

Beurteilt wurden sowohl das Wachstum anhand der Koloniezahl und Koloniegröße sowie bei hämolyisierenden Keimen die arttypische Hämolyse, der Hämolysegrad und die Brillanz der Hämolysezonen.

Verdauungsstörungen/Oberbauchschmerz – Ist das Pankreas beteiligt?

Pankreatische Elastase 1 (ELISA) zur Diagnostik der chronischen und/oder akuten Pankreatitis

U. Scheefers-Borchel¹, H. Scheefers¹, A. Michel¹, H. Will¹, R. Arnold², A. Sziegoleit³

¹ ScheBo Tech Medizinisch-Biologische

Forschungsgesellschaft mbH, Wettenberg 2

² Medizinische Universitätsklinik der Philipps-Universität, Marburg

³ Institut für Medizinische Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität, Gießen

Die menschliche pankreatische Elastase 1 (E1), übersteht die Darmpassage unbeschadet und ist im Stuhl als Protein zu quantifizieren. Die Konzentration im Stuhl spiegelt die exokrine Pankreasfunktion wider. In der akuten Entzündungsphase wird E1 retrograd in das Serum abgegeben, so daß die Quantifizierung der E1 im Serum die Diagnose oder den Ausschluß einer akuten Pankreatitis erlaubt. Im Vergleich zu den gebräuchlichen Parametern der Pankreasdiagnostik: Amylase und Lipase für die akute Pankreatitis, Chymotrypsinbestimmung im Stuhl, für die Pankreasinsuffizienz, bietet die quantitative Bestimmung der E1 entscheidende Vorteile: (1) E1 ist absolut pankreasspezifisch. (2) E1 ist darmstabil, d. h. die Konzentration der E1 im Stuhl spiegelt in idealer Weise die Sekretionsleistung des Pankreas wider (Diagnose oder Ausschluß einer Pankreasinsuffizienz). (3) Eine Substitutionstherapie hat keinen Einfluß auf das Testergebnis. (4) E1 tritt wie die übrigen Pankreasenzyme während akuter Entzündungsphasen ins Blut über, bleibt darin aber länger nachweisbar als z. B. Lipase oder Amylase, so daß ein akuter Krankheitsschub auch 3 bis 4 Tage nach Krankheitsbeginn noch erkennbar ist. Zur Bestimmung der E1 stehen zwei ELISA, basierend auf monoklonalen Antikörpern, zur Verfügung. Diese eignen sich sowohl für die Quantifizierung der E1 im Serum, zur Diagnostik einer akuten Pankreatitis oder eines akuten Schubes einer chronischen Pankreatitis (E1-Serum-Test), als auch zur Quantifizierung der E1 im Stuhl (E1-Stuhl-Test), um eine chronische Pankreatitis, sowie eine Pankreasinsuffizienz im Rahmen der cystischen Fibrose zu erkennen oder auszuschließen. Beide ELISA (automatisierbar) stehen ab sofort zur routinemäßigen Anwendung zur Verfügung.

Schrifttum:

U. Scheefers-Borchel, H. Scheefers, R. Arnold, P. Fischer und A. Sziegoleit: Lab. med. 16:427–432 (1992).

Quantitative Bestimmung (ELISA) der Pyruvatkinase Typ Tumor M2

Ein neuer, genereller Tumormarker

U. Scheefers-Borchel¹, H. Scheefers¹, A. Michel¹, H. Will¹, G. Fischer², N. Dahlmann³, R. Laumen⁴, S. Mazurek⁵, E. Eigenbrodt⁵

¹ ScheBo Tech GmbH, Wettenberg 2

² Zentrum für Pathologie, Universität Göttingen

³ Inst. für klinische Biochemie, Universität Bonn

⁴ Klinik Seltersberg Universität Gießen

⁵ Inst. für Biochemie, Veterinärmedizin Universität Gießen

Untersuchungen bei einer Vielzahl von verschiedenen Tumoren der Ratte und des Menschen zeigten, daß in allen Tumoren ein Isoenzym der Pyruvatkinase, Typ Tumor M2 (TU M2-PK), in erhöh-

