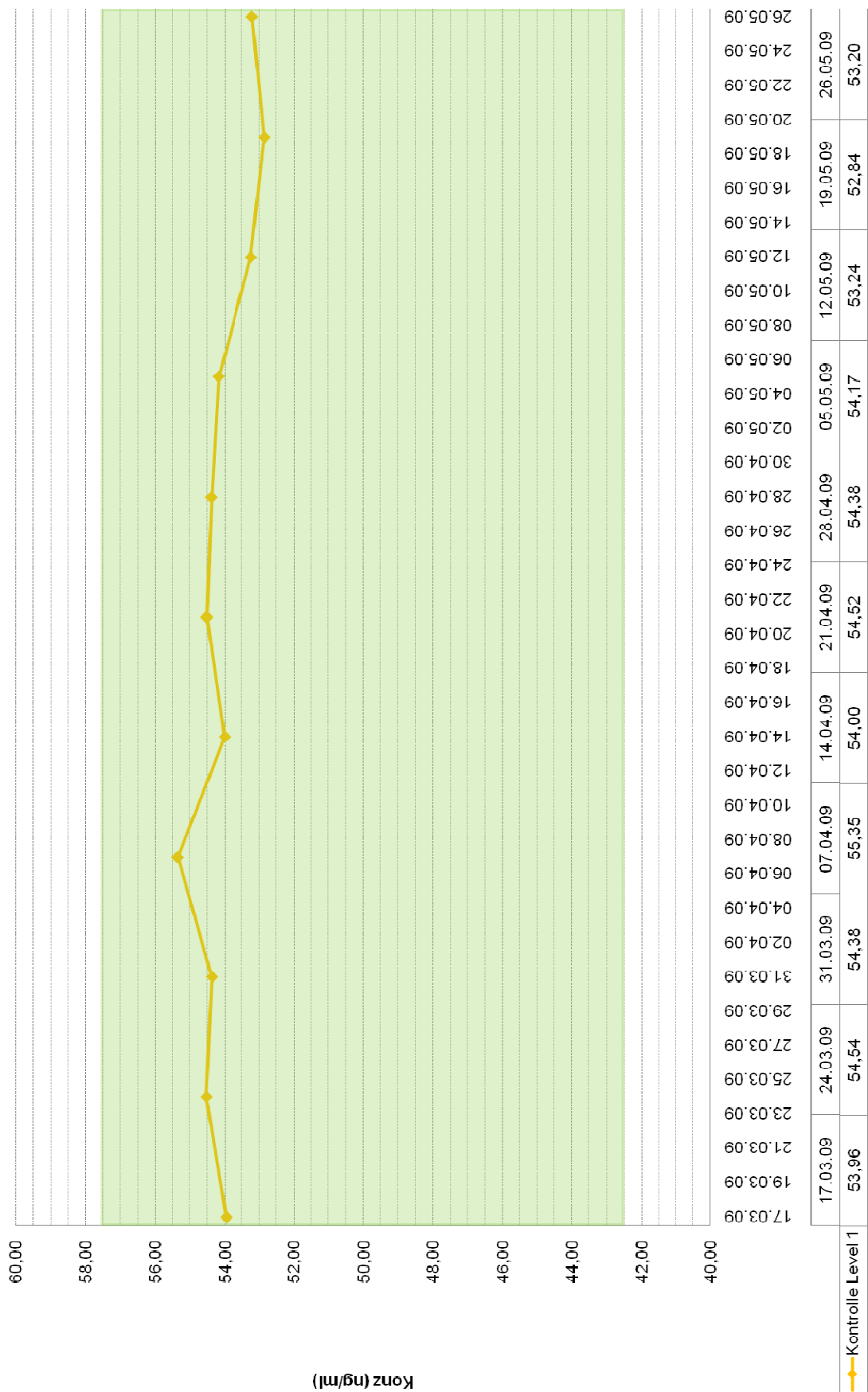
Zielwert (Sollwert): 500 ng/ml

Intervall Hersteller: 425 - 575 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	514,22	507,88	507,20	512,60
Standardabweichung	6,76	7,73	37,12	35,68
Varianzkoeffizient	1,31%	1,52%	7,32%	6,96%
QUAMM	3,12%	2,17%	7,28%	7,26%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	4,95%	4,90%	22,32%	21,56%

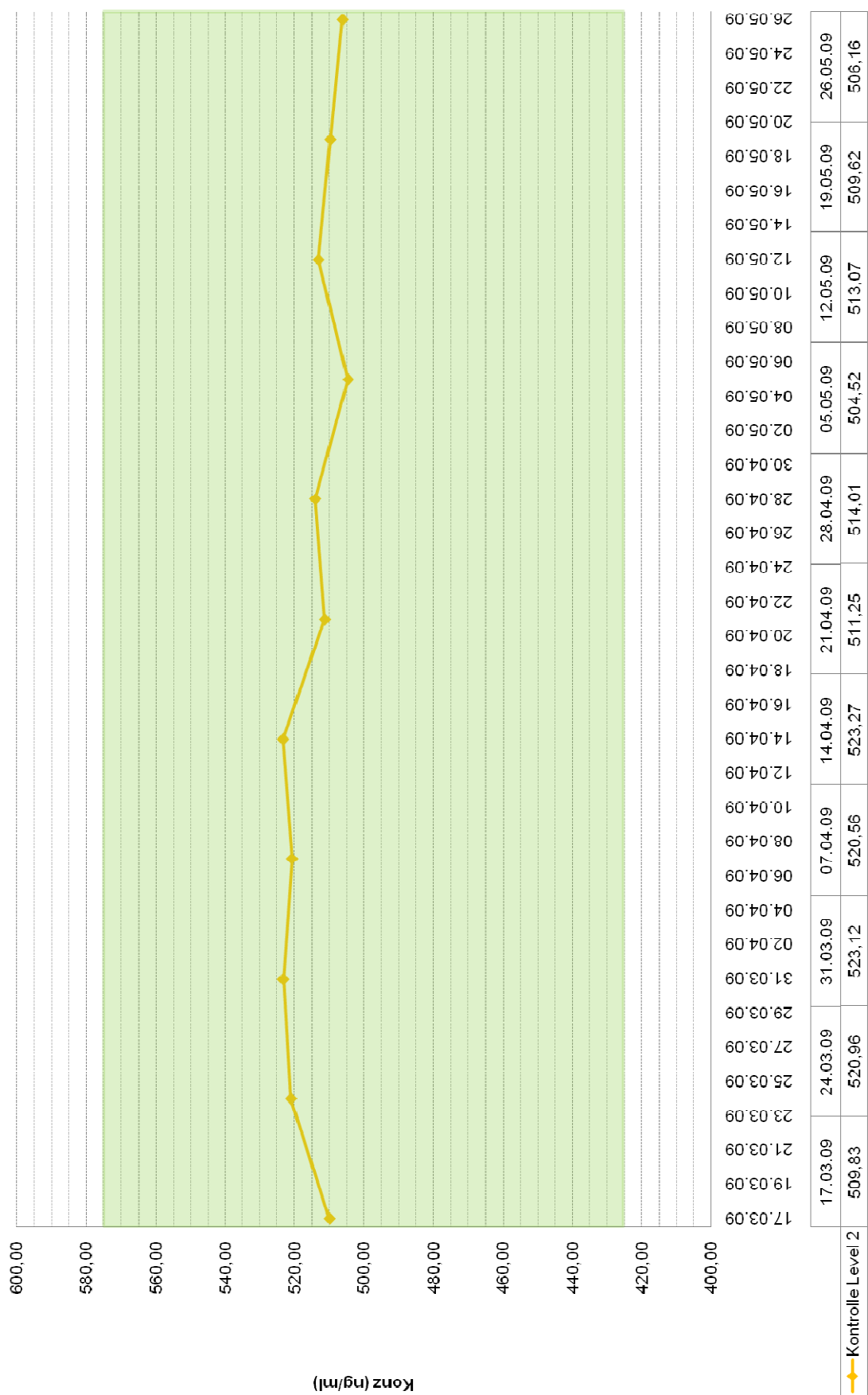
Tabelle 2b: Berechnungen für Amisulprid Kontrolle Level 2

Amisulprid Kontrolle Level 1 März-Mai

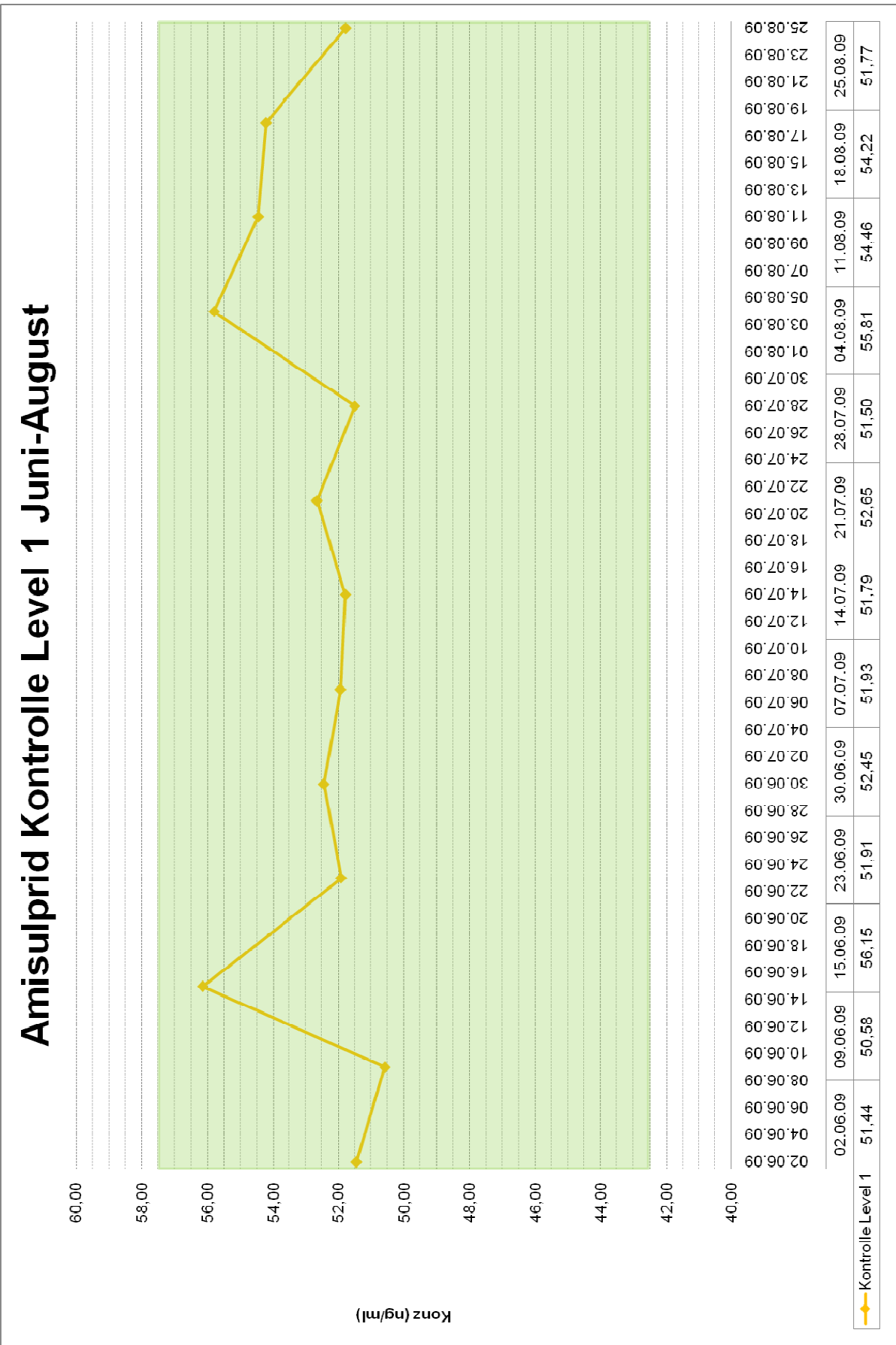


Graphik 1a: Amisulprid Kontrolle Level 1 März-Mai

Amisulprid Kontrolle Level 2 März-Mai

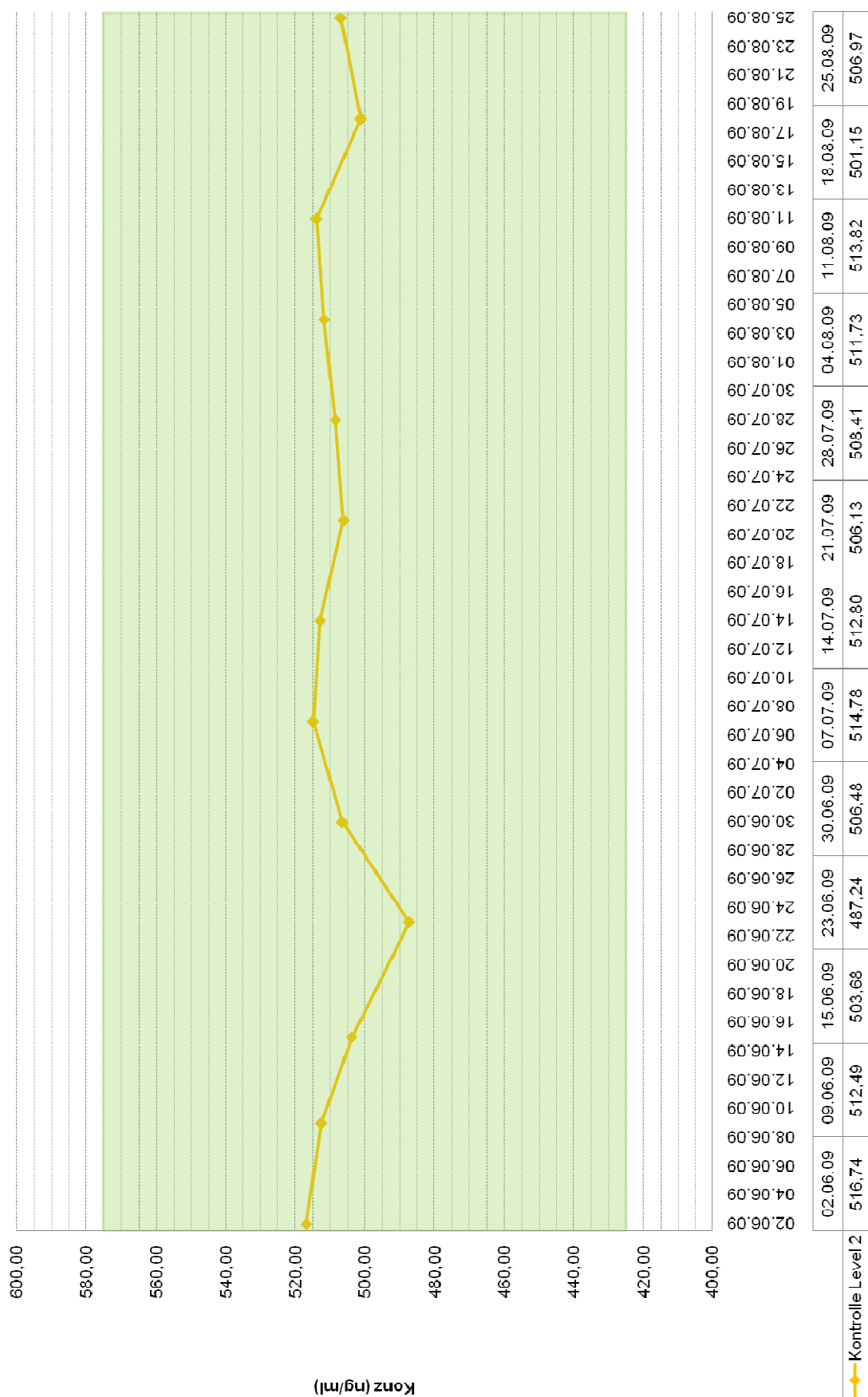


Graphik 1b: Amisulprid Kontrolle Level 2 März-Mai

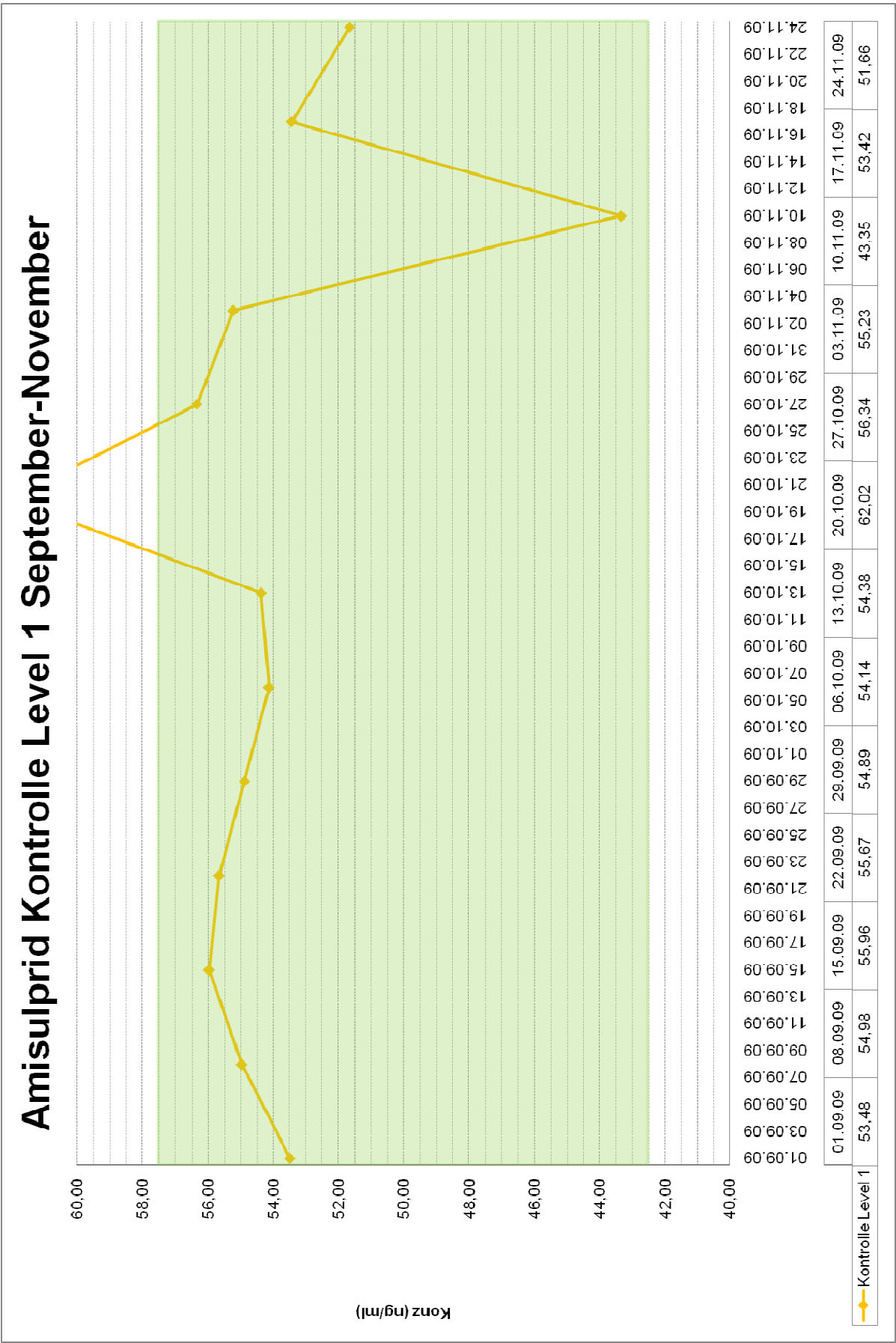


Graphik 1c: Amisulprid Kontrolle Level 1 Juni-August

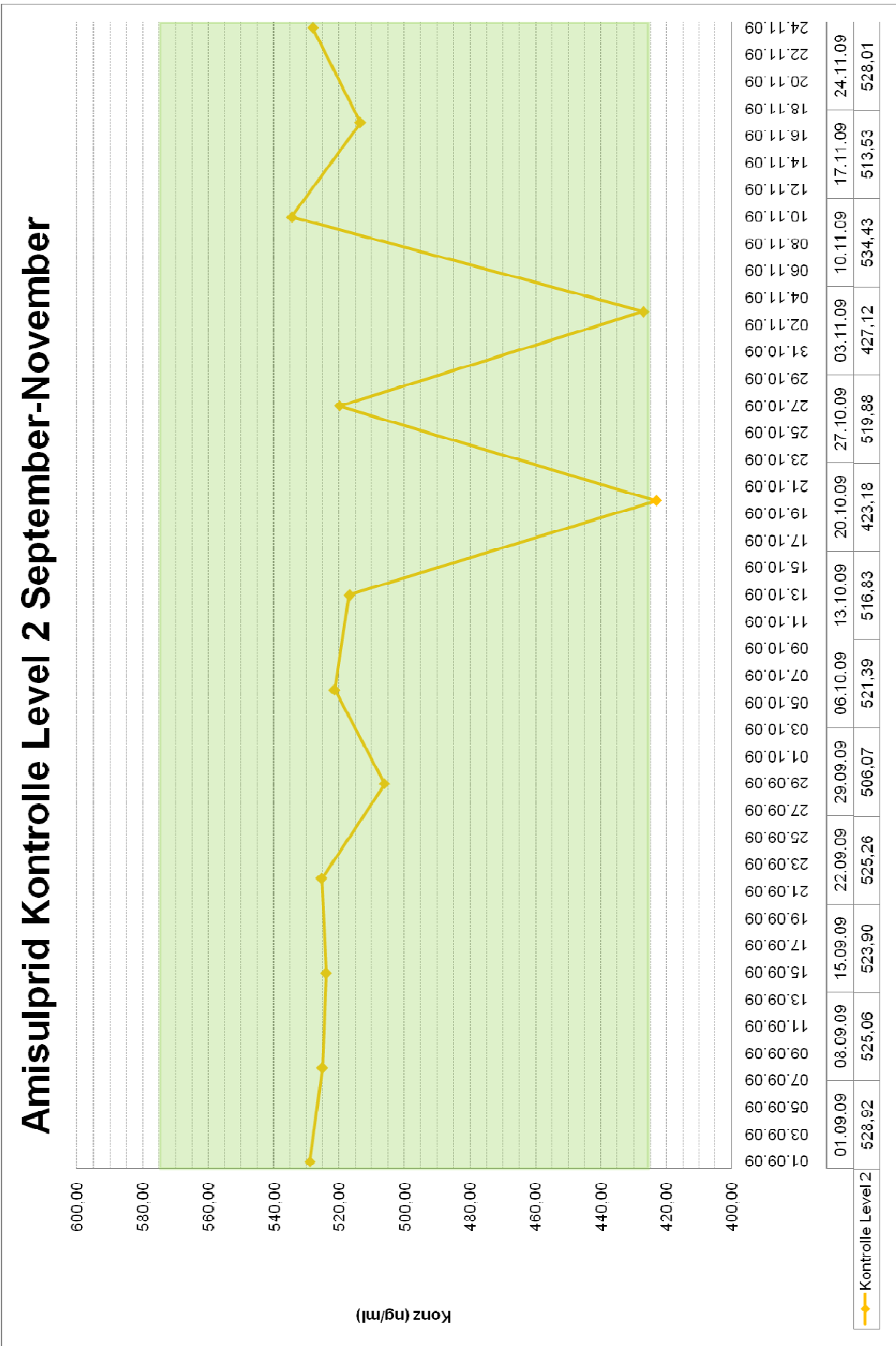
Amisulprid Kontrolle Level 2 Juni-August



Graphik 1d: Amisulprid Kontrolle Level 2 Juni-August

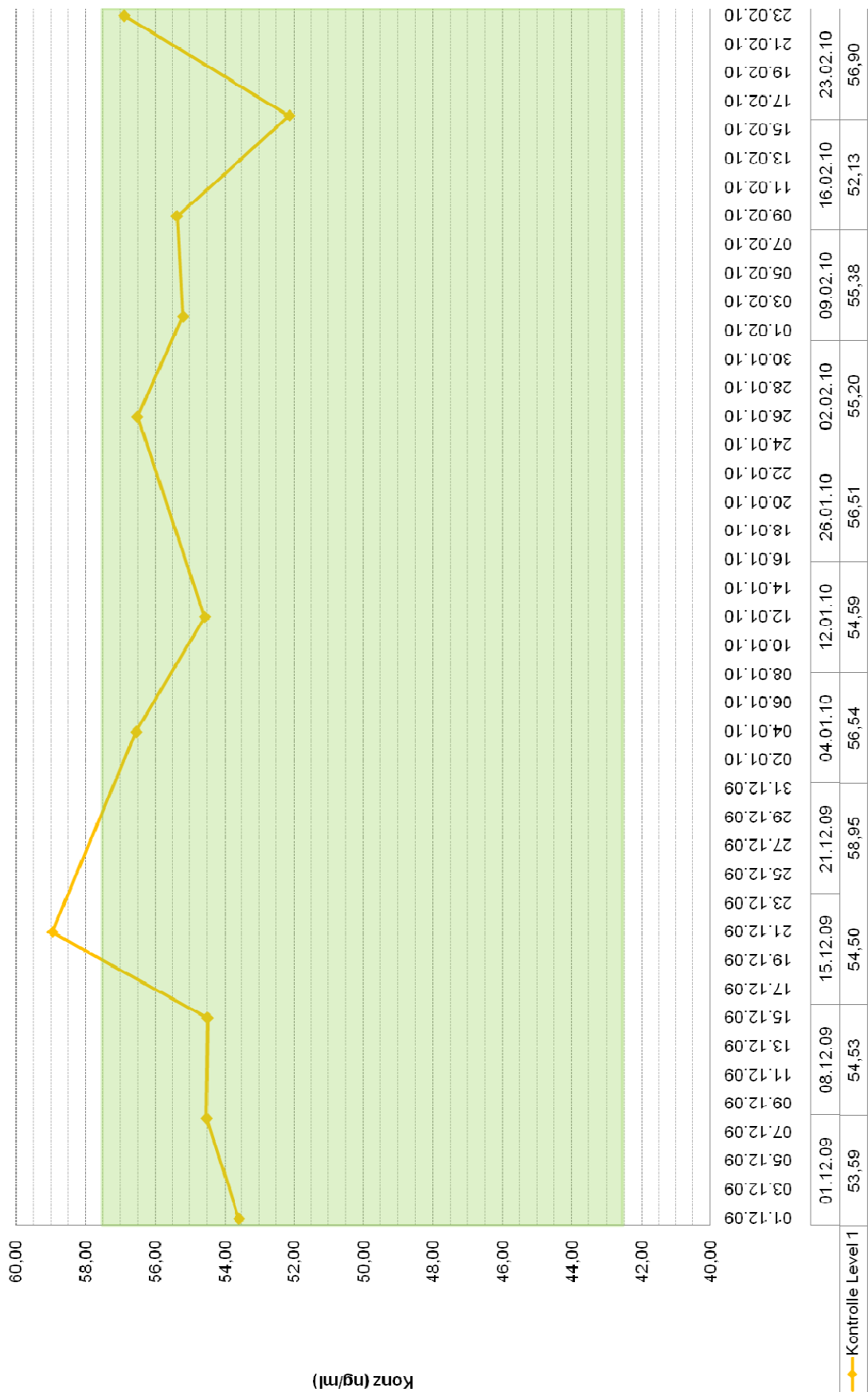


Graphik 1e: Amisulprid Kontrolle Level 1 September-November



Graphik 1f: Amisulprid Kontrolle Level 2 September-November

Amisulprid Kontrolle Level 1 Dezember-Februar



Graphik 1g: Amisulprid Kontrolle Level 1 Dezember-Februar

Amisulprid Kontrolle Level 2 Dezember-Februar



Graphik 1h: Amisulprid Kontrolle Level 2 Dezember-Februar

3.4.2 Aripiprazol (TDM 1a-Verfahren)

Kontrolle Level 1

Zielwert (Sollwert): 50 ng/ml

Intervall Hersteller: 42,5 - 57,5 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	48,78	52,23	50,44	52,35
Standardabweichung	3,66	4,62	6,58	5,86
Varianzkoeffizient	7,51%	8,85%	13,04%	11,20%
QUAMM	7,43%	9,96%	12,67%	12,02%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	22,11%	28,10%	39,48%	35,49%

Tabelle 3a: Berechnungen für Aripiprazol Kontrolle Level 1

Kontrolle Level 2

Zielwert (Sollwert): 600 ng/ml

Intervall Hersteller: 510 - 690 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	667,01	621,86	645,62	661,05
Standardabweichung	32,52	75,92	63,72	65,25
Varianzkoeffizient	4,87%	12,21%	9,87%	9,87%
QUAMM	12,32%	12,72%	12,73%	14,53%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	19,72%	38,13%	32,76%	34,17%

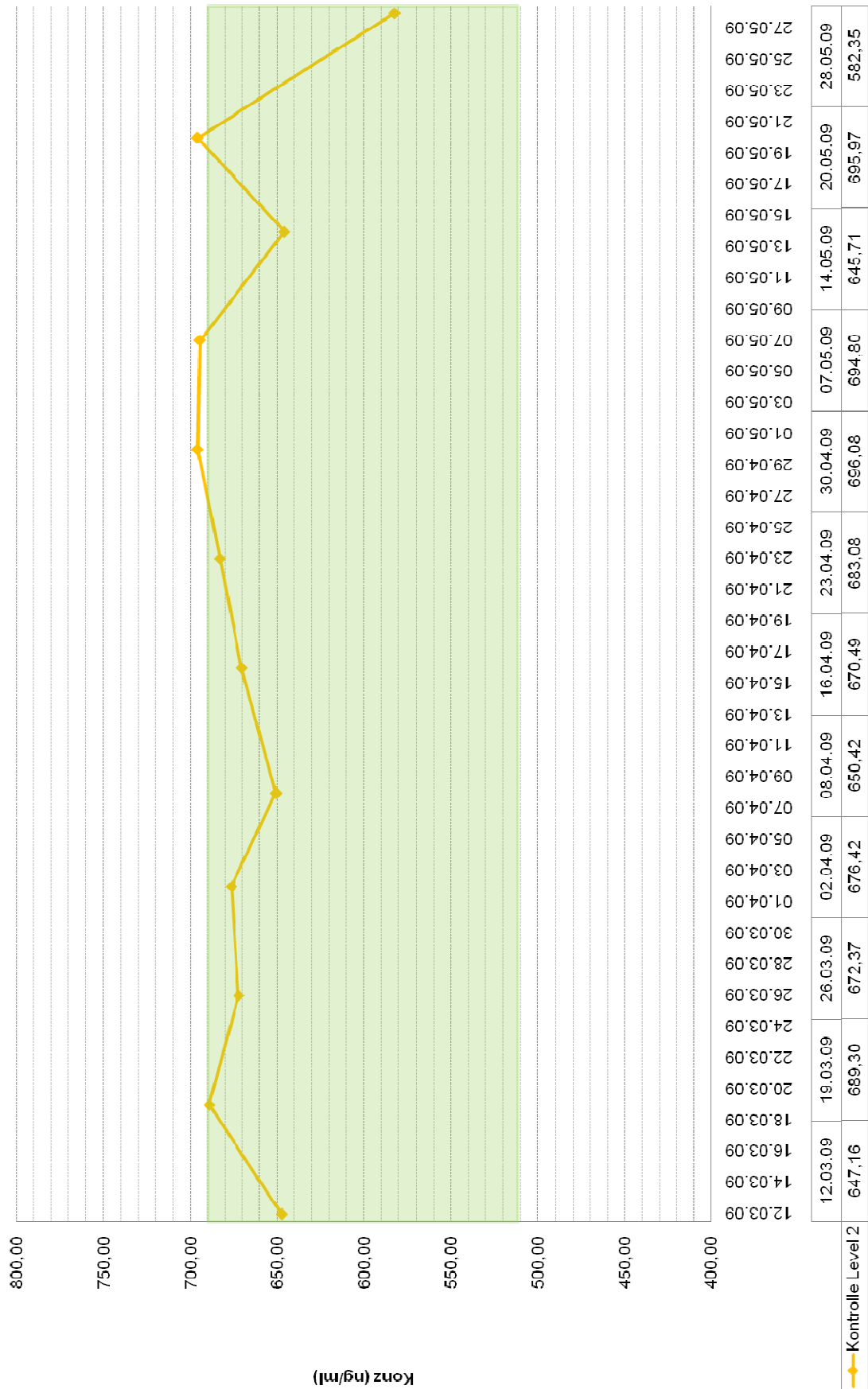
Tabelle 3b: Berechnungen für Aripiprazol Kontrolle Level 2

