



EUROLINE AMA-Profil (IgGM)



- Nachweis von Autoantikörpern gegen die Leberantigene AMA-M2, -M2-3E, -M4 und -M9
- Unterstützt die Diagnostik einer primär biliären Cholangitis (PBC)
- Gesteigerte Sensitivität durch Einsatz des rekombinanten Fusionsproteins M2-3E

Technische Daten

Antigene	AMA-M2: natives M2-Antigen, Hauptbestandteil: E2-Untereinheit (74 kDa) des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes (PDH); M2-3E (BPO): rekombinantes Fusionsprotein der immunogenen Bereiche der E2-Untereinheiten der drei Enzymkomplexe des M2-Antigens: verzweigt-kettige Ketosäure-Dehydrogenase (BCOADH), PDH und Ketoglutarat-Dehydrogenase (OGDH); M4: natives M4-Antigen, Sulfioxidase; M9: natives M9-Antigen, Glykogenphosphorylase (Phosphorylase a)
Probenverdünnung	Serum oder Plasma, 1 : 101 in Probenpuffer
Testablauf	30 min / 30 min / 10 min (Proben- / Konjugat- / Substratinkubation), Raumtemperatur, vollautomatisierbar
Packungsformat	16 oder 64 Membranstreifen, der Testsatz enthält alle benötigten Reagenzien
Automatisierung	Der Test kann mit dem EUROBlotOne oder EUROBlotMaster von EUROIMMUN durchgeführt werden. Die Auswertung erfolgt mit der Software EUROLineScan.
Bestell-Nr.	DL 1620-1601-1 O (16 Streifen) oder DL 1620-6401-1 O (64 Streifen)

Klinische Bedeutung

Die **primär biliäre Cholangitis (PBC)** ist eine chronische, nicht eitrige, destruierende Cholangitis mit fortschreitender entzündlicher Zerstörung der kleinen Gallengänge. Symptome der Krankheit sind Gelbsucht, Juckreiz, Erschöpfung und Unterleibsschmerzen. Mit fortschreitender Krankheit entwickeln sich eine ausgeprägte Hyperbilirubinämie und portale Hypertonie, auch eine Ascites, Ösophagusvarizen und Enzephalopathie sind möglich. Im Endstadium der PBC, der dekompenzierten Leberzirrhose, ist nur eine Lebertransplantation lebensrettend. Immerhin 75% der PBC-Patienten werden dadurch geheilt, bei den restlichen entwickelt sich ein langsam fortschreitendes Rezidiv. Die PBC betrifft mit 80% vorrangig Frauen zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr und hat eine Prävalenz von ca. 1,9 bis 40,2 Fällen pro 100.000 Einwohner.

Autoantikörper können bereits mehrere Jahre vor Ausbruch der PBC nachgewiesen werden. Mehr als 90% der PBC-Patienten sind positiv für Anti-Mitochondrien-Antikörper (AMA), insbesondere solche, die gegen die Antigene M2, M4, M8 und M9 gerichtet sind. Der wichtigste Subtyp in der PBC-Diagnostik sind Anti-M2-Antikörper. Die immunogenen Bereiche des M2-Antigens umfassen hauptsächlich die E2-Untereinheiten der verzweigt-kettigen (branched chain) 2-Oxosäuredehydrogenase (BCOADC-E2), Pyruvatdehydrogenase (PDH-E2) und der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase (OGDC-E2). Eine Korrelation zwischen AMA-Titern und klinischem Verlauf bzw. Therapieerfolg konnte in der Mehrzahl der klinischen Studien nicht belegt werden.

Die Diagnose PBC kann gestellt werden, wenn zwei der drei folgenden Kriterien erfüllt sind: (a) AMA-Titer größer oder gleich 1 : 40, (b) Hinweise auf eine nicht eitrige Cholangitis und Zerstörung der intrahepatischen Gallengänge, (c) ungeklärt erhöhte Werte der alkalischen Phosphatase über einen Zeitraum von mehr als sechs Monaten. Außerdem haben PBC-Patienten oft erhöhte Konzentrationen an Aminotransferasen und Immunglobulinen, vorrangig IgM. Im Falle negativer AMA-Tests empfiehlt sich die zusätzliche Bestimmung der PBC-spezifischen antinukleären Antikörper (ANA) gegen die Kernmembranproteine sp100 und PML sowie gegen den Kernmembranbestandteil gp210. Das Auftreten dieser Antikörper ist häufig mit einem schwereren Verlauf der Erkrankung assoziiert.

Die PBC tritt in bis zu 84% der Fälle in Verbindung mit anderen Autoimmunerkrankungen auf, z. B. dem Sjögren-Syndrom, Kollagenosen, Hashimoto-Thyreoiditis, Glomerulonephritis, Systemsklerose, Zöliakie und Colitis ulcerosa. 2 bis 19% der PBC-Patienten zeigen Charakteristika einer AIH (AIH-PBC-Überlappungssyndrom). In diesen Patienten können zusätzlich Autoantikörper gegen SLA/LP, doppelsträngige DNA und glatte Muskelzellen (ASMA) auftreten.

