



Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG)



Indikation: Testsystem zur in-vitro-Bestimmung von Antikörpern gegen dsDNS im menschlichen Serum oder Plasma, zur Diagnostik folgender Erkrankung: Systemischer Lupus erythematodes.

Klinische Bedeutung: Bei Autoantikörpern gegen DNS müssen grundsätzlich zwei Typen unterschieden werden: Antikörper gegen doppelsträngige, native DNS (Doppelstrang-DNS, dsDNS, nDNS) und Antikörper gegen einzelsträngige, denaturierte DNS (Einzelstrang-DNS, ssDNS). Antikörper gegen Doppelstrang-DNS reagieren mit Epitopen, die im Desoxyribosephosphat-Gerüst der DNS (außen) liegen. Dagegen binden sich Antikörper gegen Einzelstrang-DNS vorwiegend an Epitope aus dem Bereich der Purin- bzw. Pyrimidinbasen, sie können aber auch Epitope des Desoxyribosephosphat-Gerüsts erkennen. Antikörper gegen dsDNS stehen im Mittelpunkt der serologischen Diagnose des systemischen Lupus erythematodes (SLE), man findet sie bei 60% bis 90% der Patienten, je nach Aktivität der Erkrankung. Antikörper gegen Nukleosomen stellen ebenfalls exklusive Marker des SLE dar – vorausgesetzt, sie werden mit einem perfekten Testsystem untersucht, dessen Zielantigen frei von Histon H1, Scl-70 und anderen Nicht-Histon-Proteinen sein muss.

Stellenwert des Anti-dsDNS-NcX-ELISA: Unter Anwendung eines innovativen biochemischen Ansatzes haben Forscher der EUROIMMUN AG ein neues Testsystem geschaffen, das die diagnostischen Qualitätskriterien aller konventionellen Anti-dsDNS-ELISA weit übertrifft (Anti-dsDNS-NcX-ELISA, EUROIMMUN AG, Lübeck). Das Geheimnis der Innovation besteht in der Verwendung hochgereinigter Nukleosomen als neuer Linkersubstanz. Da Nukleosomen ein hohes Adhäsionsvermögen besitzen, eignen sie sich bereits in niedrigster Konzentration dazu, isolierte dsDNS an die Oberfläche der Mikrotitergefäße zu koppeln. Poly-L-Lysin und Protaminsulfat haben ausgedient, viele falsch positive Reaktionen werden vermieden, die Spezifität des ELISA erreicht Werte wie der indirekte Immunfluoreszenztest mit *Crithidia luciliae*!

In einer klinischen Vergleichsstudie an 378 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen (davon 209 mit SLE) zeigte der Anti-dsDNS-NcX-ELISA mit einer um 8% höheren Sensitivität eindeutig seine Überlegenheit gegenüber dem Anti-dsDNS-RIA (Farr-Test).

Kollektiv (Quelle: Charité Universitätsmedizin Berlin)	n	Anti-dsDNS-NcX- ELISA positiv	Anti-dsDNS-RIA positiv	Anti-dsDNS-ELISA positiv	IIFT (<i>Crithidia luciliae</i>) positiv
SLE	209*	125	108	88	57
Sensitivität	209	59,8%	51,7%	42,1%	27,4%
Sjögren-Syndrom	88	1	0	1	1
Progressive Systemsklerose	81	2	2	4	6
Spezifität	169	98,2%	98,8%	97,0%	95,9%
Sensitivität bei 98% Spezifität (lt. ROC-Analyse)	378	60,8%	53,1%	35,4%	–

* auf *Crithidia luciliae* nur 208 SLE-Seren inkubiert

Der Anti-dsDNS-NcX-ELISA wird manuell oder vollautomatisch (EUROIMMUN Analyzer I) abgearbeitet. Farr-Test und indirekte Immunfluoreszenz (Substrat *Crithidia luciliae*) behalten als weitere kompetente Testsysteme ihre Bedeutung bei der Klärung diskrepanter serologischer und klinischer Befunde.



Test-Charakteristika Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG)

Linearität: Zur Bestimmung der Linearität des Anti-dsDNS-NcX-ELISA (IgG) wurden 8 serielle Verdünnungen von 4 Serumproben durchgeführt. Die ermittelte lineare Regression 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.