Aripiprazol Kontrolle Level 1 März-Mai



Graphik 2a: Aripiprazol Kontrolle Level 1 März-Mai

Aripiprazol Kontrolle Level 2 März-Mai



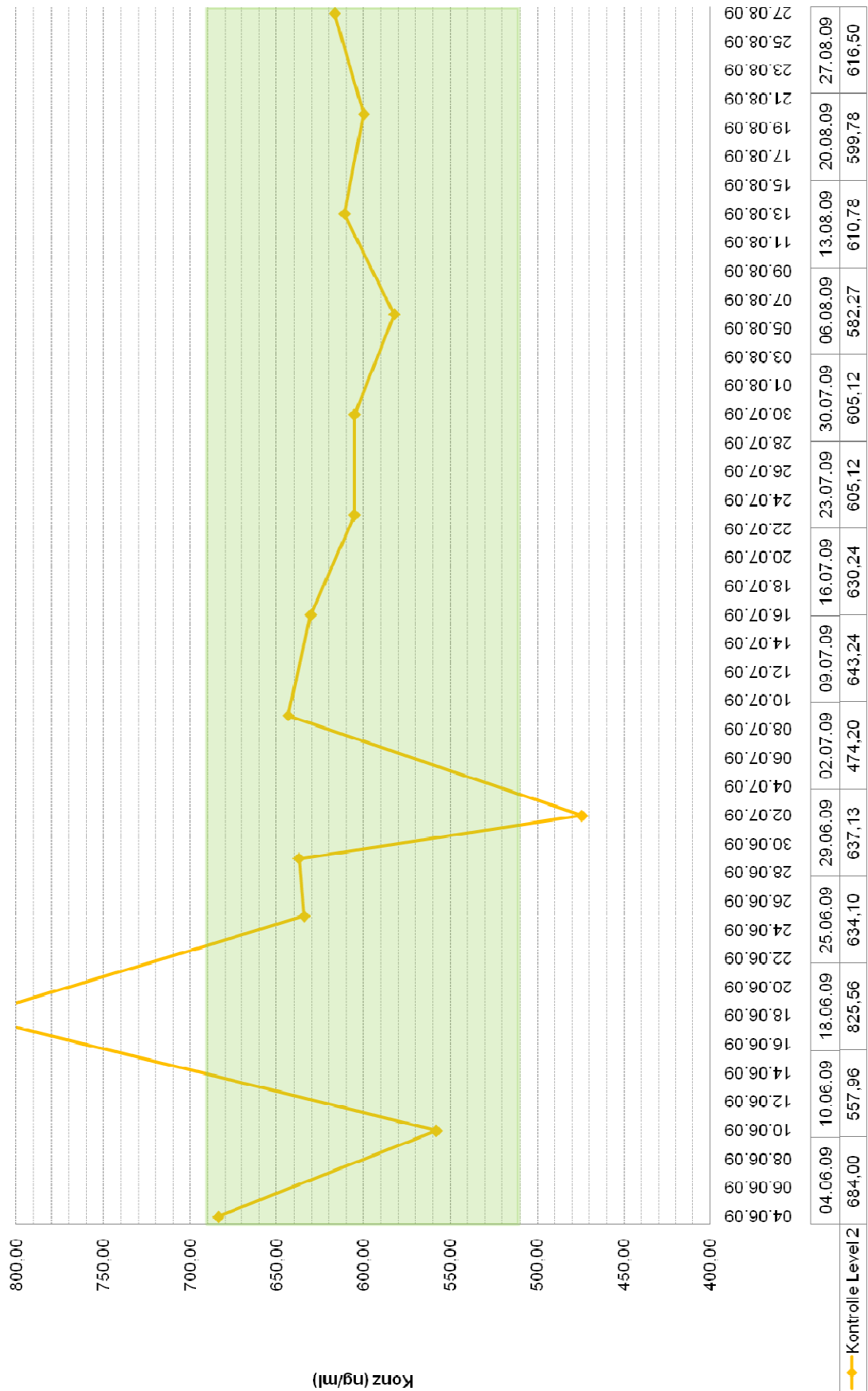
Graphik 2b: Aripiprazol Kontrolle Level 2 März-Mai

Aripiprazol Kontrolle Level 1 Juni-August



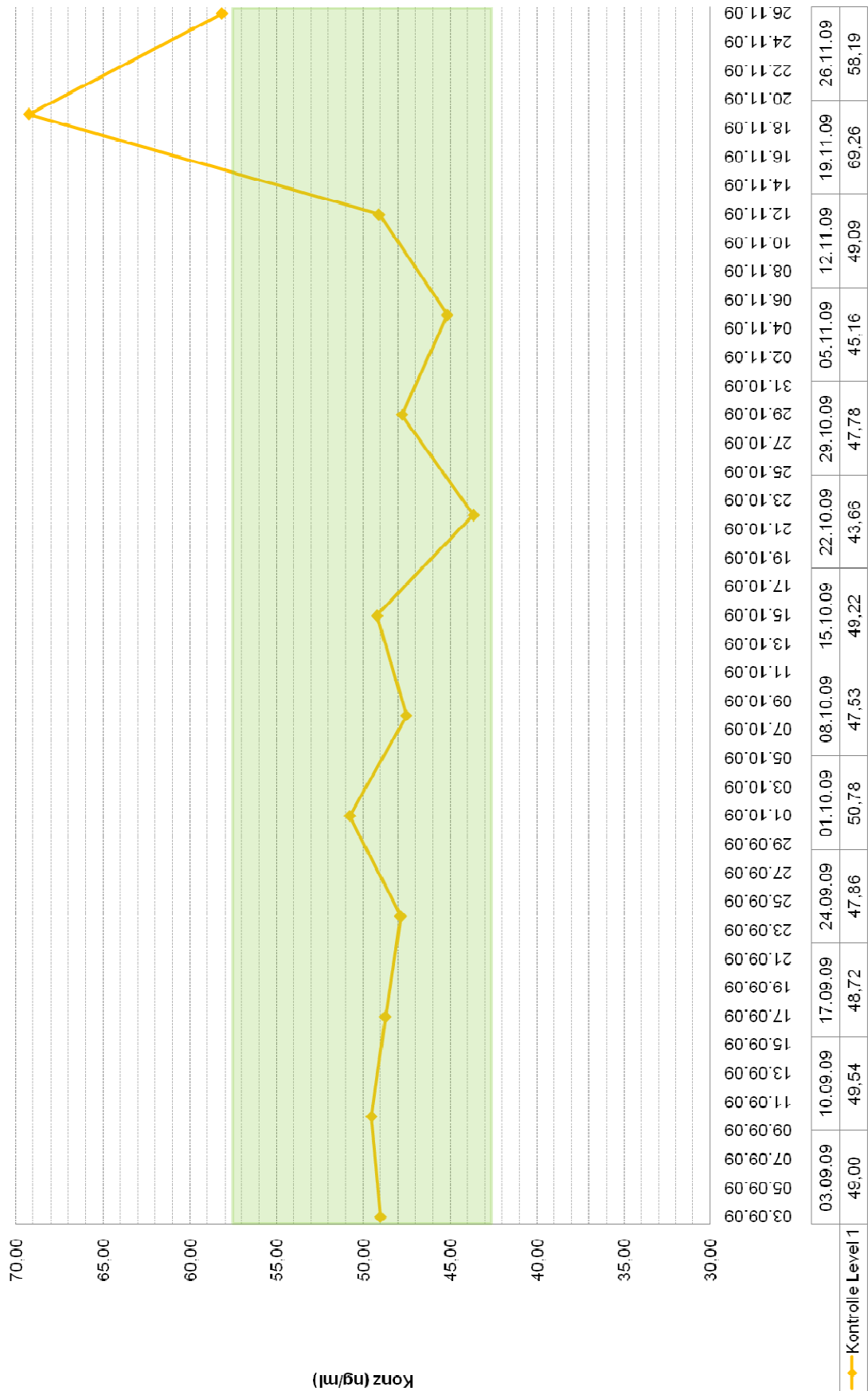
Graphik 2c: Aripiprazol Kontrolle Level 1 Juni-August

Aripiprazol Kontrolle Level 2 Juni-August

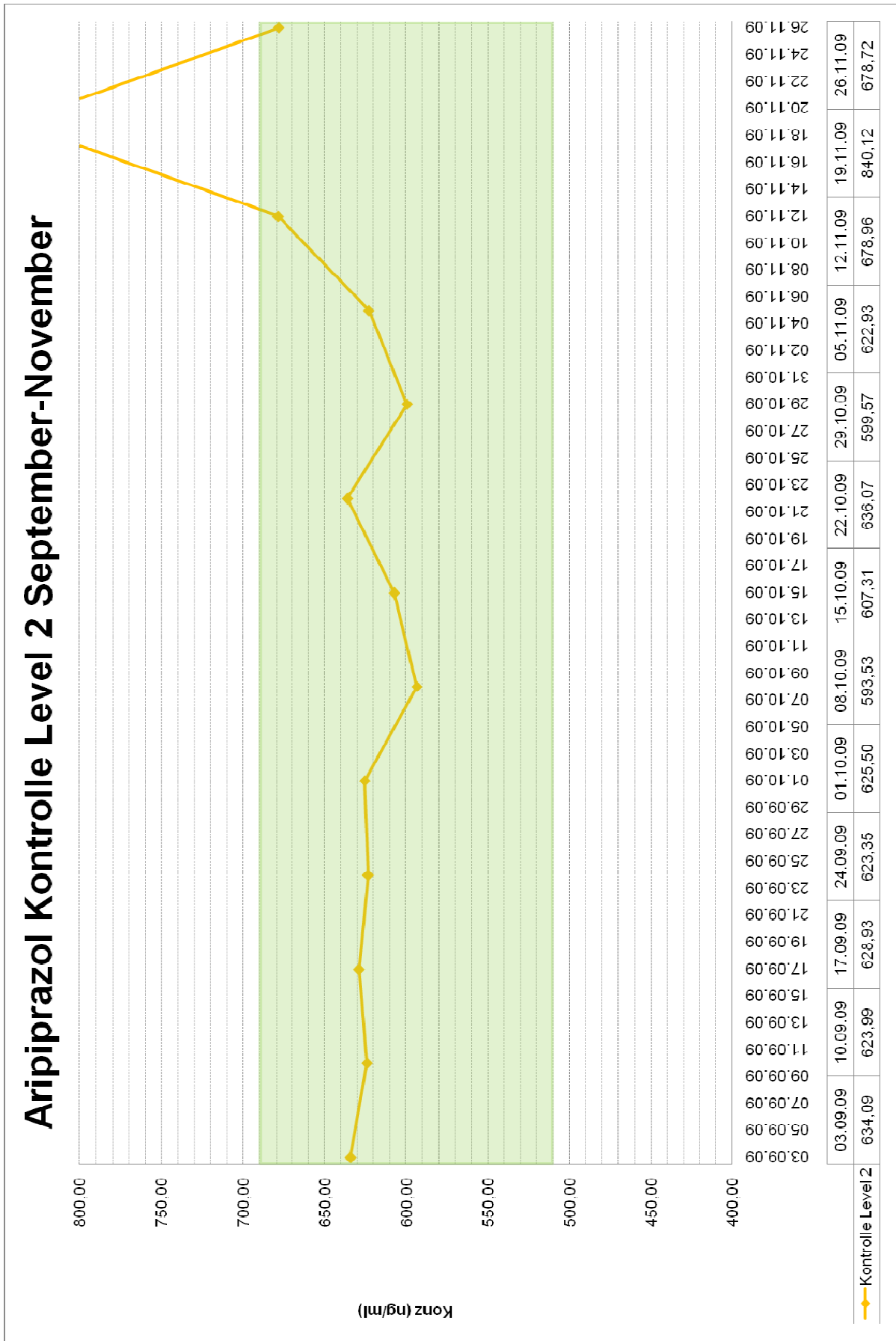


Graphik 2d: Aripiprazol Kontrolle Level 2 Juni-August

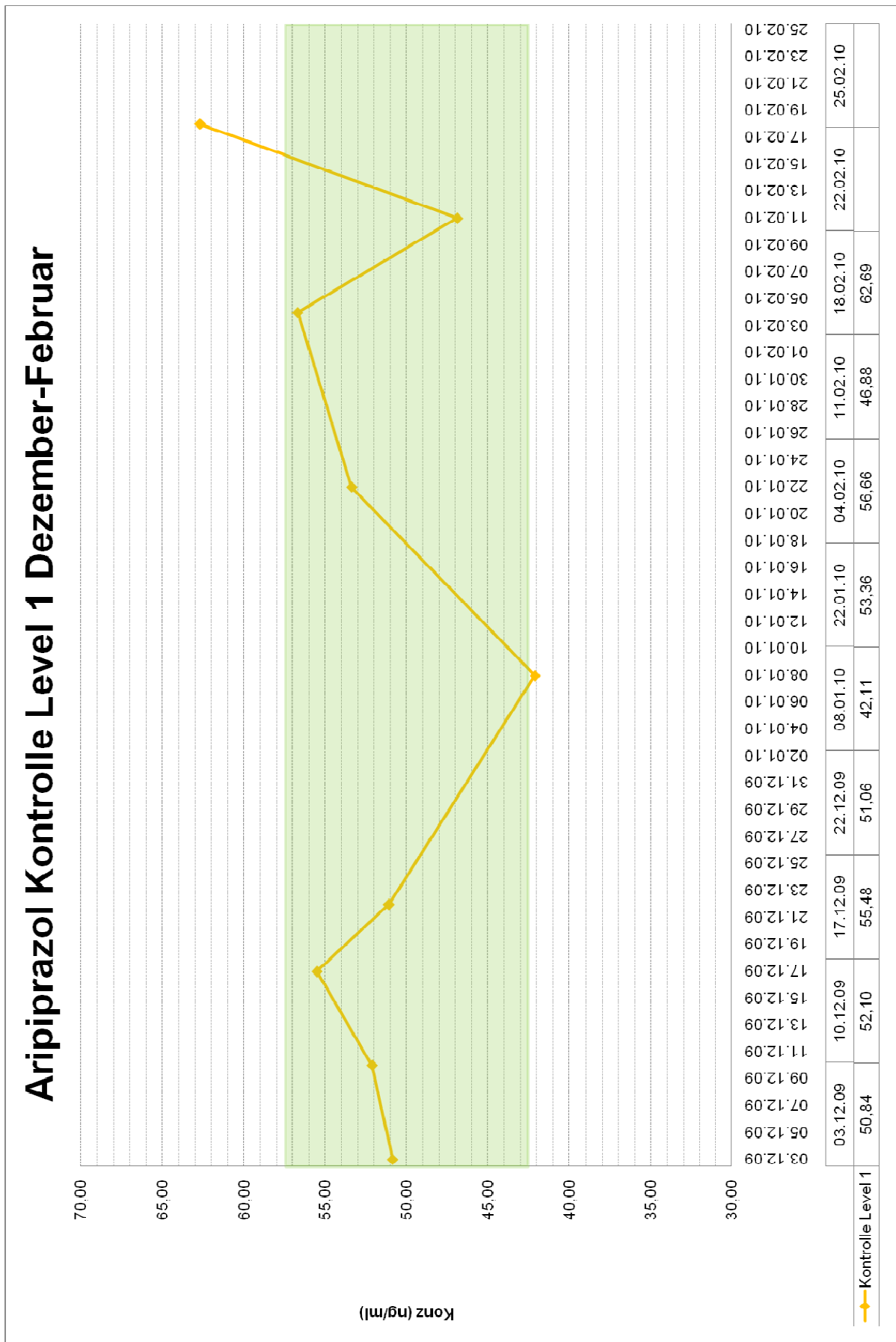
Aripiprazol Kontrolle Level 1 September-November



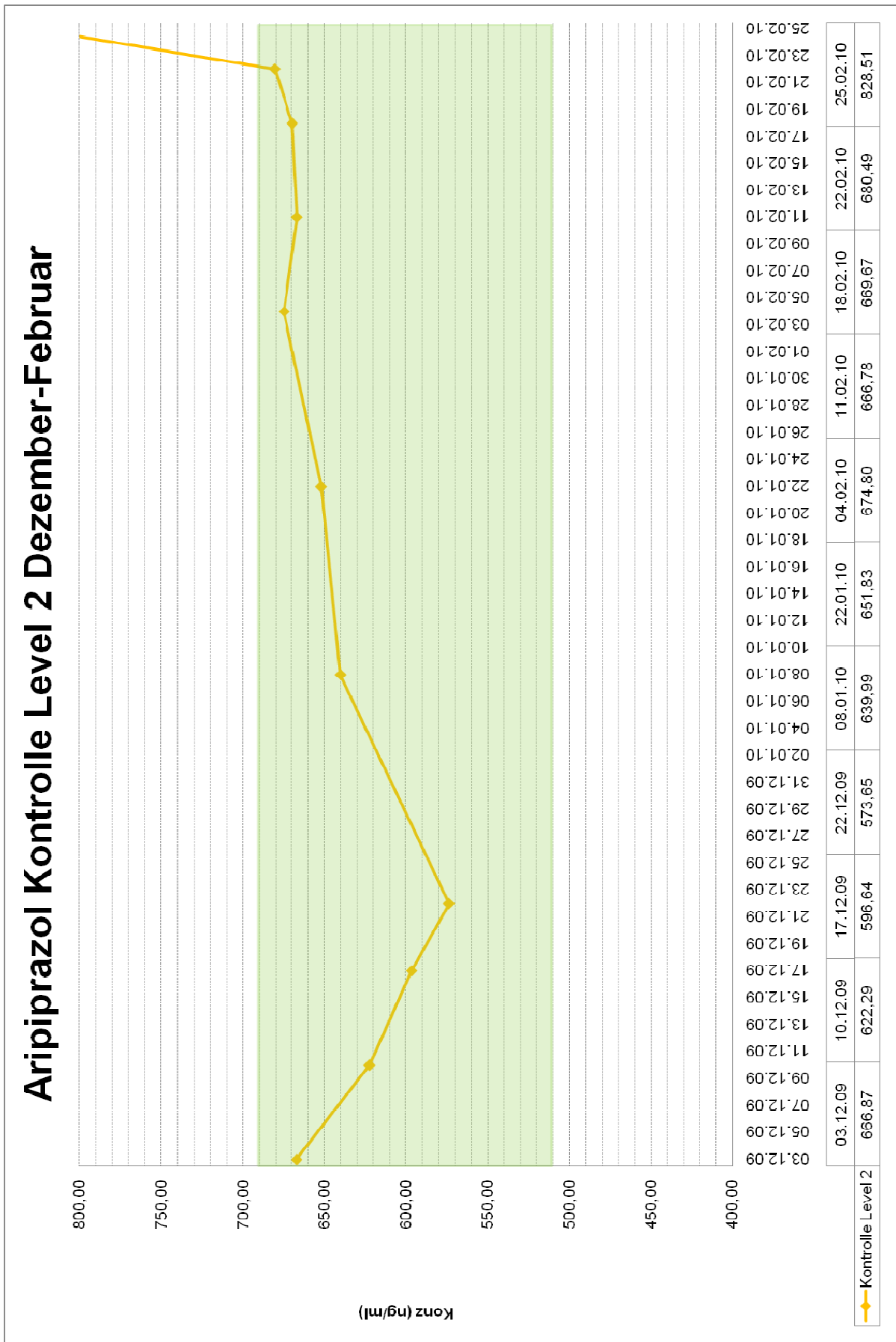
Graphik 2e: Aripiprazol Kontrolle Level 1 September-November



Graphik 2f: Aripiprazol Kontrolle Level 2 September-November



Graphik 2g: Aripiprazol Kontrolle Level 1 Dezember-Februar



Graphik 2h: Aripiprazol Kontrolle Level 2 Dezember-Februar

3.4.3 Clozapin (TDM 3a-Verfahren)

Anmerkung: Seit Dezember 2009 werden zusätzlich UTAK - Kontrollen eingesetzt.

Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 230 ng/ml

Intervall Hersteller: 180 - 280 ng/ml (~22%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	182,85	192,66	202,30	-----
Standardabweichung	58,39	33,81	4,55	-----
Varianzkoeffizient	31,93%	17,55%	2,25%	-----
QUAMM	31,92%	21,59%	12,17%	-----
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	78,87%	46,99%	13,43%	-----

Tabelle 4a: Berechnungen für Clozapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 990 ng/ml

Intervall Hersteller: 790 – 1190 ng/ml (~20%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	850,46	711,13	843,84	901,83
Standardabweichung	28,14	174,53	69,87	74,22
Varianzkoeffizient	3,31%	24,54%	8,28%	8,23%
QUAMM	14,36%	32,64%	16,29%	11,48%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	16,47%	59,92%	25,81%	24,19%

Tabelle 4b: Berechnungen für Clozapin Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Kontrolle UTAK

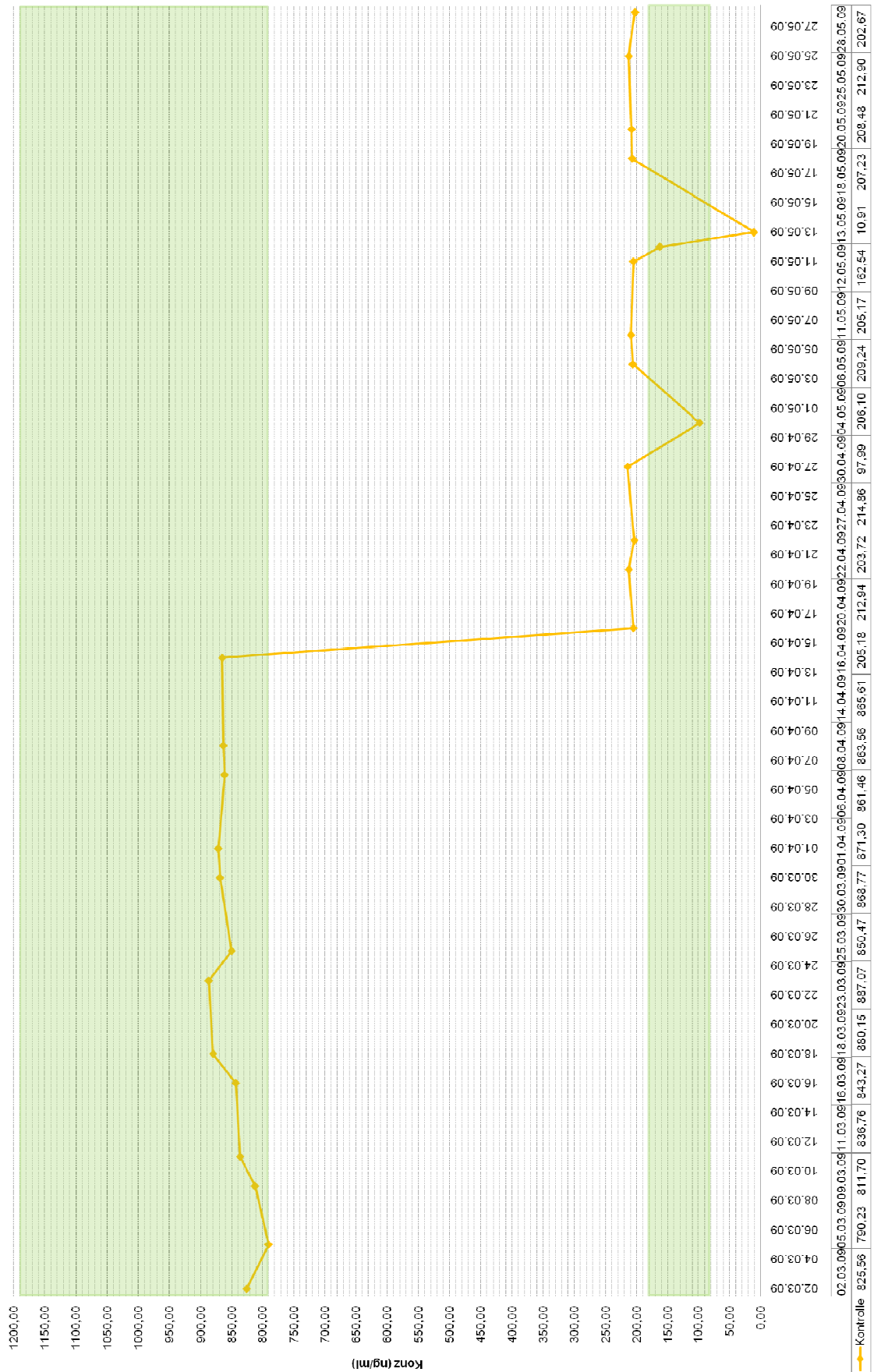
Zielwert (Sollwert): 800 ng/ml

Intervall Hersteller: 680 – 920 ng/ml (15%)

	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	901,83
Standardabweichung	74,22
Varianzkoeffizient	8,23%
QUAMM	11,48%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	24,19%

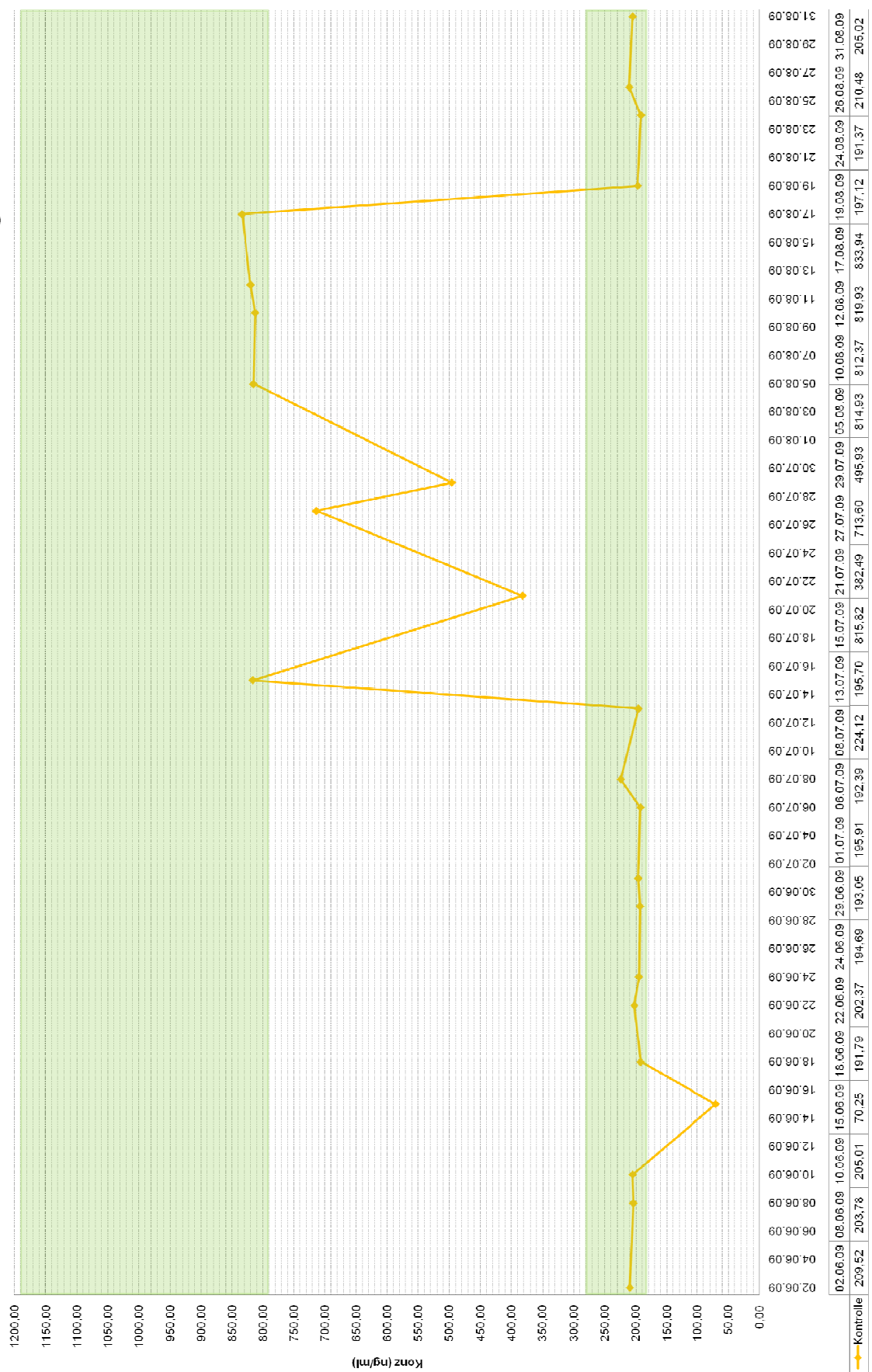
Tabelle 4c: Berechnungen für Clozapin Kontrolle UTAK

Clozapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad März-Mai

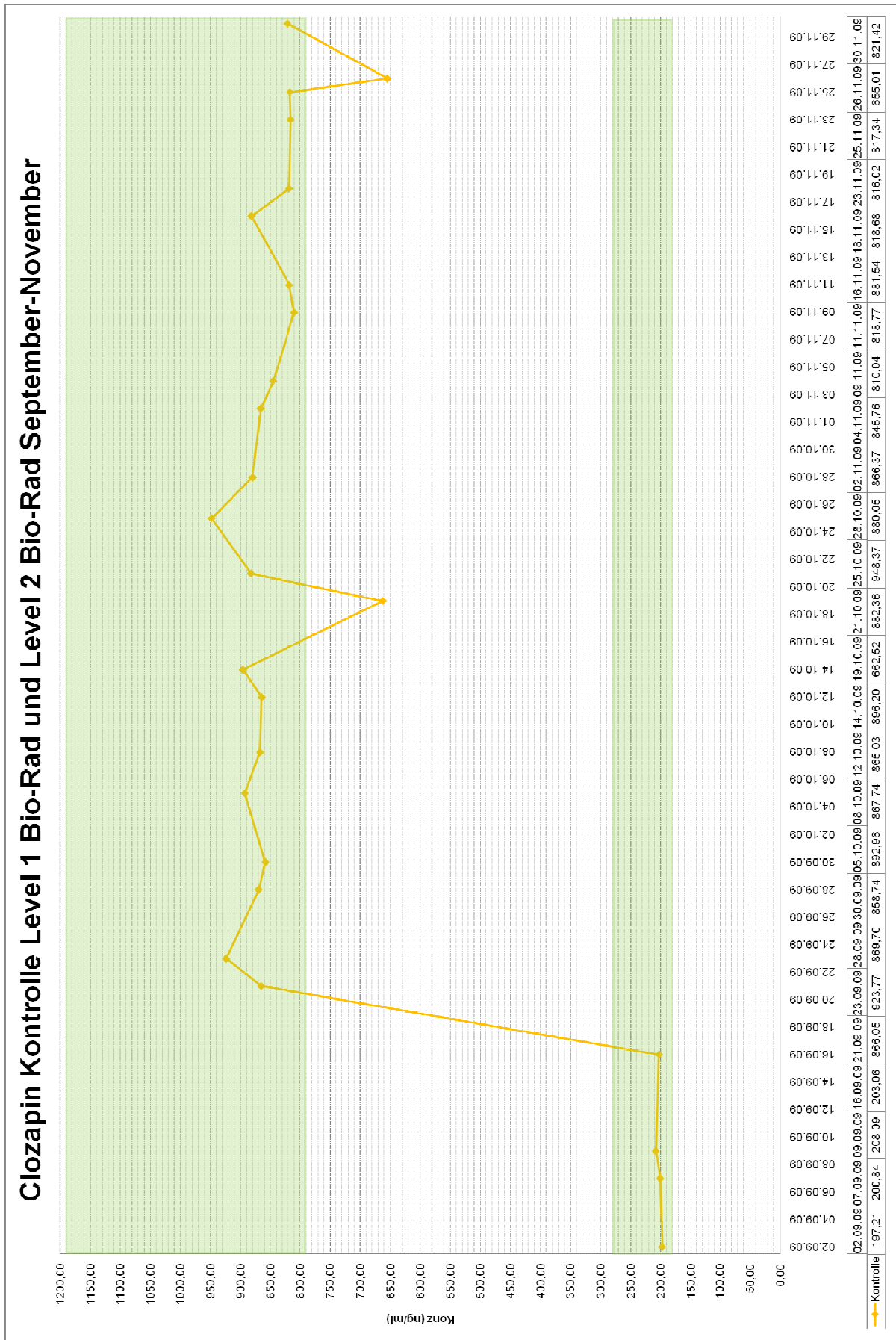


Graphik 3a: Clozapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad März-Mai

