

Ribosomal P ELISA

Der Ribosomal P ELISA trägt zur Diagnostik des Systemischer Lupus erythematodes (SLE) bei

Ein charakteristisches Merkmal von systemischen Autoimmunerkrankungen sind zirkulierende Autoantikörper gerichtet gegen intrazelluläre Strukturen, insbesondere gegen Antigene aus dem Zellkern. Anti-ribosomal P (Rib-P) Antikörper können mit hoher Spezifität in 10-40% der SLE Patienten nachgewiesen werden, wobei die Prävalenz von dem verwendeten Testsystem, dem genetischen Hintergrund der Patienten sowie insbesondere vom untersuchten Patientenkollektiv abhängt. Anti-Rib-P Antikörper sind vornehmlich gegen den C-Terminus der humanen ribosomalen Phospho-Proteine P0 (38 kDa), P1 (19 kDa) und P2 (17 kDa) gerichtet, dessen Sequenz in allen drei Proteinen nahezu identisch ist. Ein synthetisches Peptid des C-Terminus der Rib-P Proteine konnte identifiziert und als hoch sensitives und spezifisches Antigen für die Detektion von anti-Rib-P Antikörpern charakterisiert werden. Eine jüngste Untersuchung zeigte eine geringe Sensitivität der indirekten Immunfluoreszenz für die Detektion von anti-Rib-P Antikörpern und deutliche Variationen zwischen den Objektträgerherstellern.

Der Ribosomal P ELISA ist zur semi-quantitativen Detektion einer spezifischen Subpopulation von anti-Rib-P Antikörpern bestimmt und trägt somit zur Diagnostik des SLE bei. Da Patienten mit anti-Rib-P Antikörpern oft neurologische Störungen aufweisen und von einem schweren Krankheitsverlauf betroffen sind, gelten anti-Rib-P Antikörper als wichtiger Biomarker für die Prognose von SLE Patienten. Desweiteren sollten anti-Rib-P Antikörper bei Verdacht auf SLE mit dem ELISA bestimmt werden.

Ribosomal P ELISA Spezifikationen

- ▲ Synthetisches Peptid-Antigen
- ▲ Farbcodierte Reagenzien
- ▲ Testdauer < 1,5h bei RT
(30min / 30min / 15min)
- ▲ 3µL Serum oder Plasma pro Test
- ▲ Detektionssystem: HRP/TMB
(OD_{450nm} / 620 nm)
- ▲ Weiter Messbereich
- ▲ Geringes Detektionslimit

Ribosomal P ELISA REF 25002  96

| ID | Ziel | ELISA (RU) | Interpretation |
|--------|----------------------------|------------|----------------|
| CDC 1 | DNA | 0,4 | negativ |
| CDC 2 | SS-B/La | 0,2 | negativ |
| CDC 3 | RNP/Sm SS-A/Ro, SS-B/La | 0,2 | negativ |
| CDC 4 | U-1 RNP | 0,3 | negativ |
| CDC 5 | Sm | 0,4 | negativ |
| CDC 6 | Fibrillarin | 0,2 | negativ |
| CDC 7 | SS-A/Ro | 0,1 | negativ |
| CDC 8 | Zentromer | 0,2 | negativ |
| CDC 9 | Scl-70 | 0,2 | negativ |
| CDC 10 | Jo-1 | 0,1 | negativ |
| CDC 11 | PM/Scl (PM 1) | 0,2 | negativ |
| CDC 12 | Rib-P | 5,7 | positiv |

Abbildung 1

Resultat der CDC ANA Referenzseren. 12 Proben der Referenzseren, erhältlich vom "Center for Disease Control and Prevention (CDC)", wurden im Ribosomal P ELISA (REF: 25002) getestet. Nur die anti-ribosomal P Positiv-Probe (CDC 12) wurde positiv getestet.

Leistungsmerkmale

- ▲ Gute Korrelation zu anderen ELISAs mit rekombinanten oder nativen Proteinen
- ▲ Exzellente „lot to lot“ Korrelation $R^2 > 0,95$
- ▲ Geringe Intra- und Inter-Assay Variation
- ▲ Exzellente Linearität über den gesamten Messbereich

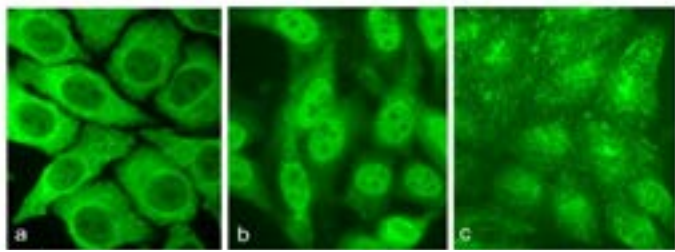


Abbildung 2
Unterschiede im IIF Fluoreszenzmuster eines monospezifischen anti-ribosomal P positiven Serums auf Objektträgern dreier Hersteller. (Mahler et al. 2008)

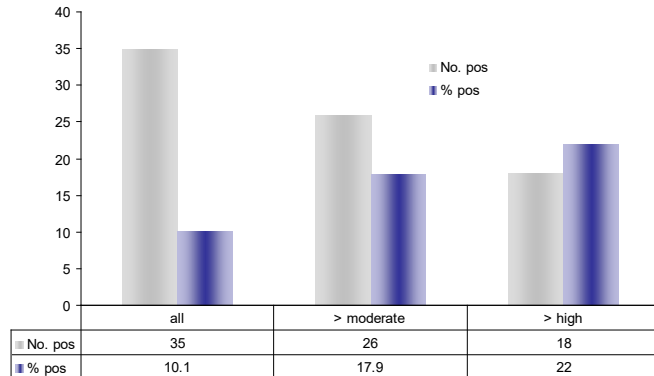


Abbildung 3
Anzahl und Prozent von anti-Rib-P positiven Proben mit einem zytoplasmatischen Fluoreszenzmuster in allen anti-Rib-P positiven Proben (n=345), den moderat und hoch positiven (n=145) und ausschließlich den hoch positiven Proben (n=82).

| Cut-off | 1 RU | 1,5 RU |
|----------------|------|--------|
| Sensitivität % | 24,1 | 11,5 |
| Spezifität % | 100 | 100 |

Abbildung 4
Klinische Sensitivität und Spezifität des Ribosomal P ELISA bei unterschiedlichen Cut-off-Werten in einem kaukasischen SLE Kollektiv und Krankheitskontrollen sowie gesunden Spendern. Die Ergebnisse korrelieren sehr gut mit den Angaben in der Literatur.

| Ribosomal P ELISA (25002) | | | | |
|---------------------------|-----|-----|-----|-----|
| Vergleichs- methode | | neg | pos | |
| | neg | 82 | 7 | 89 |
| | pos | 4 | 7 | 11 |
| | | 86 | 33 | 100 |

Abbildung 5
Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen ELISA. 100 Serum Proben von SLE Patienten wurden mit dem Ribosomal P ELISA (REF: 25002) und einer validierten Vergleichs - Methode (ALBIA) getestet. Dabei zeigte sich eine gute Übereinstimmung (89 %, $p < 0,0001$, Kappa = 0,5) zwischen den beiden Methoden. Die Sensitivität des Ribosomal P ELISA (REF: 25002) war dabei signifikant höher. (Cut-offs: ALBIA = 350 LU, ELISA = 1,5 RU)

Literatur

1. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, Brot N, Elkon KB: Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein anti-bodies. N Engl J Med. 1987, 317:265-271.
2. Mahler M, Kessenbrock K, Raats J, Williams R, Fritzler MJ, Blüthner M: Characterization of the human auto-immune response to the major C-terminal epitope of the ribosomal P proteins. J Mol Med 2003, 81:194-204.
3. Mahler M, Kessenbrock K, Szmyrka M, Takasaki Y, Garcia-De La Torre I, Shoenfeld Y, et al: International Multicenter Evaluation of Autoantibodies to Ribosomal P Proteins. Clinical and Vaccine Immunology, 2006, 13:77-83.
4. Greenwood DL, Gitlits VM, Alderuccio F, SENTRY JW, Toh BH: Autoantibodies in neuropsychiatric lupus. Autoimmunity 2002, 35:79-86. Review.
5. Kessenbrock K, Fritzler MJ, Groves M, Eissfeller P, von Muhlen CA, Hopfl P et al.: Diverse humoral autoimmunity to the ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus and hepatitis C virus infection. J Mol Med 2007, 85: 953-959.
6. Kessenbrock K, Raijmakers R, Fritzler MJ, Mahler M: Synthetic peptides: the future of patient management in systemic rheumatic diseases? Curr Med Chem 2007, 14: 2831-2838.
7. Mahler M, Ngo JT, Schulte-Pelkum J, Luettich T, Fritzler MJ: Limited reliability of the indirect immunofluorescence technique for the detection of anti-Rib-P antibodies. Arthritis Res Ther 2008, 10: R131.

DR FOOKE