

# Pankreatische Elastase 1: Parameter für die chronische und akute Pankreatitis

## Pancreatic Elastase 1: Parameter for the Diagnosis of Chronic and Acute Pancreatitis

Ursula Scheefers-Borchel<sup>1</sup>, H. Scheefers<sup>1</sup>, R. Arnold<sup>2</sup>, P. Fischer<sup>3</sup> und A. Sziegoleit<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ScheBo Tech Medizinisch-Biologische Forschungsgesellschaft mbH, Wettenberg 2, FRG

<sup>2</sup> Medizinische Universitätsklinik der Philipps-Universität Marburg

<sup>3</sup> Institut für Pathologie der Universität Bonn

<sup>4</sup> Institut für Med. Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität, Gießen

### Zusammenfassung:

*Die menschliche pankreatische Elastase 1 (E1), ein Glykoprotein mit Blutgruppenantigenität (1) zeichnet sich durch eine außergewöhnliche Stabilität aus. E1 übersteht die Darmpassage und ist im Stuhl als Protein zu quantifizieren (2). Die Konzentration im Stuhl spiegelt somit die exokrine Pankreasfunktion wider und bietet sich deshalb als Parameter der chronischen Pankreatitis sowie der Pankreasinsuffizienz im Rahmen der cystischen Fibrose an. Andererseits wird E1 in der akuten Entzündungsphase retrograd in das Serum abgegeben, so daß die Quantifizierung der E1 im Serum die Diagnose oder den Ausschluß einer akuten Pankreatitis erlaubt. Für beide Anwendungen ist jeweils ein ELISA, der mit 2 monoklonalen Antikörpern arbeitet, entwickelt worden. Die Bestimmung der exokrinen Pankreasfunktion, durch Messung der Elastase 1 im Stuhl, wird unter Substitutionstherapie nicht gestört.*

### Schlüsselwörter:

*Pankreatische Elastase 1 – ELISA – chronische Pankreatitis – akute Pankreatitis – cystische Fibrose – Pankreas-Funktionstest*

### Summary:

*Human pancreatic elastase 1, a glycoprotein with blood group antigenity (1) is distinguished by an extraordinary stability during intestinal passage (2). Its concentration in feces clearly reflects the exocrine capacity of the pancreas and thus serves as a suitable parameter for chronic pancreatitis and pancreatic insufficiency in cystic fibrosis. On the other hand, the concentration of elastase 1 in serum increases in the course of an acute pancreatitis. The determination of the exocrine capacity of the pancreas by measurement of Elastase 1 in stool is not influenced by substitution therapy.*

### Keywords:

*Pancreatic elastase 1 – ELISA – chronic pancreatitis – acute pancreatitis – cystic fibrosis – immunoassay kit for pancreasfunction*

## Einleitung

Die exokrine Pankreasfunktion wird am sichersten mit dem Sekretin-Pankreozymin-Test, auch in modifizierter Form, erfaßt. Wegen der Notwendigkeit der Duodenalsondierung und der aufwendigen Testprozedur wird er aber nur in wenigen Zentren durchgeführt. Deshalb sind eine Reihe von Pankreasfunktionstesten entwickelt worden, die entweder die Enzymleistung nach oraler Aufnahme eines definierten Substrates erfassen oder einzelne Enzyme im Serum oder Stuhl messen. Dabei wäre ein Enzym ideal, das als Repräsentant der exkretorischen Funktion in ausreichender Menge sezerniert wird und die Darmpassage quantitativ übersteht. Seine Konzentration im Stuhl würde direkt die über 1 bis 2 Tage gemittelte Sekretionsleistung des Pankreas widerspiegeln.

Eine akute Entzündung fördert durch Ödem oder Nekrose die Abgabe der Sekretionsprodukte in das Interstitium und letztlich ins Blut. Der Anstieg desselben Enzyms im Serum würde somit eine entsprechende Situation anzeigen.

Beide Eigenschaften erfüllt die Pankreaselastase 1. Nach Sekretinstimulation werden 0,17 bis 0,36 mg E1 pro ml Pankreassekret gemessen, was etwa 6 % der sezernierten Gesamtproteine entspricht (3). Im Stuhl erscheint E1 etwa 5fach ankonzentriert und ist bei Gesunden in einer mittleren Konzentration von 1200 µg/g Fecesholz nachzuweisen (2). Um E1 sowohl im Stuhl als auch im Serum quantifizieren zu können, haben wir zwei ELISA-Testkits entwickelt. Bei Stuhl liegt der Vorteil des ELISA darin, daß die Proben zur Unkenntlichkeit des Ausgangsmaterials verdünnt werden müssen.