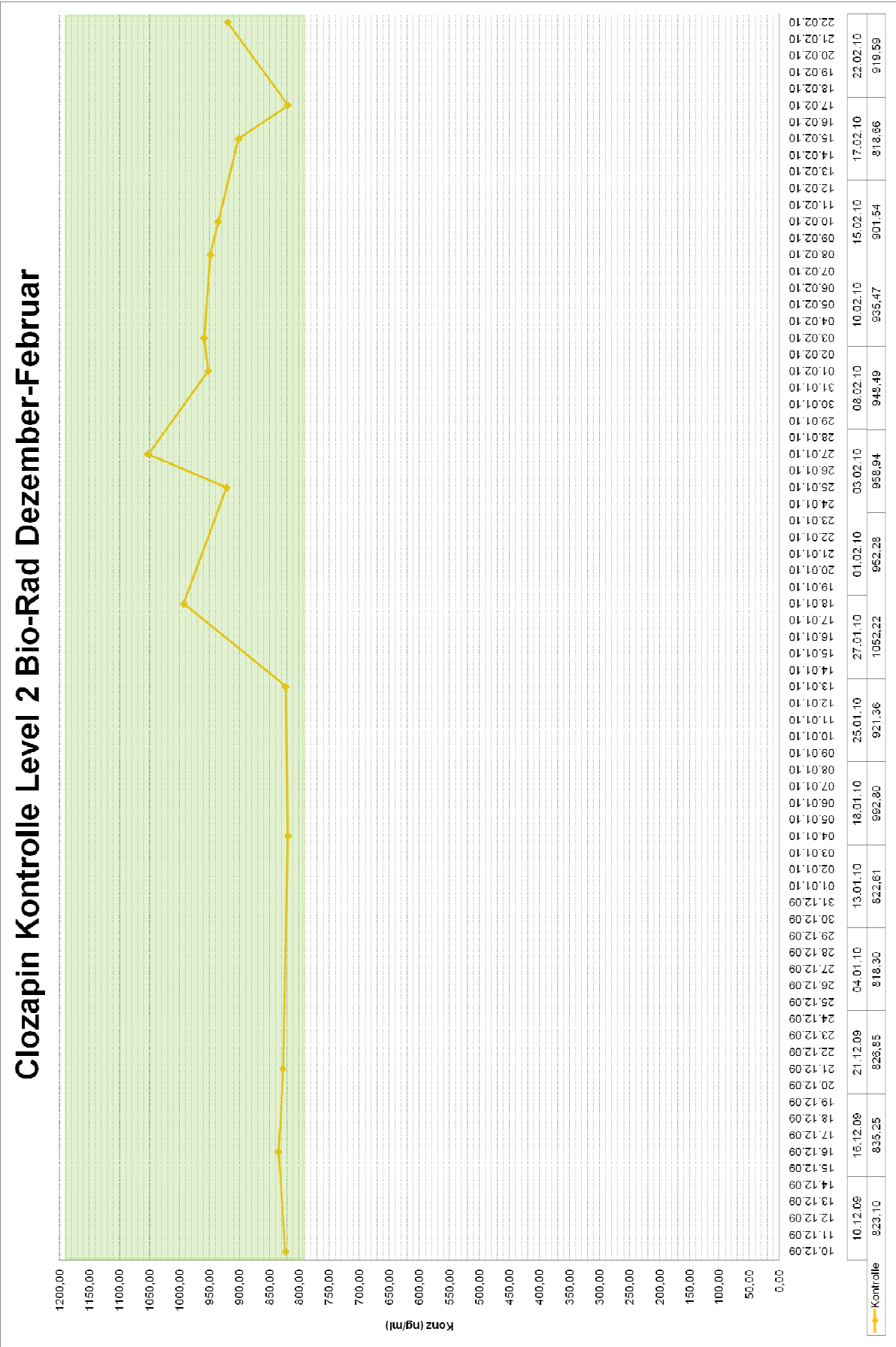
Clozapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad Juni-August



Graphik 3b: Clozapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad Juni-August

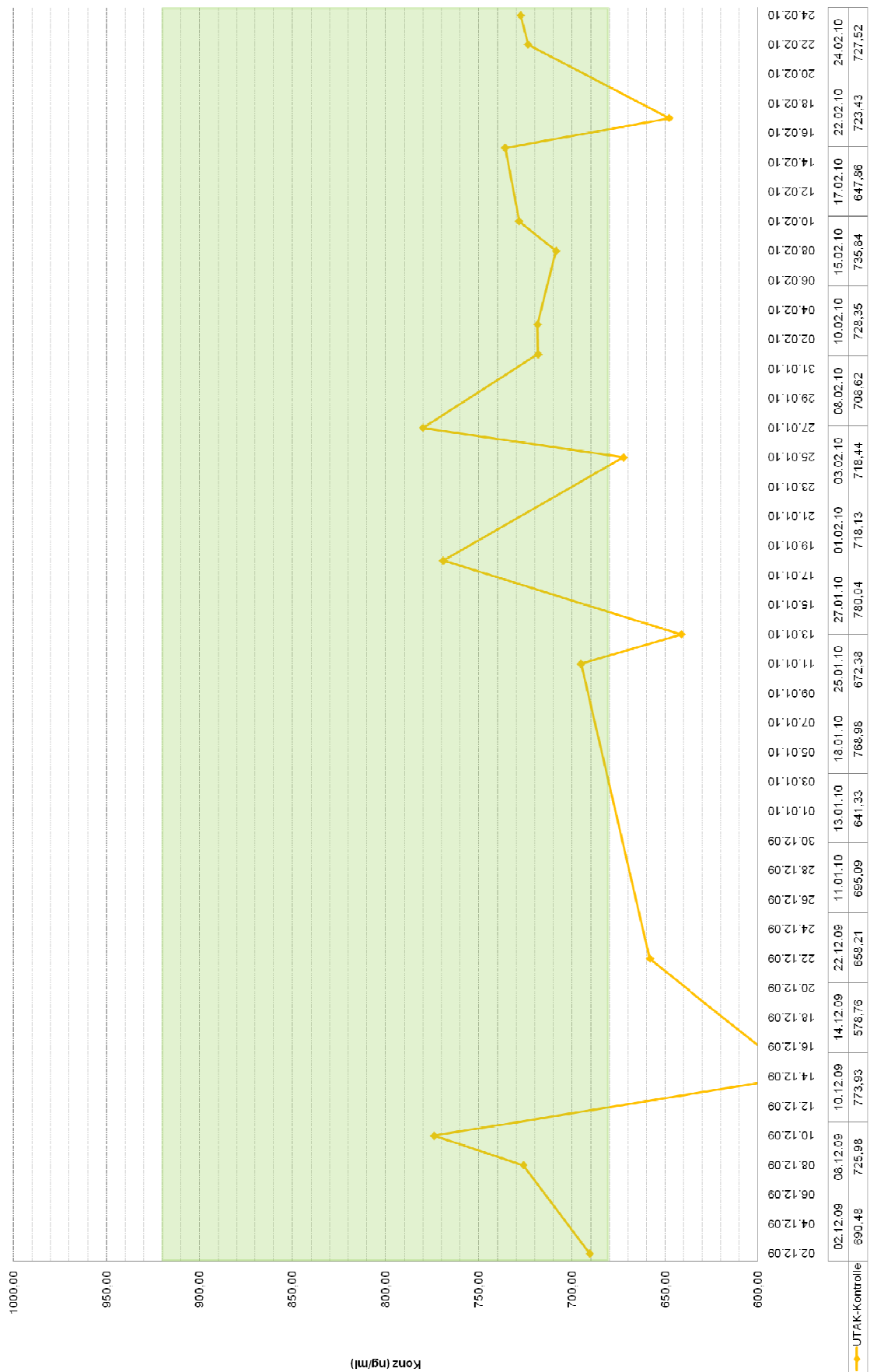


Graphik 3c: Clozapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad September-November



Graphik 3d: Clozapin Kontrolle Level 2 Bio-Rad Dezember-Februar

Clozapin Kontrolle UTAK Dezember-Februar



Graphik 3e: Clozapin Kontrolle UTAK Dezember-Februar

3.4.4 Haloperidol (TDM 3b-Verfahren)

Anmerkungen: Bis Juli 2009 sind von Haloperidol keine Daten vorhanden. Daher sind die Berechnungen und Grafiken ab August 2009 für jeweils drei Monate erstellt, es werden also die Zeiträume August bis Oktober und November bis Januar zusammengefasst.

Seit November 2009 werden ausschließlich UTAK-Kontrollen eingesetzt.

Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 2 ng/ml

Intervall Hersteller: 1,7 - 2,3 ng/ml (15%)

	August 2009- Oktober 2009	November 2009- Januar 2010
Mittelwert	2,02	-----
Standardabweichung	1,18	-----
Varianzkoeffizient	58,20%	-----
QUAMM	54,51%	-----
laboratoriumsinterne Fehlergrenze	176,60%	-----

Tabelle 5a: Haloperidol Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 30 ng/ml

Intervall Hersteller: 25,5 - 34,5 ng/ml (15%)

	August 2009- Oktober 2009	November 2009- Januar 2010
Mittelwert	37,31	-----
Standardabweichung	6,68	-----
Varianzkoeffizient	17,92%	-----
QUAMM	32,25%	-----
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	71,14%	-----

Tabelle 5b: Haloperidol Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Kontrolle UTAK

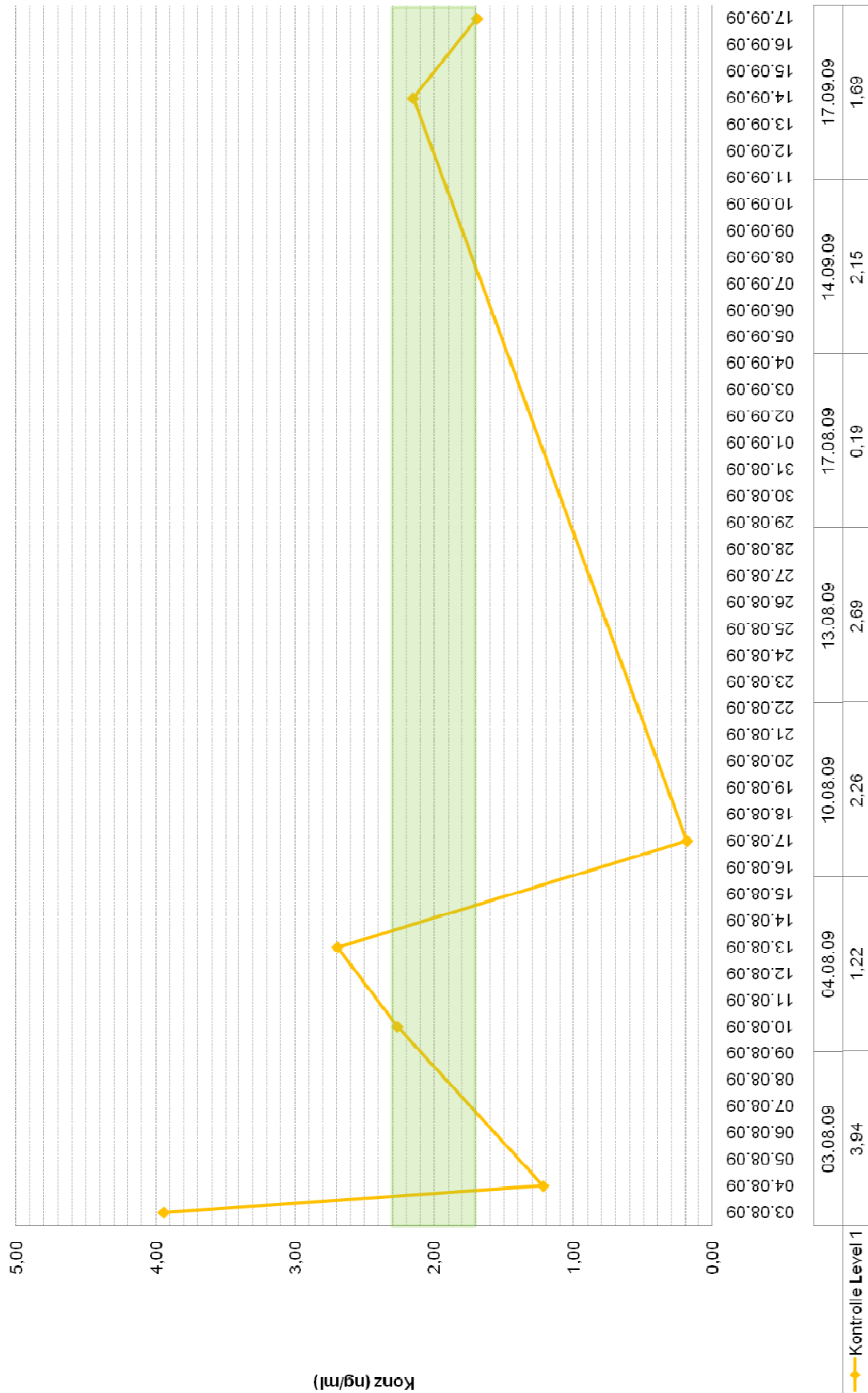
Zielwert (Sollwert): 20 ng/ml

Intervall Hersteller: 17 - 23 ng/ml (15%)

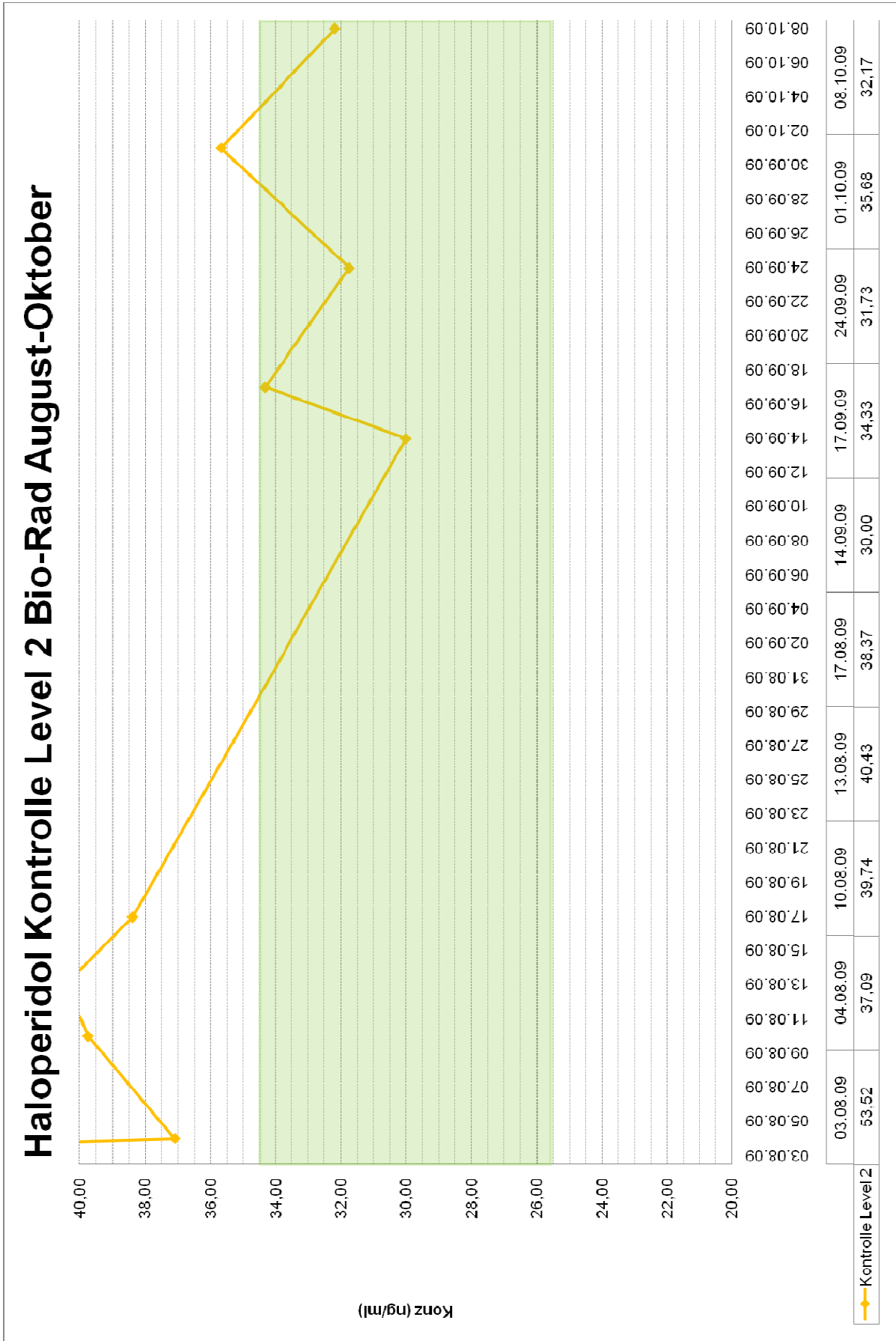
	November 2009- Januar 2010
Mittelwert	19,86
Standardabweichung	3,16
Varianzkoeffizient	15,89%
QUAMM	14,63%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	47,34%

Tabelle 5c: Berechnungen für Haloperidol Kontrolle UTAK

Haloperidol Kontrolle Level 1 Bio-Rad August-Oktober

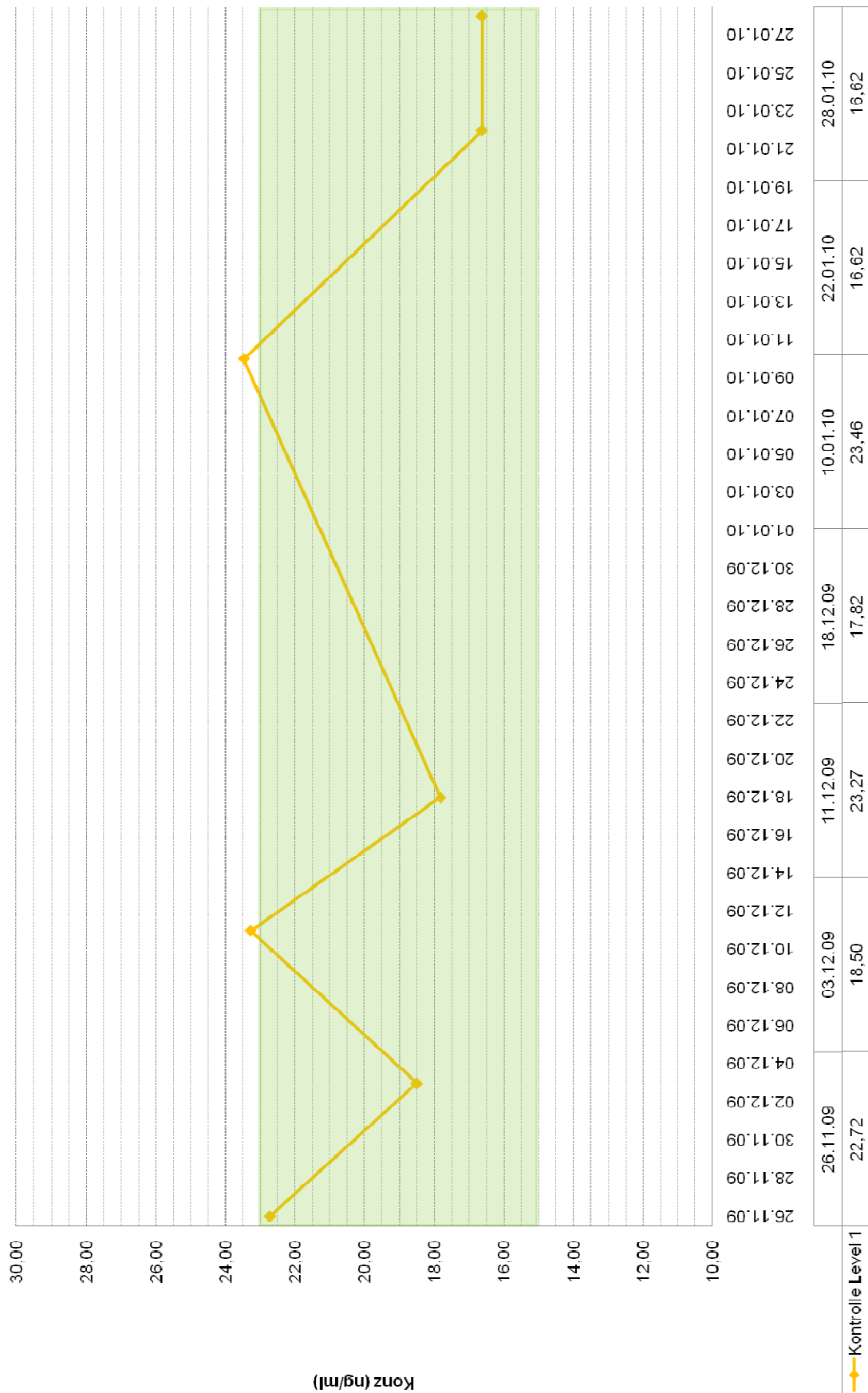


Graphik 4a: Haloperidol Kontrolle Level 1 August-Oktober



Graphik 4b: Haloperidol Kontrolle Level 2 August-Oktober

Haloperidol Kontrolle UTAK November-Januar



Graphik 4c: Haloperidol Kontrolle UTAK November-Februar

3.4.5 Olanzapin (TDM 3a-Verfahren)

Anmerkung: Seit Dezember 2009 werden zusätzlich UTAK - Kontrollen eingesetzt.

Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 22 ng/ml

Intervall Hersteller: 17 - 27 ng/ml (~23%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	20,89	19,69	20,70	-----
Standardabweichung	3,05	3,35	2,44	-----
Varianzkoeffizient	14,60%	16,99%	11,79%	-----
QUAMM	14,28%	18,08%	11,28%	-----
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	41,89%	46,81%	33,80%	-----

Tabelle 6a: Berechnungen für Olanzapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 90 ng/ml

Intervall Hersteller: 70 - 110 ng/ml (~22%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	94,14	74,54	87,24	90,60
Standardabweichung	16,78	8,91	9,06	20,60
Varianzkoeffizient	17,82%	11,96%	10,39%	22,74%
QUAMM	18,49%	19,52%	10,30%	22,07%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	56,11%	34,32%	30,36%	68,68%

Tabelle 6b: Berechnungen für Olanzapin Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Kontrolle UTAK

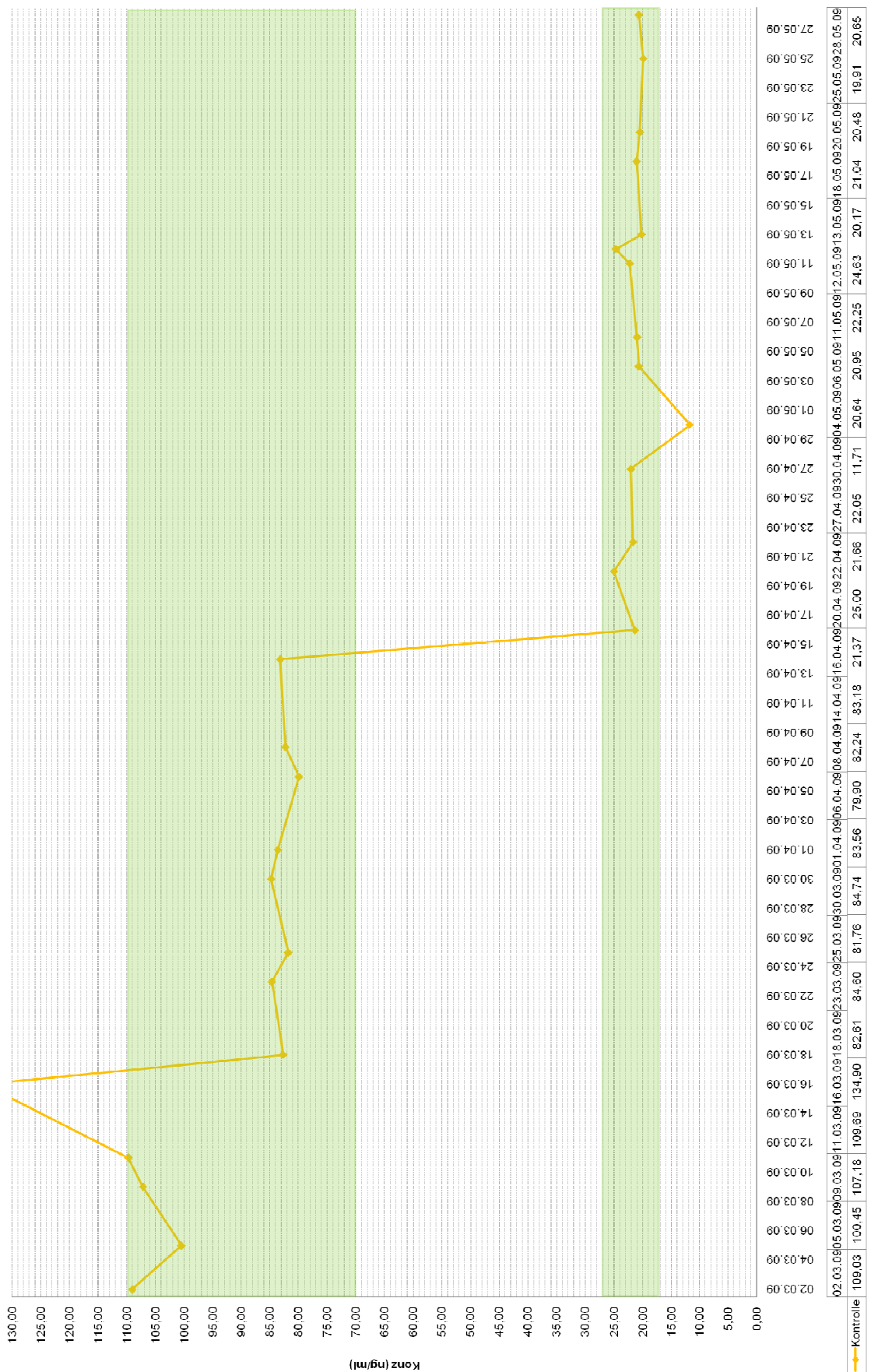
Zielwert (Sollwert): 80 ng/ml

Intervall Hersteller: 68 - 92 ng/ml (15%)

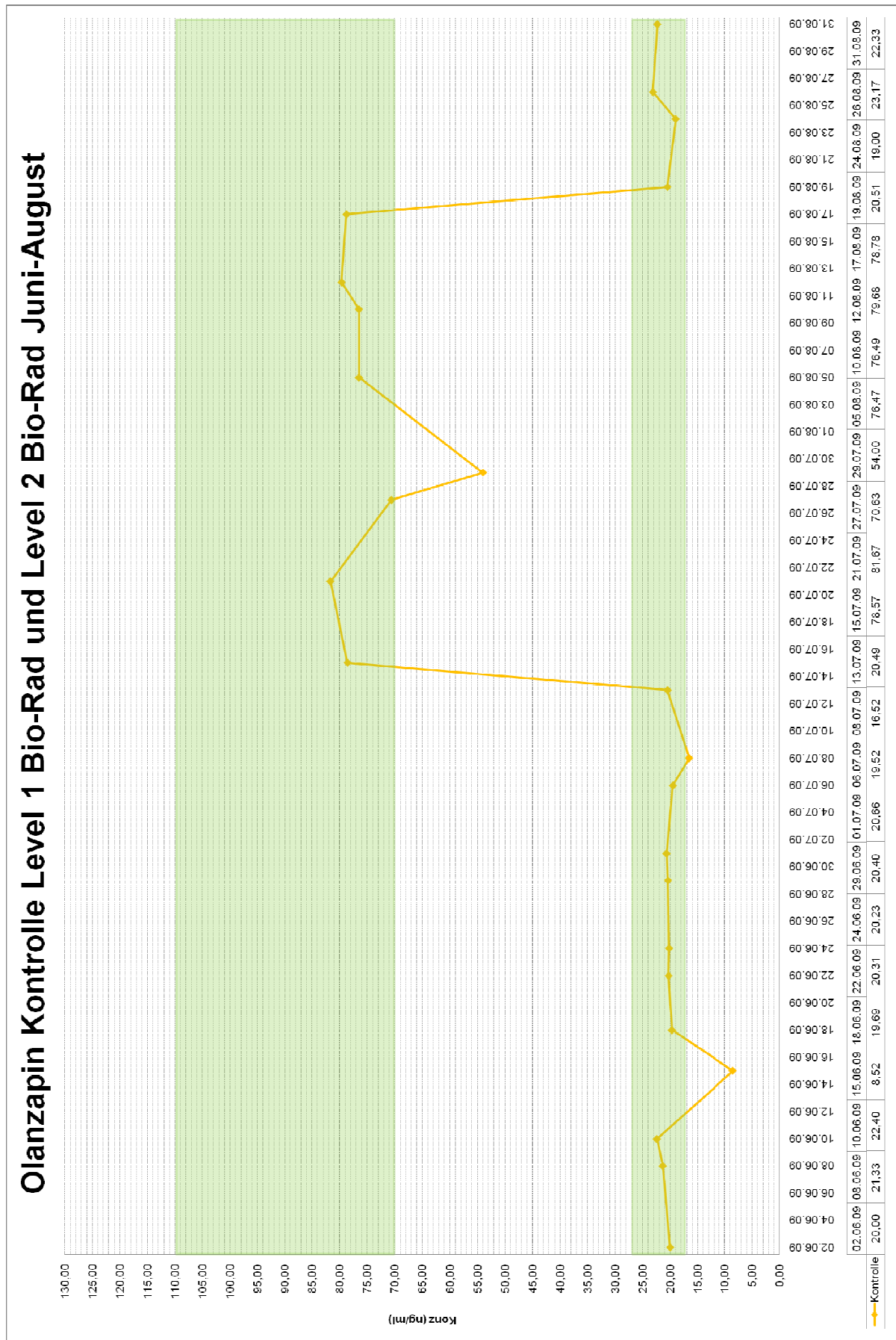
	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	77,48
Standardabweichung	18,82
Varianzkoeffizient	24,29%
QUAMM	23,17%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	79,80%

