

Isabel Schäfer
Dr. med.

Lumineszenzimmunoassay und immunoluminometrische Nachweise für Hämoglobin im Stuhl zur Erkennung okkultur Blutungen

Geboren am 29.04.1978 in Heilbronn
Staatsexamen am 15.06.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Heinrich Schmidt-Gayk

Das kolorektale Karzinom zählt zu den häufigsten malignen Erkrankungen in der westlichen Welt. In der Statistik über Krebsmortalität rangiert es bei Männern an zweiter und bei Frauen an dritter Stelle. Da Frühwarnzeichen fehlen, wird die Diagnose meist erst im fortgeschrittenen Stadium gestellt, zu einem Zeitpunkt in dem eine kurative Therapie nicht mehr möglich ist. Daher liegt das Bestreben in der rechtzeitigen Diagnose präkanzeröser Polypen.

In dieser Arbeit wurden verschiedene immunologische Nachweismethoden für okkultes Blut im Stuhl miteinander verglichen, um so den am besten geeigneten Immunoassay zu finden und damit diese Früherkennung weiter optimieren zu können. Als zu detektierender Blutparameter diente dabei Hämoglobin. Der bereits in der Routine eingesetzte Hb-Lumineszenzimmunoassay und ein immunoluminometrischer Hämoglobin-Assay, die je als sequentielles Verfahren zum Einsatz kamen, wurden mit einem Hb-ILMA-Äquilibrium verglichen und ihre praktische Anwendung anhand einer prospektiven Kleinfeldstudie überprüft. Außerdem wurden die optimale Lagerung und Haltbarkeit der Stuhlprobenantigene sowie das Auftreten des High-dose-hook-Effektes beim immunoluminometrischen Assay im Einschritt-Verfahren untersucht. Die Korrelationskoeffizienten fielen insgesamt niedrig aus, das höchste Ergebnis erzielte dabei der Vergleich des Hb-ILMA-Äquilibrium 10 µl mit dem Hb-ILMA-Äquilibrium 5 µl. Im Vergleich mit dem Routine-Assay zeigte keine der Nachweismethoden einen Vorteil bei der Erkennung einer bestimmten Erkrankung als Blutungsursache. Die besten Ergebnisse wurden mit dem Hämoglobin-ILMA im Zweischnitt-Verfahren erreicht. Ein wesentlicher Nachteil der Einschritt-Methode lag im Auftreten des High-dose-hook-Effektes bei hohen Antigenkonzentrationen. Der sequentielle Hb-ILMA wies die niedrigste Nachweisgrenze, den weitesten Messbereich und eine gute Verdünnungslinearität auf. Er liefert jedoch niedrigere Messwerte als der Hb-ILMA im Einschritt-Verfahren. Das ist ein wichtiger Hinweis darauf, dass der polyklonale Antikörper an der Festphase neben anderen Epitopen ein Epitop erkennt, das auch der monoklonale Tracer-Antikörper erkennt. Daher kann der Hb-ILMA-sequentiell sehr wahrscheinlich dadurch weiter verbessert werden, indem auch an der festen Phase ein monoklonaler Antikörper verwendet wird. Dieser sollte ein anderes Epitop erkennen als das Epitop, an das der Tracerantikörper bindet. Diese Untersuchung und klinische Validierung könnte in einer weiteren Promotionsarbeit vorgenommen werden.

Für den weiteren Einsatz der immunologischen Assays ist es sinnvoll, neben freiem Hämoglobin die stabileren Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexe zu verwenden. Die

gemeinsame Anwendung zweier Blutungsparameter würde vermutlich die besten Ergebnisse erzielen.

Obwohl die Kosten und der Aufwand immunologischer Nachweismethoden höher als bei den bisher angewendeten chemischen Okkultblut-Tests auf Guajak-Basis sind, könnten die immunologischen Assays, angesichts der sehr viel besseren Sensitivität und Spezifität, die bisher zu Screening-Zwecken verwendeten chemischen Nachweistests ablösen.