## Material und Methoden

### Herstellung monoklonaler Antikörper

Monoklonale Antikörper wurden entsprechend den Angaben von Köhler und Milstein hergestellt (4), die Kulturergebnisse wurden 2 Wochen nach der Fusion auf die Produktion spezifischer Antikörper getestet. Positive Kulturen wurden durch zweifache „limited dilution“ kloniert (5).

Zwei Klone, die verschiedene Epitope der E1 erkennen, wurden schließlich ausgewählt und auf ihre Verwendungsfähigkeit im ELISA zur Quantifizierung der E1 in Körperflüssigkeiten ausgetestet.

#### *Charakterisierung der monoklonalen Antikörper*

1. Die Typisierung der Antikörper erfolgte mit isotypspezifischen Antikörpern vom Kaninchen und wurde nach Angaben des Herstellers durchgeführt (DAKO Diagnostika, Hamburg).

#### 2. Ausschluß von Kreuzreaktionen

a) mit Serumproteinen: Konstante Mengen gereinigter E1 (1 µg/ml Bindungspuffer) als Festphasenantigen in Nunc-ELISA-Platten wurden mit den mAKs in geometrischer Verdünnung sowohl in Puffer als auch in Serum inkubiert, anschließend deren Bindung mit einem Peroxidase konjugierten anti-Maus-IgG-Antikörper (Dianova, Hamburg) und dem entsprechenden Substrat nachgewiesen. Vor der Verdünnung wurden die mAKs 30 Minuten in Serum bzw. Puffer vorinkubiert.

b) mit Gewebsantigenen: Gewebe aller inneren Organe, einschließlich Pankreas, Leber, Magen, Darm, die Organe der männlichen und weiblichen Genitale, Herz, Lunge, oberer Respirationstrakt, Speiseröhre, Mundschleimhaut, Augen, Zentralnervensystem, Mesenchym und lymphatische Organe wurden formalinfixiert und nach Paraffineinbettung mit beiden Antikörpern inkubiert. Die Bindung der mAKs wurde mit Hilfe eines zweiten anti-Maus-IgG-Antikörpers, der entweder mit alkalischer Phosphatase oder Biotin markiert war und entsprechender Nachweisreaktion überprüft.

c) mit wässrigen Extrakten aus Rinder-, Schweine-, Hunde- und Rattenpankreas.

#### ELISA:

(ScheBo Tech GmbH, patent pending)

Die Testkits für Seren und für Stuhl enthalten:

1. Sechs ELISA-Streifen mit jeweils 16 Vertiefungen, die mit einem monoklonalen Antikörper gegen E1 beschichtet sind.

2. 100 ml Proben/Waschpuffer (5 x); 4 x 100 ml Extraktionspuffer (nur für den Stuhltest).

3. je 500 µl E1 Standards (0,0; 0,2; 0,6; 1,0; 3,5; 5,0 ng/ml für den Serumtest; (0,0; 0,3; 1,0, 2,0; 4,0; 7,0; 10,0 ng/ml für den Stuhltest.

4. Positiv Kontrolle (500 µl)

5. biotinylierter zweiter monoklonaler anti E1 Antikörper (80 µl)

6. POD-Streptavidin (40 µl)

7. 20 ml Substratlösung

8. 1 ml Substratlösung

9. 10 ml Stopplösung

Alle Komponenten des Testkits sind bei 4°C mehrere Monate haltbar. Unbenutzte ELISA-Teststreifen müssen mit Trockenmittel im Plastikbeutel gelagert werden.

#### *Testablauf*

50 µl der gebrauchsfertigen Standards werden unverdünnt als Doppelwerte einpipettiert, zwei weitere Vertiefungen erhalten lediglich Probenpuffer als „blank“.

a) Serum: je 50 µl der 1:10 vorverdünnten Probe.

b) Stuhl: Vorverdünnung einer geformten Probe (weniger als 0,1 g) mit Extraktionspuffer (10 mg Stuhl/ml). Davon ausgehend werden 2mal 50 µl einer 1:500 Verdünnung

in die Vertiefungen pipettiert. 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, waschen, Zugabe von je 50 µl des biotinylierten zweiten Antikörpers. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, waschen, Zugabe von 50 µl POD-Streptavidin, 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, waschen und 150 µl Substratlösung einfüllen. Nach 20 Minuten Reaktion mit 50 µl Stopplösung beenden und Farbentwicklung bei 405 nm messen.

#### *Auswertung*

Mittelwerte der Doppelbestimmungen berechnen, Konzentration der Standards (Abszisse) gegen ihre Absorption (Ordinate) auftragen = Standardkurve.