Tabelle 6c: Berechnungen für Olanzapin Kontrolle UTAK

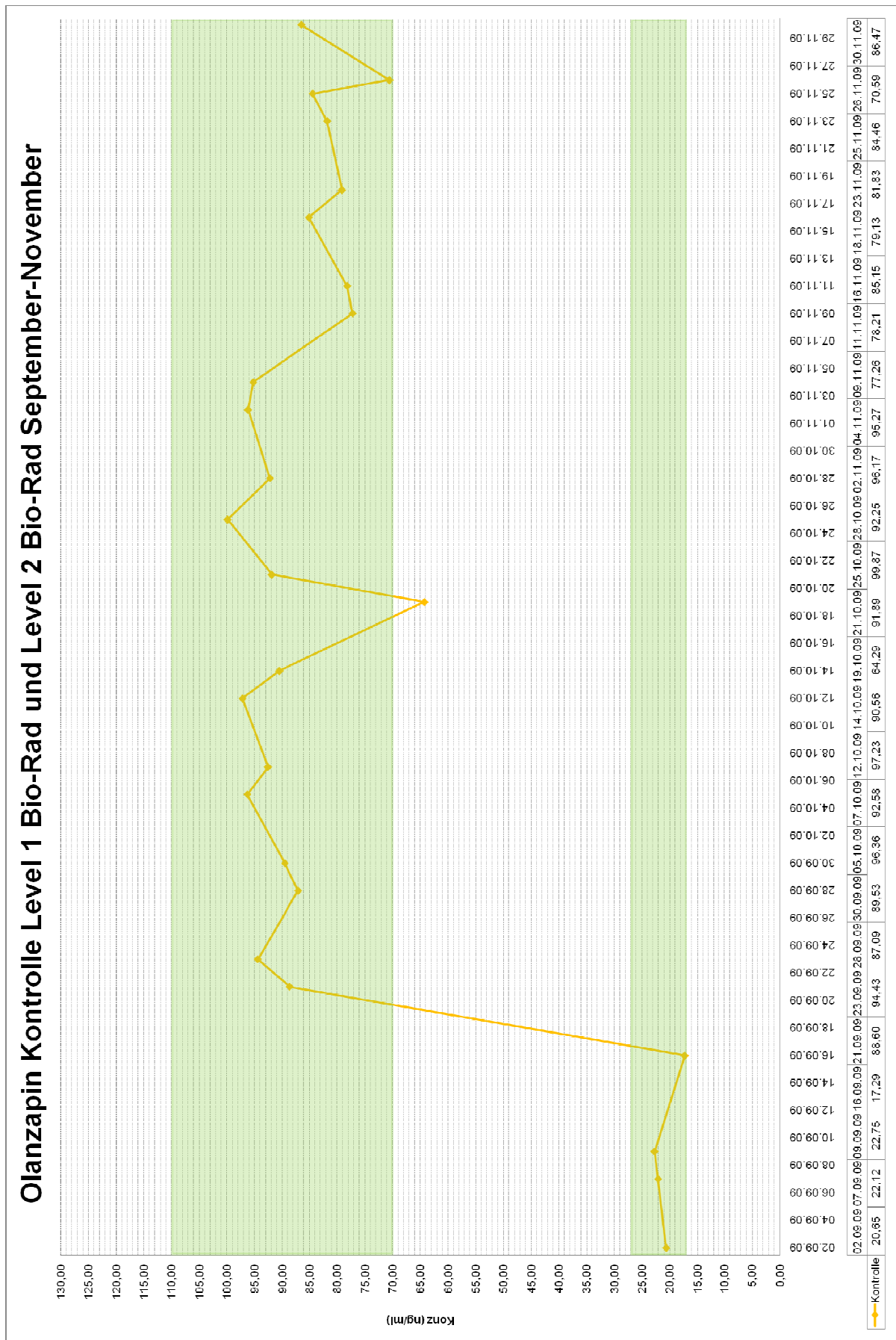
Olanzapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad März-Mai



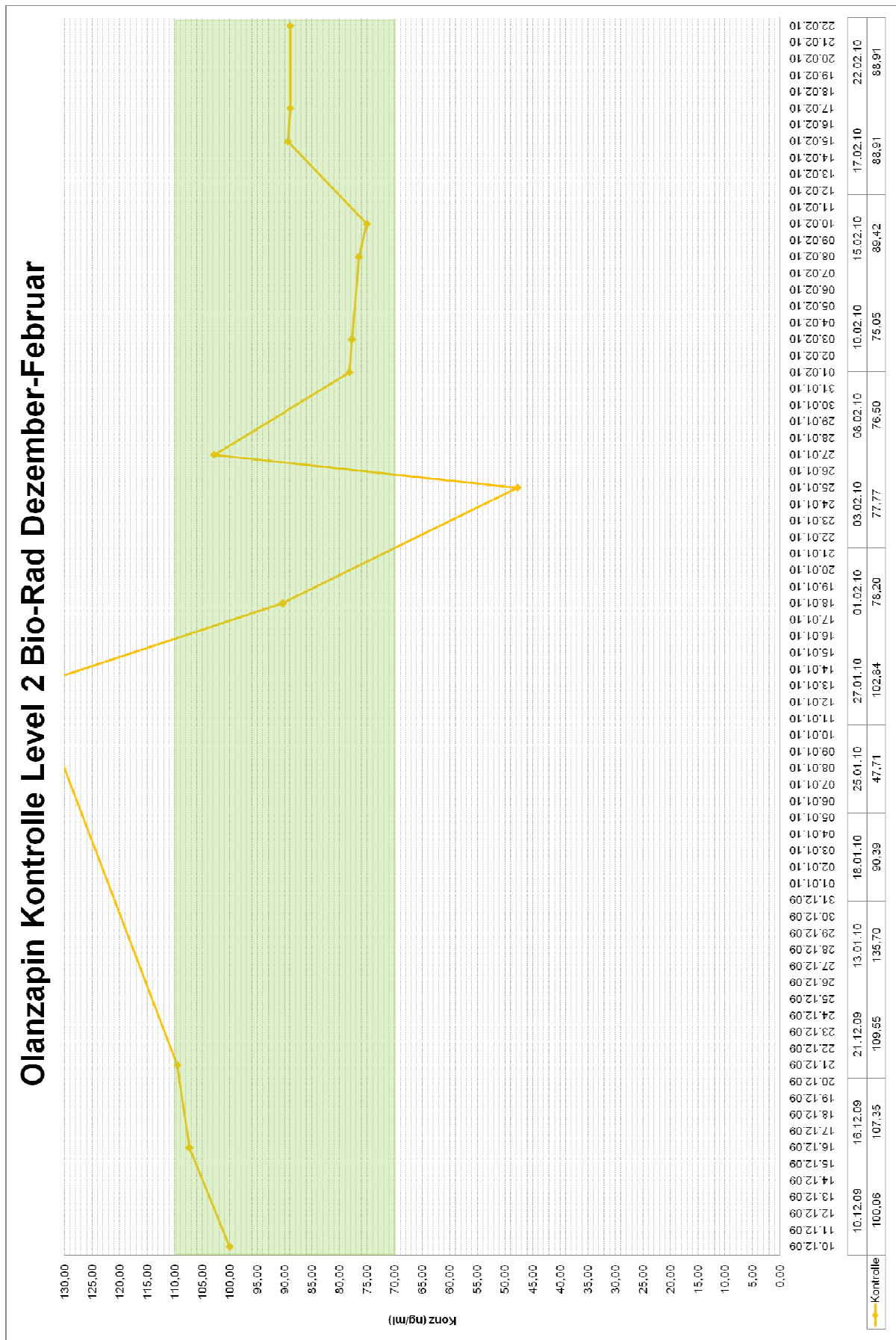
Graphik 5a: Olanzapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad März-Mai



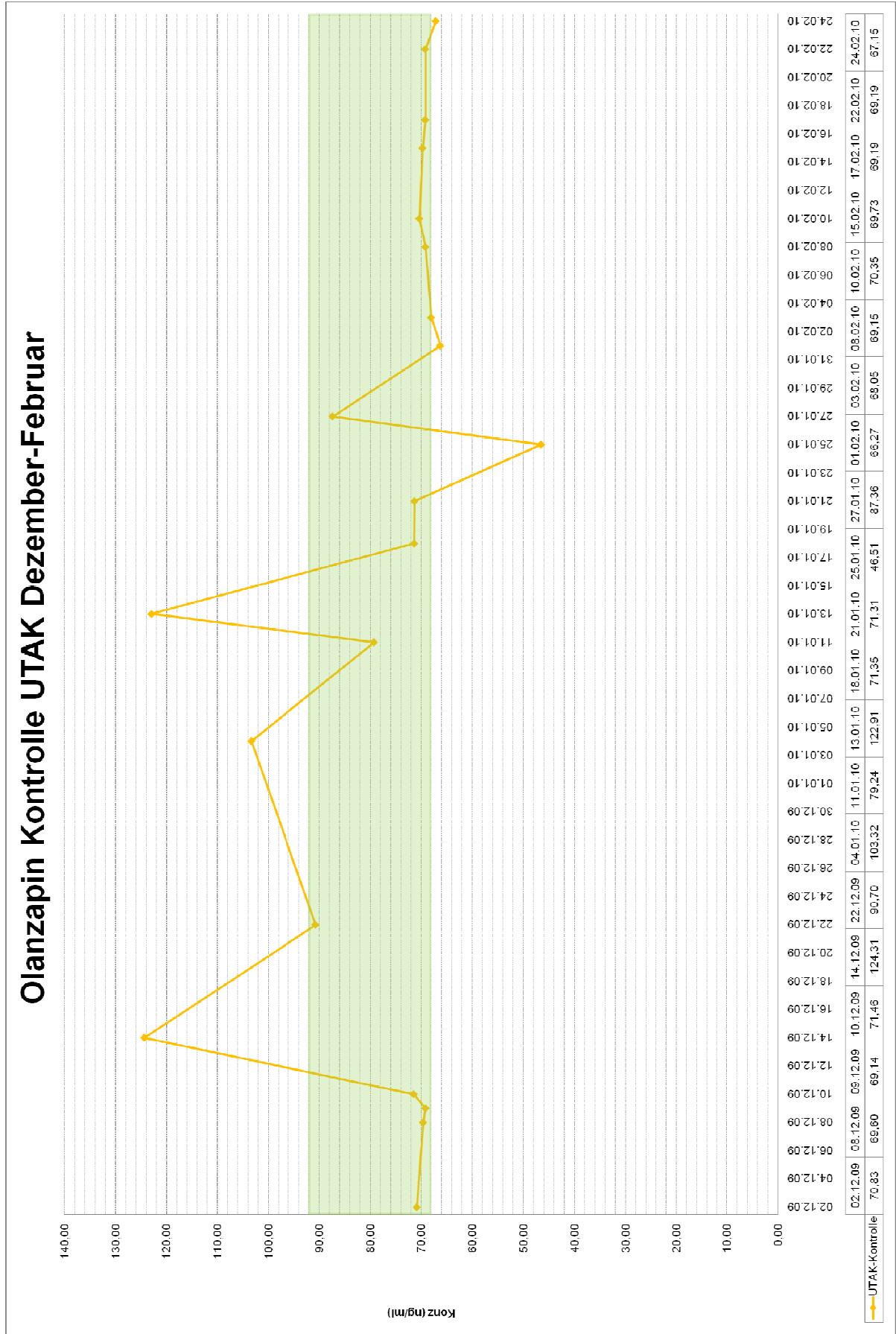
Graphik 5b: Olanzapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad Juni-August



Graphik 5c: Olanzapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad September-November



Graphik 5d: Olanzapin Kontrolle Level 2 Bio-Rad Dezember-Februar



Graphik 5e: Olanzapin Kontrolle UTAK Dezember-Februar

3.4.6 Paliperidon (TDM 3b-Verfahren)

Anmerkungen: Bis Juli 2009 sind von Paliperidon keine Daten vorhanden.

Von August 2009 bis Oktober 2009 sind sehr wenige Messungen mit insgesamt vier verschiedenen Kontrollproben durchgeführt worden, sodass für diesen Zeitraum keine sinnvollen und aussagekräftigen Berechnungen und Graphiken erstellt werden konnten.

Seit November 2009 werden mehrheitlich UTAK-Kontrollen eingesetzt. Für den Zeitraum von November 2009 bis Januar 2010 wurden hierfür Berechnungen aufgestellt und tabellarisch festgehalten, die aber auf Grund der geringen Kontrollprobenanzahl vorrangig als beispielhafte Berechnungsvorlage angesehen werden und als Grundgerüst für zukünftige Auswertungen bei der Wirkstoffkonzentrationsbestimmung von Paliperidon dienen sollen. Damit entfällt für diesen Zeitraum also eine genauere Analyse der Messergebnisse und die Erstellung einer Graphik.

Sobald die Übergangsphase abgeschlossen ist und regelmäßig mit den selben Kontrollproben gemessen wird, kann auch für die Konzentrationsbestimmung von Paliperidon eine aussagekräftige rechnerische und graphische Dokumentation erfolgen.

Kontrolle UTAK

Zielwert (Sollwert): 35 ng/ml

Intervall Hersteller: 29,75 - 40,25 ng/ml (15%)

	November 2009- Januar 2010
Mittelwert	36,44
Standardabweichung	7,84
Varianzkoeffizient	21,51%
QUAMM	21,35%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	67,31%

Tabelle 7: Berechnungen für Paliperidon Kontrolle UTAK

3.4.7 Perazin (TDM 3a-Verfahren)

Anmerkung: Seit Dezember 2009 werden zusätzlich UTAK - Kontrollen eingesetzt.

Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 66 ng/ml

Intervall Hersteller: 53 - 79 ng/ml (~20%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	60,47	60,86	66,92	-----
Standardabweichung	4,21	6,67	8,03	-----
Varianzkoeffizient	6,96%	10,95%	12,01%	-----
QUAMM	10,29%	12,45%	11,74%	-----
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	20,89%	31,29%	36,55%	-----

Tabelle 8a: Berechnungen für Perazin Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 300 ng/ml

Intervall Hersteller: 240 - 360 ng/ml (20%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	273,15	231,87	275,47	289,09
Standardabweichung	16,60	81,52	10,87	4,37
Varianzkoeffizient	6,08%	35,16%	3,95%	1,51%
QUAMM	10,41%	34,45%	8,88%	63,08%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	18,86%	84,62%	13,60%	5,68%

Tabelle 8b: Berechnungen für Perazin Kontrolle Level 2 Bio-Rad

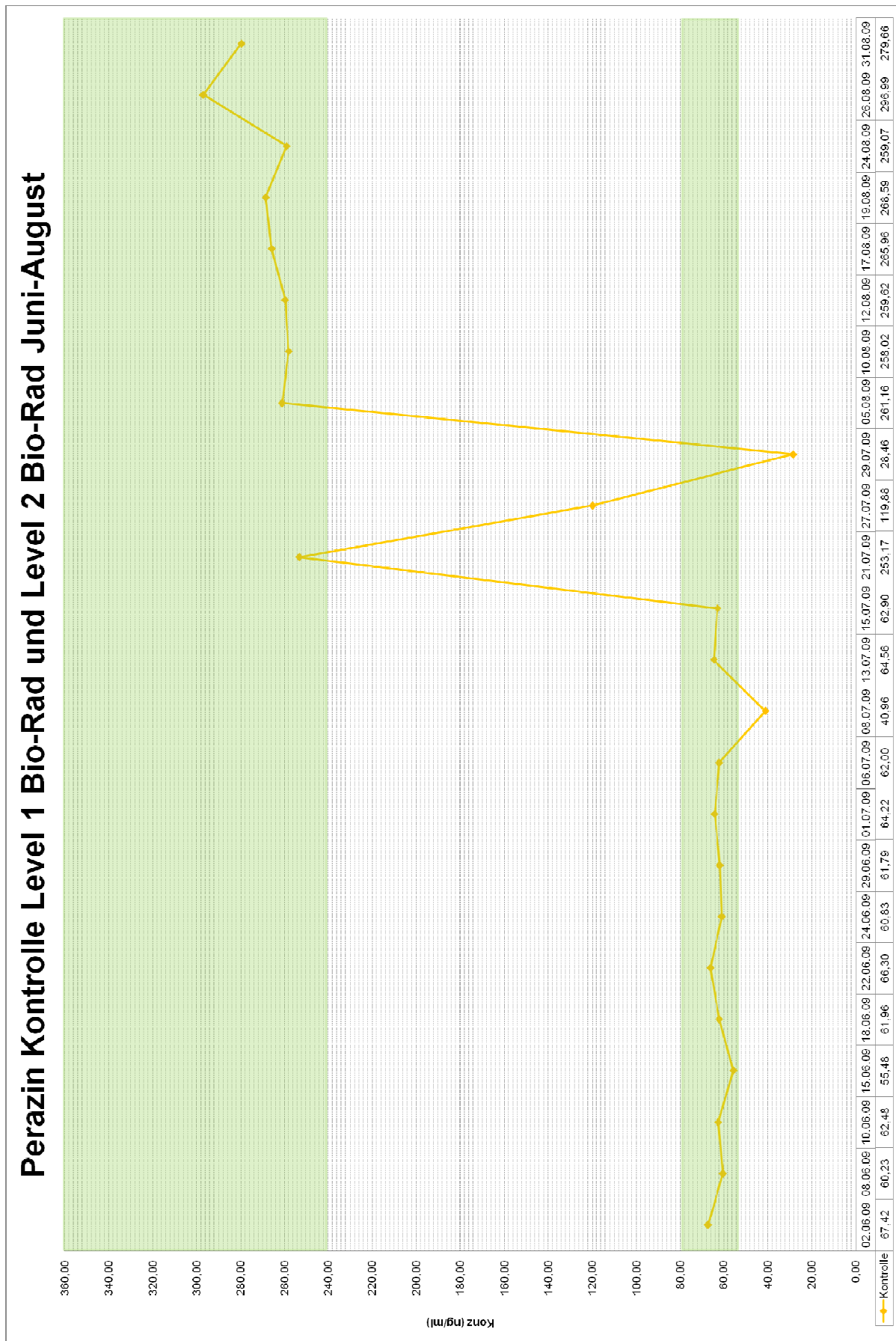
Kontrolle UTAK

Zielwert (Sollwert): 200 ng/ml

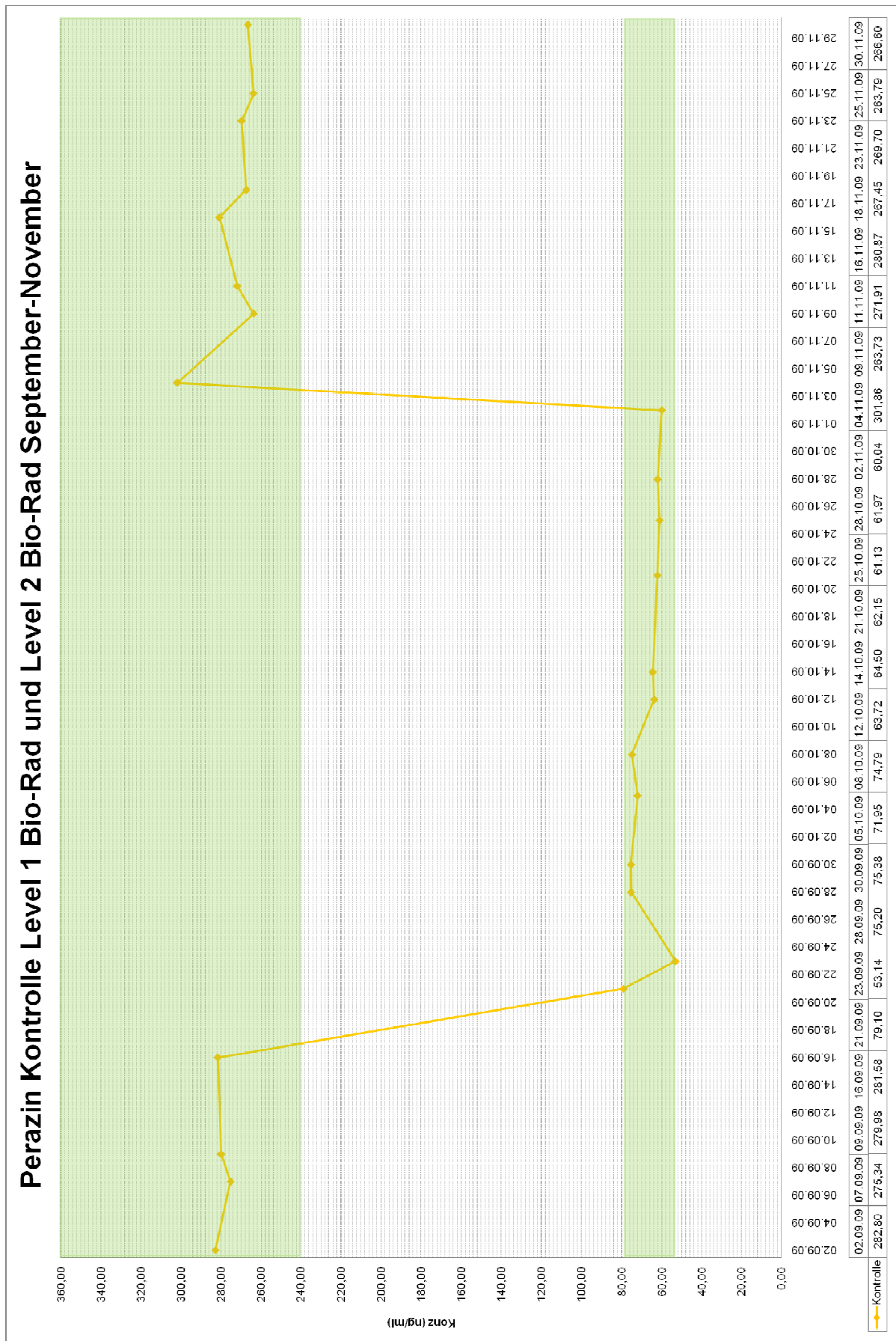
Intervall Hersteller: 170 - 230 ng/ml (15%)

	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	196,15
Standardabweichung	30,34
Varianzkoeffizient	15,47%
QUAMM	14,84%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	45,55%

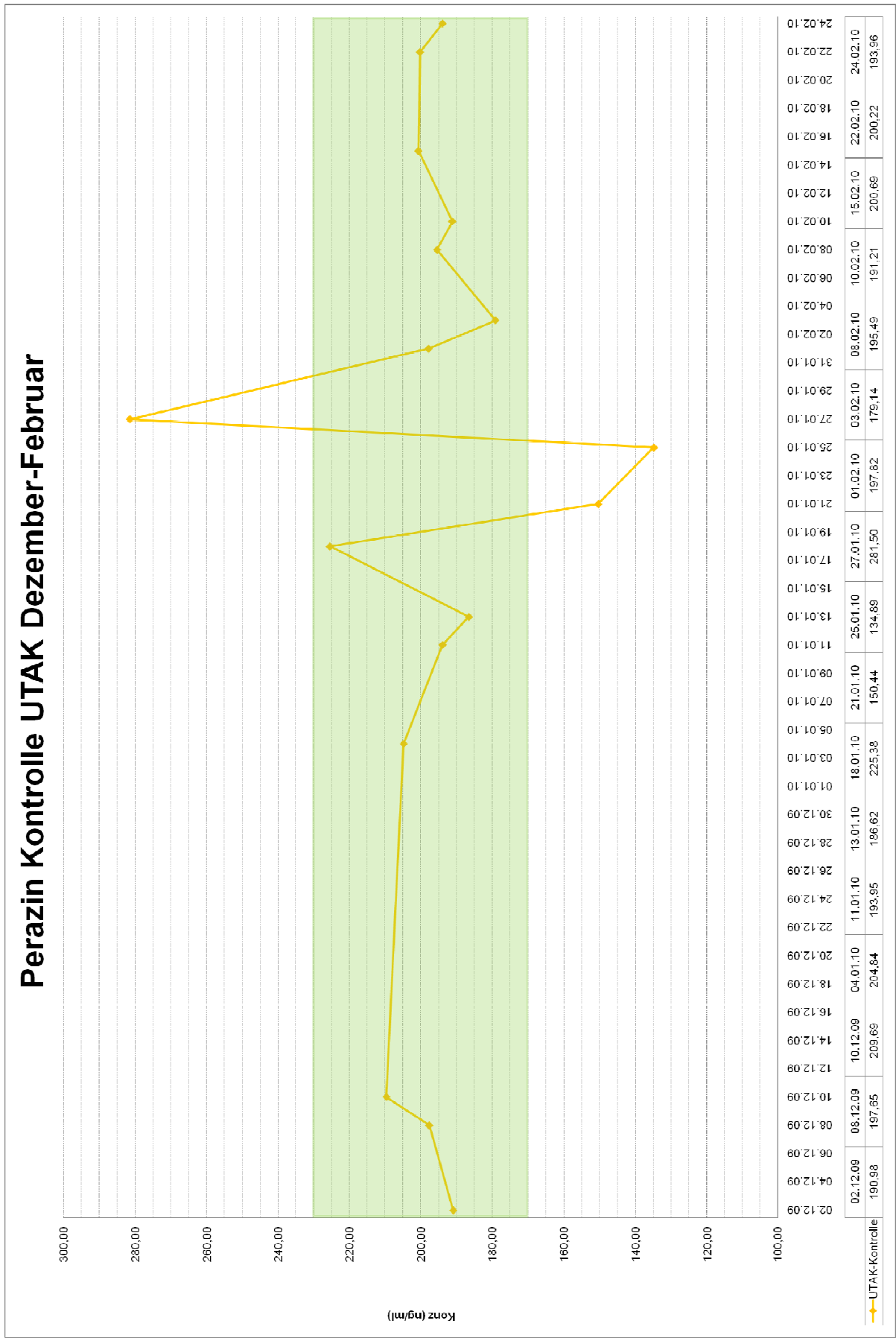
Tabelle 8c: Berechnungen für Perazin Kontrolle UTAK



Graphik 6b: Perazin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad Juni-August



Graphik 6c: Perazin Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad September-November



Graphik 6d: Perazin Kontrolle UTAK Dezember-Februar

3.4.8 Quetiapin (TDM 1a-Verfahren)

Kontrolle Level 1

Zielwert (Sollwert): 20 ng/ml

Intervall Hersteller: 17 - 23 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	19,96	20,12	23,09	22,70
Standardabweichung	2,75	5,07	10,35	6,10
Varianzkoeffizient	13,77%	25,19%	44,84%	26,85%
QUAMM	13,20%	24,43%	52,07%	31,76%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	41,21%	76,05%	156,05%	92,43%

Tabelle 9a: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle Level 1 (TDM 1a)

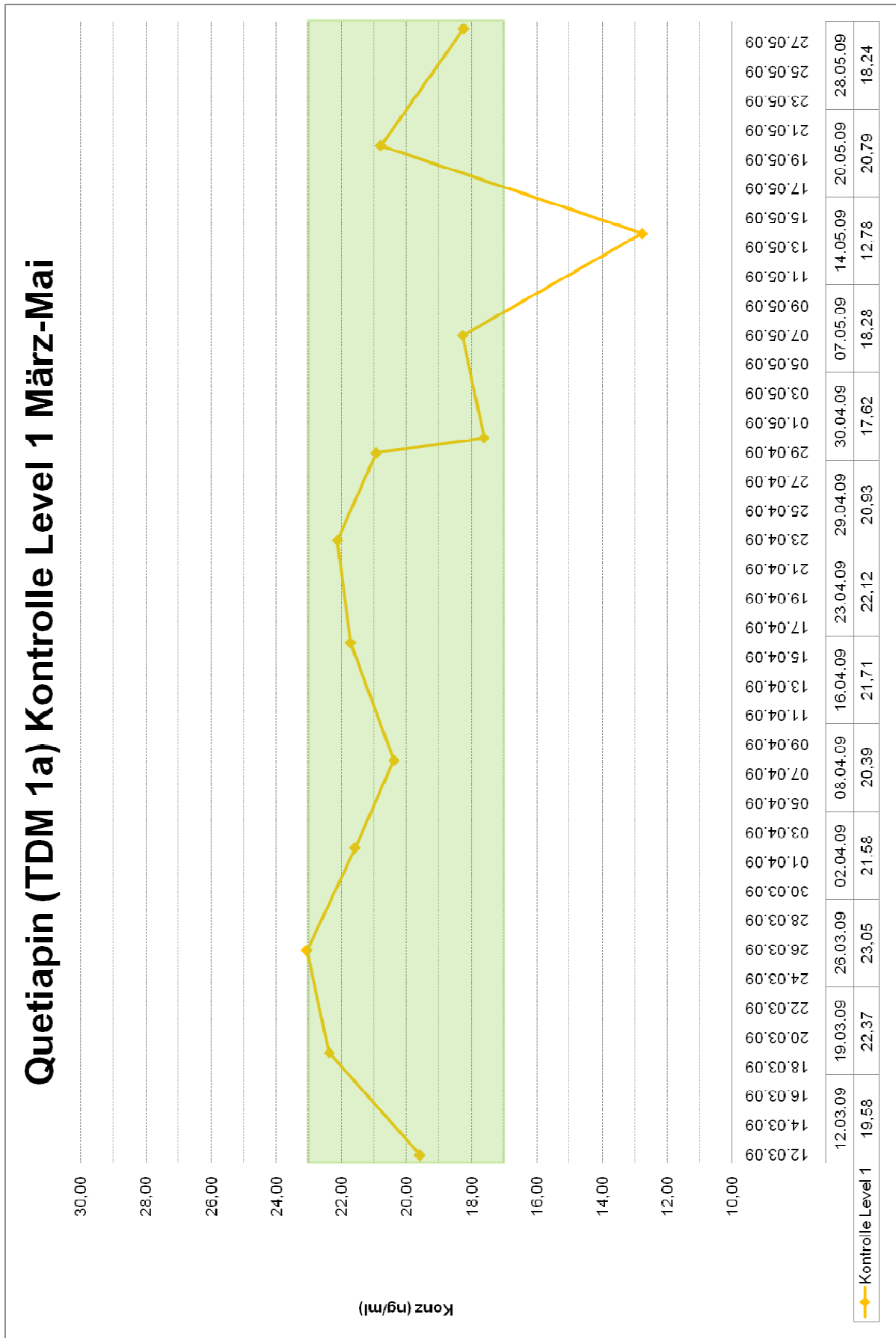
Kontrolle Level 2

Zielwert (Sollwert): 700 ng/ml

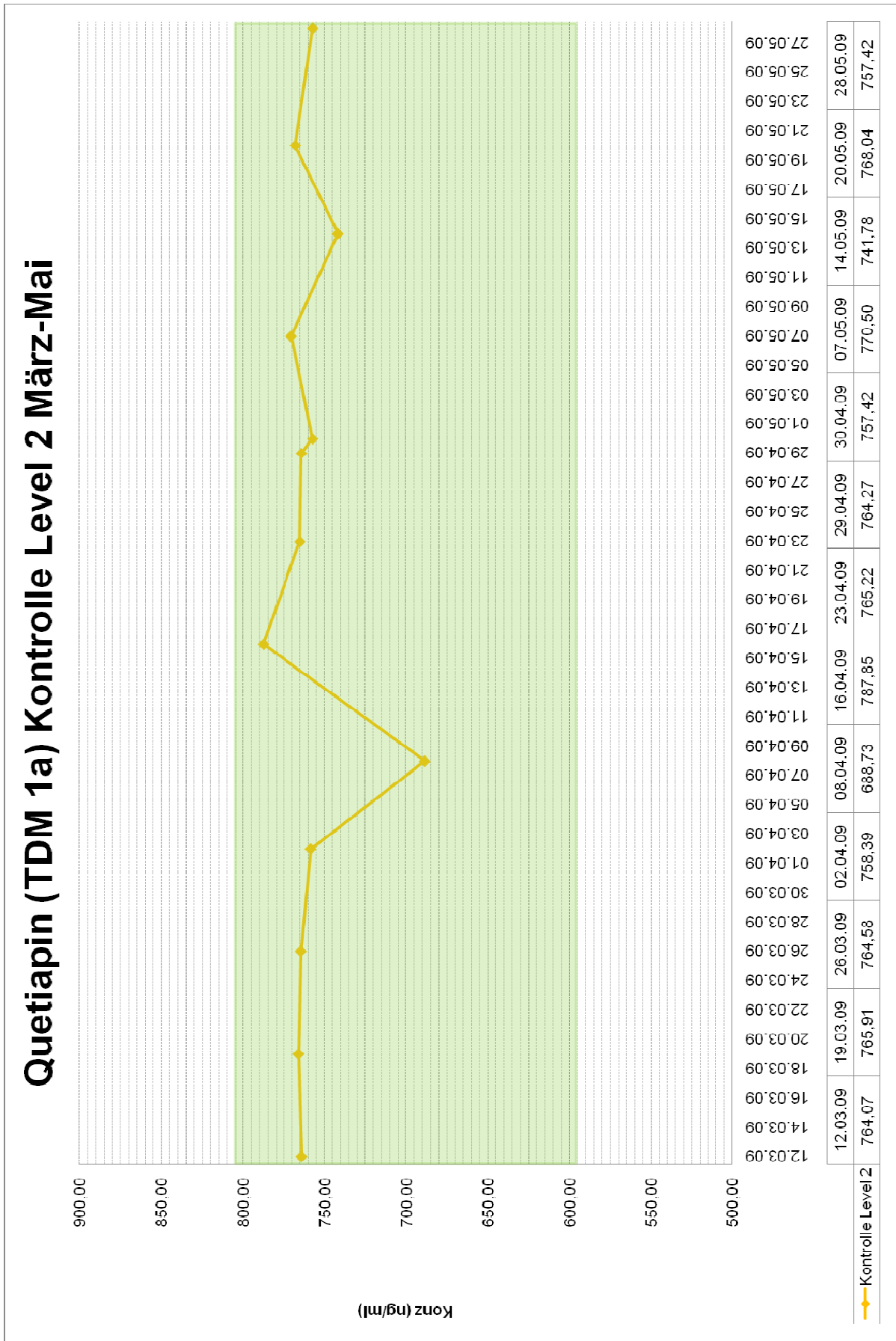
Intervall Hersteller: 595 - 805 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	758,01	728,47	725,19	758,07
Standardabweichung	23,17	70,67	17,03	49,21
Varianzkoeffizient	3,06%	9,70%	2,35%	6,49%
QUAMM	8,88%	10,54%	4,29%	10,66%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	12,94%	30,56%	8,14%	22,66%

