



Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG)



- Testsystem zur Unterstützung der Diagnose des systemischen Lupus erythematoses (SLE)
- Aufgrund gesteigerter Sensitivität als Erstlinientest geeignet – ganz ohne Arbeiten mit radioaktivem Material
- Exzellente Spezifität durch mit Nukleosomen komplexierte dsDNS – übererfüllt die Vorgaben der aktuellen Leitlinien
- Hervorragende Eignung für das Therapiemonitoring wurde in mehreren Publikationen gezeigt

Technische Daten

Antigen	dsDNS, die mit Nukleosomen (NcX) komplexiert an die Festphase gekoppelt wird
Kalibrierung	Quantitativ, in Internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml) Kalibrator 1: 800 IE/ml Kalibrator 2: 100 IE/ml Kalibrator 3: 10 IE/ml Empfohlener oberer Grenzwert des Normalbereichs (Cut-off): 100 IE/ml
Probenverdünnung	Serum oder Plasma; 1 : 201 in Probenpuffer
Reagenzien	Gebrauchsfertig, Ausnahme: Waschpuffer (10x); Farbcodierte, gegen die Reagenzien anderer EUROIMMUN-ELISA-Testsätze weitgehend austauschbare Lösungen
Testablauf	30 min/30 min/15 min (Proben-/Konjugat-/Substratinkubation), Raumtemperatur, vollautomatisierbar
Messung	450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
Packungsformat	96 vereinzelbare Reagenzgefäße inklusive aller erforderlichen Reagenzien
Bestell-Nr.	EA 1572-9601 G

Klinische Bedeutung

Systemischer Lupus erythematoses (SLE) ist eine Autoimmunerkrankung aus der Gruppe der Kollagenosen. Erste Krankheitszeichen sind Fieber, reduzierte Leistungsfähigkeit, Empfindlichkeit gegenüber Sonnenlicht und rheumaähnlichen Beschwerden. Auf der Haut bilden sich meist Erytheme, insbesondere das charakteristische „Schmetterlingserythem“ im Gesicht. Weitere häufige Symptome sind Gelenkschmerzen und -entzündungen, Müdigkeit, Einschränkungen der Nierenfunktion, das Raynaud-Syndrom, Magen-Darm-Beschwerden, eine Beteiligung des Zentralnervensystems und Entzündungen verschiedener innerer Organe. Ein SLE kann mild oder akut-entzündlich mit schweren Schüben verlaufen und in besonders schweren Fällen zu Multiorganversagen führen. In Europa liegt die jährliche Inzidenz bei ca. 25 bis 27 Neuerkrankungen pro 100.000 Personen, wobei 90% der Betroffenen Frauen, vor allem im gebärfähigen Alter, sind. Die Fünf-Jahresüberlebensrate liegt heutzutage bei 95%.

Die Diagnose richtet sich nach den EULAR/ACR-Kriterien (EULAR = European League Against Rheumatism, ACR = American College of Rheumatology), die zuletzt 2019 revidiert wurden. Wenn in erster Instanz antinukleäre Antikörper (ANA) nachgewiesen wurden, ist bei gleichzeitigem Zutreffen weiterer definierter klinischer und immunologischer Kriterien die Diagnose „SLE“ zu stellen. Anti-dsDNS-Antikörper gehören dabei wegen ihrer hohen Spezifität zu den wichtigsten Markern. Die Prävalenz dieser Antikörper beim SLE beträgt je nach Nachweismethode und Krankheitsaktivität bis zu 90%. Da ihre Konzentration mit der Aktivität der Erkrankung, insbesondere mit dem Auftreten der Lupusnephritis, korreliert, eignet sich die Bestimmung der Anti-dsDNS-Antikörpertiter zur Therapiekontrolle. SLE lässt sich jedoch auch bei negativem Test auf dsDNS-Autoantikörper nicht ausschließen. Weitere serologisch nachweisbare Autoantikörper können für das individuelle Erscheinungsbild der Krankheit verantwortlich sein.

