

Kim-Alexa Fischer
Dr. med.

Entwicklung eines immunoluminometrischen Nachweises für Pepsinogen I im Serum und Anwendung bei Patienten mit Gastritis

Geboren am 19.09.1978 in Heidelberg
Staatsexamen am 26.04.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Schmidt-Gayk

Die chronische Gastritis mit ihren Folgeerkrankungen, insbesondere dem Magenkarzinom, ist weltweit mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert. Um die frühe Diagnostik der chronischen Gastritis weiter verbessern zu können, ist in dieser Arbeit ein neues immunologisches Nachweisverfahren für Pepsinogen I im Serum entwickelt worden. Durch Variation von Reagenzien und Bedingungen sind für den neuen Assay die geeigneten Antikörper, die passenden Standardkonzentrationen und -volumina und die optimalen Inkubationszeiten und -temperaturen bestimmt worden. Die richtige Handhabung und Lagerung der eingesetzten Assaybestandteile ist überprüft und die Qualität des Assays kontrolliert worden.

Der neu entwickelte PG I-ILMA ist außerdem mit einem in der Routine verwendeten ELISA-Test verglichen und seine Einsatzmöglichkeiten mit Hilfe einer Kleinstudie erforscht worden. Als Antikörper sowohl für die Festphase als auch für den Tracer fungiert ein monoklonaler Maus/Anti-Human-Pepsinogen I-Antikörper der Firma Medix. Bei dem letztendlich entstandenen Procedere werden zu 10 µl Standard, Serumprobe oder Kontrolle 250 µl Puffer (PPNE 2% BSA) und eine Antikörper-beschichtete Kugel gegeben. Nach einer Inkubationsphase, die bei 4°C über Nacht stattfindet, werden die Kugeln mit Aqua dest. gewaschen und mit 250 µl Tracer (zweiter monoklonaler Maus/Anti-Human-Pepsinogen I-Antikörper) bedeckt. Daraufhin erfolgt eine weitere fünfstündige Inkubationsphase bei Raumtemperatur, nach dieser erfolgt ein erneuter Waschvorgang. Als letzter Schritt folgt dann die Messung im Luminometer.

Bei der Bestimmung der Präzision zeigen sowohl die Standards als auch die Serumproben, bis auf eine Ausnahme, einen Variationskoeffizienten von unter 10%, was für eine hohe Reproduzierbarkeit spricht. Bei der Überprüfung der Testqualität ergibt sich eine untere Nachweisgrenze von 0,54 µg/l für Pepsinogen I. Eine gute Linearität des Assays mit einem Bestimmtheitsmaß im Bereich von 1 zeigt sich bei niedrigen bis mittleren Konzentrationen. Die Bestimmung der Recovery ergibt für Proben, die mit höheren Standardkonzentrationen versetzt worden sind, Werte um 100%. Eine mögliche Kreuzreaktion mit Pepsinogen II oder Magensaft wurde ausgeschlossen. Der ermittelte Referenzbereich für den Assay reicht von 30 µg/l bis 180 µg/l Serum. Der Vergleich mit einem immunologischen Routinetest zeigt mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,9205 eine gute Korrelation zwischen den beiden Tests, allerdings kommt es im unteren und oberen Messbereich zu Abweichungen.

Bei der klinischen Studie an 126 Patienten einer gastroenterologischen Fachpraxis konnten 23 Patienten als gesund identifiziert werden und bei 65 Patienten wurde eine chronisch-atrophische Gastritis und bei 38 Patienten eine Hp-Gastritis diagnostiziert. Insgesamt kann bei dem PG I-ILMA eine Sensitivität von 61% erreicht werden. Bei den Probanden mit chronisch-atrophischer Gastritis liegen nur 52% korrekt unterhalb des Normbereiches,

allerdings liegen viele Werte knapp oberhalb des unteren Referenzwertes. Bei den Probanden mit Hp-Gastritis befinden sich 66% korrekt oberhalb des Normbereiches, außerdem zeigt sich auch eine gute Korrelation zwischen der Höhe der gemessenen Pepsinogen I-Konzentrationen und dem Aktivitätsgrad der Entzündung. Es zeigen sich neben der prinzipiellen Einsatzmöglichkeit des neuen Tests im klinischen Alltag die Vorteile dieses immunologischen Assays, die in einem weiten Messbereich und guter Praktikabilität liegen.