ter Konzentration auftritt. Es besteht eine Korrelation zwischen der Malignität von Tumoren und dem Gehalt an Tu M2-PK (Eigenbrodt et al. 1992). ScheBo Tech hat einen ELISA entwickelt, mit dem die Tu M2-PK im Serum nachgewiesen werden kann. Dieser Test basiert auf monoklonalen Antikörpern, die hoch spezifisch für die Tu M2-PK sind und deshalb nicht mit den anderen Isoenzymen der Pyruvatkinase (Typ L, R, M1 und M2) reagieren. Die Variationskoeffizienten der Intraassay- (n = 30) und der Interassay-Präzision (n = 10) betragen 3,5% bzw. 5,5%. Eine Untersuchung an 800 Seren von Lungenpatienten zeigt, daß bei verschiedenen malignen Erkrankungen der Lunge ein Anstieg der TU M2-PK nachweisbar ist. Die Sensitivität des Tests beträgt bei Tumoren der Lunge für das Adenokarzinom 71%, für das Plattenepithelkarzinom 68% und für das kleinzellige Bronchialkarzinom 50%. Für das gesunde Kontrollkollektiv wurde eine Spezifität von 95% bei einem cut off von 17 U/ml Serum festgelegt. Bei benignen Erkrankungen sowie bei Entzündungen der Lunge war kein signifikanter Anstieg der TU M2-PK nachweisbar. In einer weiteren Studie wurden 102 Seren von Patienten mit anderen Tumoren untersucht. Hierbei wurden folgende Sensitivitäten bestimmt: Mamma-Ca: 74%, Prostata-Ca: 76%, Rectum-Ca: 75%, Colon-Ca: 87%, Magen-Ca: 58%. Erste Studien belegen, daß der ELISA auch zur Verlaufskontrolle bei der Tumorthherapie geeignet ist. Der ELISA (automatisierbar) steht ab sofort zur routinemäßigen Anwendung zur Verfügung.

Schrifttum:

E. Eigenbrodt, M. Reinacher, U. Scheefers-Borchel, H. Scheefers, R. Friis: Critical Reviews in Oncogenesis, 3 (1, 2):91–115 (1992).

S. Mazurek, U. Scheefers-Borchel, H. Scheefers, A. Michel, G. Fischer, N. Dahlmann, R. Laumen und E. Eigenbrodt: notabene medici, 23, März 1993.

Angiotensinase A: ein Progressionsparameter bei Nierenerkrankungen

J. E. Scherberich, J. Wiemer, C. Herzig, W. Schoepp
Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Abt. Nephrologie,
W-6000 Frankfurt am Main

Eine als Aminopeptidase A bezeichnete Protease kommt in der menschlichen Niere in proximalen Tubulusepithelien sowie in Podozyten und Endothelien von Glomeruli vor (1). Das Enzym von aus normalen Nieren isolierter Glomeruli baute spezifisch Angiotensin II ab und wurde daher als Angiotensinase A (ATA) bezeichnet. Um zu klären, welche möglichen Beziehungen zwischen verschiedenen Graden einer Niereninsuffizienz und der renalen Gewebsexpression und Ausscheidung der ATA bestehen, haben wir das Enzym aus Nieren und aus Harnkonzentrat Nierenkranker isoliert, charakterisiert und polyklonale Antikörper (Kaninchen) erzeugt. Als Verfahren dienten Methoden der Differential/Dichtegradienten-Zentrifugation, Lektinaffinitätschromatographie und FPLC einschließlich der hydrophoben Interaktionschromatographie (2). ATA aus Nieren fand sich in zwei Isoformen mit Mr in der nativen PAGE von 212 kDa (ATA-I) und 118 kDa (ATA II), bzw. 117 und 127 kDa in der SDS-PAGE und unterschiedlicher Km (2,05 mMol bzw. 0,87 mMol Substrat). Antikörper gegen Isoform I reagierten nur mit Tubuli, Antikörper gegen ATA II mit Tubuli und Glomeruli; Antikörper gegen ATA II reagierten auch spezifisch mit kultivierten menschlichen Podozyten (FACS-Analyse, G. M. Haensch, Univers. Heidelberg). Dagegen fand sich in pathologischen Harnproben nur eine ATA vom Mr 199 kDa (Superdex HP-Säule) bzw. von 96 kDa in der SDS-PAGE. ATA aus Nieren war Ca⁺⁺ aktivierbar (5 mMol), der Substratumsatz kompetitiv durch Angiotensin II hemmbar. Die Ausscheidung der ATA im Harn war mit der Kreatinin-clearance negativ korreliert (RS: -0,65; 2p: 0,0017, n = 24) und die ATA, damit das einzig bisher bekannte Membranenzym, das mit zunehmender Funktionsverschlechterung vermehrt eliminiert wurde. In der quantitativen Bildanalyse von Nierenschnitten von Patienten mit unterschiedlichen Graden einer Niereninsuffizienz nahm zwar die glomeruläre Gesamt-ATA-Aktivität mit zunehmender Niereninsuffizienz ab, jedoch pro Restnephron adaptiv zu: nur