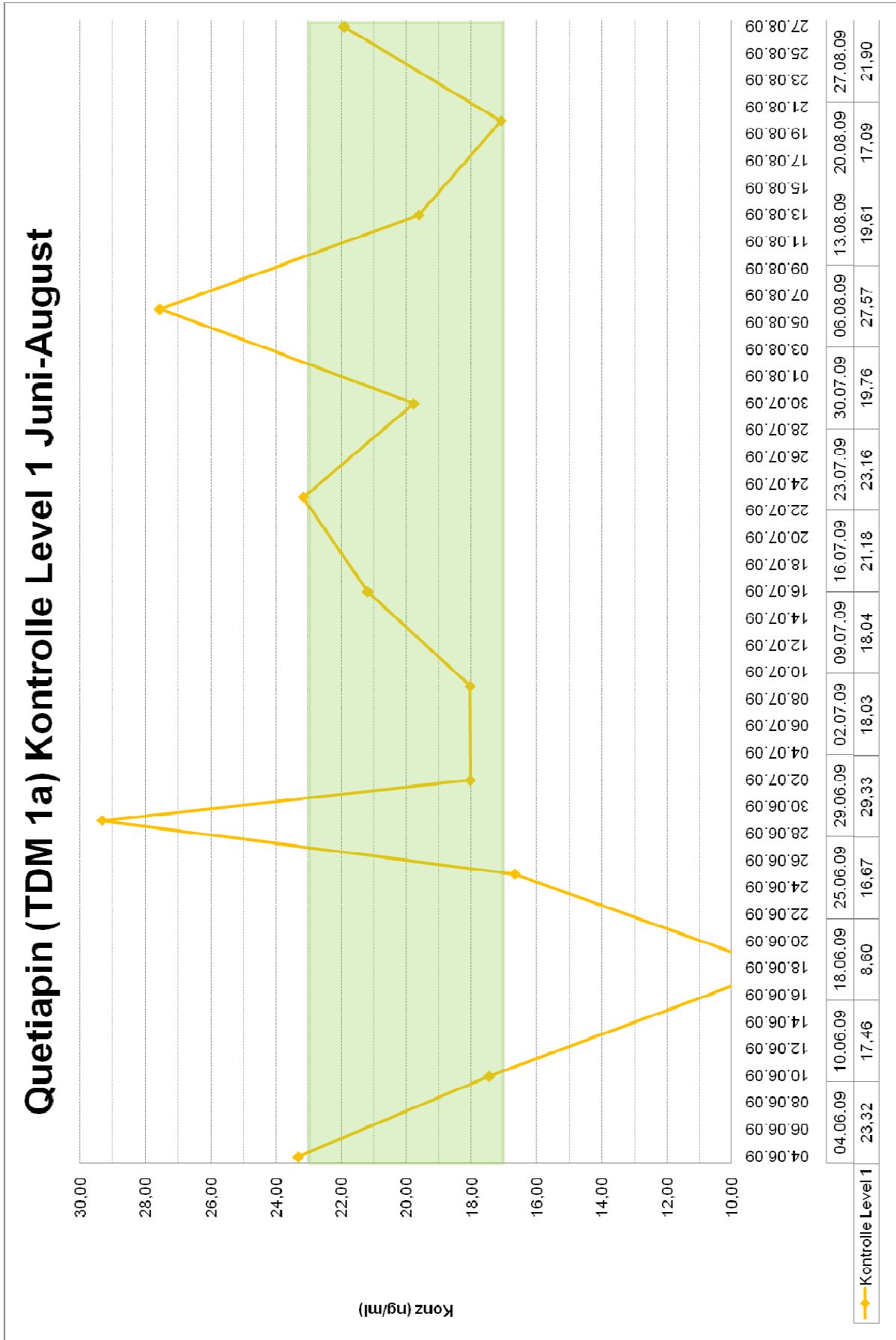
Tabelle 9b: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle Level 2 (TDM 1a)



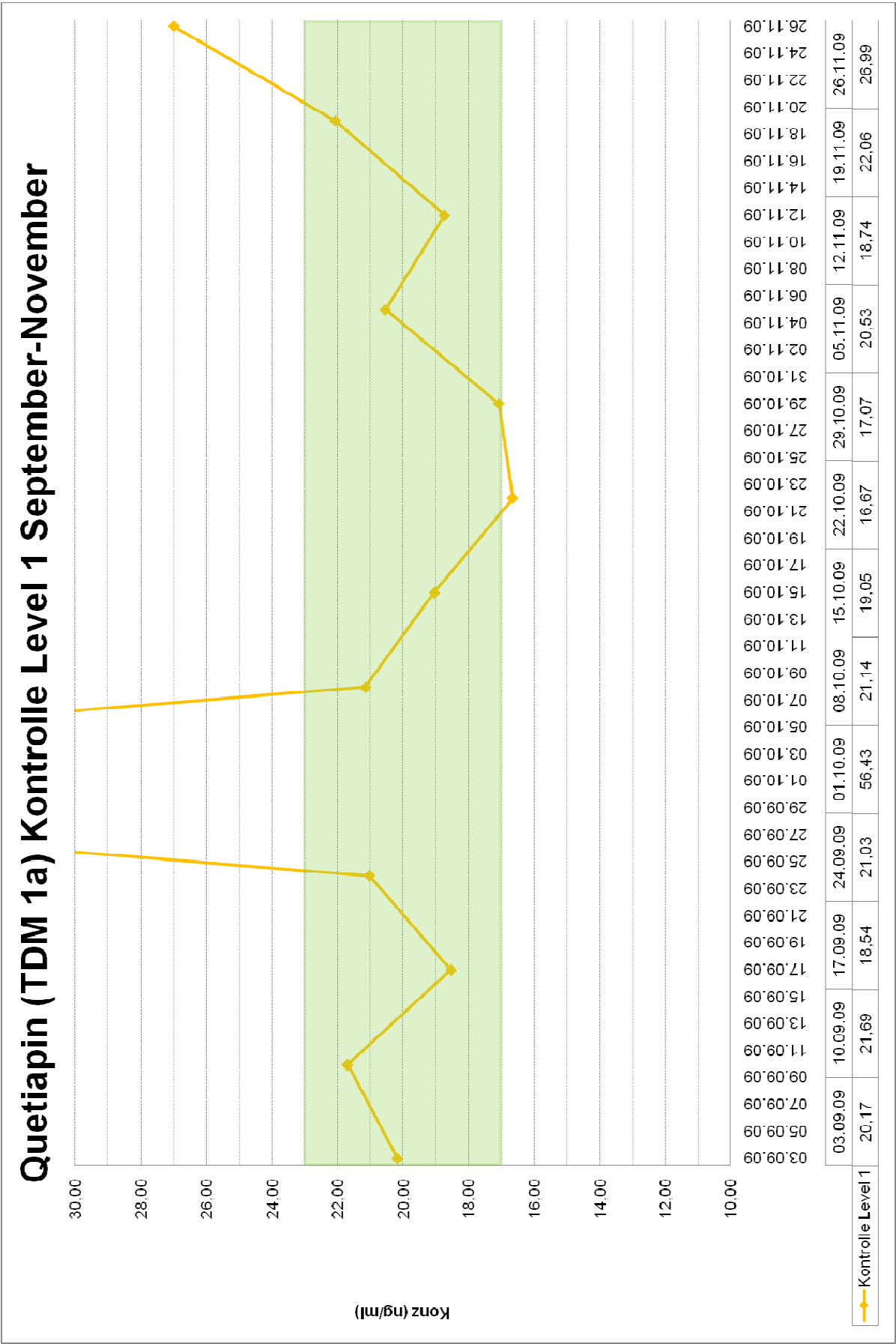
Graphik 7a: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 1 März-Mai



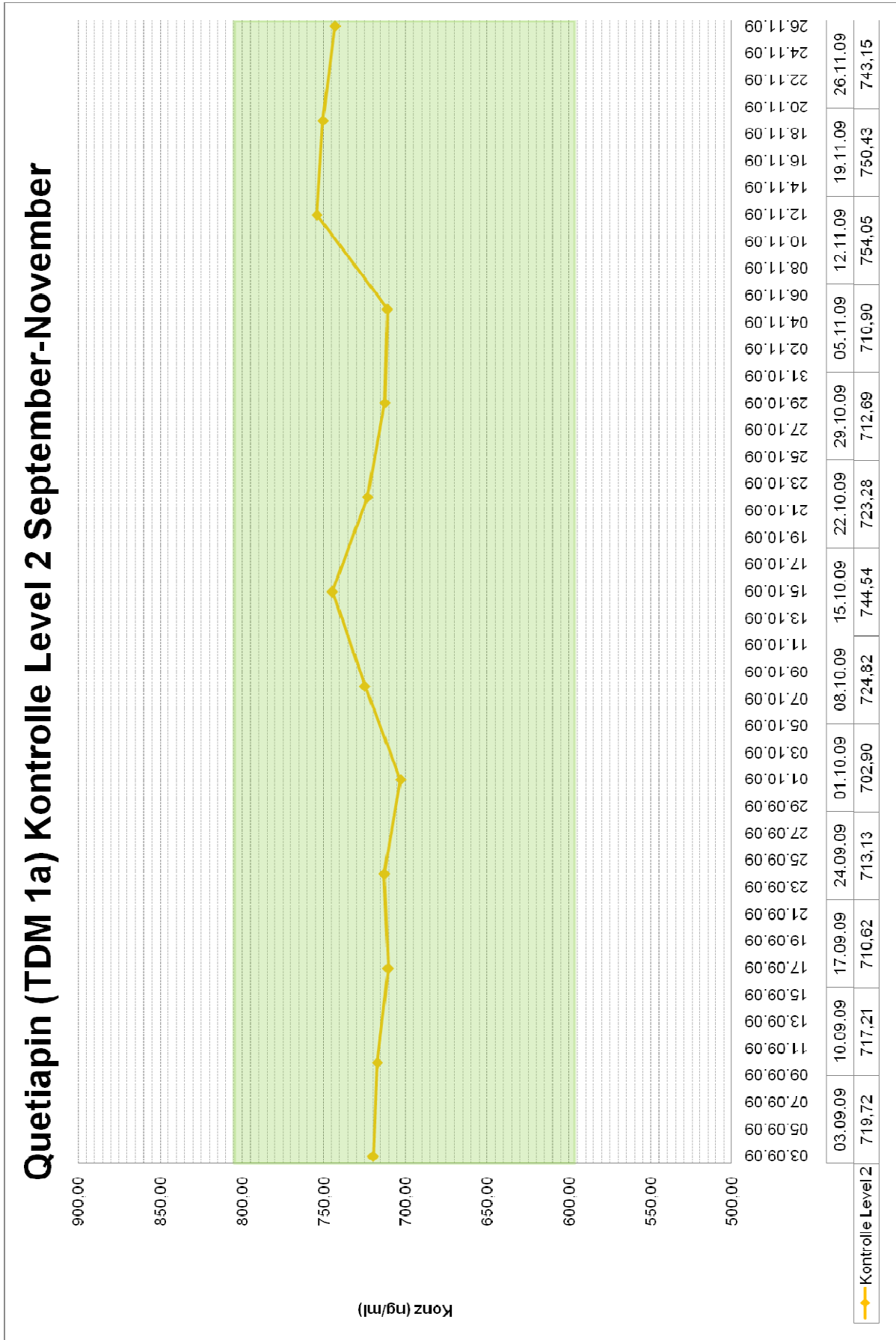
Graphik 7b: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 2 März-Mai



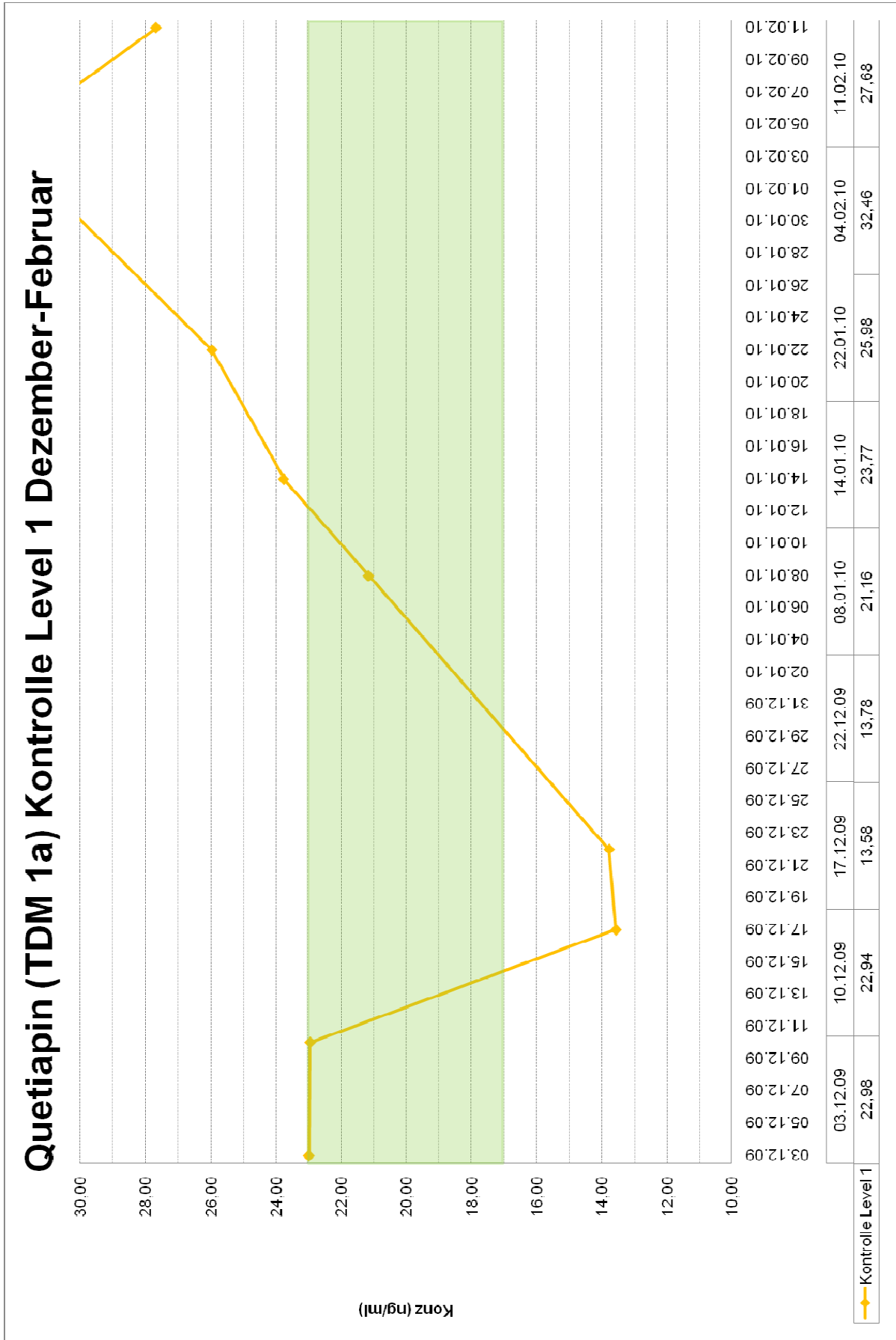
Graphik 7c: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 1 Juni-August



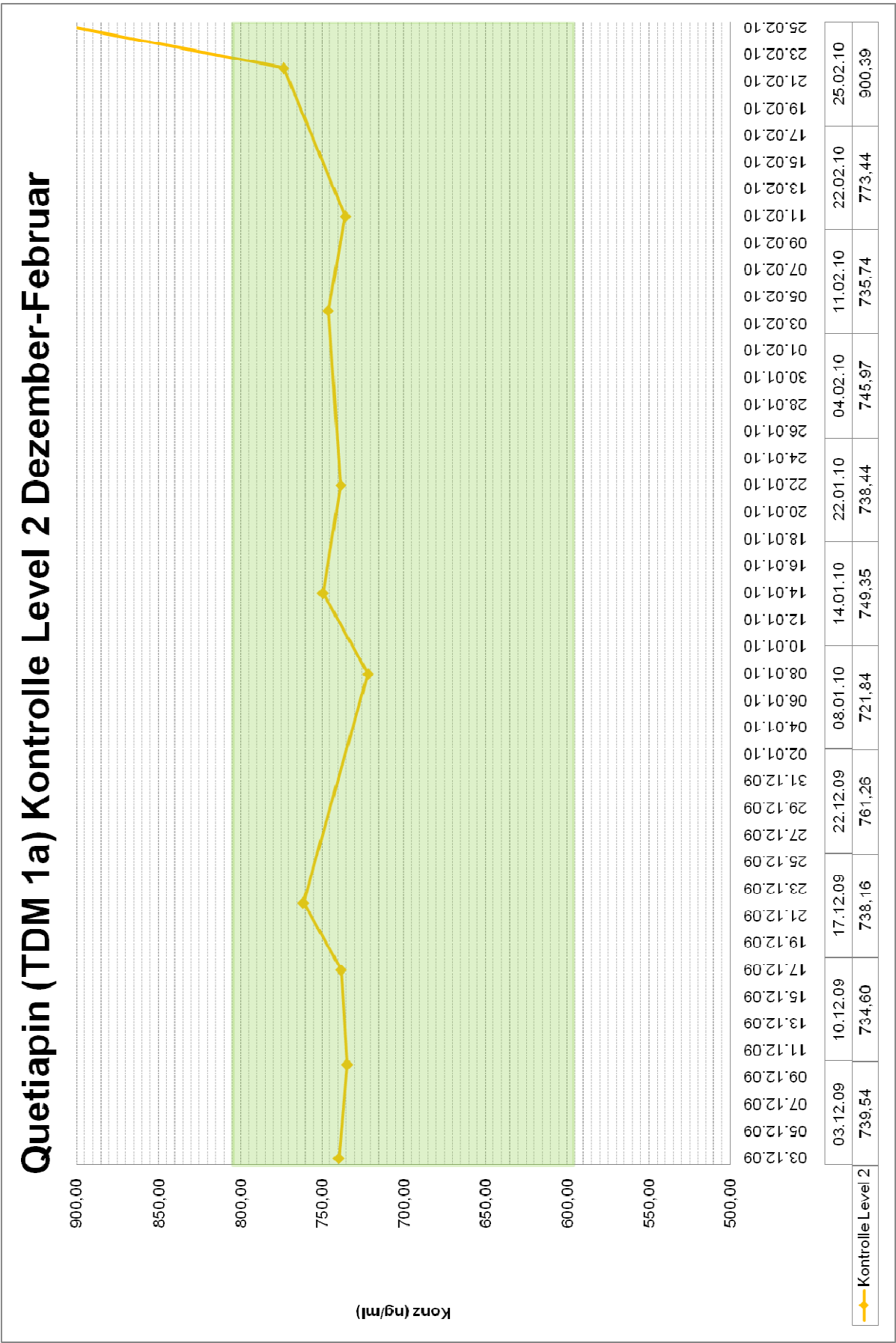
Graphik 7e: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 1 September-November



Graphik 7f: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 2 September-November



Graphik 7g: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 1 Dezember-Februar



Graphik 7h: Quetiapin (TDM 1a) Kontrolle Level 2 Dezember-Februar

3.4.9 Quetiapin (TDM 2-Verfahren)

Kontrolle Level 1

Zielwert (Sollwert): 20 ng/ml

Intervall Hersteller: 17 - 23 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	28,75	26,24	23,02	23,50
Standardabweichung	13,86	5,56	3,44	4,52
Varianzkoeffizient	48,19%	21,19%	14,94%	19,22%
QUAMM	79,23%	41,06%	22,38%	27,66%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	212,39%	89,04%	53,75%	69,98%

Tabelle 10a: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle Level 1 (TDM 2)

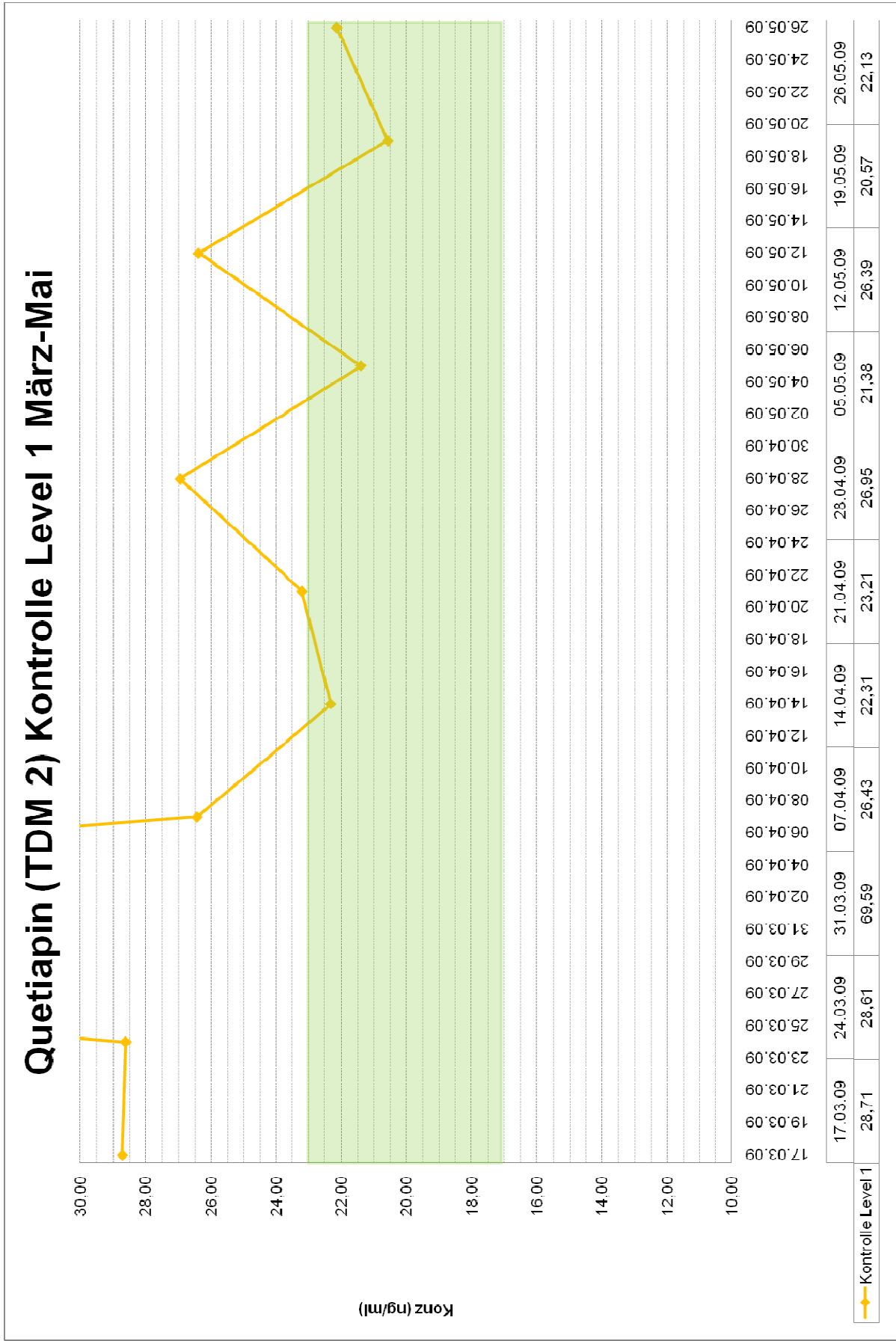
Kontrolle Level 2

Zielwert (Sollwert): 700 ng/ml

Intervall Hersteller: 595 - 805 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	781,26	773,60	755,65	759,23
Standardabweichung	13,85	8,62	25,60	16,07
Varianzkoeffizient	1,77%	1,11%	3,39%	2,12%
QUAMM	11,76%	10,58%	8,69%	8,74%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	13,04%	11,14%	13,55%	10,91%

Tabelle 10b: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle Level 2 (TDM 2)

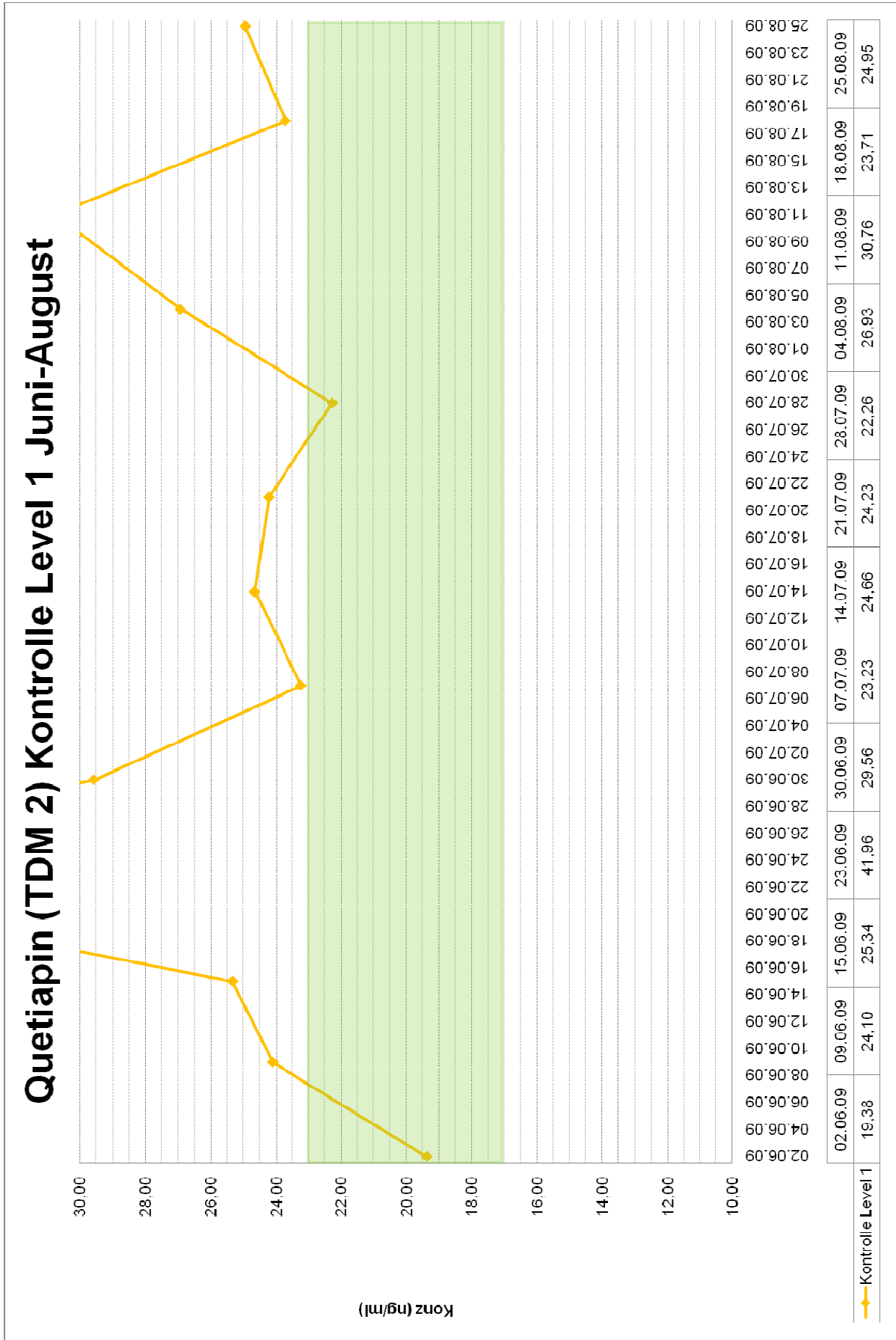


Graphik 8a: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 1 März-Mai

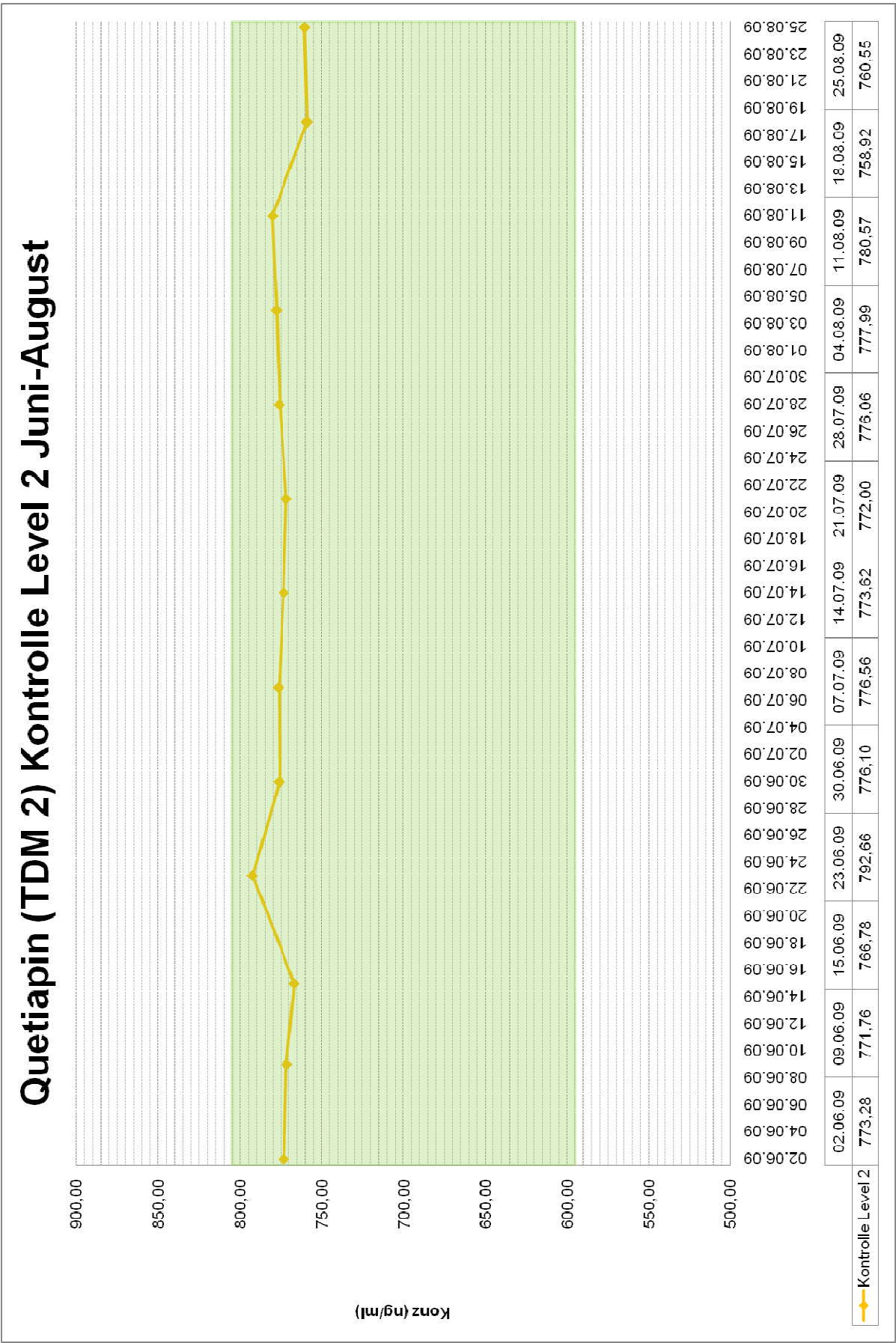
Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 2 März-Mai



