



CENP-A ELISA

REF 25024

Hintergrund

Anti-Zentromer AAK (ACA) treten in 20-50% der Patienten mit Systemsklerose (SSc) sowie insbesondere in Patienten mit dem CREST Syndrom (*Calcinosis, Raynaud-Syndrom, Oesophageale Dysfunktion, Sklerodaktylie, und Teleangi-ektasie*) auf. Die genaue Prävalenz ist abhängig vom Detektionssystem und von der Selektion der Patientengruppe. Ferner findet man ACA auch bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE), primär biliärer Zirrhose (PBC) und rheumatoider Arthritis (RA), jedoch mit geringerer Frequenz. Der CENP-A ELISA ist der erste Assay für die Bestimmung von ACA, der eine hochspezifische Peptidsequenz (patentiert) aus dem N-terminalen Bereich des CENP-A Proteins nutzt und somit eine signifikant erhöhte Spezifität als andere im Markt erhältliche Zentromer-Assays erreicht.

Verwendungszweck

Der CENP-A ELISA ist zur semi-quantitativen Detektion von anti-CENP-A Antikörpern bestimmt und trägt somit zur Diagnostik des CREST Syndroms und der SSc bei. Da Patienten mit ACA meist einen milderen Krankheitsverlauf aufweisen, haben ACA möglicherweise einen prognostischen Wert.

Generelle Merkmale

- Synthetisches CENP-A Antigen
- Erheblich gesteigerte Spezifität (vgl. zu CENP-B)
- CE gekennzeichnet
- Anwenderfreundlich
- Farbcodierte Reagenzien
- Gebrauchsfertige Reagenzien (Ausnahme Waschpuffer)
- Abbrechbare Mikrotiterstreifen

Technische Information

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

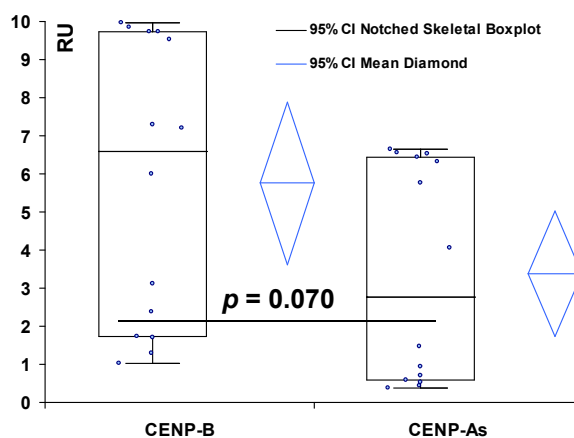


Abbildung 1

Vergleichende Boxplot-Analyse. Seren von SLE Patienten und anti-Zentromer Antikörper (ACA) identifiziert durch indirekte Immunfluoreszenz wurden auf ACA im ELISA mit rekombinantem CENP-B und syntetischem CENP-A getestet. Signifikant geringere Reaktivität wurde mit dem CENP-A Antigen gefunden, was die höhere Spezifität demonstriert.



Tabelle 1

Prävalenz von anti-CENP-A Antikörpern in SSc und Kontrollgruppen

	n	Anzahl (%) > 1,0 RU	Anzahl (%) > 1,5 RU	MW RU	MW RU	Min RU	Max RU
SSc	334	141 (42,2)	112 (33,5)	2,51	0,81	0,0	12,7
Kontrollen*	791	105 (13,2)	25 (3,1)	0,63	0,55	0,0	7,5
SLE	214	38 (17,8)	9 (4,2)	0,69	0,55	0,1	7,1
RA	40	8 (15,7)	3 (5,9%)	0,54	0,48	0,1	1,2
SjS	44	4 (10)	0 (0)	0,69	0,64	0,2	1,6
MCTD	18	8 (18,2)	2 (4,5)	0,74	0,69	0,2	1,4
ÜS	16	17 (39,5%)	5 (11,6)	0,37	0,29	0,1	1,0
PM	43	5 (11,1)	0 (0,0)	0,93	0,85	0,2	1,9
DM	23	2 (8,7)	1 (4,3)	0,72	0,57	0,2	3,1
PBC	54	0 (0,0)	0 (0,0)	0,72	0,59	0,2	2,0
WG	3	4 (2,3)	1 (0,6)	0,21	0,20	0,1	0,3
Andere	80	5 (6,3%)	3/80 (4,6%)	0,44	0,22	0,1	7,5
CFS	36	4 (11,1%)	0/36 (0%)	0,80	0,76	0,5	1,2
CD	48	9 (18,8%)	0/48 (0,0)	0,73	0,68	0,0	1,3
GS	175	4 / (2,3%)	1/175 (0,6%)	0,49	0,46	0,1	2,8