überlebende, hypertrophierte Nephronen wiesen hohe ATA-Aktivität auf. Wahrscheinlich unterbindet die ATA in einer resistenten Nephron-Population, die Angiotensin II vermittelte Mehrsynthese extrazellulärer Matrixsubstanz (u. a. Kollagen I, III und IV) und damit eine progrediente Glomerulosklerose. Hohe proteolytische ATA-Aktivität wäre demnach ein protektives Prinzip überlebender Nephronen bei sonst chronisch fortschreitenden Nierenerkrankungen (3).

Schrifttum:

- 1) Kugler P, Wolf G, Scherberich JE; *Histochemistry* 83, 337–341 (1985).
- 2) Herzog CM, Schoeppe W, Scherberich JE; *J. Chromatogr.* 625, 73–82 (1992).
- 3) Scherberich JE, Wolf G, Schoeppe W; *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1993 (im Druck).

Evaluierung des Blutzuckermeßsystems Glucometer ELITE: Präzision, Richtigkeit sowie Einfluß von Hämatokrit und Temperatur

Harald Schlebusch¹, Marianne Sorger², Iris Pfaffenholz¹, Helga Harnack¹

¹ Frauenklinik der Universität Bonn und ² Medizinische Poliklinik

Glucometer Elite (BAYER Diagnostics) ist ein kleines, 50 g schweres Gerät zur Blutzucker selbstkontrolle, das die Glucosekonzentration in einem Blutvolumen von 3 µl nach einem elektrochemischen Meßprinzip bestimmt: Die bei der Oxidation von Glucose durch immobilisierte GOD entstehenden Elektronen werden auf einen Acceptor übertragen (Kaliumhexacyanoferrat) und anschließend mittels einer Elektrode gemessen. Für die Präzision in der Serie (n = 20) fanden wir bei Verwendung venöser Vollblutproben VK zwischen 2,7% und 4,3% (Hyper/Hypoglykämie). Für die Präzision von Tag zu Tag (n = 15) ergaben sich VKs < 3%. Das System mißt linear im Bereich 40–400 mg/dl.

Beim Vergleich von 100 Kapillarblutproben (Blutzucker: 46–432 mg/dl) fanden wir ausgezeichnete Übereinstimmungen mit der naßchemischen Referenzmethode (Hexokinase) für Konzentrationen < 150 mg/dl. Darüber hinaus lagen die Werte im Mittel um 6% zu hoch, was durch eine geänderte Kalibration verbessert werden sollte (Gesamt-Regression $y = -8,8 + 1,13x$, $r = 0,995$).

Steigt der Hämatokritwert einer Probe um 10%, so vermindern sich die gemessenen Glucosewerte um 6–10% (abhängig vom Meßbereich). Der bei Sensor-Systemen zu erwartende Einfluß der Temperatur auf das Ergebnis wird zwischen 14° und 32° wirksam kompensiert.

Das System erlaubt eine einfache und zuverlässige Blutzucker selbstkontrolle; die Hämatokritabhängigkeit der Ergebnisse schränkt jedoch seine Verwendung auf Intensiv- oder Neugeborenenstationen ein.

Antikörper gegen Gliadin und gegen Endomysium zur Diagnose der Gluten-sensitiven Enteropathie

W. Schlumberger, S. Olbrich, E. Müller-Kunert, K. Sonnenberg, W. Stöcker

Fragestellung: Bei Gluten-sensitiver Enteropathie (GSE) lassen sich häufig Antikörper gegen Gliadin (1) und Endomysium (2) nachweisen. Beide Antikörper kommen auch bei der Dermatitis herpetiformis Duhring vor, die oft mit einer GSE assoziiert ist. Es wurde ein neuer, optimierter Anti-Gliadin-ELISA evaluiert und außerdem untersucht, welche Gewebe sich für den Nachweis der

Endomysium-Antikörper mit der indirekten Immunfluoreszenz eignen.