Mittlerweile gibt es viele Hinweise darauf, dass das primäre Zielantigen der pathogenetisch relevanten Autoantikörper nicht freie, sondern mit Nukleosomen komplexierte dsDNS ist. EUROIMMUN hat daher einen ELISA zum Nachweis von Anti-dsDNS-Antikörpern entwickelt, dessen Antigensubstrat aus dsDNS besteht, die mit Nukleosomen komplexiert (NcX) an die Festphase gekoppelt wird. Verwendet wird dafür eine hochreine Nukleosomen-Fraktion, die frei von H1, Scl-70 und anderen Nicht-Histon-Proteinen ist und somit höchste SLE-Spezifität garantiert. Im Vergleich zum konventionellen Anti-dsDNS-ELISA kann zudem auf den Einsatz von Linkersubstanzen wie Poly-L-Lysin oder Protaminsulfat verzichtet werden, die eine potenzielle Quelle für unspezifische Reaktionen darstellen.



Linearität

Zur Bestimmung der Linearität des Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG) wurden 8 serielle Verdünnungen verschiedener Patientenproben durchgeführt. Das Bestimmtheitsmaß R^2 beträgt für alle Seren $> 0,95$. Der Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG) ist mindestens im untersuchten Konzentrationsbereich (40 IE/ml bis 757 IE/ml) linear.

Nachweisempfindlichkeit

Die untere Nachweisgrenze ist definiert als der Mittelwert einer analytfreien Probe plus der dreifachen Standardabweichung und gibt den geringsten eindeutig erfassbaren Antikörpertiter an. Die untere Nachweisgrenze des Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG) liegt bei 2,6 IE/ml.

Reproduzierbarkeit

Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten mit 4 Seren ermittelt. Den Intra-Assay-Variationskoeffizienten liegen jeweils 20 Bestimmungen, den Inter-Assay-Variationskoeffizienten jeweils 4 Bestimmungen in 6 verschiedenen Testansätzen zugrunde.

Intra-Assay-Variation, n = 20		
Serum	Mittelwert (IE/ml)	VK (%)
1	157	4,7
2	318	2,8
3	543	2,9
4	713	3,6

Inter-Assay-Variation, n = 4 x 6		
Serum	Mittelwert (IE/ml)	VK (%)
1	173	4,9
2	338	2,9
3	544	6,5
4	700	9,0

Referenzbereich

Die Spiegel der Anti-dsDNS-NcX-Antikörper (IgG) wurden bei 400 gesunden Blutspendern mit diesem EUROIMMUN-ELISA ermittelt. Bei einem Cut-off von 100 IE/ml waren alle Blutspender anti-dsDNS-NcX-negativ.

Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität bei klinisch charakterisierten Patienten mit SLE (n = 213) betrug 60%. Die Spezifität in einem Kontrollkollektiv (n = 760) bestehend aus Patienten mit anderen Autoimmunerkrankungen sowie gesunden Blutspendern betrug 99%.

Patientengruppe	n	Anti-ds-DNS-NcX-positiv (IgG)
SLE	218	127
Sjögren-Syndrom	88	1
Progressive Systemsklerose	81	2
Rheumatoide Arthritis	165	7
Polymyositis/Dermatomyositis	26	0
Gesunde Blutspender	400	0

Literatur

- Aringer M, et al. **2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus**. Ann Rheum Dis 78(9):1151-1159 (2019).
- Soni C, et al. **DNA as a self-antigen: nature and regulation**. Curr Opin Immunol 55:31-37 (2018).
- Wang X, et al. **Anti-double Stranded DNA Antibodies: Origin, Pathogenicity, and Targeted Therapies**. Front Immunol 10:1667 (2019).
- Bruns A, et al. **Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus**. Arthritis Rheum 43(10):2307-15 (2000).
- Biesen R, et al. **Anti-dsDNA-NcX ELISA: dsDNA-loaded nucleosomes improve diagnosis and monitoring of disease activity in systemic lupus erythematosus**. Arthritis Res Ther 13(1): R26 (2011).
- Suer W, et al. **Autoantibodies in SLE but not in scleroderma react with protein-stripped nucleosomes**. J Autoimmun 22(4):325-34 (2004).
- EUROIMMUN AG. Suer W, et al. **Verfahren zur Herstellung einer Nucleosomen-Präparation und deren Verwendung zur In-vitro-Diagnose von systemischem Lupus erythematosus (SLE)**. Europäisches Patent EP 1 476 750 (2009).
- Barker R, et al. **Phar Lap and the Filly: Validating a new method of anti-dsDNA autoantibody detection**. (Poster) Royal College of Pathologist Update Sydney 2012.