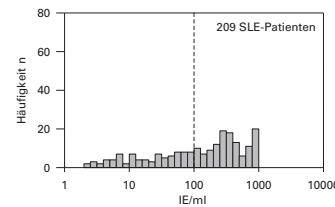
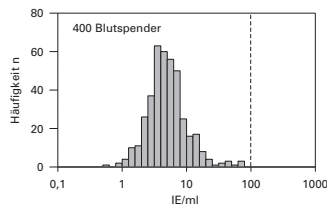
Reproduzierbarkeit: Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten mit 4 Seren ermittelt. Den Intra-Assay-Variationskoeffizienten liegen jeweils 20 Bestimmungen, den Inter-Assay-Variationskoeffizienten jeweils 4 Bestimmungen in 6 verschiedenen Testansätzen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

Serum	Intra-Assay-Variation, n = 20		Inter-Assay-Variation, n = 4 x 6	
	Mittelwert (IE/ml)	VK (%)	Mittelwert (IE/ml)	VK (%)
1	157	4,7	173	4,9
2	318	2,8	338	2,9
3	543	2,9	544	6,5
4	713	3,6	700	9,0

Korrelation des ELISA mit konventionellen Testsystemen: Es wurden 209 SLE-Seren mit dem Anti-dsDNS-NcX-ELISA sowie einem Anti-dsDNS-RIA und einem konventionellen Anti-dsDNS-ELISA inkubiert. Die ermittelte klinische Sensitivität des Anti-dsDNS-NcX-ELISA betrug 60% und war somit deutlich höher als die des Anti-dsDNS-RIA (52%) und des Anti-dsDNS-ELISA (42%).

SLE, n = 209		Anti-dsDNS-NcX-ELISA	
		positiv	negativ
Anti-dsDNS-RIA	positiv	96	12
	negativ	29	72
Anti-dsDNS-ELISA	positiv	86	2
	negativ	39	82

Referenzbereich: Bei 400 Seren gesund erscheinender Blutspender im Alter zwischen 18 und 69 Jahren (176 Frauen, 224 Männer) wurden die Spiegel der Anti-dsDNS-Antikörper mit dem EUROIMMUN-ELISA ermittelt. Unterschiede bezüglich Alter und Geschlecht wurden nicht beobachtet. Die mittlere Konzentration der Antikörper gegen dsDNS betrug 6,8 IE/ml (\pm 8,2 IE/ml Standardabweichung) und umfaßte einen Bereich zwischen 0,6 und 71,8 IE/ml. Bei einem Cut-Off von 100 IE/ml war kein Blutspender anti-dsDNS-positiv.



n = 400 Blutspender			
Perzentil	95.	98.	99.
Cut-Off	16,9 IE/ml	36,3 IE/ml	45,4 IE/ml

ROC-Analyse: Folgende Kenndaten wurden bei der Analyse von 209 SLE-Proben und 760 Kontrollproben (Kontrollen zur Spezifitätsberechnung zuzüglich 165 Proben von Patienten mit Rheumatoider Arthritis, 26 Proben von Patienten mit Myositis und 400 Proben von gesunden Blutspendern) ermittelt:

Cut-Off	Spezifität	Sensitivität
50,7 IE/ml	95%	71%
73,2 IE/ml	98%	65%
110,2 IE/ml	99%	58%

Technische Daten:

Antigen	dsDNS, die mit Nukleosomen (NcX) komplexiert an die Festphase gekoppelt ist.
Kalibrierung	Quantitativ, in internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml). Kalibrationsserum 1: 800 IE/ml Kalibrationsserum 2: 100 IE/ml; Cut-off Kalibrationsserum 3: 10 IE/ml
Probenverdünnung	Serum oder Plasma; 1:201 in Probenpuffer.
Reagenzien	Gebrauchsfertig. Ausnahme: Waschpuffer (10x). Farbcodierte, mit weiteren EUROIMMUN-ELISA weitgehend austauschbare Lösungen.
Testablauf	30 min / 30 min / 15 min. Raumtemperatur. Voll automatisierbar.
Messung	450 nm. Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm.
Packungsformat	96 einzeln abbrechbare Reagenzgefäße inkl. aller erforderlichen Reagenzien.
Bestell-Nr.	EA 1572-9601 G