Für die Patientenproben werden die Werte an der Standardkurve abgelesen und mit der Probenverdünnung multipliziert.

Präzision in Serie: Neun Seren mit einer E1-Konzentration zwischen 3,5 und 18 ng/ml sowie 7 Stuhlprobenextrakte mit einer E1-Konzentration zwischen 36 und 450 ng/ml Stuhl-Extrakt wurden jeweils 20mal bestimmt und die mittlere Varianz der Einzelmessung über den Konzentrationsbereich ermittelt. Weiterhin wurden 7 Stuhlprobenextrakte aus unterschiedlichen Konzentrationsbereichen 10 Tage lang fortlaufend untersucht, um die Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag zu überprüfen.

## Ergebnisse

#### *Charakterisierung und Spezifität der Antikörper*

Beide Antikörper gehören der Klasse IgG 2b an.

Wurde E1 als Festphasenantigen mit den monoklonalen Antikörpern inkubiert, banden gleich viele Antikörper, unabhängig davon, ob sie in Puffer oder Humanserum vorinkubiert und verdünnt waren. Eine kompetitive Hemmung durch Serumproteine ließ sich nicht feststellen. Damit ist eine Kreuzreaktion mit einem in Normalserum auftretenden Antigen ausgeschlossen.

Histologisch ließ sich lediglich in den Acinusepithelien und in einem Teil der Schaltstückepithelien des Pankreas, sowie in wenigen aussprossenden Epithelien der Pankreasgänge eine zytoplasmatische Reaktion mit beiden Antikörpern erzielen. In den Zellen aller anderer genannter Organe fiel die immunhistochemische Reaktion mit beiden Antikörpern negativ aus.

Wässrige Extrakte von Schweine-, Rinder-, Hunde- und Rattenpankreas erbrachten im ELISA kein Signal. Ebenso waren alle Stuhlproben von 10 Patienten mit fortgeschritten zystischer Fibrose unter Enzymsubstitution im E1 ELISA negativ (bei Chymotrypsinaktivitäten von 17 bis 32 U/g Stool).

#### Meßbereich des ELISA für pankreatische Elastase 1 (E1) im Serum

Eine typische Standardkurve für die Konzentrationsbestimmung von Elastase 1 im Serum ist in Abbildung 1 dargestellt. Der Meßbereich des Tests, der sich aus den Standards ergibt, liegt zwischen 0,2 ng/ml und 5 ng/ml. Bei einer 1:10 Vorverdünnung der Serenproben werden Patientenproben mit einem Gehalt von 2 ng/ml bis 50 ng/ml erfaßt.

#### *Präzision des ELISA*

Die Inträ-assay-Varianz des Tests gibt Abbildung 2 wieder.

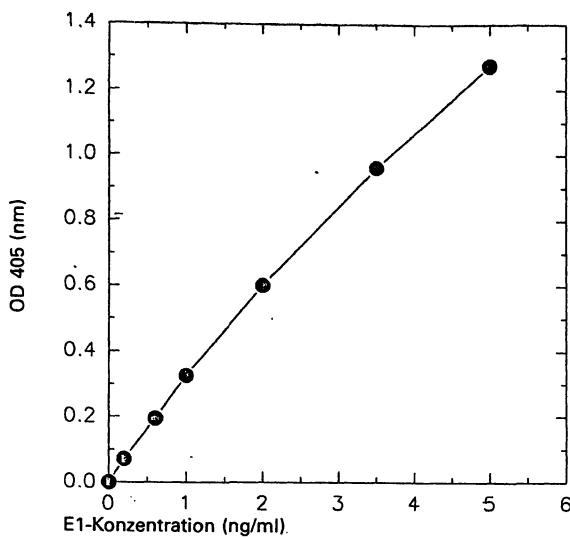


Abb. 1: E1-Standardkurve für den Serumtest. Als Standard dient hochgereinigte humane pankreatische Elastase 1. Die Standards sind gebrauchsfertig und werden unverdünnt als Doppelwerte auf die ELISA-Platte gegeben.