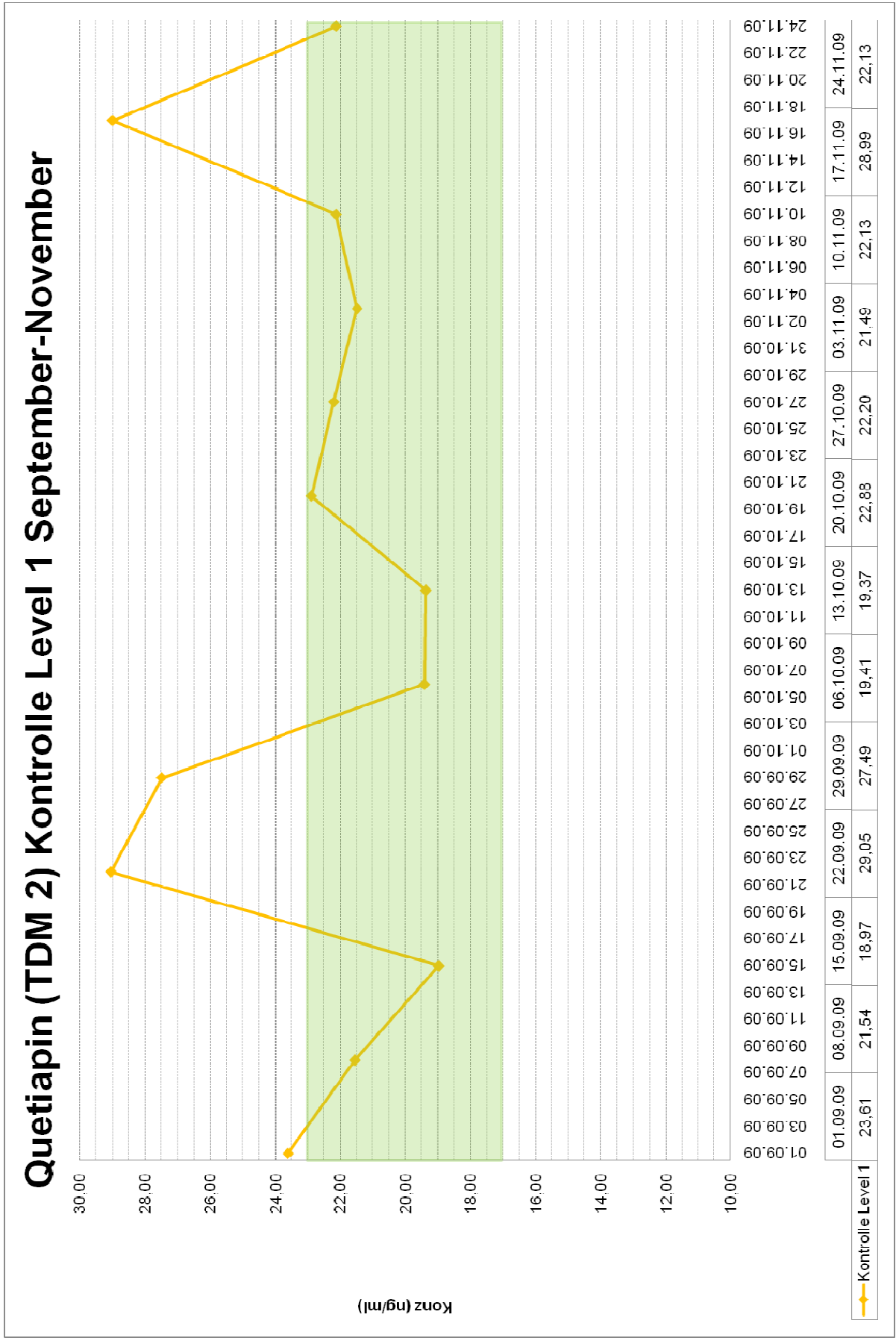
Graphik 8b: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 2 März-Mai



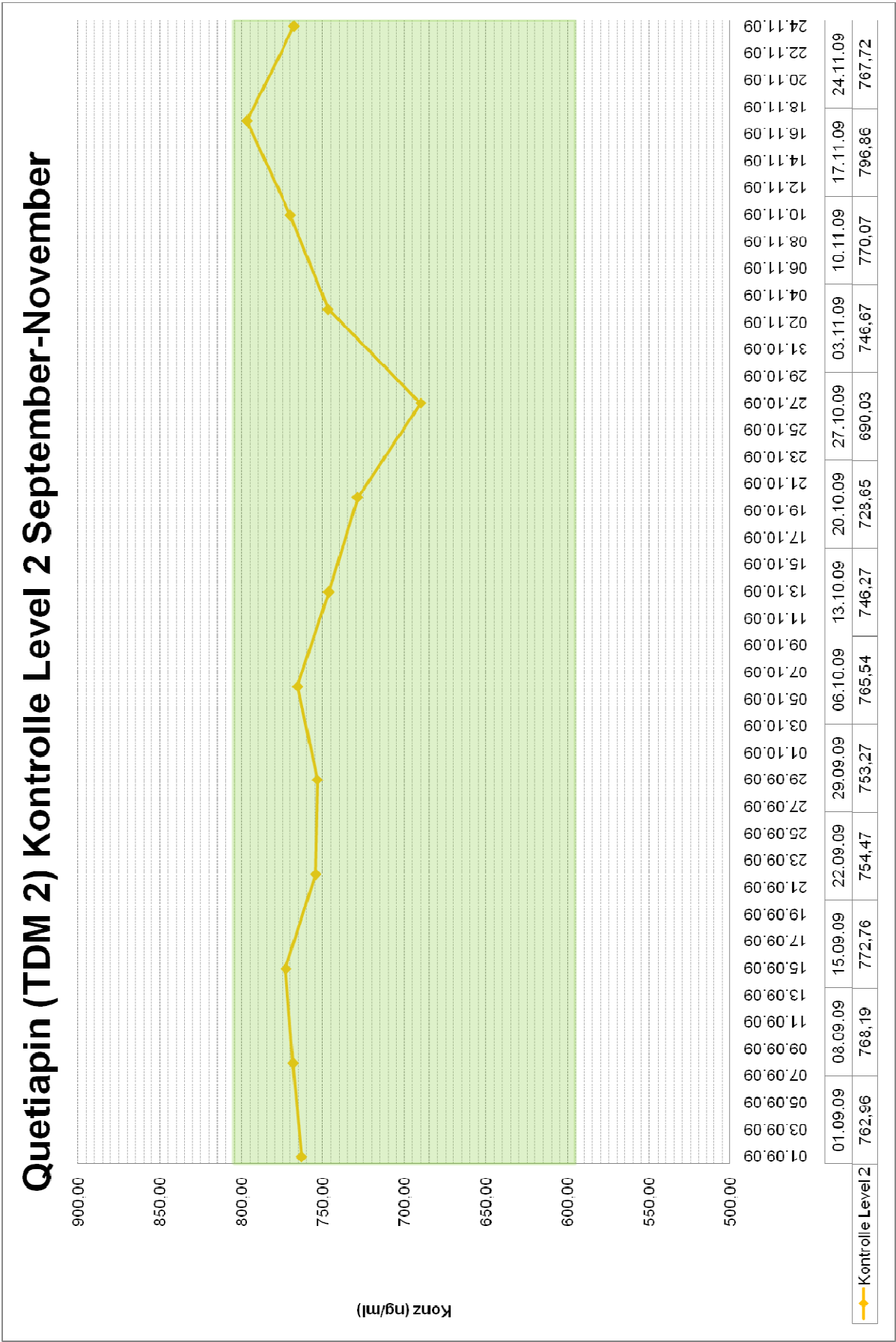
Graphik 8c: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 1 Juni-August



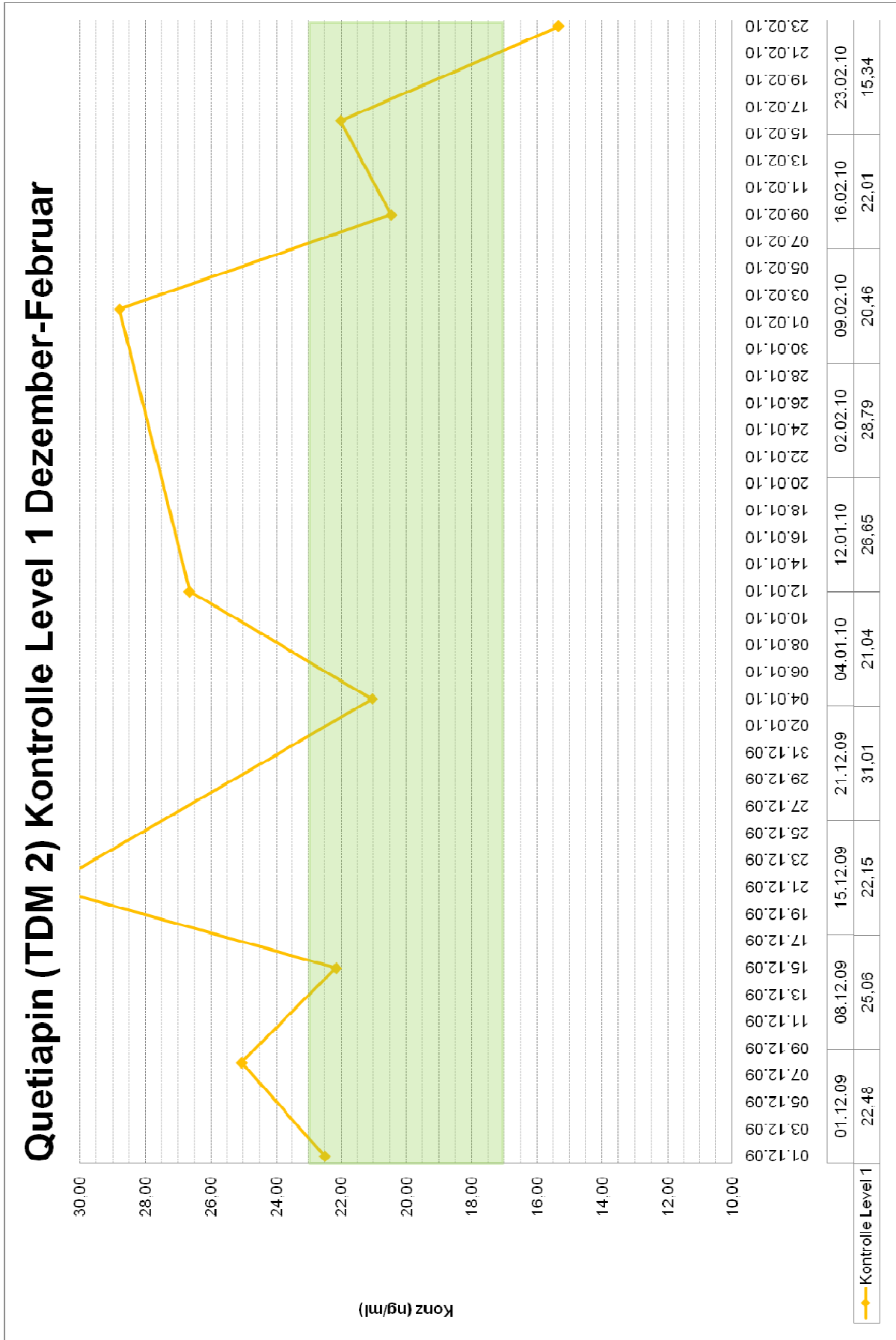
Graphik 8d: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 2 Juni-August



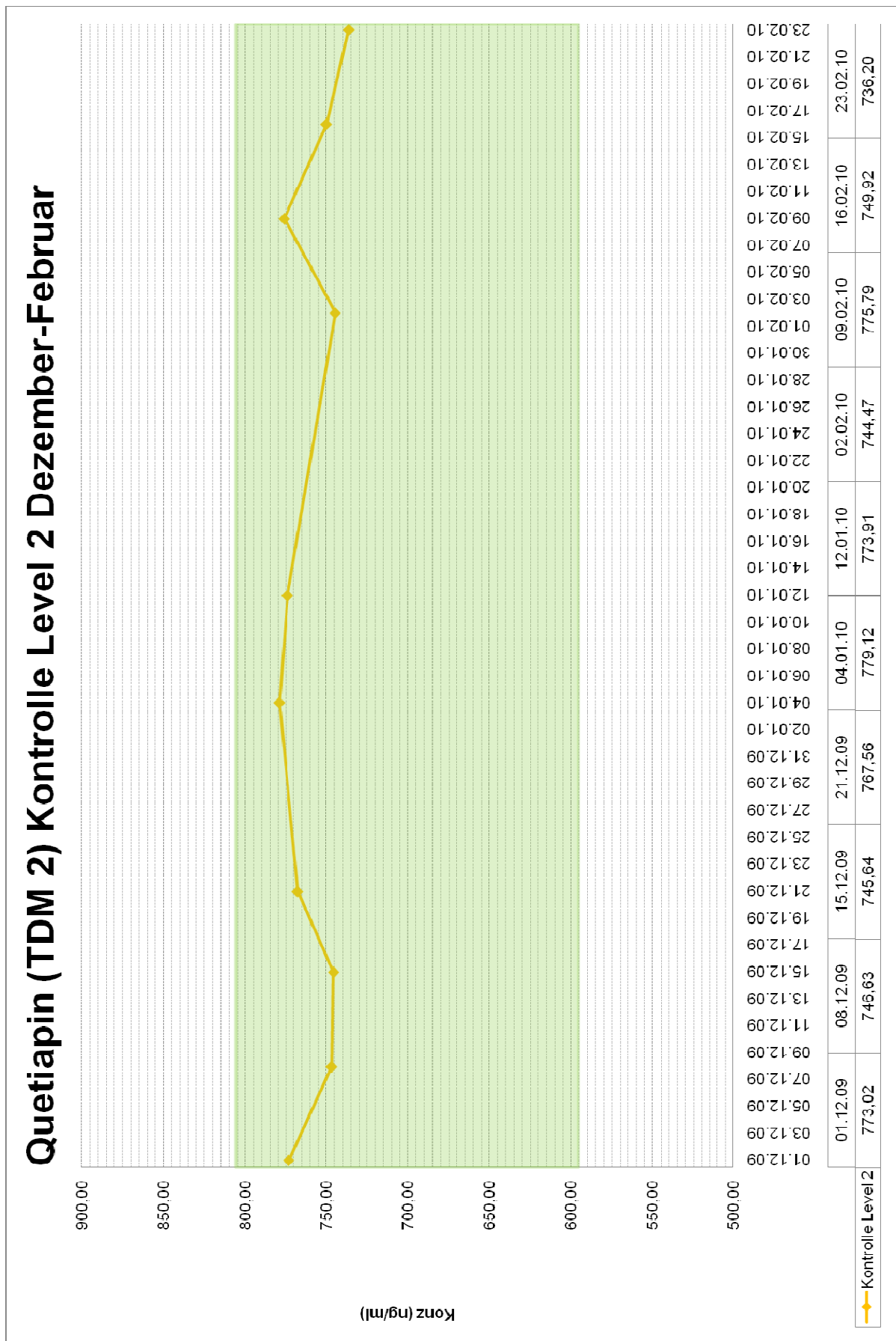
Graphik 8e: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 1 September-November



Graphik 8f: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 2 September-November



Graphik 8g: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 1 Dezember-Februar



Graphik 8h: Quetiapin (TDM 2) Kontrolle Level 2 Dezember-Februar

3.4.10 Quetiapin (TDM 3a-Verfahren)

Anmerkung: Seit Dezember 2009 werden zusätzlich UTAK - Kontrollen eingesetzt.

Kontrolle Level 1 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 51 ng/ml

Intervall Hersteller: 41 - 61ng/ml (~20%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	51,81	49,49	51,35	-----
Standardabweichung	5,50	9,82	7,01	-----
Varianzkoeffizient	10,61%	19,84%	13,66%	-----
QUAMM	10,48%	18,73%	13,19%	-----
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	32,38%	57,84%	41,27%	-----

Tabelle 11a: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle Level 1 Bio-Rad (TDM 3a)

Kontrolle Level 2 Bio-Rad

Zielwert (Sollwert): 215 ng/ml

Intervall Hersteller: 170 - 260 ng/ml (~21%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	199,83	167,13	194,49	182,29
Standardabweichung	9,96	55,80	9,69	36,39
Varianzkoeffizient	4,98%	33,39%	4,98%	19,96%
QUAMM	8,34%	33,29%	10,47%	22,27%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	15,59%	80,98%	16,55%	53,01%

Tabelle 11b: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle Level 2 Bio-Rad (TDM 3a)

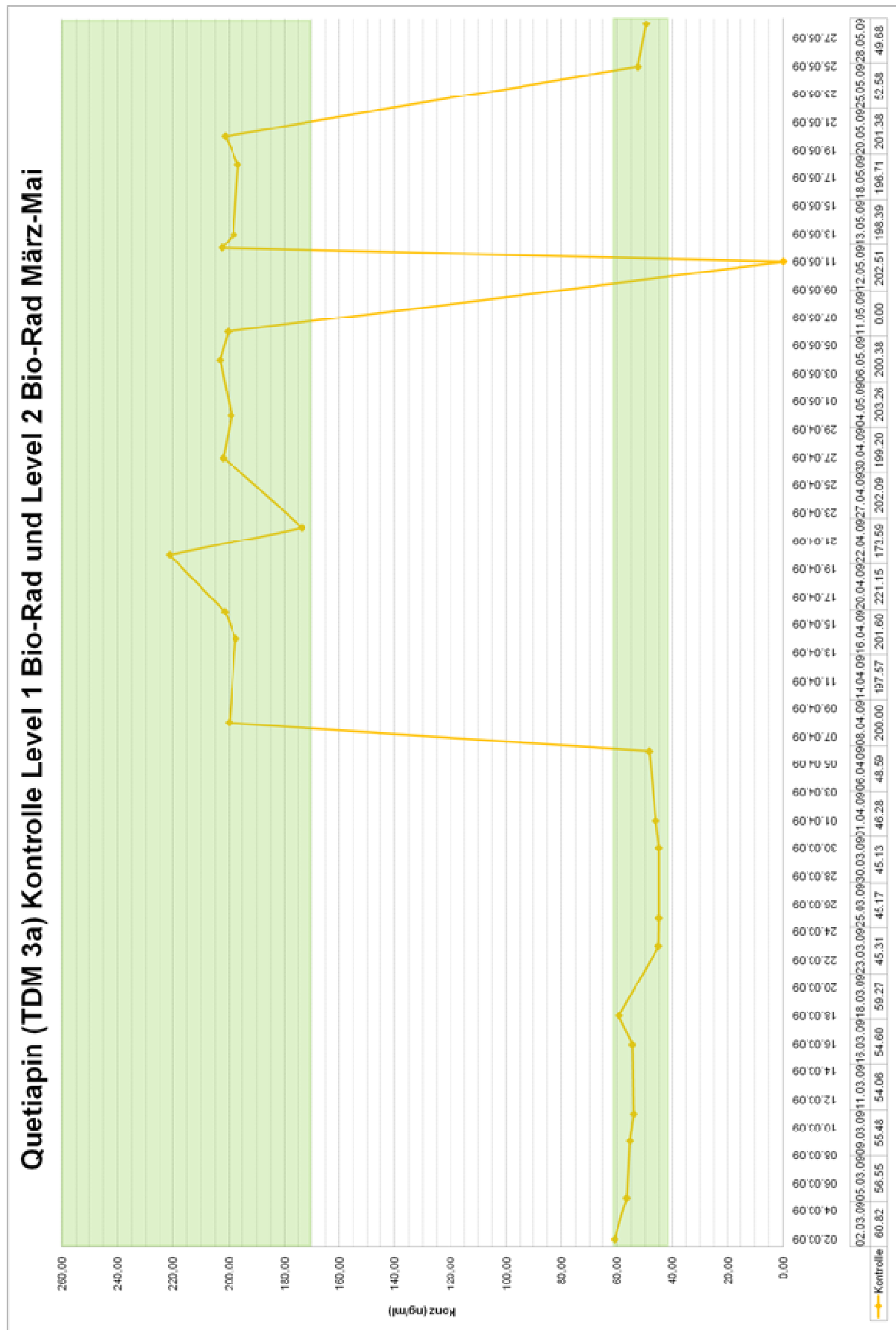
Kontrolle UTAK

Zielwert (Sollwert): 1000 ng/ml

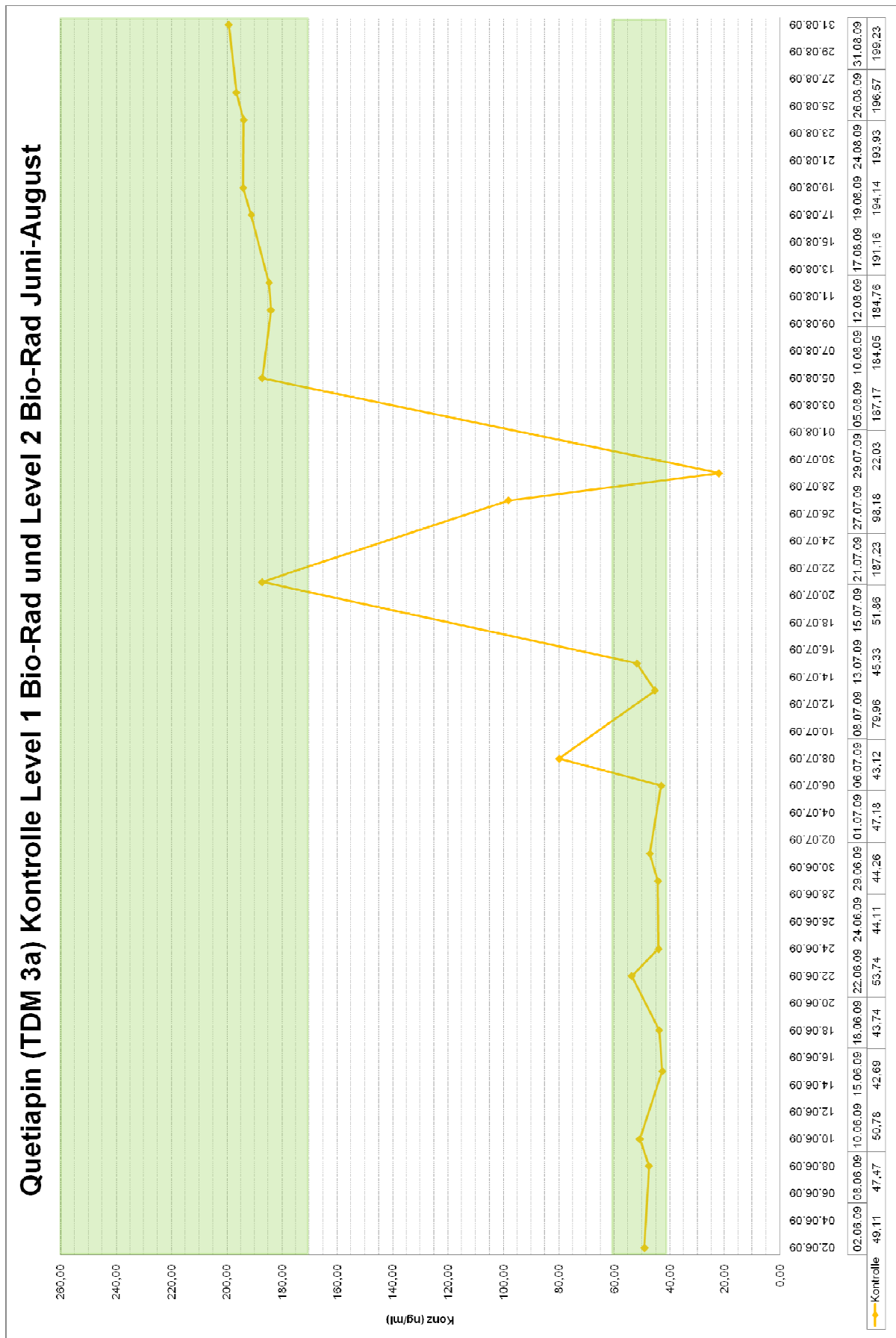
Intervall Hersteller: 850 -1150 ng/ml (15%)

	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	881,48
Standardabweichung	105,34
Varianzkoeffizient	11,95%
QUAMM	15,68%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	33,75%

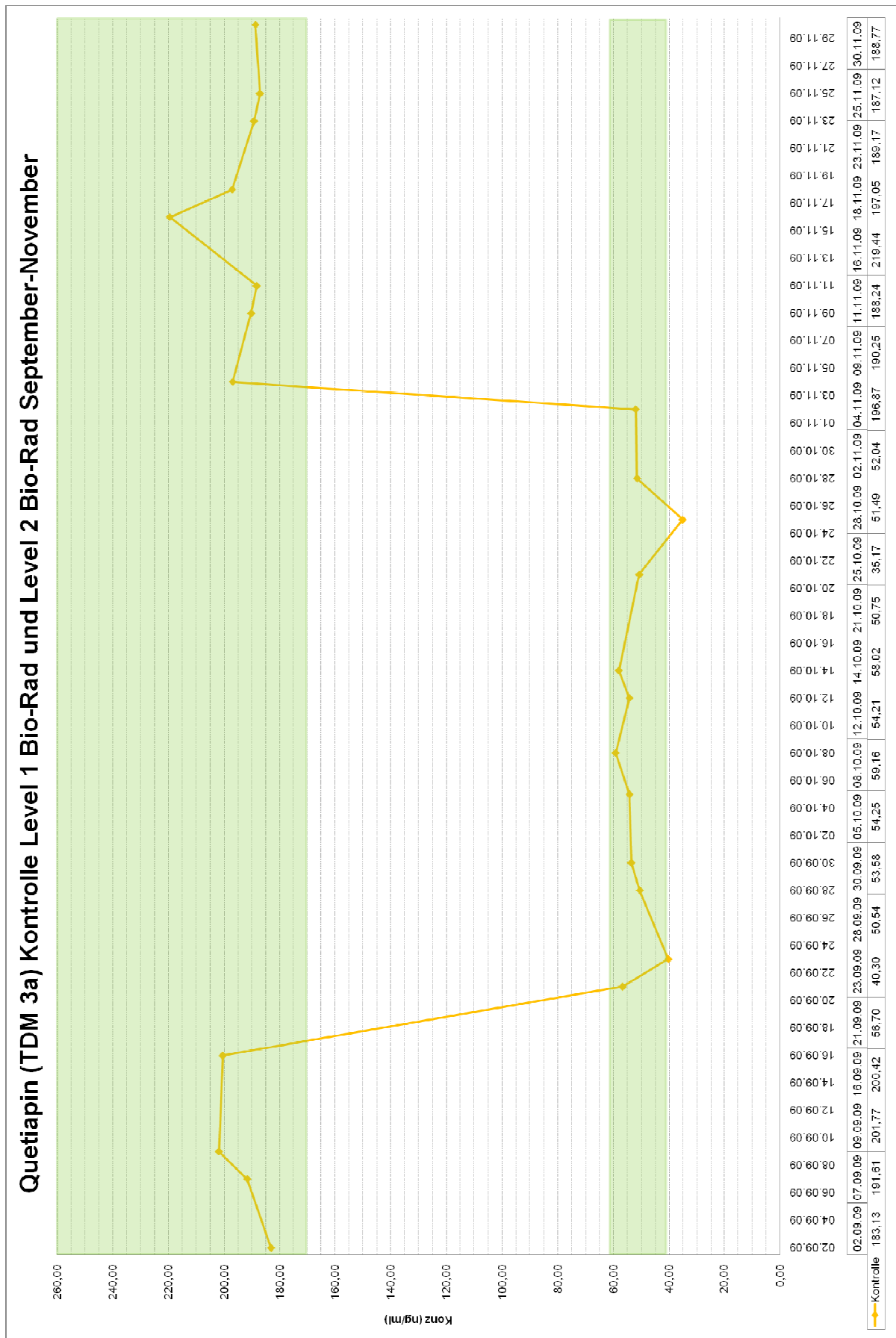
Tabelle 11c: Berechnungen für Quetiapin Kontrolle UTAK (TDM 3a)



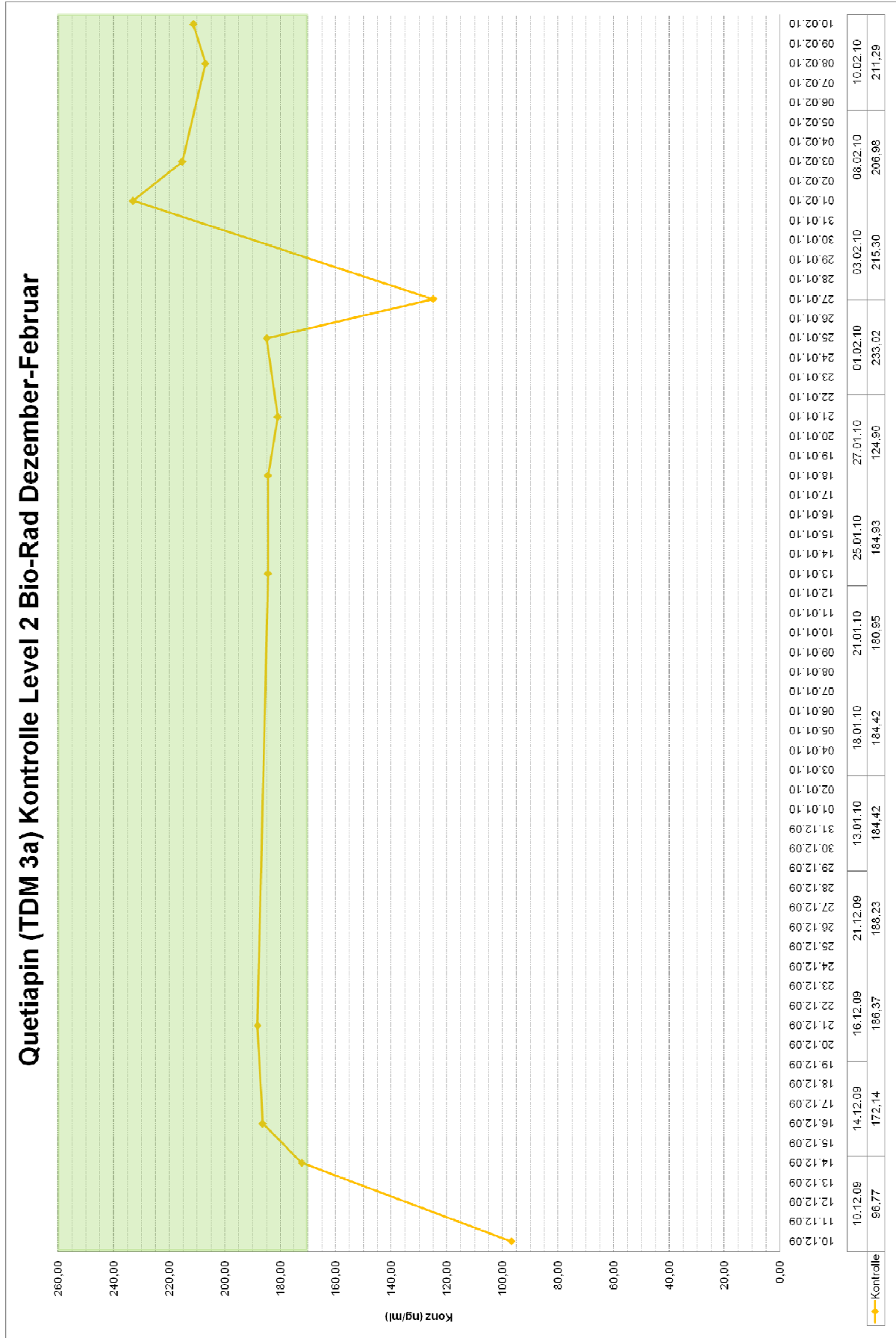
Graphik 9a: Quetiapin (TDM 3a) Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad März-Mai