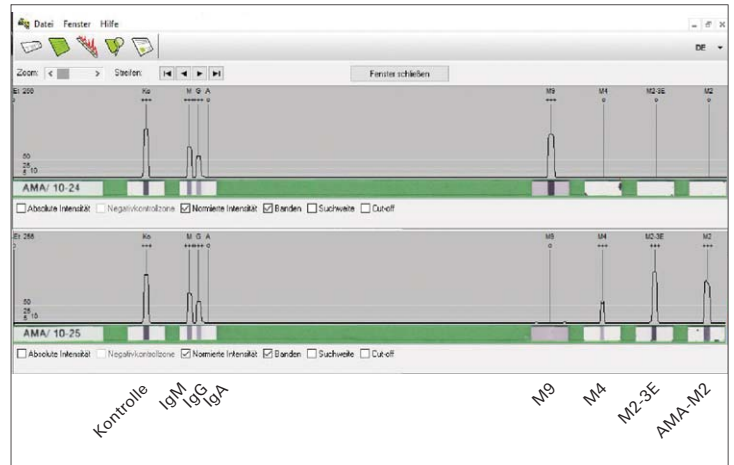


Testprinzip

Die Testpackung enthält Teststreifen, die mit gereinigten Antigenen beschichtet sind. Die Teststreifen werden im ersten Analyse-schritt mit verdünnten Patientenproben inkubiert. Bei positiven Proben binden sich spezifische Antikörper der Klasse IgG und IgM (IgA) an die Antigene. Zur Darstellung dieser Antikörper wird in einem zweiten Schritt mit enzymmarkierten Antikörpern gegen humanes IgGM (Enzymkonjugat) inkubiert, die durch Zugabe der Substratlösung eine Farbreaktion katalysieren. Die korrekte Durch-führung der einzelnen Inkubationsschritte wird durch die Färbung mehrerer Kontrollbänder angezeigt.

Automatische Abarbeitung

Der kompakte Vollautomat EUROBlotOne dient der standar-disierten Abarbeitung von EUROIMMUN-Blotstreifen (EURO-LINE, EUROLINE-WB, Westernblot) – von der Probenerken-nung bis zum finalen Analyseergebnis. Die Proben werden vom Gerät pipettiert und alle Inkubations- und Waschschr-ite automatisch durchgeführt. Abschließend werden die von der integrierten Kamera erfassten Bilddaten automatisch durch die EUROLineScan-Software ausgewertet und digital archivi-ert. Alternativ können die Immunblotstreifen mit dem EUROBlotMaster inkubiert und mittels Flachbettscanner optisch erfasst werden. Auch in diesem Fall übernimmt EUROLineScan im Anschluss die automatische Auswertung. Die bidirektionale Kommunika-tion mit einem Laborinformationssystem zum Import der Arbeits-liste und Export der Ergebnisse übernimmt EUROLineScan oder optional die systemübergreifende Labormanagementsoftware EUROLabOffice 4.0. Für jede Probe kann ein separates Auswer-tungsprotokoll erstellt werden.



Sensitivität und Spezifität

Seren von 30 Patienten mit diagnostizierter PBC sowie 150 Proben gesunder Blutspender wurden auf IgG-/IgM-Anti-körper gegen die Leberantigene M2, M2-3E, M4 und M9 un-tersucht.

Durch die Kombination der Antigene M2 und M2-3E konnte in einer anderen Studie die Sensitivität gegenüber den Einzelsub-straten auf 88%, bei gleich hoher Spezifität, gesteigert werden.

n = 180	EUROLINE AMA IgG/IgM			
	AMA-M2-positiv	anti-M2-3E-positiv	anti-M4-positiv	anti-M9-positiv
PBC (30)	25	24	16	5
Blutspender (150)	0	1	0	3
Sensitivität	83,3%	80,0%	53,3%	16,7%
Spezifität	100,0%	99,3%	100,0%	98,0%

198 Proben von Patienten mit Verdacht auf PBC (vorcharakterisiert mit einem CE-gekennzeichneten Referenztest) wurden auf IgG- und IgM-Autoantikörper gegen M2, M4 und M9 untersucht. Für die Bestimmung der positiven bzw. negativen Übereinstimmung wurden grenzwertige Reaktionen im Referenztest nicht berücksichtigt.

n = 198		CE-gekennzeichneter Referenztest			n = 198	positive Übereinstimmung	negative Übereinstimmung
		positiv	grenzwertig	negativ			
EUROLINE AMA IgG/IgM AMA-M2	positiv	26	1	3	100%	98,2%	
	negativ	0	3	165			
EUROLINE AMA IgG/IgM Anti-M4	positiv	5	4	1	100%	99,5%	
	negativ	0	5	183			
EUROLINE AMA IgG/IgM Anti-M9	positiv	11	7	0	84,6%	100%	
	negativ	2	11	167			

Literatur

1. European Association for the Study of the Liver. **EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis.** J Hepatol 67: 145-172 (2017).
2. Strassburg CP et al. **S2k Leitlinie Autoimmune Lebererkrankungen.** AWMF online 21/27 (2017).