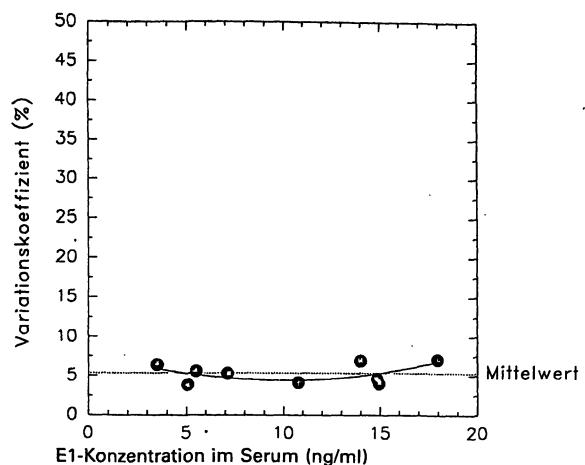


Abb. 2: Präzision des E1-Serum-ELISA in Serie. Der E1-Gehalt in 9 Seren mit unterschiedlicher E1-Konzentration wurde jeweils 20mal bestimmt. Die Variationskoeffizienten wurden aus den Mittelwerten und den dazugehörigen Standardabweichungen bestimmt. Dargestellt ist der Mittelwert und eine Regression zweiten Grades durch die errechneten prozentualen Variationskoeffizienten der unterschiedlichen Seren.

Neun Seren mit E1-Konzentrationen zwischen 3,5 ng/ml und 18 ng/ml wurden jeweils 20mal bestimmt.

Die entsprechenden Variationskoeffizienten liegen zwischen 3,8 und 7,1 % mit einem Mittelwert über den gesamten Meßbereich von 5,3 %.

#### Referenzbereich

Seren von 173 Spendern der Blutbank Gießen wurden im Elastase 1 ELISA getestet. Die Verteilung der E1-Konzentration in den Seren zeigt Abbildung 3. Hiernach wiesen 94,8 % der Seren E1-Konzentrationen unter 2 ng/ml Serum auf. Nur 2,9 % aller Seren zeigten Werte über 3,5 ng/ml Serum. Keiner der Blutspenderseren wies Konzentrationen über 10 ng/ml auf.

Vorläufige Verlaufskontrollen bei Patienten mit akuter Pankreatitis ergaben jeweils Elastasewerte, die zwischen 10 ng/ml und mindestens 100 ng/ml Serum lagen.

#### Meßbereich für die pankreatische Elastase 1 (E1) im Stuhl

Der Meßbereich für die Bestimmung der E1 im Stuhl liegt zwischen 0,3 und 10 ng/ml (Abb. 4).

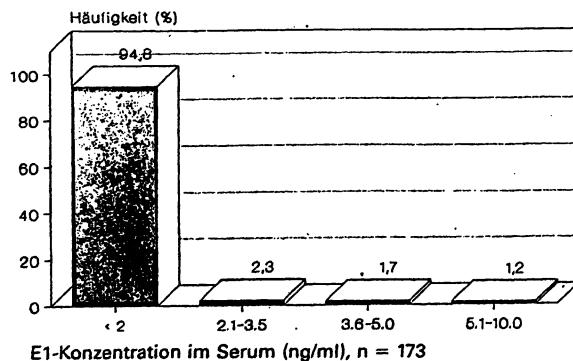


Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der E1-Konzentration im Serum von Blutspendern ( $n = 173$ ).

Bei einer Einwaage der Stuhlproben von 10 mg/ml und einer Verdünnung von 1:500 werden im Stuhl Elastase-1-Konzentrationen von 15 bis 500  $\mu\text{g/g}$  Stuhl bestimmt.

#### Präzision der Bestimmung der pankreatischen Elastase 1 im Stuhl Intra-assay-Varianz

Die Intra-assay-Varianz wurde in einem Testansatz mit 7 Stuhlprobenextrakten durch 20fache Bestimmung ermittelt (Abb. 5). Die Variationskoeffizienten für die Konzentrationsbereiche von E1 zwischen 36 und 450  $\mu\text{g/g}$  Stuhl liegen zwischen 3,3 und 7,5 % bei einem Mittelwert von 5,8 %.

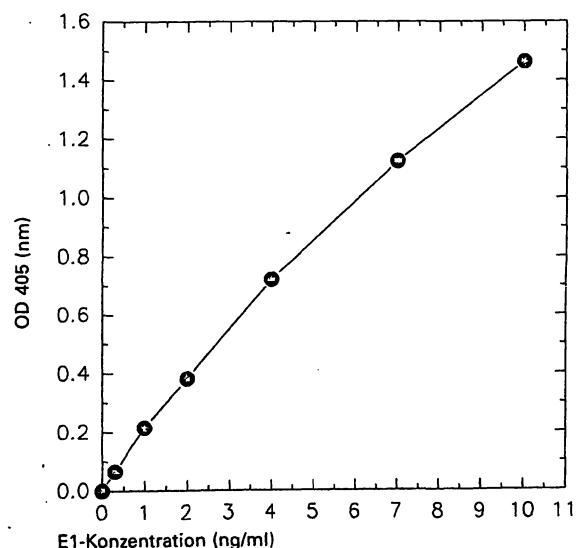


Abb. 4: E1-Standardkurve für den Stuhltest. Als Standard dient hochgereinigte humane pankreatische Elastase 1. Die Standards sind gebrauchsfertig und werden unverdünnt als Doppelwerte im ELISA eingesetzt.

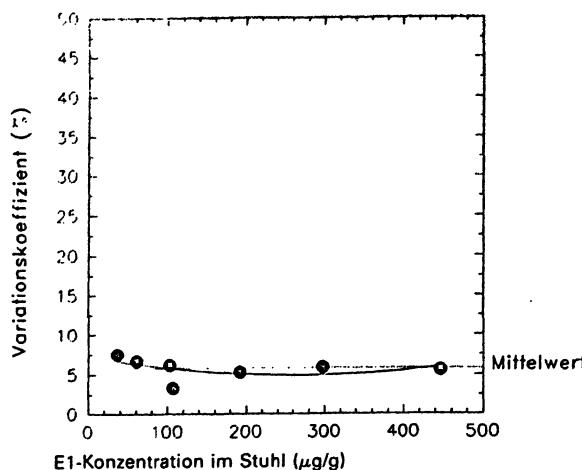


Abb. 5: Präzision des E1-Stuhl-ELISA in Serie. Der E1-Gehalt in 7 Stuhlprobenextrakten wurde jeweils 20 mal bestimmt. Die Berechnung der Variationskoeffizienten erfolgte aus den Mittelwerten und den dazugehörigen Standardabweichungen. Dargestellt ist der Mittelwert und eine Regression zweiten Grades durch die berechneten prozentualen Variationskoeffizienten der unterschiedlichen Stuhlprobenextrakte.

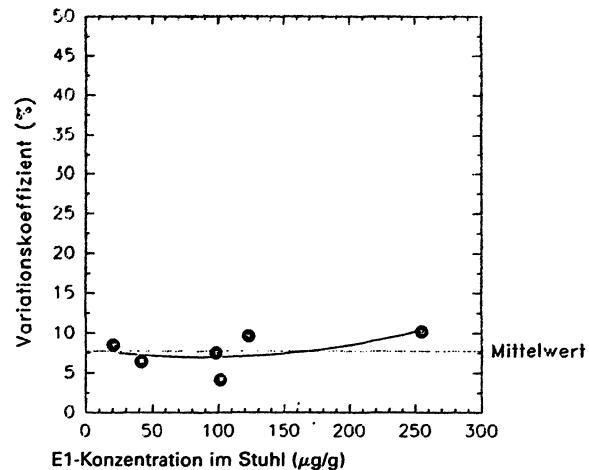


Abb. 6: Präzision des E1-Stuhltests von Tag zu Tag. Sechs Stuhlprobenextrakte wurden portioniert eingefroren und an 10 Tagen jeweils 2 mal bestimmt. Aus den gebildeten Mittelwerten und den jeweiligen Standardabweichungen wurden die Variationskoeffizienten berechnet. Dargestellt ist der Mittelwert und eine Regression zweiten Grades durch die berechneten prozentualen Variationskoeffizienten der unterschiedlichen Werte.

#### Interassay-Varianz

Die Interassay-Varianz wurde an 7 Stuhlextrakten an 10 verschiedenen Tagen bestimmt. Die Variationskoeffizienten liegen zwischen 4,1 und 10,2% bei einem Mittelwert von 7,7% (Abb. 6).

#### Referenzbereich für Stuhlproben

Die E1-Konzentration wurde in 100 Stuhlproben, die dem Medizinialuntersuchungsamt Gießen zur Untersuchung auf Salmonellen und Shigellen eingesandt waren, bestimmt. Weiterhin wurde die E1-Konzentration in Stuhlproben von 52 Patienten mit Verdacht auf Pankreasinsuffizienz (aus der gastroenterologischen Abteilung des Zentrums für Innere Medizin der Universität Marburg) im Elastase 1-Stuhltest gemessen. Die Ergebnisse zeigt Abbildung 7. Bei den „Normalstühlen“ aus dem Medizinialuntersuchungsamt zeigten 95% der Proben Elastase 1-Werte über 200 µg/g Stuhl, wobei 81% dieser Proben Werte von über 500 µg/g Stuhl aufwiesen.

Anders sah die Verteilung der Elastase 1-Konzentrationen in den Stuhlproben der Patienten mit Verdacht auf Pankreasinsuffizienz aus. In 75% dieser Stuhlproben lagen die Elastase 1-Konzentrationen unter 200 µg/g Stuhl. Bei 32,7% dieser Proben lag die Elastase 1-Konzentration sogar unter 15 µg/g Stuhl.

Ebenso waren alle Stuhlproben von 10 Patienten mit fortgeschrittenem zystischer Fibrose unter Enzymsubstitution im Elastase 1-ELISA negativ, d. h. < 15 µg/g Stuhl bei Chymotrypsinaktivitäten von 17 bis 32 U/g Stuhl.

Bis zum Abschluß einer Untersuchungsreihe an Patienten, deren exokrine Pankreasleistung durch direkte Funktionsteste gemessen wird, werden 200 µg E1/g Feuchttstuhl als unterer Grenzwert einer normalen Pankreasfunktion angesehen. Werte zwischen 100 und 200 µg/g Stuhl deuten auf eine mäßiggradige Pankreasinsuffizienz, während Werte unter 100 µg/g Feuchttstuhl für eine schwere exokrine Insuffizienz sprechen.

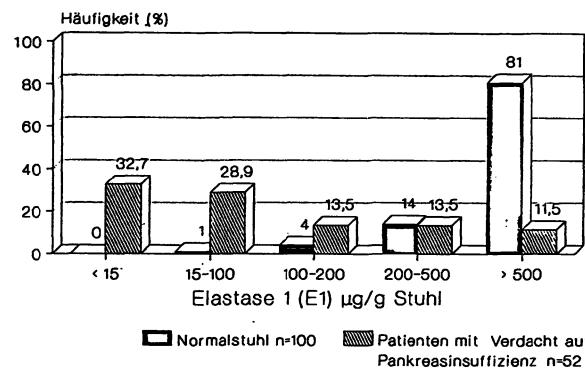


Abb. 7: Häufigkeitsverteilung der E1-Konzentrationen in Stuhlproben. Die Bestimmung erfolgte in Proben von gesunden Spendern ( $n = 100$ ) und in Proben von Patienten mit Verdacht auf Pankreasinsuffizienz ( $n = 52$ ).

#### Diskussion

Es erscheint plausibel, die exokrine Pankreasfunktion über die Konzentration der Pankreasenzyme im Stuhl zu erfassen. Zum einen wird die Untersuchungsprobe leicht abgegeben, zum anderen stellt sie ein Gemenge dar, das über Ruhephasen des Pankreas mit Basissekretion als auch über Zeiten maximaler physiologischer Stimulation entstanden ist. Die pro Tag abgesetzte Stuhlmenge müßte somit die über einen Tag aufsummierte exokrine Leistung des Pankreas enthalten. Die Konzentration der Enzyme im Stuhl würde direkt die Leistungsfähigkeit des Pankreas widerspiegeln. Die Richtigkeit dieser Überlegungen wurde zunächst am Hund demonstriert (6), später am Menschen prinzipiell bestätigt (7), wobei sich die Untersuchungen zunächst auf die Bestimmung der tryptischen und chymotryptischen Enzymaktivität beschränkten. Leider mußte man bald feststellen, daß diese Tests weniger als die halbe Wahrheit erbringen. Es ist leider

das Schicksal aller bis dahin untersuchten Pankreasenzyme, während der Darmpassage mehr oder weniger stark abgebaut zu werden. Weil Trypsin sich als ein besonders unsicherer Kandidat herausstellte (8), hat dieses Enzym als erstes an diagnostischer Bedeutung verloren. Auch Chymotrypsin wird während der Darmpassage inaktiviert. Nur etwa 0,5% der vom Pankreas sezernierten Aktivität werden im Stuhl wiedergefunden (9). Vorteilhaft ist, daß sich dieser Anteil als sehr stabil erweist, wobei angenommen wird, daß die stabile Fraktion diejenige ist, die sich an Stuhlpartikel gebunden hat. Der Aktivitätsverlust wirkt sich auf die Sensitivität der Chymotrypsinbestimmung aus. Die Angaben der zahlreichen Studien schwanken zwischen 45% und 100%, wobei die höchste Trefferquote der schweren Pankreasinsuffizienz zukommt (10). Da Chymotrypsin über die enzymatische Aktivität quantifiziert wird, ist deren Nachweis unter Substitutionstherapie im Hinblick auf die Pankreasdiagnostik wertlos.

Neu entwickelt wurde ein Test zur immunologischen Bestimmung der Pankreaslipase im Stuhl. Die Verwendung von monoklonalen Antikörpern macht den Lipasenachweis hochspezifisch und dadurch auch unter Substitutionstherapie anwendbar. Die niedrige Wiederfindungsrate im Stuhl wirkt sich aber negativ auf die Sensitivität aus; sie liegt unter der Chymotrypsinaktivitätsbestimmung (11). Werden im Duodenalsaft gesunder Probanden 200–400 µg/ml gemessen, liegt die Konzentration im Stuhl Erwachsener im Mittel bei 17 µg/g (10).

Hinsichtlich der Darmstabilität unterscheidet sich die pankreatische Elastase 1 (E1) wesentlich von Chymotrypsin und Lipase. Gemessen an der Konzentration im Pankreassaaft wird dieses Enzym in etwa der 5fachen Konzentration im Stuhl ausgeschieden, im Mittel um 1200 µg/g Feuchttstuhl. Da das Enzym im aktivierten Duodenalsaft innerhalb von 3 Tagen nur wenige Prozent an Aktivität und immunologischer Reaktivität verliert, ist davon auszugehen, daß es die Darmpassage quantitativ übersteht. In dieser Hinsicht ist die E1 der am ehesten geeignete Parameter, an dem die Pankreasfunktion im Stuhl gemessen werden kann. Konsequenterweise müssen Sensitivität und Spezifität der E1 über denen von Chymotrypsin liegen, was in einer ersten klinischen Studie auch belegt werden konnte (12). Die E1-Ergebnisse, die damals mit der quantitativen Immunpräzipitation gewonnen wurden, sind mit dem hier vorgestellten E1-ELISA bestätigt worden. Danach sprechen E1-Konzentrationen von mindestens 200 µg/g Feuchttstuhl für eine normale exokrine Pankreasfunktion, Werte zwischen 100 und 200 µg/g für eine leichte und Werte unter 100 µg/g Feuchttstuhl für eine schwere Pankreasinsuffizienz. Gegenwärtig wird versucht, die Bereiche Normalfunktion und leichte Insuffi-

zienz anhand invasiver diagnostischer Kriterien zu präzisieren.

Der Nachweis der E1 erfolgt unter Verwendung von zwei mAKs, die an verschiedene Epitope der E1 binden. Sie sind hochspezifisch, d. h., sie erkennen außer E1 weder eines der Serumproteine noch irgendein menschliches Gewebsantigen und binden nicht an eventuelle E1-Analoga tierischer Provenienz, so daß eine Substitutionstherapie mit Enzympräparaten den Test nicht beeinflußt. Weiterhin wird der Test nicht durch die Gegenwart von Heparin oder Lipidemulsion gestört, so daß Serum bzw. Plasmaproben auch im Rahmen entsprechender Behandlungen abgenommen werden können.

Ursprünglich wurde der Test, dessen Nachweisgrenze unter 1 ng/ml liegt, zum Nachweis der E1 im Serum entwickelt. Diese Empfindlichkeit hat bei Stühlen den großen Vorteil, daß von diesen Proben nur eine kleine Menge mit einem Speziallöffelchen entnommen zu werden braucht, die anschließend zur Unkenntlichkeit verdünnt werden muß.

Über den Nachweis der E1 im Serum und den Wert der E1 für die Diagnose einer akuten Pankreatitis oder eines akuten Schubes einer chronischen Pankreatitis liegen eine Reihe von Untersuchungen vor, die sämtlich mit dem E1-RIA der Firma Abbott erstellt worden sind (13–17). Dieser Test ist jedoch nur als Serum-RIA erhältlich.

Alle Untersuchungen weisen insbesondere auf eine höhere Sensitivität der E1 hin, verglichen mit Lipase und Amylase, wenn die Diagnose erst 48 Stunden nach Krankheitsbeginn gestellt wird. Soweit eigene Untersuchungen vorliegen, können wir diese Aussage mit dem vorgestellten ELISA bestätigen. Auch wir finden, daß die E1 nach einem akuten Schub, verglichen mit Lipase, Amylase und immunreaktivem Trypsin am längsten erhöht bleibt. Da beide ELISA-Systeme eine wesentlich längere Haltbarkeit als der RIA aufweisen und als Strips angeboten werden, eignen sich diese Testsysteme auch für Laboratorien und Kliniken mit relativ geringem Probendurchsatz. Sowohl der Serum- als auch der Stuhltest sind in weniger als 2,5 Stunden durchzuführen.

Die beiden hier vorgestellten Testkits zur quantitativen Bestimmung der E1 im Serum und im Stuhl sind sowohl geeignet für die Erfassung der exokrinen Pankreasfunktion als Parameter der chronischen Pankreatitis oder der cystischen Fibrose, als auch für die Diagnose der akuten Pankreatitis. Zur Zeit durchgeführte klinische Studien belegen diese Aussage. Es ist beabsichtigt, nach Abschluß dieser Studien, deren Ergebnisse gesondert vorzustellen.

(Fortsetzung nächste Seite)

**Schriftum:**

1. Wendorf, P., Linder, D., Sziegoleit, A. & Geyer, R. (1991) Carbohydrate structure of human pancreatic elastase 1. *Biochem. J.* **278**, 505–514.
2. Sziegoleit, A., Krause, E., Klör, H.-U., Kanacher, L. & Linder, D. (1989) Elastase 1 and Chymotrypsin B in pancreatic juice and feces. *Clin. Biochem.* **22**, 85–89.
3. Sziegoleit, A. (1984) A novel proteinase from human pancreas. *Biochem. J.* **219**, 735–742.
4. Köhler, G. & Milstein, M. (1975) Continuous cultures of fused cells secreting anti-body of predefined specificity. *Nature*, London **256**, 495–497.
5. Lefkovits, I. & Waldmann, H. (1979) Limiting dilution analysis of cells in the immune system. Cambridge University Press, Cambridge.
6. Grossmann, M. J. (1962) Fecal enzymes of dogs with pancreatic exclusion. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **110**, 41–42.
7. Amman, R., Dyck, W., Rosenmund, H. & Ben Avraham, R. (1964) Bestimmung der Trypsin- und Chymotrypsinaktivität im Stuhl. Eine sensible, spezifische Methode zum Nachweis der exokrinen Pankreasinsuffizienz. *Klin. Wschr.* **42**, 553–555.
8. Sale, J. K., Goldberg, D. M., Thjodleifsson, B. & Wormsley, K. G. (1974) Trypsin and chymotrypsin in duodenal aspirate and feces in response to secretin and cholecystokininpancreoecymin. *Gut* **15**, 132–138.
9. Amman, R. (1967) Fortschritte in der Pankreasfunktionsdiagnostik. Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik, Band 22, Hrsg. R. Hegglin, F. Leuthard, R. Schoen, H. Schwieck, A. Studer, H. U. Zollinger. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
10. Münch, R. (1991) Bestimmung von Pankreasenzymen im Stuhl. Methoden, Probleme und klinische Bedeutung. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
11. Münch, R. & Amman, R. (1992) Fecal immunoreactive lipase: a new, tubeless pancreatic function test. *Scand. J. Gastroenterol.* **27**, 289–294.
12. Krause, E. (1989) Elastase 1 und Chymotrypsin B im Stuhl und Duodenalsekret als Parameter der exokrinen Pankreasfunktion. Inaugural-Dissertation im Fachbereich Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität, Gießen.
13. Satake, K., Chung, Y.-S., Umeyama, K. (1982) Serum elastase 1 levels in pancreatic disease. *Amer. J. Surg.* **144**, 239–242.
14. Okuno, M., Hirano, S., Kurokawa, M., Shinomuro, Y., Kuroshima, T., Kanayama, S., Tsuji, K., Higashimoto, Y. & Tarui, S. (1985) Changes in serum levels of pancreatic isoamylase, lipase, trypsin and elastase 1 after retrograde pancreateography. *Hepato-gastroenterol.* **32**, 87–90.
15. Büchler, M., Mälzerheiner, P., Uhl, W. & Beger, H. G. (1986) Diagnostic and prognostic value of serum elastase 1 in acute pancreatitis. *Klin. Wochenschr.* **64**, 1186–1191.
16. Buarmah, P. K., Cornell, Ch., Cassells-Smith, A. J. & Skillen, A. (1987) Serum human pancreatic elastase 1 levels in pancreatic disease. *Clinica Chimica Acta* **176**, 57–60.
17. Lesi, C., Ruffilli, E., De Mutis, R., Zoni, L., Baldoni, F. & Malaguti, P. (1988) Serum elastase 1 in clinical practice. *Pancreas* **3**, 444–449.

**Anschrift für die Verfasser:**

**Dr. Ursula Scheefers-Borchel**  
ScheBo Tech  
Medizinisch-Biologische Forschungsgesellschaft mbH  
Hainerweg 10  
6301 Wettenberg 2

**Dr. Hans Scheefers**  
ScheBo Tech  
Medizinisch-Biologische Forschungsgesellschaft mbH  
Hainerweg 10  
6301 Wettenberg 2

**Prof. Dr. med. Rudolf Arnold**  
Leiter der Abteilung Innere Medizin  
Medizinische Klinik der Universität Marburg  
Baldingerstraße 3550 Marburg

**Prof. Dr. Peter Fischer**  
Institut für Pathologie der Universität Bonn  
Sigmund-Freud-Straße 25  
5300 Bonn

**Priv.-Doz Dr. Andreas Sziegoleit**  
Institut für medizinische Mikrobiologie der Universität Gießen  
Schubertstraße 1  
6300 Gießen

□