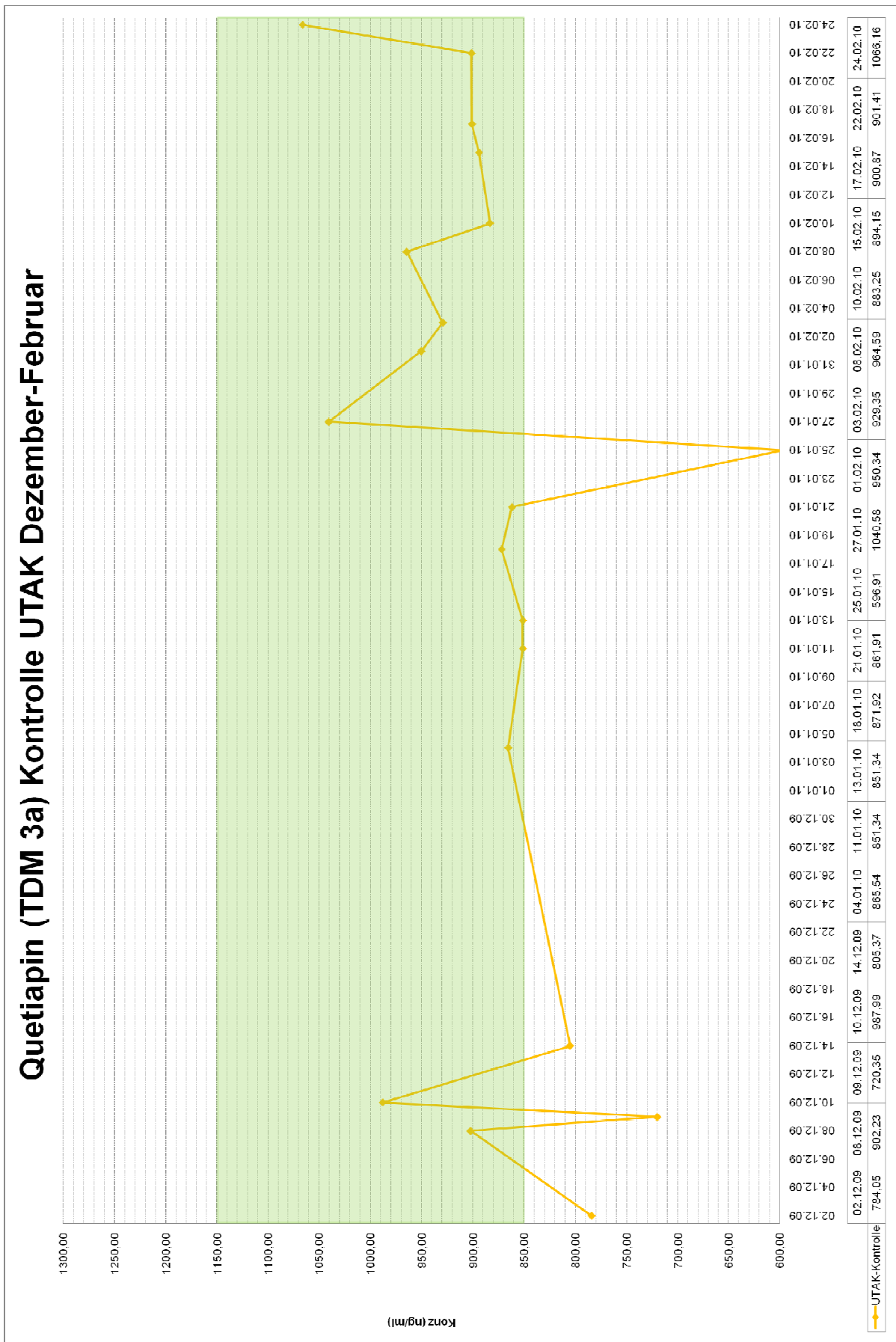
Graphik 9b: Quetiapin (TDM 3a) Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad Juni-August



Graphik 9c: Quetiapin (TDM 3a) Kontrolle Level 1 Bio-Rad und Level 2 Bio-Rad September-November



Graphik 9d: Quetiapin (TDM 3a) Kontrolle Level 2 Bio-Rad Dezember-Februar



Graphik 9e: Quetiapin (TDM 3a) Kontrolle UTAK Dezember-Februar

3.4.11 Risperidon (TDM 3b-Verfahren)

Anmerkungen: Bis Juli 2009 sind von Risperidon keine Daten vorhanden.

Die Messungen von August 2009 bis Februar 2010 sind mit vielen verschiedenen Kontrollproben durchgeführt worden, sodass für diesen Zeitraum noch keine sinnvollen und aussagekräftigen Berechnungen und Graphiken erstellt werden konnten.

Sobald die Übergangsphase abgeschlossen ist und regelmäßig mit den selben Kontrollproben gemessen wird, kann auch für die Konzentrationsbestimmung von Risperidon eine aussagekräftige rechnerische und graphische Dokumentation erfolgen.

3.4.12 Ziprasidon (TDM 3a-Verfahren)

Anmerkung: Kommerziell erwerbbare Kontrollen sind erst seit Dezember 2009 vorhanden.

Kontrolle UTAK

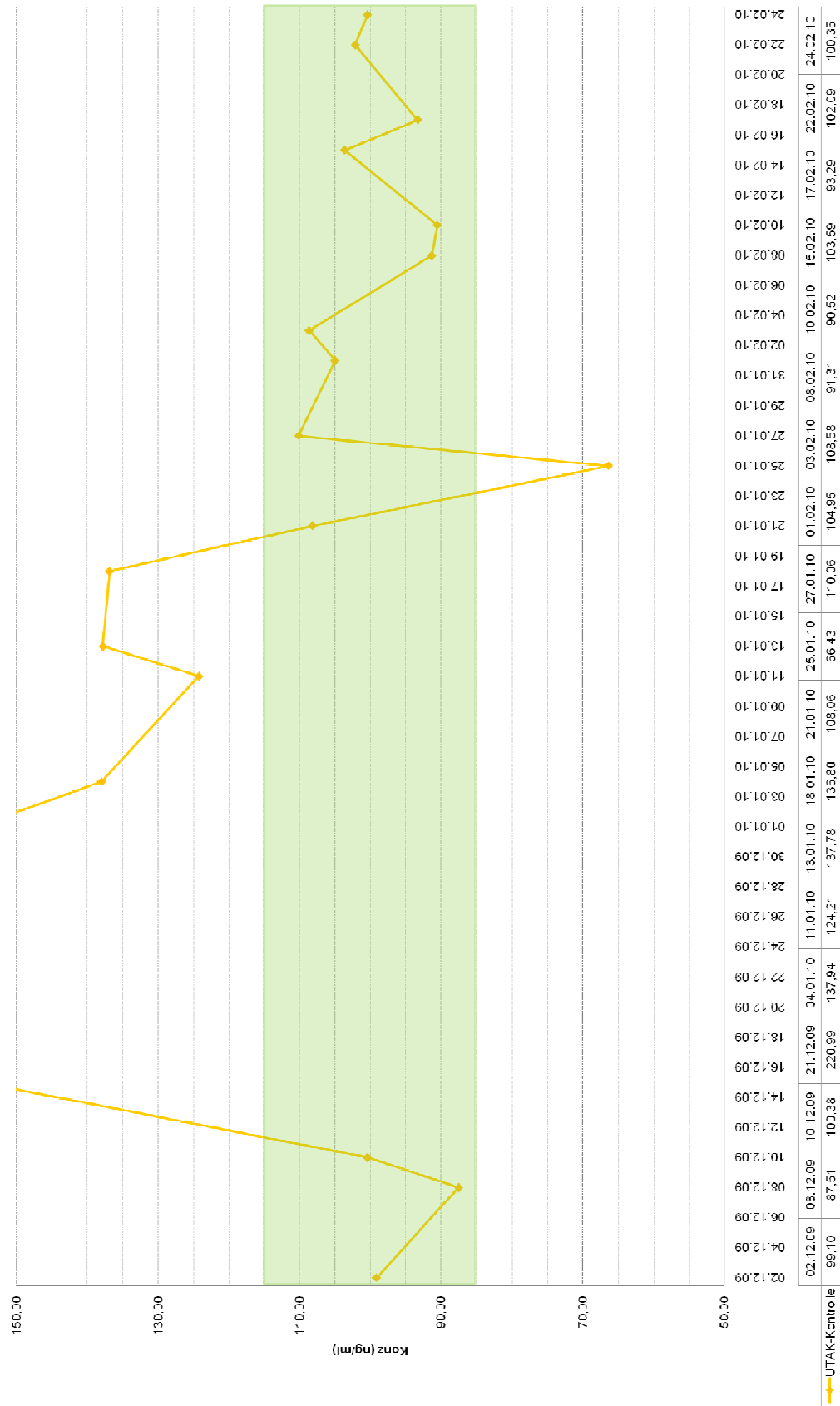
Zielwert (Sollwert): 100 ng/ml

Intervall Hersteller: 85 -115 ng/ml (15%)

	März 2009- Mai 2009	Juni 2009- August 2009	September 2009- November 2009	Dezember 2009- Februar 2010
Mittelwert	-	-	-	111,79
Standardabweichung	-	-	-	32,13
Varianzkoeffizient	-	-	-	28,74%
QUAMM	-	-	-	33,42%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	-	-	-	97,11%

Tabelle 12: Berechnungen für Ziprasidon Kontrolle UTAK

Ziprasidon Kontrolle UTAK Dezember-Februar



Graphik 10a: Ziprasidon Kontrolle UTAK Dezember-Februar

3.4.13 Diazepam (BZD-Verfahren)

Anmerkung: Da innerhalb von 12 Monaten, zwischen März 2009 und Februar 2010, lediglich 13 Messungen durchgeführt wurden, sind die Ergebnisse in den Tabellen sowie die Graphiken für einen Zeitraum von jeweils sechs Monaten errechnet bzw. erstellt.

Serumkontrolle Level I

Zielwert (Sollwert): 130 ng/ml

Intervall Hersteller: 104 - 156 ng/ml (20%)

	März 2009- August 2009	September 2009- Februar 2010
Mittelwert	141,58	134,55
Standardabweichung	8,80	11,85
Varianzkoeffizient	6,22%	8,81%
QUAMM	10,84%	9,14%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	22,18%	27,58%

Tabelle 13a: Berechnungen für Diazepam Serumkontrolle Level I

Serumkontrolle Level II

Zielwert (Sollwert): 1613 ng/ml

Intervall Hersteller: 1290 - 1936 ng/ml (~20%)

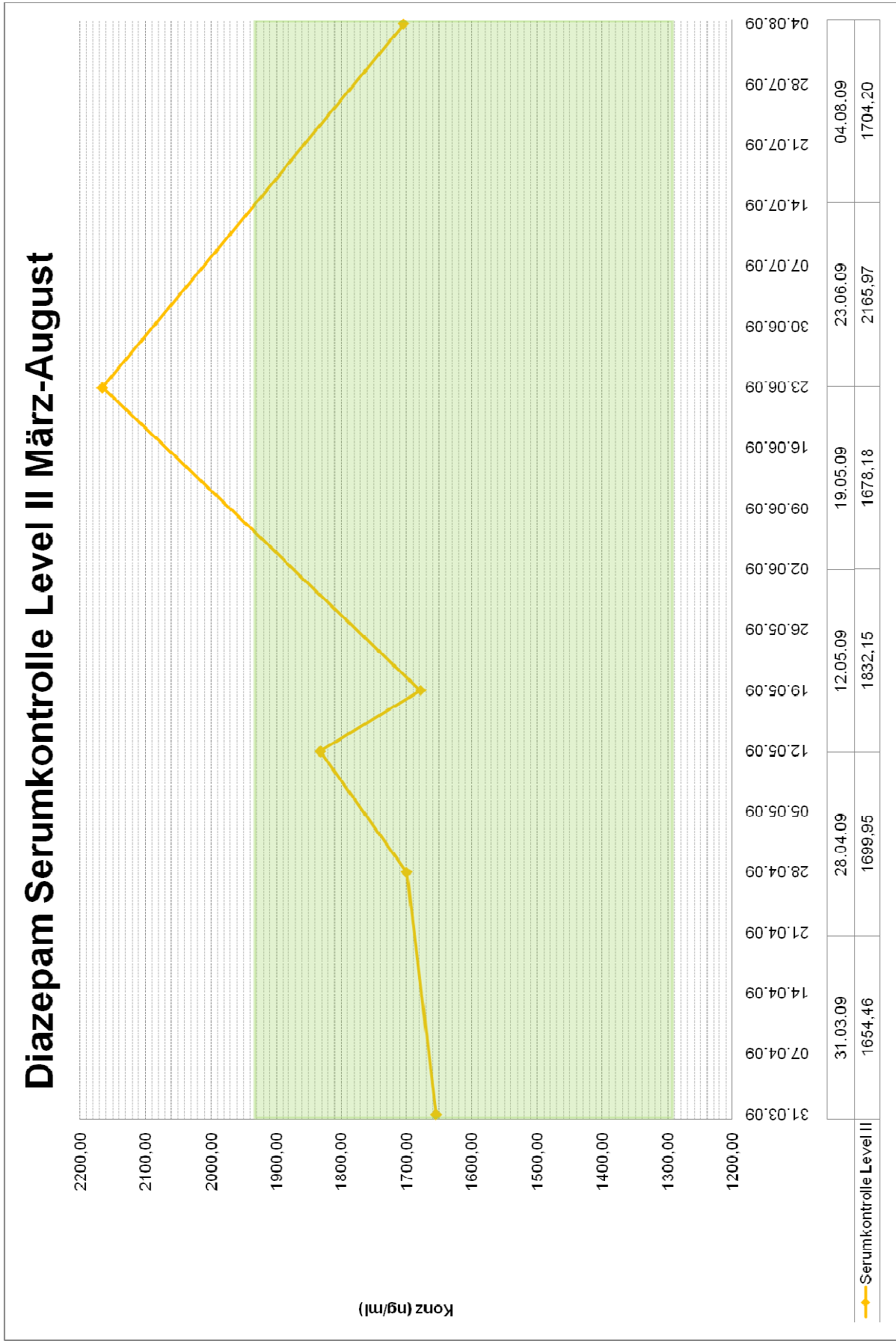
	März 2009- August 2009	September 2009- Februar 2010
Mittelwert	1789,15	1753,96
Standardabweichung	194,66	170,57
Varianzkoeffizient	10,88%	9,72%
QUAMM	15,51%	13,12%
rel. laboratoriums- interne Fehlergrenze	37,82%	32,91%

Tabelle 13b: Berechnungen für Diazepam Serumkontrolle Level II

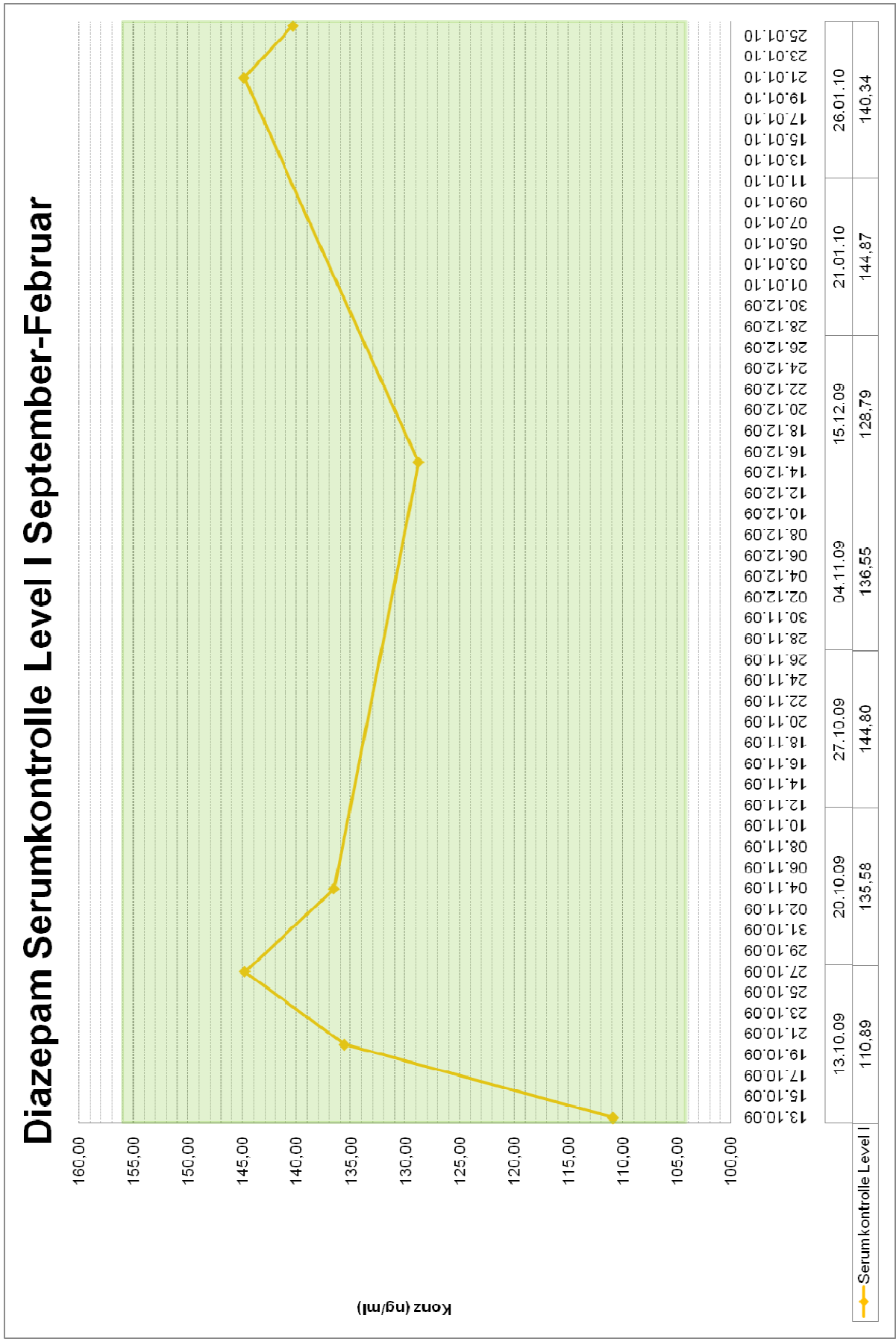
Diazepam Serumkontrolle Level I März-August



Graphik 11a: Diazepam Serumkontrolle Level I März-August



Graphik 11b: Diazepam Serumkontrolle Level II März-August



Graphik 11c: Diazepam Serumkontrolle Level I September-Februar

Diazepam Serumkontrolle Level II September-Februar



Graphik 11d: Diazepam Serumkontrolle Level II September-Februar

3.4.14 Weitere Tranquillanzien

Im Zeitraum von März 2009 bis Februar 2010 wurden im Regensburger Labor nur Konzentrationsbestimmungen von Diazepam, nicht aber von weiteren Tranquillanzien, durchgeführt. Das bedeutet, dass für die Wirkstoffe Alprazolam, Bromazepam, Chlordiazepoxid, Clobazam, Clonazepam, Nordiazepam, Flunitrazepam, Flurazepam, Nitrazepam und Oxazepam keinerlei Messdaten vorliegen.

Sollten diese Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen in Zukunft von behandelnden Ärzten angefordert werden, so kann das Regensburger Labor unverzüglich die entsprechende Messung durchführen: Der exakte Ablauf der Konzentrationsbestimmung ist der jeweiligen Arbeitsanweisung zu entnehmen (siehe 3.3) und die anschließende Auswertung und Bearbeitung der Messergebnisse ist wie am Beispiel der internen Dokumentation von Diazepam (siehe 3.4.13) durchzuführen.

4 Diskussion

4.1 Allgemeines

Die geschichtliche Entwicklung der Qualitätssicherung zeigt auf, welche große Verantwortung in der heutigen Zeit Laboratorien wie dem Regensburger Labor und deren Verantwortlichen und Mitarbeitern zukommt. Waren Messergebnisse in früheren Zeiten oft Produkte des Zufalls und in keinsten Weise vergleichbar, werden heute Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen auf Grund der Rili-BÄK einem standardisierten und schriftlich vorgegebenen Verfahren unterworfen und sind damit auch zwischen verschiedenen Laboratorien vergleichbar. Allerdings erfordert die Umsetzung dieser Richtlinien sowohl enormen Arbeits- und Zeitaufwand als auch die Bereitschaft, langjährige Gewohnheiten und Arbeitsabläufe umzustellen und dem aktuellen Stand der Wissenschaft anzupassen [15].

Vor diese Herausforderung wurde das Regensburger Labor durch das Erscheinen der aktuell gültigen Rili-BÄK vom 23. November 2007 [17], in der erstmals die Wirkstoffkonzentrationsbestimmung von Psychopharmaka mit einbezogen ist, gestellt.

4.2 Verfahrensanweisungen

Im Teil A der Rili-BÄK wird unter anderem gefordert, den regelrechten Umgang mit dem Untersuchungsmaterial zu dokumentieren. Obwohl nicht explizit von der Richtlinie gefordert, haben sich weitere Anweisungen über allgemeine Laborabläufe als äußerst hilfreich herausgestellt. Dementsprechend wurden Verfahrensanweisungen für Blutabnahme, Patientenprobenannahme, Pipettieren, Vorreinigung des Poolserums, Kalibrierung der HPLC und Abfallentsorgung erstellt.

Hierbei wurde deutlich, dass man von vielen verschiedenen Quellen Informationen sammeln und anschließend zusammenfügen muss, um korrekte und vollständige Anweisungen verfassen zu können. Es zeigt sich beispielsweise, wie wichtig das Aufheben und Abheften aller Bedienungs- und Gebrauchsanweisungen in beschrifteten Ordnern ist. Des Weiteren sollten stets die aktuellen Produktkataloge der Firmen, von denen das Labor Waren bezieht, vorhanden sein. In den Verfahrensanweisungen Pipettieren und Aufreinigung Poolserum sind Verbrauchsmaterialien erwähnt, welche in regelmäßigen Abständen vom Labor nachbestellt werden müssen. Um den Labormitarbeitern bei Bedarf ein schnelles und einfaches Bestellen zu ermöglichen,

sind in diesen beiden Verfahrensanweisungen für alle in Frage kommenden Produkte tabellarisch die genaue Bezeichnung, die dazugehörige Bestell- bzw. Seriennummer, der Hersteller und der Aufbewahrungsort im Labor aufgelistet. Dies beschleunigt eine Nachbestellung wesentlich, da nicht lange in umfangreichen Katalogen nach einem einzigen bestimmten Produkt gesucht werden muss.

Allerdings ist hierfür eine sorgfältige und regelmäßige Überarbeitung notwendig. Sowohl Änderungen von Seiten des Herstellers, beispielsweise eine geänderte Bestellnummer, als auch von Seiten des Labors, zum Beispiel Umstieg auf andere Produkte oder Hersteller, müssen sofort in den Tabellen ausgebessert werden. Das bedeutet, sobald sich Angaben für die Tabellen oder sonstige Laborabläufe ändern, müssen neue Versionen der betroffenen Verfahrensanweisungen erstellt werden.

Alle Verfahrensanweisungen befinden sich hierfür auf dem zentralen Server des Labors, sodass jeder berechtigte Mitarbeiter darauf zugreifen und gegebenenfalls eine Aktualisierung durchführen kann. Die verschiedenen Versionen werden jeweils durch das Datum im Dateinamen gekennzeichnet. Ältere Versionen sollten nicht gelöscht werden, sondern auf dem Server verbleiben, um die inhaltlichen Veränderungen nachvollziehen zu können. Die jeweils aktuellste Version einer Verfahrensanweisung muss im Labor jederzeit zur Verfügung stehen, ob in Papierform oder als digitales Dokument. Nur so ist langfristig ein fehlerfreies Arbeiten damit gesichert.

Bei Unsicherheiten bezüglich bestimmter Arbeitsschritte und vor allem zum Einarbeiten von Mitarbeitern stehen damit stets aktualisierte, auf allgemein geforderte Richtlinien abgestimmte und trotzdem individuell auf das Regensburger Labor zugeschnittene Verfahrensanweisungen zum schnellen Nachlesen zur Verfügung.

Die Rili-BÄK fordert außerdem das Festlegen von Kriterien, wann eine Freigabe der Messergebnisse erfolgen kann und unter welchen Umständen nicht. Diese Verfahrensanweisung sollte von einem Arzt und/oder Apotheker in Zusammenarbeit mit den Verantwortlichen des Labors erstellt werden.

4.3 Arbeitsanweisungen

Alle Arbeitsschritte der Analytik im engeren Sinne, das heißt der Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen, in Form von standardisierten Arbeitsanweisungen vorliegen zu haben, ist eine weitere Forderung des Teil A der Rili-BÄK. Dementsprechend wurden Arbeitsanweisungen für die Konzentrationsbestimmung von allen zehn Neuroleptika

und elf Tranquillanzen, die vom Regensburger Labor gemessen werden können, erstellt. Diese Aufgabe bedeutete einen vorher in der Dimension nicht absehbaren zeitlichen Aufwand.

Jede Arbeitsanweisung verfügt im ersten Teil über eine tabellarische Auflistung aller nötigen Geräte, Verbrauchsmaterialien und Reagenzien. Dabei wird der genauen Produktbezeichnung jeweils die Inventar-, Bestell- bzw. Seriennummer, der Hersteller und der Aufbewahrungsort im Labor zugeordnet. Bei Problemen mit einem Gerät oder falls Nachbestellungen nötig werden sollten, können bequem und schnell die erwünschten Produktinformationen nachgeschlagen werden. Man muss folglich weder die meist gut versteckten und klein gedruckten Seriennummern auf den Geräten suchen noch überfüllte Kataloge wegen eines kleinen Ersatzteils wälzen. Dies hat deutliche Zeitersparnis zur Folge und verhindert auch mögliche Fehler, die sich beispielsweise beim Zahlenablesen und handschriftlichen Notieren leicht einschleichen können. Wie aber bereits bei den Verfahrensanweisungen betont wurde, ist eine ständige Aktualisierung dieser Produktetabellen Voraussetzung dafür, dass effizient und fehlerfrei damit gearbeitet werden kann.

Anschließend werden in den Arbeitsanweisungen alle Schritte zur Herstellung von Eluenten, Stammlösungen und Standards detailliert beschrieben. Eine unerwartet große Herausforderung stellte dabei das Ausfindigmachen der Molaren Massen der jeweiligen Reinsubstanzen dar. Während zwar einige auf den dazugehörigen Sicherheitsdatenblättern der Firmen zu finden waren, konnten die Molaren Massen von anderen Substanzen trotz intensiver Nachforschung nur durch Neubestellung oder durch Errechnen aus der Summenformel gewonnen werden. Bei Bedarf muss also nur noch in der entsprechenden Arbeitsanweisung nachgeschlagen und nicht mehr in unübersichtlichen Datenblättern oder Produktinformationen gestöbert werden.

Während der Erstellung der ersten Versionen der Arbeitsanweisungen haben sich bereits Änderungen in den Untersuchungsverfahren ergeben. Besonders zu erwähnen ist der neu eingeführte kommerzielle Erwerb von Standards, was bedeutet, dass der lange und mühsam erarbeitete Abschnitt über die Herstellung der Stammlösungen und Standards aus jetziger Sicht unnötig erscheint. Trotz allem ist dieser Teil keinesfalls als überflüssig anzusehen und sollte auch in aktualisierten Versionen enthalten sein. So können nämlich in Zukunft etwaige Ausfälle der kommerziell erworbenen Standards, wie zum Beispiel Lieferverzögerungen oder Qualitätsmängel,

ohne größere Schwierigkeiten überbrückt werden. Anhand der Arbeitsanweisungen können kurzerhand eigene Standards hergestellt und damit der tägliche Laborbetrieb aufrecht erhalten werden.

Abschnitte über Analysenvorbereitung, Durchführung der Messung und Wartung vervollständigen die Arbeitsanweisungen. Sind alle Schritte bis einschließlich der Analysenvorbereitung problemlos nachvollziehbar und durchaus auch von einer fachfremden Person gut nachzuarbeiten, so stößt man bei der Messdurchführung und Wartung an die Grenzen. Der richtige Umgang mit den HPLC-Anlagen bedarf unbedingt Fachkenntnis dieser Geräte. Daher können diese Arbeitsvorgänge nur nach Einweisung durch eine TA durchgeführt werden, worauf an entsprechenden Stellen auch explizit hingewiesen wird.

Wie auch die Verfahrensanweisungen befinden sich die Arbeitsanweisungen auf dem zentralen Server des Labors, worauf jeder berechtigte Mitarbeiter zugreifen kann. Aktualisierte Versionen werden jeweils durch das neue Datum im Dateinamen gekennzeichnet. Ältere Versionen sollten keineswegs gelöscht, sondern auf dem Server belassen werden, damit die inhaltlichen Veränderungen nachvollziehbar bleiben. Die jeweils aktuellsten Versionen der Arbeitsanweisungen müssen, ob in Papierform oder als digitales Dokument, direkt an den entsprechenden Arbeitsplätzen zugänglich sein, sodass sie bei Unsicherheiten oder Fragen jederzeit schnell zur Hand sind.

Die exakte Auflistung jedes einzelnen Arbeitsschrittes, die für jede ausführende Person gleichermaßen gilt, zielt auf eine Standardisierung aller Arbeitsschritte und damit auf Minimierung von Fehlerquellen ab. Stets gleiches Arbeiten führt zu konstanteren Ergebnissen und lässt Vergleiche der Messungen besser zu. Die Forderung der Rili-BÄK, ausführliche Arbeitsanweisungen zu verfassen, kann man folglich als logische und notwendige Konsequenz der stets steigenden Ansprüche an Qualitätssicherung in Laboratorien betrachten.

4.4 Interne Qualitätssicherung

Ein grundsätzliches und wichtiges Anliegen aller Laboratorien ist die Richtigkeit, Verarbeitung und Sicherung ihrer Messdaten. Da die Rili-BÄK vor Erscheinen der aktuellen Auflage vom 23.11.2007 in Bezug auf die interne Qualitätssicherung nicht alle Arten von Laboratorien in die Pflicht nahm (auch das Regensburger Labor war in die-

sem Umfang noch nicht betroffen), basierte in solchen Laboratorien die Datengewinnung, -auswertung und -sicherung möglicherweise auf jahrelanger Routine, Vorlieben von Laborleitern/innen und war damit keinen festen Regeln unterworfen. Wenn zum Beispiel weder Art noch Menge der nötigen zu dokumentierenden Daten festgelegt sind, könnten verschiedene Mitarbeiter unterschiedliche Messgrößen als wichtig erachten. Möchte man aus solchen Sicherungen im Nachhinein vergleichende Daten gewinnen, bedeutet dies enormen Arbeits- und Zeitaufwand ohne Garantie auf Erfolg.

Sobald jedoch Laboratorien durch Richtlinien klare Vorgaben für die Art und den Umfang der internen Datengewinnung, -auswertung und -sicherung bekommen und diese auch entsprechend umsetzen, kann man von einem deutlich höheren Niveau an interner Qualitätssicherung ausgehen. Ergebnisse werden verlässlicher und Daten verschiedener Messtage von demselben Untersuchungsverfahren können mühelos verglichen werden.