SSc = Systemisklerose, SLE = Systemischer Lupus erythematoses, RA = rheumatoide Arthritis, SjS = Sjögren Syndrom, MCTD = Mischkollagenose, ÜS = Überlappungssyndrome, PM = Polymyositis, DM = Dermatomyositis, PBC = Primär Billäre Zirrhose, WG = Wegener Granulomatose, CFS = „chronic fatigue syndrome“, CD = Crohn's disease, GS = Gesunde Spender

* alle Kontrollen zusammengefasst

n = 99, kappa = 0.73		IIF		Total
CENP-A ELISA	pos	neg		
pos	19	6	25	
neg	4	70	74	
Total	23	76	99	

n = 265, kappa = 0.86		CENP-B ELISA		Total
CENP-A ELISA	pos	neg		
pos	48	8	56	
neg	4	205	209	
Total	52	213	265	

n = 100, kappa = 0.81		LIA (CENP-B)		Total
CENP-A ELISA	pos	neg		
pos	20	5	25	
neg	2	73	75	
Total	22	78	100	

IIF = indirect immunofluorescence; LIA = line immunoassay

Abbildung 2

Vergleich des CENP-A ELISAs mit anderen Methoden. Die Ergebnisse des CENP-A ELISAs wurden mit den Ergebnissen der indirekten Immunfluoreszenz, eines CENP-B ELISAs und eines Line Immunoassays qualitativ verglichen. Gemäß der kappa Methode wurden gute bis sehr gute Korrelationen bestimmt.

Leistungsmerkmale

- Verbesserte Differenzierung zwischen SSc Patienten und Kontrollen (hohe Spezifität)
- Exzellente "lot to lot" Korrelation $R^2 > 0,95$
- Geringe Intra- und Inter-Assay Variationen $VK\% < 10$
- Exzellente Linearität über den gesamten Messbereich

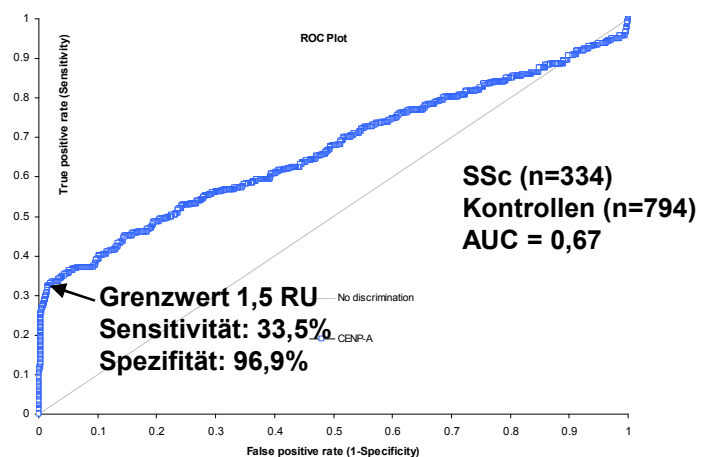


Abbildung 3

Receiver operating characteristics (ROC) Analyse des CENP-A ELISA. Die Ergebnisse von 334 Patienten mit Systemisklerose und 794 Kontrollen wurden in der ROC Analyse untersucht. Die ROC Kurve zeigt eine gute Differenzierung zwischen SSc Patienten und den Kontrollen (Area under the curve AUC = 0,67; Sensitivität 33,5% und Spezifität 96,9%)

Literatur

1. Tan EM: **Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology.** *Adv Immunol* 1989, **44**:93-151.
2. Fritzler MJ, Kinsella TD: **The CREST syndrome: a distinct serologic entity with anticentromere antibodies.** *Am J Med* 1980, **69**:520-526.
3. Earnshaw WC, Machlin PS, Bordwell BJ, Rothfield NF, Cleveland DW: **Analysis of anticentromere autoantibodies using cloned autoantigen CENP-B.** *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987, **84**:4979-4983.
4. Mahler M, Rajmakers R, Fritzler MJ: **Challenges and Controversies in Autoantibodies Associated with Systemic Rheumatic Diseases.** *Current Rheumatology Reviews* 2007, **3**:67-78.
5. Mahler M, Schulte-Pelkum J, van Liempt M, Wither JE, Fooke M, Fritzler MJ: **Anti-Cenp-A and Cenp-B Antibodies in SLE.** *7th International Congress on Autoimmunity, Ljubljana* 2010, Abstract 788.

2011-05