Methoden: Antikörper gegen Gliadin wurden mit einem neu entwickelten Enzymimmunttest bestimmt, Antikörper gegen Endomysium durch indirekte Immunfluoreszenz an unfixierten Gefrierschnitten 20 verschiedener Primaten- und Nagetiergewebe. Als Zweitantikörper diente Peroxidase- bzw. FITC-gekoppelte Antihuman-IgA, -IgG oder -IgM (Ziege).

Ergebnisse: Bei aktiver GSE (n = 14) traten Antikörper gegen Gliadin in 93% auf (Remission 40%, Blutspender 5%), und Antikörper gegen Endomysium in 64% (Remission 20%, Blutspender 0%). Gliadin-Antikörper gehörten vorwiegend den Ig-Klassen IgA und IgG an, Endomysium-Antikörper bestanden fast immer aus IgA. IgM-Antikörper gegen Gliadin lagen nur im aktiven Stadium vor (29%), IgM-Antikörper gegen Endomysium waren in keinem Falle nachweisbar. IgA-Antikörper ausschließlich gegen Gliadin traten nur in 7% und gegen Endomysium nur in 14% der Fälle auf, gegen beide Antigene aber in 50%. Antikörper gegen Endomysium wurden durch zugesetztes Gliadin nicht neutralisiert. Endomysium-Antikörper ließen sich am deutlichsten mit fetalem Primatenmagen darstellen, sie zeigten eine typische membranöse Fluoreszenz der glatten Muskulatur, sowie eine wabenförmige Anfärbung der Lamina propria mucosae. Weitere geeignete Primatenorgane waren fetaler Ösophagus, fetaler Darm, adulte Leber und Nebenniere. Nagetierorgane reagierten meist nur schwach.

Diskussion: Die parallele Bestimmung der Antikörper gegen Gliadin und gegen Endomysium trägt wesentlich zur Diagnose einer Gluten-sensitiven Enteropathie oder einer Dermatitis herpetiformis Duhring bei. Beide Antikörper sind nicht miteinander korreliert. Maßgeblich ist die Antikörper-Klasse IgA. Für den Nachweis der Endomysium-Antikörper sollten Nagetierorgane nicht verwendet werden, da sie schwächer reagieren als Primatengewebe und mit heterophilen Antikörpern verwechselt werden können. Bei Ösophagus kann es zur Verwechslung mit Antikörpern gegen glatte Muskulatur kommen. Antikörper gegen Endomysium und gegen Retikulin sind weitgehend identisch (3).

Schrifttum:

- 1) A. Bürgin-Wolff et al.; *Eur. J. pediatr.* 148 (1989), 496–502.
- 2) T. P. Chorzelski et al.; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 20 (1983) 325–334.
- 3) M. Meurer und S. Kárpáti; *Hautarzt* 42 (1991) 193.

Vollmechanisierte Urineiweißdifferenzierung am Hitachi 911

Dirk Schmidt, W. Hofmann, W. G. Guder
Institut für Klinische Chemie am Städtischen Krankenhaus München-Bogenhausen

Für die quantitative Bestimmung von Einzelproteinen im Urin zur Differenzierung von Nierenerkrankungen werden zunehmend immunnephelometrische und -turbidimetrische Verfahren eingesetzt (1, 2). Um eine größere Zahl von Untersuchungen vollmechanisiert durchführen zu können, haben wir die Bestimmungen von Albumin, IgG, α 1-Mikroglobulin (immunturbidimetrisch), Gesamteiweiß (turbidimetrisch), β -NAG (kinetisch) und Kreatinin (Jaffé) an das Analysengerät Hitachi 911 adaptiert. Das Gerät bietet die Möglichkeit, durch automatische Probenverdünnungen und kombinierte Anwendung von nichtlinearen und linearen Kalibrationen das gesamte Programm abzudecken. Die Meßbereiche sind so aufeinander abgestimmt, daß der Antikörperverbrauch (< 20 µl/Test) und die Anzahl der Wiederholungsanalysen gering ist. Automatische Probenverdünnungen werden durchgeführt bei Überschreitung folgender Konzentrationen: Gesamteiweiß > 7500 mg/l, Albumin > 2300 mg/l, IgG > 600 mg/l, α 1-Mikroglobulin > 80 mg/l. Dieser große Meßbereich ist nur möglich, wenn für jede Meßgröße zwei Verfahren mit unterschiedlichen Meßbereichen adaptiert werden und eine Vorsortierung der Proben aufgrund des Proteinteststreifenresultates stattfindet. Eine manu-