Die aktuell gültige Rili-BÄK vom 23. November 2007 regelt klar den Einsatz und die Anwendung eines Kontrollprobensystems zur internen Qualitätssicherung. So sind regelmäßig Kontrollprobeneinzelmessungen durchzuführen und deren Ergebnisse zu bewerten, entweder anhand laboratoriumsinterner Fehlergrenzen oder orientiert an vom Hersteller vorgegebenen Bereichen. Mit dieser Vorgabe ist also eine erste Hürde in den Ablauf des Messverfahrens eingebaut. Sollte ein Kontrollprobeneinzelmesswert außerhalb der vorgegebenen Fehlergrenzen bzw. Bereiche liegen, wird das Messverfahren zunächst gesperrt und die Ursache muss erforscht und, soweit möglich, beseitigt werden. Besonders wichtig ist hierbei eine sorgfältige Dokumentation, mit deren Hilfe man immer wiederkehrende Problemstellen in der Messmethodik ausfindig machen kann und damit gezielter auf Fehlersuche und -behebung eingehen kann.

Nach Beendigung jedes Kontrollzyklus, das heißt nach 15 Messreihen mit gleichartigen Kontrollproben bzw. maximal nach drei Monaten, muss aus den Messergebnissen der Kontrollprobeneinzelmessungen der relative quadratische Mittelwert der Messabweichung errechnet werden. Auch dieser Wert hat sich innerhalb vorgegebener Grenzen, tabellarisch aufgelistet in der Rili-BÄK oder den laboratoriumsinternen Fehlergrenzen, zu bewegen. Sollte er außerhalb liegen, darf kein Patientenmaterial mit diesem Untersuchungsverfahren gemessen werden. Statt dessen ist eine sorgfältige

tige Fehlersuche und -beseitigung nötig und erst nachdem wieder eine zufriedenstellende Funktionalität des Messverfahrens nachgewiesen ist, dürfen erneut Patientenproben mit diesem Untersuchungsverfahren gemessen werden. Somit ist also eine zweite Hürde im Ablauf des Messverfahrens eingebaut. Wird sich streng an diese Vorgaben gehalten, garantieren sie eine gleichbleibend hohe Sicherheit bezüglich der Richtigkeit von gewonnenen Patientenmesswerten, was das oberste Ziel jedes Labors sein sollte.

Wie schwer es allerdings ist, alle Forderungen einzuhalten, wird am Beispiel des Regensburger Labors deutlich.

Die Vorgabe, zu Beginn jeder Messreihe eine Kontrollprobe zu messen, wird in der Regel erfüllt. Eine Ausnahme bildete zeitweise die Konzentrationsbestimmung von Ziprasidon, da es für diesen Wirkstoff erst seit Dezember 2009 kommerziell erwerb-bare Kontrollproben gibt. Dringender Handlungsbedarf besteht dagegen im sofortigen Abgleichen des Kontrollprobeneinzelmessergebnisses mit dem vorgegebenen Intervall, um dementsprechend die Messung von Patientenproben folgen zu lassen oder zu sperren. Dies wird bisher nicht konsequent durchgeführt, sodass sich auch bei Werten, die außerhalb des Intervalls liegen, die Messung der Patientenproben anschließt. Hier entsteht im Regensburger Labor ein erster systematischer Fehler, der sich im Folgenden natürlich auch in den weiteren Berechnungen und Graphiken widerspiegelt. Um eine hohe Qualität der Messergebnisse zu gewährleisten, muss zukünftig an dieser Stelle also eine strenge Zwischenkontrolle stattfinden.

Die Frage, warum regelmäßig Kontrollprobenwerte außerhalb der vorgeschriebenen Intervalle liegen, lässt sich pauschal nicht beantworten. In Betracht ziehen muss man zum einen die Säulen der HPLC-Anlagen, welche Verbrauchsgegenstände sind und möglicherweise mit steigendem Alter zu ungenauen Messergebnissen führen. Folglich ist eine genaue Dokumentation der Säulenwechsel, wie es im Regensburger Labor bereits gehandhabt wird, für das Aufspüren von Fehlern aufgrund gealterter Säulen unerlässlich. Des Weiteren kann die Injektornadel verstopft sein und damit zu wenig Probenmaterial für die Messung einspritzen. Nicht zu vergessen sind auch Einflüsse von Temperaturschwankungen auf die Genauigkeit von Messungen. Diesbezüglich bestand das große Problem, dass das Regensburger Labor im Zeitraum der Datengewinnung im Rahmen dieser Arbeit noch in einem „Blechcontainer“ ohne Wärmeisolierung untergebracht war. Im Sommer bedeutete dies häufig extreme Hit-

ze und im Winter sehr kalte Temperaturen im Labor. Auch wenn das Ausmaß des Temperatureinflusses auf die Regensburger Messungen nicht exakt quantifizierbar ist, steht außer Frage, dass dieser Störfaktor die gesamte Arbeit im Labor enorm beeinträchtigt und unnötig erschwert hat. Unter anderem aus diesem Grund fand ein Umzug des klinisch-pharmakologischen Labors in einen Forschungsneubau im November 2010 statt.

Die Rili-BÄK schreibt des Weiteren bei Messungen von Patientenproben zwei Kontrollprobeneinzelmessungen in 24 Stunden und spätestens nach 16 Stunden vor. Soweit im Handel verfügbar wird die abwechselnde Verwendung von Kontrollproben mit mindestens zwei unterschiedlichen Zielkonzentrationen verlangt. Im Regensburger Labor wird das bisher nur bedingt eingehalten. Während bei den Messverfahren TDM 1a, TDM 2 und BZD gemäß der Richtlinie in jeder Messreihe zwei Kontrollproben unterschiedlicher Charge zum Einsatz kommen, wird dies bei den Messverfahren TDM 3a und TDM 3b nicht permanent eingehalten. Bei den Konzentrationsbestimmungen von Clozapin (TDM 3a) beispielsweise standen von März 2009 bis November 2009 im Labor zwar zwei verschiedene Kontrollproben von Bio-Rad zur Verfügung, es wurde pro Messreihe aber immer nur eine der beiden gemessen. Dies kann möglicherweise aus finanziellen und zeittechnischen Gründen so gehandhabt worden sein, muss aber in Zukunft unbedingt den Anforderungen der Richtlinie angepasst werden. Seit Dezember 2009 wurden bei allen TDM 3a-Verfahren gehäuft Kontrollen der Firma UTAK eingesetzt, die aber für alle Wirkstoffe nur in jeweils einem Konzentrationsbereich vorhanden waren. Möchte das Labor Kontrollproben weiterhin von UTAK beziehen, muss dringend jeweils eine weitere Kontrollprobe mit unterschiedlicher Zielkonzentration angeschafft werden. Noch unregelmäßiger war der Einsatz von Kontrollproben beim TDM 3b-Verfahren. Hier ist allerdings zu erwähnen, dass vor allem zwischen Dezember 2009 und Februar 2010 ein gewisser Ausnahmezustand herrschte, da zur Optimierung der Messverfahren diverse Kontrollproben verschiedener Hersteller in unterschiedlichen Konstellationen getestet wurden. Es sollte sich möglichst zeitnah für geeignete Kontrollproben entschieden werden, um die Forderungen der Rili-BÄK zu erfüllen.

Um anschließend die Ergebnisse aus jeder Messreihe festhalten zu können, musste zunächst eine standardisierte Tabelle erstellt werden. Dies wurde in Form einer Exceltabelle umgesetzt, in der dem Datum zugeordnet die Ergebnisse der Kontrollpro-

beneinzelmessungen mit Retentionszeit (Ret.Time), Höhe (Height) und Konzentration (Amount) eingetragen werden können. Zusätzlich werden darin die vorgegebenen Konzentrationen, Wellenlänge der Messung, Angaben zu den Säulen und zum Herstellungszeitpunkt der Standards und internen Kontrollen vermerkt. Problematisch ist hierbei der hohe Zeitaufwand für die Labormitarbeiter, da die Messergebnisse nicht direkt aus dem Programm Chromeleon, sondern nur über eine Zwischenspeicherung in die Exceltabelle eingetragen werden können.

Anhand dieser Daten werden jeweils für den Zeitraum eines Kontrollzyklus Mittelwert, Standardabweichung, Variationskoeffizient, quadratischer Mittelwert der Messabweichung, systematische Messabweichung und die relative laboratoriumsinterne Fehlergrenze nach Rili-BÄK berechnet. Im Regensburger Labor wurde zwischen März 2009 und Februar 2010, das heißt im Zeitraum der Datensammlung für diese Arbeit, die Dauer eines Kontrollzyklus auf drei Monate festgelegt. Bisher sind die Berechnungen im Regensburger Labor allerdings mit einem erheblichen Aufwand verbunden, da die Ergebnisse vom Programm bisher noch nicht automatisch geliefert, sondern größtenteils einzeln anhand des Excelprogramms berechnet werden müssen. Eine zukünftige Automatisierung der Berechnung mittels entsprechender Programmierung wäre an dieser Stelle überaus sinnvoll und zeiteinsparend.

Neben diesem sind im Rahmen der Berechnungen noch weitere Probleme aufgetaucht. Wie bereits erwähnt wurden häufig Messreihen weitergeführt, obwohl sich der Wert der Kontrollprobeneinzelmessung zu Beginn der Messreihe nicht innerhalb des zulässigen Intervalls bewegte. Bei keinem einzigen Wirkstoff, betrachtet über die gesamten 12 Monate, sind nur zulässige Kontrollprobeneinzelmesswerte in die Berechnungen eingeflossen, sondern stets auch unzulässige Werte außerhalb des erlaubten Intervalls. Insbesondere die Ergebnisse der relativen laboratoriumsinternen Fehlergrenzen sind meist zu hoch, die gemäß Rili-BÄK innerhalb des vom Hersteller der Kontrollprobe vorgegebenen Bereichs liegen sollten. Die Problematik kann anhand des Beispiels Amisulprid veranschaulicht werden: Betrachtet man die Kontrolle Level 1 (siehe Tabelle 2a), so erkennt man, dass nur in den ersten beiden Zeiträumen die laboratoriumsinterne Fehlergrenze innerhalb des vom Hersteller vorgegebenen Bereichs liegt. In den beiden darauffolgenden Zeiträumen überschreitet der Wert der laboratoriumsinternen Fehlergrenze den des Herstellerbereichs. Vergleicht man das mit dem graphischen Verlauf der Kontrollproben, so findet man wie erwartet in den

ersten beiden Zeiträumen keine vom Intervall abweichenden Kontrollprobeneinzel-messwerte (siehe Graphik 1a und 1c), Die beiden letzten Zeiträume dagegen enthal-ten Kontrollprobeneinzel-messwerte, die außerhalb des Intervalls liegen (siehe Gra-phik 1e und 1g).

Bei konsequenter Einhaltung der Rili-BÄK sollten in Zukunft idealerweise die selbst-berechneten laboratoriumsinternen Fehlergrenzen als Vergleichsintervalle für die Kontrollprobeneinzel-messungen und den relativen quadratischen Mittelwert der Messabweichung dienen.

Des Weiteren ist auch die momentane Lösung, einen Kontrollzyklus generell auf drei Monate festzulegen, keineswegs ideal, da die Anzahl an Patientenproben stark zwi-schen den verschiedenen Wirkstoffen variiert. Vielmehr sollte versucht werden, ent-sprechend der Rili-BÄK einen Kontrollzyklus durch die letzten 15 Messreihen mit gleichartigen Kontrollproben zu definieren und nur dann durch maximal drei Monate, wenn weniger als 15 Messreihen in dieser Zeit vorliegen.

Bei Wirkstoffen mit hoher Messfrequenz (Beispiel Olanzapin: 23 bis 27 Messreihen innerhalb von drei Monaten) sollten Berechnungen nach 15 Messreihen anstatt nach drei Monaten durchgeführt werden. Dabei entstand die Idee, nach jeder Messreihe die Berechnung anhand der jeweils letzten 15 Messreihen zu erstellen. Das würde bedeuten, dass nach jeder und nicht nur nach jeder 15. Messreihe berechnete Werte zur Auswertung und kritischen Begutachtung verfügbar wären. Dieser Idee der dy-namischen Werteberechnung folgend wurde ein Prototyp entworfen, der automatisch alle gewünschten Werte, basierend auf den jeweils letzten 15 Messreihen, ausrech-net. Idealerweise sollte ein solches Programm, ob von Chromeleon oder von Mitar-beitern des Regensburger Labors selbst programmiert, für alle betroffenen Wirkstoffe vorhanden sein. Langfristige Tendenzen und schleichende Abweichungen in den Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen könnten auf diese Weise leichter erkannt und nachvollzogen werden. Dieses Prinzip der dynamischen Werteberechnung ist aller-dings, wie bereits erwähnt, eine eigene entwickelte Idee und daher nicht in der Rili-BÄK festgehalten.

Problematisch gestaltet sich auch der Umgang mit Wirkstoffen, welche nur selten von behandelnden Ärzten eingesetzt und folglich auch nur selten vom Regensburger La-bor gemessen werden. Laut Rili-BÄK entfällt die Berechnung des quadratischen Mit-telwerts der Messabweichung für alle Wirkstoffe, die weniger als 15 Mal in drei Mona-

ten gemessen werden. Dazu zählen beispielsweise Amisulprid, Aripiprazol und Paliperidon. Aber auch hier wurde der Wunsch laut, aus mehreren Einzelmessungen Werte zu berechnen, um die Fehlererkennung in der Konzentrationsbestimmung zu erleichtern. So entschied man sich, wenn möglich, auch für diese Wirkstoffe Berechnungen für jeweils drei Monate zu machen.

Bei Wirkstoffen, die mit dem TDM 1a- oder dem TDM 2-Verfahren gemessen werden, ist dies ohne größere Schwierigkeiten umzusetzen. Hier wurden nämlich im Zeitraum von März 2009 bis Februar 2010 stets Kontrollproben der selben Charge verwendet, das heißt alle Kontrollprobeneinzelmessungen konnten miteinander verglichen und in Berechnungen zusammengefasst werden. Obwohl weniger als 15 Messungen als Grundlage dienten, konnten trotz allem aussagekräftige Berechnungen über jeweils drei Monate erstellt werden.

Weniger zufriedenstellend fällt die Lösung dagegen bei Wirkstoffen aus, die extrem selten gemessen werden, wie zum Beispiel Diazepam. Hier wurde sich ausnahmsweise für eine Berechnung mit Daten der letzten sechs Monate entschieden, was trotzdem für März bis August nur sieben (siehe Graphik 11a und 11b) und für September bis Februar nur sechs (siehe Graphik 11c und 11d) Kontrollprobeneinzelmessungen entsprach. Die Aussagekraft solcher Werte kann nicht besonders hoch angesehen werden.

Als noch problematischer stellten sich die Berechnungen für Wirkstoffe heraus, die mit ständig wechselnden Kontrollprobentypen gemessen werden. So konnten für Paliperidon und Risperidon fast keine Daten erhoben werden. Allerdings entspricht dieser häufige Wechsel der Kontrollproben wie bereits erwähnt nicht der Regel, sondern ist darauf zurückzuführen, dass genau zur Zeit der Datenerhebung für diese Arbeit eine Umstellung und Optimierung der Messverfahren für Paliperidon und Risperidon stattfand. Man kann folglich davon ausgehen, dass die Datenerhebung bei diesen Wirkstoffen wieder problemlos funktioniert, sobald regelmäßig mit den selben Kontrollprobentypen gearbeitet wird.

Auch für alle diese Wirkstoffe mit geringer Messfrequenz wäre die dynamische Berechnung nach je 15 Messreihen eine alternative Lösung.

Von der aktuellen Rili-BÄK wird außerdem die graphische Darstellung des Kontrollprobenverlaufs gefordert, wobei dies wiederum nur für Wirkstoffe verpflichtend ist, die mindestens 15 Mal in drei Monaten gemessen werden. Anhand der Graphen werden

die Werte der Kontrollprobeneinzelmessungen anschaulich dargestellt und für jedermann ist auf den ersten Blick ersichtlich, ob sie sich stets im vorgegebenen Intervall bewegen. Wie bereits im Zusammenhang mit der Gewinnung und Bewertung der Kontrollprobeneinzelmessungen erwähnt wurde, basieren die erstellten Graphen auf Werten, die sowohl innerhalb als auch außerhalb des geforderten Intervalls liegen. Dies wiederum liegt am zu wenig konsequenten Umsetzen der Forderungen der Rili-BÄK.

Im Gesamten betrachtet wird im Regensburger Labor noch nicht streng genug nach der Rili-BÄK gearbeitet, was dank der 24-monatigen Übergangsregelung auch noch nicht verpflichtend ist. Das Hauptproblem besteht darin, dass Werte, die auf nicht regelkonforme Art und Weise entstanden sind, auch in der Folge nicht mehr entsprechend der Richtlinien bewertet werden können. Besonders klar wird dies an folgendem Beispiel: Zu Beginn einer Messreihe erhält man einen Kontrollprobeneinzelmesswert, der außerhalb des zulässigen Bereichs des Herstellers liegt und damit eine Sperrung der Messreihe nach sich ziehen müsste. Ungeachtet dessen wird die Messreihe fortgesetzt und am Ende werden die üblichen Standardberechnungen durchgeführt. Die laboratoriumsinterne Fehlergrenze wird durch den Folgefehler zu hoher Wahrscheinlichkeit außerhalb des vorgegebenen Bereichs liegen, was nach Rili-BÄK wiederum zu einer Sperrung der Messergebnisse, das heißt keine Freigabe an die behandelnden Ärzte, führen müsste. Schon ein einziger zu stark abweichender Kontrollprobenwert kann also die Arbeit von Wochen bis Monaten zerstören, da er in allen darauf aufbauenden Berechnungen und Graphen zu weiteren Verfälschungen führt. Unter diesen Voraussetzungen ist natürlich keine Bewertung gemäß der Rili-BÄK mehr möglich.

Im Hinblick auf das baldige Ende dieser Übergangsregelung sollten also ab sofort, aufbauend auf den im Rahmen dieser Arbeit geschaffenen Grundlagen, die Vorgaben der Richtlinie bis ins Detail verwirklicht werden. Auf die enttarnten Schwachstellen kann von den Labormitarbeitern in Zukunft aktiv geachtet werden, was bei konsequenter Umsetzung zu einer drastischen Senkung von Fehlern in den Messverfahren führen wird. Werden diese Voraussetzungen erfüllt, steht einer hochwertigen internen Qualitätssicherung in Regensburg in naher Zukunft nichts mehr im Weg.

5 Zusammenfassung

Stetig wachsende Ansprüche an Qualität und Sicherheit in jeglichen Bereichen unserer Gesellschaft nehmen auch pharmakologische Laboratorien immer stärker in die Pflicht. Im Rahmen dieser Arbeit werden grundlegende Forderungen der aktuellen Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, die am 23.11.2007 erschienen ist, für das klinisch-pharmakologische Labor der Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie in Regensburg umgesetzt.

Zunächst wurden alle Arbeitsschritte bei der Wirkstoffkonzentrationsbestimmung von Neuroleptika und Tranquillanzien in Form von Arbeitsanweisungen genau und leicht verständlich dokumentiert. Zusätzlich wurden Anweisungen für den Umgang mit dem Untersuchungsmaterial und weitere allgemeine Abläufe erstellt. Dementsprechend stehen nun, individuell auf das Regensburger Labor abgestimmt, Verfahrensanweisungen für Abfallentsorgung, Blutabnahme, Patientenprobenannahme, Kalibrierung der HPLC, Pipettieren und Aufreinigung Poolserum zur Verfügung.

Die interne Qualitätssicherung gibt vor, bei allen Messreihen zu Beginn und erneut während des Verlaufs der Messung Kontrollprobeneinzelmessungen durchzuführen. Falls sich dabei gewonnene Werte außerhalb vorgegebener Grenzen bewegen, muss die Messreihe gestoppt werden und sich eine Fehlersuche anschließen. Nur bei funktionstüchtigem Messverfahren dürfen die gemessenen Werte an die anfordernden Institute bzw. Ärzte freigegeben werden.

Zur Dokumentation der Messergebnisse sind übersichtliche Exceltabellen erstellt worden. Aus diesen Messergebnissen berechnete man zwischen März 2009 und Februar 2010 für einen Zeitraum von in der Regel jeweils drei Monaten Mittelwert, Standardabweichung, Variationskoeffizient, quadratischer Mittelwert der Messabweichung und relative laboratoriumsinterne Fehlergrenzen. Des Weiteren wurden für die selben Zeitspannen Graphiken entworfen, die den Verlauf der Kontrollprobenergebnisse anschaulich wiedergeben.

Zwischen März 2009 und Februar 2010, also während der 24-monatigen Übergangsregelung der aktuellen Rili-BÄK, befindet sich das Regensburger Labor selbst in einer Übergangsphase. Einige Forderungen der Richtlinie sind bereits umgesetzt, wie die Erstellung der Arbeits- und Verfahrensanweisungen und die Dokumentation von

Messergebnissen. In Bezug auf die Umsetzung der internen Qualitätssicherung allerdings ist das Labor noch nicht auf dem Stand der aktuellen Richtlinie. Besonders die sofortige Bewertung der Kontrollprobeneinzelmesswerte einschließlich aller sich daraus ergebenden Konsequenzen muss noch deutlich strenger nach den Vorgaben der Richtlinie durchgeführt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit sind dem Regensburger Labor also die Grundlagen für die Umsetzung der Rili-BÄK geschaffen worden, aber ständige Aktualisierungen und noch konsequenteres richtlinienkonformes Arbeiten sind in Zukunft unabdingbar, um ein hohes Maß an Qualitätssicherung zu gewährleisten.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Website der Freien Universität Berlin. [Online] 2010. [Zitat vom: 21.05.2011]
[http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000001921/05_lit.pdf;jsessionid=818322B51F45D355A1AD3F93942C9FDA?hosts=.](http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000001921/05_lit.pdf;jsessionid=818322B51F45D355A1AD3F93942C9FDA?hosts=)
2. Website der Freien Universität Berlin. [Online] 2010. [Zitat vom: 21.05.2011]
[http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000006136/02_Literatur.pdf;jsessionid=153039039A9EBBE B6BA4607723E9EDB8?hosts=.](http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000006136/02_Literatur.pdf;jsessionid=153039039A9EBBE B6BA4607723E9EDB8?hosts=)
3. **Stowasser J M, Petschenig M, Skutsch F:** *Stowasser. Lateinisch-Deutsches Schulwörterbuch. Auflage 1998.* Oldenbourg Schulbuchverlag, München, 1998.
4. **Dr. Zwahr A (redaktionelle Leitung):** *Der Brockhaus in drei Bänden. Band 2. 3. Auflage.* F. A. Brockhaus GmbH, Leipzig, 2005.
5. Website von ieg-ego.eu, dem Institut für europäische Geschichte.
[Online] 2010. [Zitat vom: 21.05.2011] <http://www.ieg-ego.eu/en/threads/crossroads/knowledge-spaces/henning-schmidgen-labor>.
6. Website von ieg-ego.eu, dem Institut für europäische Geschichte.
[Online] 2010. [Zitat vom: 21.05.2011]
http://www.ieg-ego.eu/en/threads/transnational-movements-and-organisations/internationalism/roland-wenzlhuemer-die-geschichte-der-standardisierung-in-europa#InsertNoteID_3_marker4.
7. Homepage von med4you.at, die unabhängige Info-Site für Laborbefunde.
[Online] 2004. [Zitat vom: 18.05.2011] http://www.med4you.at/laborbefunde/geschichte/photometrie/lbef_geschichte_photometrie.htm#Wurzeln.

8. Homepage des Paul-Ehrlich-Instituts. [Online] 2009. [Zitat vom: 29.03.2010]
http://www.pei.de/cIn_170/nn_154438/DE/institut/geschichte/geschichte-node.html?__nnn=true.
9. Homepage von Instand e.V. 1. [Online] 2010. [Zitat vom: 11.03.2010]
http://www.instandev.de/uploads/tx_nfextsymposdownloads/01_-_Prof._Heimpel.pdf.
10. Homepage von textlog.de, Historische Texte und Wörterbücher.
[Online] 2004. [Zitat vom: 11.03.2010]
<http://www.textlog.de/14475.html>.
11. **Gerabek W E, Haage B D, Keil G, Wegner W:** *Enzyklopädie Medizingeschichte*. Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 2005.
12. Homepage von Instand e.V. 2. [Online] 2010. [Zitat vom: 11.03.2010]
<http://www.instandev.de/ueber-instand-ev/historie/>.
13. Homepage von analytik.de, die Adresse für Analytiker.
[Online] 2007. [Zitat vom: 11.03.2010]
<http://www.analytik.de/content/view/4301/823/>.
14. Homepage der deutschen vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e. V. [Online] 2011. [Zitat vom: 17.05.2011]
http://www.dgkl.de/PA100015_DE_VAR100?sid=V232895yv2m651.
15. *Qualitätssicherung (Kapitel 27)*.
In: **Hallbach J:** *Klinische Chemie und Hämatologie für den Einstieg*.
2. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006.
16. Homepage von Instand e.V. 3. [Online] 2010. [Zitat vom: 11.03.2010]
<http://www.instandev.de/ueber-instand-ev/>.

17. *Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen.*
Deutsches Ärzteblatt. Heft 7, 15. Februar 2008, Bd. Jg. 105, A 341 - A 355.
18. *Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen.*
Deutsches Ärzteblatt. Heft 42, 19. Oktober 2001, Bd. Jg.98, A 2747- A2758.
19. **Bader W:** *Therapeutisches Drug Monitoring bei Antipsychotika. Die Entwicklung der Analytik von Antipsychotika und deren Relevanz bei der Therapieleitung schizophrener Patienten am Beispiel des Arzneistoffes Risperidon.*
In: **Haen E (Hrsg.):** *Klinische Pharmakologie. Band 7.*
Saska Verlag, Pentling, 2009.
20. Homepage der Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP). [Online] 2010. [Zitat vom: 03.03.2010]
http://www.agnp.de/AGNP-Homepage-Dateien/Arbeitsgruppen/TDM_flyer.pdf. 3.
21. *Psychopharmakotherapie (Kapitel 10).*
In: **Huber G:** *Psychiatrie. Lehrbuch für Studium und Weiterbildung. 7. Auflage.*
Schattauer Verlag, Stuttgart, 2005.
22. *Bestimmung der Plasma-, Serumkonzentration von Medikamenten. Therapeutic Drug Monitoring (TDM) (Kapitel 21).*
In: **Hallbach J:** *Klinische Chemie und Hämatologie für den Einstieg. 2. Auflage.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006.
23. **Haen E, Greiner C, Bader W, Wittmann M:**
Wirkstoffkonzentrationsbestimmungen zur Therapieleitung.
Der Nervenarzt. 2008, 5: 558-566.

24. **Baumann P, Hiemke C, Ulrich S, Eckermann G, Gaertner I, Gerlach M, Kuss H-J, Laux G, Müller-Oerlinghausen B, Rao M L, Riederer P, Zernig G:** *The AGNP-TDM Expert Group Consensus Guidelines: Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry.* Pharmacopsychiatry. 2004, 37: 243-265.
25. *Verfahren zur Trennung von Substanzgemischen (Kapitel 3).*
In: **Hallbach J:** *Klinische Chemie und Hämatologie für den Einstieg.*
2. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006.
26. **Lindsay S:** *Einführung in die HPLC. Lehrbuch analytische Chemie.*
Vieweg Verlag, Braunschweig, 1996.
27. **Arndt T:** *Spezielle Klinisch - chemische Analytik (Kapitel 18).*
In: **Renz H (Hrsg.):** *Praktische Labordiagnostik.* Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 2009.
28. **Bönisch H, Schlicker E, Göthert M, Maier W:**
Psychopharmaka- Pharmakotherapie psychischer Erkrankungen (Kapitel 14).
In: **Aktories K, Förstermann U, Hoffmann F, Starke K:**
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 10. Auflage.
Urban & Fischer Verlag, München, 2009.
29. *Antipsychotika (Kapitel 3) und Anxiolytika (Kapitel 4).*
In: **Benkert O, Hippus H:** *Kompendium der psychiatrischen Pharmakotherapie. 7. Auflage.* Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2009.
30. *Die Psyche beeinflussende Pharmaka (Psychopharmaka) (Kapitel B1).*
In: **Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H K, Ruth P, Schäfer-Korting M:**
Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 9. Auflage. Wissenschaftlich Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2008.

31. *Zentralnervensystem (Kapitel 21).*
In: **Lüllmann H, Mohr K, Hein L:** *Pharmakologie und Toxikologie.*
17. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2010.
32. *Arzneitherapie in der Psychiatrie (Kapitel 12).*
In: **Karow T, Lang-Roth R:** *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.* 18. Auflage. Thomas Karow, Pulheim, 2010.
33. **Kaschka W P, Kretzschmar R, Krieglstein J, Rudolph U:**
Sedativa, Hypnotika und Psychopharmaka (Kapitel 5).
In: **Estler C-J, Schmidt H:** *Pharmakologie und Toxikologie.* 6. Auflage.
Schattauer Verlag, Stuttgart, 2007.
34. **Siegmund W, May K:** *Arzneitherapie im Alter (Kapitel 34).*
In: **Lemmer B, Brune K (Hrsg.):** *Pharmakotherapie. Klinische Pharmakologie.*
14. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2010.
35. KONBEST Konzentrationsbestimmung von Psychopharmaka. [Online] 2009.
[Zitat vom: 09.03.2010] <https://www.konbest.de/>.
36. **Greiner C U:** *Aufbau eines TDM-Labors zur Individualisierung der Psychopharmakotherapie von Patienten mit affektiven Störungen.*
In: **Haen E (Hrsg.):** *Klinische Pharmakologie. Band 5.*
Saska Verlag, Pentling, 2008.

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ekkehard Haen danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und die wohlwollende Unterstützung bei der Umsetzung der Arbeit. Trotz seines vollen Terminkalenders nahm er sich regelmäßig Zeit für Treffen, die ein recht zügiges Vorankommen der Arbeit ermöglichten.

Großer Dank gebührt dem gesamten Team des klinisch-pharmakologischen Labors der Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie in Regensburg.

Vor allem Laborleiterin Doris Melchner, Tatjana Jahner und Sandra Beck standen mir stets mit Rat und Tat zur Seite. Mit ihren wertvollen Tipps und ihrer uneingeschränkten Hilfe bei jeder Art von Problemen trugen sie wesentlich zu dieser Arbeit bei. Auch das positive Betriebsklima und der freundschaftliche Umgang im Labor machte mir das Arbeiten sehr angenehm und motivierten mich immer wieder neu. Danke für unvergessene Tage im Labor!

Des Weiteren geht mein Dank an Marlen für ihre Freundschaft! Sowohl im Rahmen dieser Arbeit als auch während des gesamten Studiums haben wir so manche Hürde gemeinsam genommen.

Ganz herzlich danken möchte ich allen meinen Lieben, die mir nahe stehen und in jeder Lebenslage für mich da sind. Stets ein offenes Ohr und eine Schulter zum Anlehnen zu haben ist für mich von unschätzbaren Wert.

Besonderer Dank gilt dabei meinen Eltern, die mich immer bedingungslos gefördert und unterstützt haben. Ohne sie wäre mein Studium nicht möglich gewesen.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name	Sophia Carmen Lindner
Geburtsort	Meißen
Geburtsdatum	05. November 1986
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

Ausbildung:

1992 – 1996	Grundschule Mönchsdeggingen
1996 – 2005	Theodor - Heuss - Gymnasium, Nördlingen
Juni 2005	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife
Oktober 2005	Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der Universität Regensburg
September 2006	Naturwissenschaftliche Vorprüfung an der Universität Regensburg
März 2008	Zahnärztliche Vorprüfung an der Universität Regensburg
Dezember 2010	Zahnärztliche Prüfung an der Universität Re- gensburg und Approbation als Zahnärztin

Berufstätigkeit:

Seit April 2011	Vorbereitungsassistentin (zahnärztliche Praxisgemeinschaft Dr. Kästle und Dr. Luft in Sigmaringen)
-----------------	--

ERKLÄRUNG

entsprechend dem §6 Abs. 5 der Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät und der Naturwissenschaftlichen Fakultät III - Biologie und Vorklinische Medizin (Medizinische Fächer) vom 12. Juni 2008:

„Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt“