

QUANTA Lite™ Ribosome P ELISA 708600

Nur für „*In-Vitro* Diagnostik“

CLIA Kompliziertheit: Hoch

Verwendungszweck

QUANTA Lite™ Ribosome P ist ein „Enzyme-linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) für die semi-quantitative Bestimmung von ribosomalen Antikörpern im Humanserum. Die Bestimmung dieser Antikörper unterstützt mit anderen serologischen Nachweisen und der Beurteilung des klinischen Bildes die Diagnostik des Systemischen Lupus erythematoses (SLE) und anderer Kollagenosen.

Informationen zum Test

Antinukleäre Antikörper (ANA) werden bei Kollagenosen gebildet, ihr Nachweis gilt als sensitive Screeningmethode.¹ ANA-Nachweise eignen sich auch hervorragend als Screeningmethode für den SLE (negative Ergebnisse schließen einen SLE aus),² sie sind jedoch nicht spezifisch. Spezifische Folgetests werden normalerweise nach einem positiven ANA Ergebnis durchgeführt, um das „Autoantikörper-Profil“ zu bestimmen.

Autoantikörper, die mit den Ribosomen des Zytoplasmas reagieren, stellen einen hochspezifischen Marker für SLE dar und werden gemeinsam mit Antikörpern gegen Sm und dsDNA als Marker-Antikörper angesehen.³ Das Immunfluoreszenzmuster auf HEp-2 Zellen von anti-ribosomalen Antikörpern zeigt ein dichtes, feingranuläres, zytoplasmatisches Bild.⁴ Anti-Ribosomen Antikörper werden bei annähernd 12% der SLE Patienten^{5,6} und bei 90% der Patienten mit Lupuspsychosen⁷ gefunden. Die Titer steigen auf mehr als das Fünffache während und vor den aktiven Phasen der Lupuspsychose an.⁷

Anti-Ribosom P Antikörper sind gegen drei Phosphoproteine P₀, P₁ und P₂ gerichtet, die auf der größeren 60S' Untereinheit von eukaryotischen Ribosomen lokalisiert sind. Vor kurzem konnte das ribosomale Antigen sehr gut charakterisiert werden. In veröffentlichten Studien wurde entweder rekombinantes Ribosom P⁸ oder ein synthetisches, Carboxyl-terminales 22 Aminosäuren umfassendes Peptid verwendet.^{9,10} Dieses lineare Peptid stellt das Haupt-Epitop der drei ribosomalen Phosphoproteine dar.¹⁰

Studien, bei denen das synthetische 22 Aminosäure umfassende C-terminale Peptid in der ELISA-Methode angewandt wurde, haben gezeigt, daß sich das Antigen hervorragend zur Diagnose von neurologischem Lupus eignet^{9,10}. Probleme, die mit rekombinanten Ribosom P als Antigen auftreten¹¹ und möglicherweise durch Verunreinigung mit bakteriologischen Komponenten verursacht werden, können durch die Verwendung des synthetischen Peptids nicht beobachtet werden.

Eine Reihe von Methoden wie Ouchterlony Doppeldiffusion, RIA (Radio-Immunoassay) und überwiegend die indirekte Immunfluoreszenz wurden verwendet, um Antikörper gegen Ribosomen nachzuweisen. Die Immunfluoreszenz-Technik kann zu falsch-negativen Ergebnissen führen, die durch die Anwesenheit von interferierenden Antikörpern verursacht werden. Es können auch falsch-positive Ergebnisse durch die fehlerhafte Beurteilung nicht-ribosomaler, zytoplasmatischer Antikörper auftreten. Durch die Verwendung eines hochgereinigten synthetischen Peptids als Antigen erhält man einen sensitiven, spezifischen und reproduzierbaren Test. Die mit diesem Test angebotene ELISA-Technik ist objektiv, semi-quantitativ und stellt die Methode der Wahl bei einem hohen Probenaufkommen dar.

Testprinzip

Synthetische Ribosom P wurde an die Kavitäten der Polystyrol-Mikrotiterplatte unter Wahrung der ursprünglichen Konfiguration gebunden. Vorverdünnte Kontrollen und verdünnte Patientenserum werden in verschiedene Kavitäten pipettiert. Die vorhandenen Ribosom P Antikörper binden an das Antigen. Der Rest der Probe/Kontrolle wird durch Waschen entfernt. Enzymmarkiertes anti-humanes IgG wird in die Kavitäten pipettiert und bindet während einer zweiten Inkubation an den Patienten-Antikörper. Nachdem in einem weiteren Waschschrift das restliche Konjugat entfernt worden ist, wird ein Chromogen-Substrat zugegeben. Die Intensität der entstandenen Farbreaktion wird nach dem Abstoppen mit dem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen. Die quantitative Auswertung erfolgt durch einen Vergleich der Extinktionswerte der Patienten mit dem Wert eines Kalibrators.

Inhalt der Testpackung

1. Mikrotiter-ELISA-Platte beschichtet mit hochgereinigtem Ribosom P (12-1 x 8 Kavitäten), mit Streifenhalter in Folienverpackung und Trockenmittel
2. ELISA Negative Kontrolle, 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum ohne humane Antikörper gegen Ribosom P, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
3. Ribosom P ELISA Low Positive (Kalibrator), 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum mit Antikörpern gegen Ribosom P, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
4. Ribosom P ELISA High Positive (positive Kontrolle), 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum mit Antikörpern gegen Ribosom P, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
5. HRP Probenverdünner, 1 Flasche – rosa gefärbt mit Tris-gepufferter Kochsalzlösung, Tween 20, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, 50 mL
6. HRP Waschkonzentrat, 1 Flasche mit 40fachem Konzentrat – rot gefärbt mit gepufferter Kochsalzlösung und Tween 20, 25 mL. Zur Verdünnung bitte das entsprechende Kapitel in der Anleitung beachten.

7. HRP IgG Konjugat, (Ziege), anti-humanes IgG, 1 Flasche – blau gefärbt mit Puffer, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, 10 mL
8. TMB Chromogen, 1 Flasche mit Stabilisatoren, 10 mL
9. HRP Stopplösung, 0,344M Schwefelsäure, 1 Flasche – farblos, 10 mL

Hinweise

1. VORSICHT: Probenverdünner, Kontrollen und Konjugat enthalten 0,02% Chloramphenicol. Es ist im US-Bundesstaat Kalifornien und allgemein bekannt, daß dieser Stoff Krebs verursachen kann.
2. Alle Reagenzien für die Herstellung dieses Tests wurden auf Antikörper gegen HIV, HBsAg und HCV getestet und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kontrollen wie potentiell infektiöses Humanserum oder Blutproben behandelt werden.¹²
3. NaN₃ wird als Stabilisator verwendet. NaN₃ ist ein Giftstoff und kann bei Einnahme toxische Reaktionen verursachen. Vorsichtig handhaben, und Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Den Kontakt mit Metall, basischen Stoffen oder anderen Komponenten, die mit Säure reagieren können, vermeiden. Bei der Entsorgung von Reagenzien ist daher mit viel Leitungswasser nachzuspülen, um Ansammlungen im Abwassersystem zu verhindern.
4. Das HRP Konjugat enthält eine verdünnte Chemikalie, die bei Einnahme toxisch wirken kann. Daher den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
5. Das TMB Chromogen enthält ein Reizmittel, das bei Inhalation, Einnahme oder Absorption durch die Haut gesundheitliche Schäden verursachen kann. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
6. Die HRP Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure. Den Kontakt mit Basen, Metallen und anderen Stoffen, die mit Säure reagieren können, vermeiden. Schwefelsäure ist ein Giftstoff und kann bei Einnahme toxische Reaktionen hervorrufen. Den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
7. Die vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung während der Arbeit mit Reagenzien tragen.
8. Verschüttete Reagenzien sofort beseitigen. Bei der Entsorgung von Abfällen alle Umweltvorschriften beachten.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Dieser Test ist für "In-Vitro Diagnostik".
2. Die Verwendung anderer als im Testkit vorhandenen Komponenten kann zu wider-sprüchlichen Ergebnissen führen.
3. Unvollständiges Waschen und ungenügendes Entfernen der Flüssigkeiten aus den ELISA Kavitäten führt zu einer schlechten Präzision und zu hohen Hintergrund-Extinktionen.
4. Die Adaptation dieses Testsystems auf automatische Probenverarbeitung und andere Instrumentierung, ganz oder teilweise, kann unterschiedliche Ergebnisse zur manuellen Durchführung ergeben. Es liegt in der Verantwortung eines jeden Labors, die automatische Bearbeitung so zu überprüfen, daß Testergebnisse innerhalb akzeptabler Bereiche erzielt werden.
5. Eine Reihe von Faktoren beeinflusst das Testergebnis. Hierzu zählen die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Pipettierens, der Typ des verwendeten Photometers, die Temperatur der Reagenzien, die Umgebungs-Temperatur, die Gründlichkeit des Waschens und der Entfernung der Flüssigkeiten aus den Vertiefungen der ELISA-Streifen, und die Einhaltung der Inkubationszeiten. Es ist deshalb sehr wichtig, für gleichbleibende Bedingungen zu sorgen.
6. Die strikte Einhaltung der Testprozedur wird empfohlen. Jede Änderung im Protokoll erfolgt auf Risiko des Anwenders.
7. Das unvollständige Verschließen der Mikrotiterkavitäten und des Trockenmittels führt zu Antigenabbau und schlechter Präzision.
8. Eine unakzeptabel niedrige Absorption kann beobachtet werden, wenn eine Flasche HRP Konjugat bei **zwei-** oder mehrfachem Gebrauch über einen längeren Zeitraum benutzt wird. Daher ist es wichtig, die Hinweise zum Umgang mit dem HRP Konjugat genau zu beachten.
9. Chemische Kontamination des HRP Konjugates kann durch unzureichendes Reinigen oder Spülen der Ausrüstung oder der Instrumente verursacht werden. Rückstände gebräuchlicher Laborchemikalien wie z.B. Formalin, Bleichmittel, Ethanol oder Spülmittel führen zum Abbau des HRP Konjugates im Verlauf der Zeit. Das gründliche Spülen der gesamten Ausrüstung und Instrumentierung nach Verwendung chemischer Reinigungsmittel ist daher unbedingt erforderlich.

Lagerung

1. Lagerung aller Kit-Reagenzien bei 2-8°C. Nicht einfrieren. Die Reagenzien sind stabil bis zum Ende des Haltbarkeitsdatums bei vorschriftsmäßiger Lagerung und Handhabung.
2. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder in die Originalverpackung geben, luftdicht verschließen und in den Kühlschrank zurücklegen.
3. Der verdünnte Waschpuffer ist bei 2-8°C eine Woche stabil.

Proben

Die Testdurchführung sollte mit Serumproben erfolgen. Werden Azide oder andere Stabilisatoren zu den Serumproben gegeben, können die Ergebnisse nachteilig beeinflusst werden. Mikrobakteriell kontaminierte, hämolytische, lipämische oder durch Hitzeeinwirkung inaktivierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Nach der Blutentnahme ist das Serum vom Blut zu trennen. Das NCCLS Dokument H18-A2 empfiehlt die folgenden Lagerungsbedingungen für Patientenproben: 1) Proben bei Raumtemperatur nicht länger als 8 Stunden lagern. 2) Kann die Testdurchführung nicht innerhalb von 8 Stunden erfolgen, die Proben bei 2-8°C kühl lagern. 3) Kann die Testdurchführung nicht innerhalb von 48 Stunden erfolgen ist die Probe bei -20°C oder niedriger einzufrieren. Eingefrorene Proben müssen nach dem Auftauen und vor der Testung gut geschüttelt werden.

Testdurchführung

In der Testpackung vorhandenes Material

- 1 Ribosom P ELISA Mikrotiterplatte (12-1 x 8 Kavitäten), mit Streifenhalter
- 1 1,2 mL vorverdünnte ELISA Negative Kontrolle
- 1 1,2 mL vorverdünnte Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle
- 1 1,2 mL vorverdünnte Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle
- 1 50 mL HRP Probenverdünner
- 1 25 mL HRP Waschkonzentrat, 40faches Konzentrat
- 1 10 mL HRP IgG Konjugat (von der Ziege), anti-humanes IgG
- 1 10 mL TMB Chromogen
- 1 10 mL HRP Stopplösung, 0,344M Schwefelsäure

Zusätzliches benötigtes Material

- Pipetten für 5, 100, 200-300 und 500 µL
- Einmal-Pipettenspitzen
- Eppendorf-Reaktionsgefäße für die Serumverdünnung, 4 mL Volumen
- Distilliertes oder deionisiertes Wasser
- 1 L Gefäß für verdünntes HRP Waschkonzentrat
- Reader für Mikrotiterplatten mit 450 nm Filter (und 620 nm für eine bichromatische Messung)

Methode

Testvorbereitung

1. Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-26°C) und gründlich mischen.
2. Den gesamten Inhalt (25 mL) des Waschkonzentrats mit 975 mL Aqua dest. mischen (1:40 Verdünnung). Die verdünnte Pufferlösung ist bei 2-8°C eine Woche stabil. Soll nicht die gesamte Mikrotiterplatte auf einmal verwendet werden, so können für einen Ansatz von 16 Kavitäten 2 mL Konzentrat mit 78 mL Aqua dest. gemischt werden.
3. Serumproben 1:101 verdünnen, indem 5 µL Serum mit 500 µL gebrauchsfertigem Probenverdünner gemischt werden. Verdünnte Proben sollen innerhalb von 8 Stunden getestet werden. Der Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle, die Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle **nicht verdünnen**.
4. Jeder Test benötigt zwei Kavitäten für jede der drei Kontrollen sowie eine oder zwei Kavitäten für die Patientenprobe (Es wird empfohlen, alle Proben in Doppelbestimmung anzusetzen, bis die erforderliche Präzision und Reproduzierbarkeit erreicht sind).

Testdurchführung

1. **ALLE REAGENZIEN UND PATIENTENPROBEN AUF RAUMTEMPERATUR (20-26°C) BRINGEN.** Die entsprechende Anzahl Mikrotiterkavitäten abrechnen. Die Kavitäten im Rahmen befestigen. **Die unbenutzten Kavitäten wieder in die Originalverpackung geben, luftdicht verschließen und in den Kühlschrank zurücklegen, um Verdunstung zu minimieren.**
2. Je 100 µL der **gebrauchsfertigen** Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle, der Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle, der ELISA Negative Kontrolle und der verdünnten Patientenproben in die entsprechenden Kavitäten pipettieren. Streifen abdecken und bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubieren. Die Inkubationszeit beginnt nach Zugabe der letzten Probe.
3. Waschen: Den Inhalt aller Kavitäten absaugen. Die Kavitäten vollständig (200-300 µL) mit **verdünntem** HRP Waschlösung füllen und dann gründlich absaugen. Diesen Waschschrift noch zweimal wiederholen (Insgesamt: drei Waschschriffe). Anschließend die Platte auf saugfähigem Papier ausklopfen, um restliche Waschlösung zu entfernen. Die Waschschriffe sind in der selben Reihenfolge wie die Pipettierschriffe durchzuführen.
4. 100 µL des HRP IgG Konjugates in jede Kavität geben. Sterile Pipetten verwenden! Nur das benötigte Volumen an Konjugat aus der Flasche entnehmen. **UNBENUTZTES KONJUGAT NICHT IN DIE FLASCHE ZURÜCKPIPETTIEREN. KONTAMINATIONSGEFAHR!!** Abgedeckte Streifen bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubieren, wie in 2. beschrieben.
5. Waschen: Schritt Nr. 3 wiederholen.
6. 100 µL TMB Chromogen in jede Kavität geben. 30 Minuten **im Dunkeln** bei Raumtemperatur inkubieren.
7. 100 µL HRP Stopplösung in jede Kavität pipettieren. Bei der Hinzugabe der Stopplösung dieselbe Reihenfolge und Zeitplan wie bei der Hinzugabe des TMB Chromogens einhalten. Die Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln.
8. Die optische Dichte (OD) jeder Kavität bei 450 nm innerhalb einer Stunde nach Abstoppen der Reaktion ablesen. Es wird eine bichromatische Messung mit 620 nm als Referenzwellenlänge empfohlen.

Qualitätskontrolle

1. Die Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle, die Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle sollten bei jedem Testansatz mitgeführt werden, um sicherzustellen, daß alle Reagenzien und der Testansatz insgesamt ordnungsgemäß funktionieren.
2. Da die Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle, die Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle vorverdünnt sind, entfällt der Verdünnungsschritt der Patientenproben für die Kontrollen.
3. Zusätzliche Kontrollen zur Qualitätssicherung können gemäß den Richtlinien nationaler oder internationaler Regulierungs- oder Akkreditierungsbehörden eingesetzt werden. Geeignete Kontrollen können aus Humanserum gewonnen und bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ gelagert werden.
4. Um sicher zu sein, daß alle Patientenwerte korrekt sind, müssen die nachfolgenden Kriterien erfüllt werden (Wurden ein oder mehrere Kriterien nicht erfüllt, so ist das Ergebnis als ungültig zu betrachten und der Testansatz ist zu wiederholen).
 - a. Die Absorption der vorverdünnten Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle muß größer sein als die Absorption des vorverdünnten Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle. Die Absorption des Low Positive Kontrolle wiederum muß größer sein als die der vorverdünnten ELISA Negative Kontrolle.
 - b. Die Absorption der vorverdünnten Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle muß größer als 1,0 sein, die Absorption der vorverdünnten Negative Kontrolle darf nicht über 0,2 liegen.
 - c. Die Absorption des Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle muß mehr als doppelt so hoch sein wie die der ELISA Negative Kontrolle oder über 0,25 liegen.
 - d. Die ELISA Negative Kontrolle und die Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle dienen der Sicherstellung der ordnungsgemäßen Funktionsweise des Testansatzes. Die Ribosom P ELISA High Positive Kontrolle stellt die Präzision am Cut-off des Tests nicht sicher.
 - e. Der Anwender sollte unter anderem das NCCLS Dokument Nr. C24-A für zusätzliche Hinweise zur zeitgemäßen Qualitätskontrolle beachten.

Berechnung der Ergebnisse

Zunächst sind die Mittelwerte der OD für die Doppelbestimmungen zu berechnen. Alle weiteren Berechnungen werden dann mit den entsprechenden Mittelwerten durchgeführt. Die Reaktivität jeder Patientenprobe wird bestimmt durch die Division des Mittelwertes der Proben-OD durch den Mittelwert der Low Positive Kontrolle und der Multiplikation dieses Ergebnisses mit dem chargenspezifischen Wert der Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle. Die chargenspezifischen Werte sind auf dem Fläschchenetikett aufgedruckt.

$$\text{Probenwert (Units)} = \frac{\text{OD der Probe}}{\text{Ribosom P ELISA Low Positive Kontrolle OD Wert}} \times \text{Ribosom P ELISA Low Positive Kontrollwert (Units)}$$

Die Reaktivität verhält sich zur Konzentration der vorhandenen Antikörper nicht linear. Zunahme und Abnahme der Antikörperkonzentrationen von Patienten werden durch einen entsprechenden Anstieg oder Abfall der Reaktivität angezeigt, diese Änderungen sind jedoch nicht proportional (d.h. eine Verdoppelung der Antikörperkonzentration führt nicht zu einer Verdoppelung der Reaktivität). Wird eine genauere Quantifizierung der Patientenantikörper gewünscht, sind serielle Verdünnungen der Probe durchzuführen und der Titer der zuletzt als positiv gemessen wurde, sollte als Patienten-Antikörpertiter bewertet werden.

Interpretation der Ergebnisse

Dieser ELISA-Test ist sehr sensitiv und in der Lage, sogar kleine Unterschiede in Patientenpopulationen zu messen. Die folgenden Werte dienen als Beispiel für die Interpretation der Testergebnisse. Es wird empfohlen, daß sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Die Patientenprobe kann anschließend als negativ, schwach, deutlich positiv bis stark positiv klassifiziert werden.

	Units
Negativ	<20
Schwach positiv	20 – 39
Deutlich positiv	40 – 80
Stark positiv	>80

1. Ein positives Ergebnis zeigt das Vorhandensein von Ribosom P Antikörper an und legt die Möglichkeit des Systemischen Lupus erythematoses oder anderer verwandter Bindegewebserkrankungen nahe.
2. Ein negatives Ergebnis deutet auf das Nichtvorhandensein von Ribosom P Antikörpern oder auf Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Testsystems hin.
3. Wir schlagen vor, die Laborergebnisse mit folgendem Hinweis zu versehen: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem INOVA QUANTA Lite™ Ribosome P ELISA erzielt. Ribosom P Werte, die mit Testsystemen anderer Hersteller erzielt wurden, können nicht untereinander ausgetauscht werden. Die Höhe des gefundenen IgG-Titers kann nicht mit einem Endpunkttiter in Korrelation gebracht werden.“

Grenzen des Verfahrens

1. Immunkomplexe oder andere Immunoglobulin-Aggregate im Patientenserum können nicht-spezifische Bindungen und falsch-positive Ergebnisse hervorrufen.
2. Nicht alle SLE Patienten sind Ribosom P positiv.
3. Nicht alle SLE Patienten mit neurologischen Symptomen haben Anti-Ribosomen P Antikörper.
4. Ribosomen P Antikörper-Titer steigen während eines Krankheitsausbruchs und sinken während einer Remission. Titer sind auch therapieabhängig.
5. Ergebnisse dieses Testes müssen im Zusammenhang mit klinischen Ergebnissen und anderen serologischen Tests verwendet werden.
6. Die Leistungscharakteristika für andere Untersuchungsmaterialien als Serum wurden nicht bestimmt.

Erwartungswerte

Die Fähigkeit des QUANTA Lite™ Ribosome P ELISA ribosomale Antikörper zu erkennen wurde u.a. durch Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen indirekten Immunfluoreszenz-Test von INOVA Diagnostics evaluiert. Die Ergebnisse des Immunfluoreszenz Tests wurden als positiv bewertet, wenn eine feingranuläre, zytoplasmatische Fluoreszenz auf dem HEp-2 Zell-Substrat zu erkennen war und negativ, wenn keine Fluoreszenz gefunden wurde.

Normalbereich

Eine Gesamtanzahl von 87 zufällig ausgewählten Normalproben wurde getestet. Die Gruppe setzte sich zu annähernd 90% aus Frauen im Alter von 18 bis 69 Jahren zusammen. Alle 87 Proben waren komplett negativ im QUANTA Lite™ Ribosome P Test. Die Mehrheit der Proben ergaben ein Ergebnis zwischen 2 und 6 Units, die stärkste Probe hatte einen Wert von 10 Units. Der positive Cut-off liegt bei 20 Units.

Relative Sensitivität und Spezifität

Die Patientenproben wurden in ein Referenzlabor auf ribosomale Antikörper mit dem QUANTA Lite™ Ribosome P ELISA Test und auf HEp-2 Zellen getestet. Die Ergebnisse nachfolgend:

		ELISA			
		+	-		
HEp-2	+	11	2*	Relative Sensitivität	84,6%
	-	0	20	Relative Spezifität	100%
				Relative Übereinstimmung	93,9%

*Beide Proben waren im Western Blot negativ.

Klinische Sensitivität und Spezifität

<u>Patientengruppe</u>	<u>Anzahl.</u>	<u>Anzahl. Ribosome P pos. (%)</u>
Normalseren	122	0
Nicht ribosomale zytoplasmatische Antikörper	56	0
SLE	75	15 (20%)
SLE (neurologische Symptome)	38	10 (26,3%)
SLE (keine neurologischen Symptome)	19	0
SLE (neurologische Symptome, Ribosome positive auf HEp-2 und/oder Western Blot)	57	57 (100%)

Kreuzreaktivität

Der QUANTA Lite™ Ribosome P ELISA Kit wurde mit einer großen Anzahl von Proben getestet, die hohe Werte an anderen Autoantikörpern wie Sm, RNP, SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1, ASMA, M2 (AMA), PR-3, MPO und Gliadin aufwiesen. Keine dieser Proben reagierte mit dem ELISA. Die Werte dieser Proben lagen zwischen 2 und 3 Units, der höchste Wert lag bei 6 Units. Der Cut-off dieses Tests liegt bei 20 Units.

Präzision und Reproduzierbarkeit

Die Präzision und Reproduzierbarkeit des Tests wurde durch Messen einer negativ, einer schwach positiv und einer stark positiv Probe in sechs Wiederholungen in vier verschiedenen Testansätzen ermittelt. Die mittlere Absorption der stark positiven Probe betrug 113,7, die der schwach positiven 25,1 und die der negativen 2,72. Die Standardabweichung (SD) und der Variationskoeffizient (VK) jeder Probe sind nachfolgend aufgeführt.

	Negativ		Stark positiv		Schwach positiv	
	SD	VK	SD	VK	SD	VK
Gesamt	0,42	15,2%	5,09	4,5%	0,83	3,3%
Intraassay	0,14	5,1%	1,84	1,6%	0,81	3,2%
Interassay	0,43	15,6%	5,40	4,7%	0,76	3,0%

Referenzen

1. Tan EM: Autoantibodies to nuclear antigens(ANA): Their immunobiology and medicine. *Advances in Immunology* **33**: 167-239, 1982.
2. Tan EM, et al.: The 1982 Revised Criteria for the Classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis and Rheumatism* **25**: 1271-1277, 1982.
3. Yasuma M, et al.: Clinical Significance of IgG Sm Antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatology* **17**: 469, 1990.
4. Miyachi K and Tan EM: Antibodies reacting with ribosomal ribonucleoproteins in connective tissue disease. *Arthritis and Rheumatism* **22**: 87, 1979.
5. Elkon KB, et al.: Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins. *J Exp Med* **162**: 459, 1985.
6. Bonfa E and Elkon KB: Clinical and serologic associations of the antiribosomal P protein antibody. *Arthritis and Rheumatism* **29**: 981, 1986.
7. Bonfa E, et al.: Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med* **317**: 265, 1987.
8. Arnett FC, et al.: Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus: Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis and Rheumatism* **39**: 1833-1839, 1996.
9. Isshi K and Hirohata S: Association of anti-ribosomal P protein antibodies with neuropsychotic systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism* **39**: 1483-1490, 1996.
10. Elkon KB, et al.: Identification and chemical synthesis of a ribosomal protein antigenic determinant in systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci* **83**: 7419-7423, 1986.
11. Yoshio T, et al.: Quantitation of antiribosomal P₀ protein antibodies by ELISA with recombinant P₀ fusion protein and their association with central nervous system disease in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatology* **22**: 1681-1687, 1995.
12. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2007, Fifth Edition

Hersteller:

INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
United States of America

Autorisierter Repräsentant:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Germany
Tel.: +49-6894-581020
Fax.: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

Technical Service
628600DEU

888-545-9495
August 2009
Revision 8

