

Evaluation der NOVA Lite HEp-2-Kits ohne Aktin als Ersatz der NOVA Lite HEp-2-Objektträger mit Aktin bezüglich des Sklerodermie-Screenings

Lisa Egli, BMA 20-23

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Kantonsspital Aarau AG, Institut für Labormedizin, Klinische Immunologie

1. Zusammenfassung

Da die Firma Inova Diagnostics (Inova) die Produktion der NOVA Lite HEp-2-Objektträger (OT) mit Aktin einstellte, wurden die NOVA Lite HEp-2-Kits ohne Aktin als Ersatz für das Sklerodermie-Screening evaluiert. Dazu wurden Seren mit Sklerodermie spezifischen Mustern in Parallelläufen mittels indirekter Immunfluoreszenz (IIF) miteinander verglichen. Proben mit einem nukleolären Muster und niedrigem Titer waren teilweise schlechter erkennbar als auf den OT mit Aktin. Auch Scl-70-Muster waren nicht mehr so deutlich erkennbar. Bezüglich des Titervergleichs wiesen 17 % der Proben eine Titerabweichung grösser als die akzeptierte +/- 1 Titerstufe auf. Die Resultate zeigten, dass die HEp-2-OT ohne Aktin als Ersatz der HEp-2-OT mit Aktin verwendet werden können.

2. Einleitung

Die Sklerodermie ist eine Autoimmunerkrankung, bei welcher vermehrt Kollagen produziert wird. Dies führt zu der krankheitstypischen Fibrose und damit zu einer Verdickung und Verhärtung (Sklerose) der Haut und der inneren Organe. [1] Bei der Sklerodermie lassen sich verschiedene Autoantikörper (AAK) nachweisen. [2] Eine Methode für den Nachweis dieser AAK ist die IIF. Dabei wird ein fluoreszierender Immunkomplex unter einem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht. [3] Auf HEp-2-Zellen zeigen Sklerodermie spezifische AAK die drei Fluoreszenzmuster Zentromer (Abb. 1), Scl-70 (Abb. 2) und nukleolär (Abb. 3). [4]

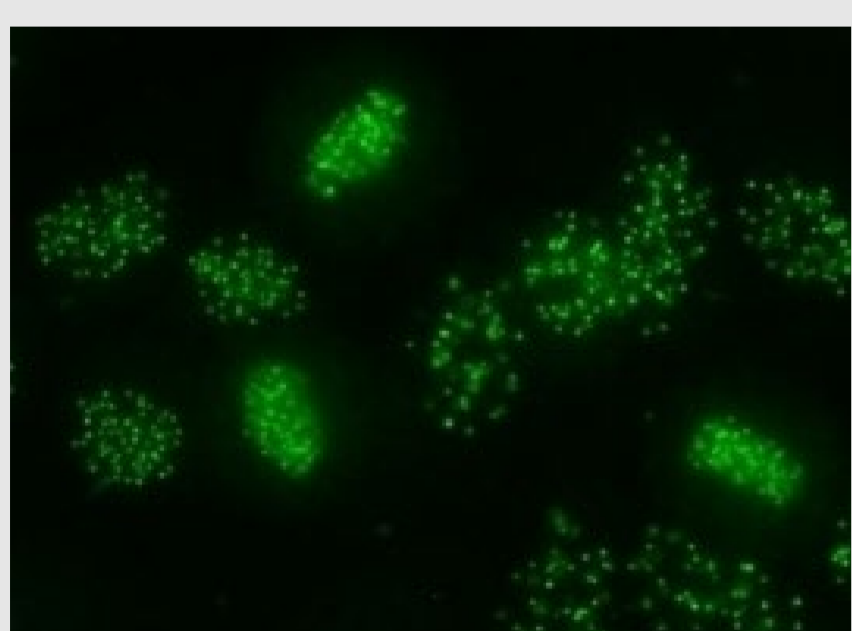


Abb. 1: Zentromer-Muster [4]

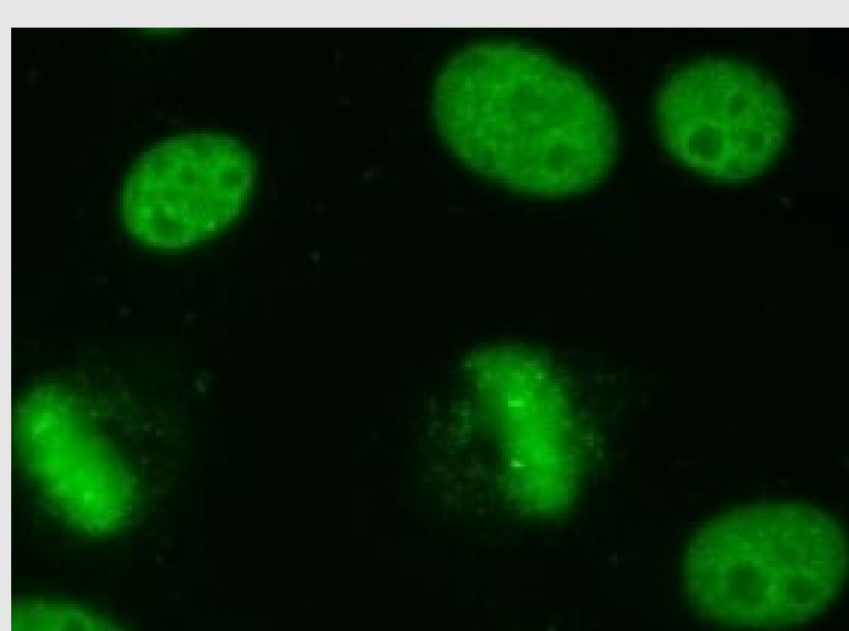


Abb. 2: Scl-70-Muster [4]

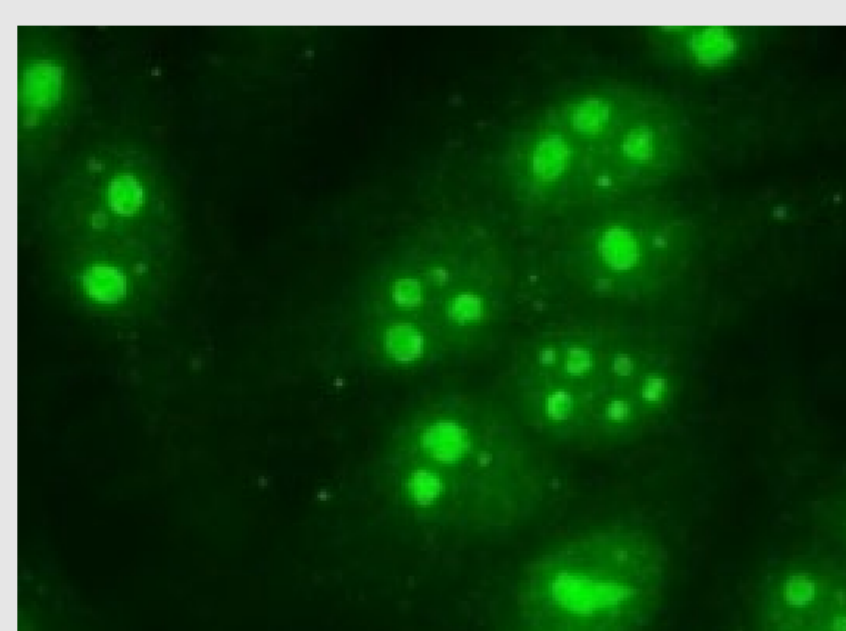


Abb. 3: nukleoläres Muster [4]

3. Ziele und Fragestellungen

Trotz des Produktwechsels soll sichergestellt werden, dass Patienten und Patientinnen weiterhin korrekt auf eine Sklerodermie gescreent werden. Die neuen HEp-2-OT ohne Aktin sollen daher bezüglich des Fluoreszenzmusters und des Titers mit den HEp-2-OT mit Aktin vergleichbar sein:

Sind die zwei Methoden qualitativ (Fluoreszenzmuster) sowie auch semi-quantitativ (Titer) vergleichbar?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Probenmaterial: Es wurden 23 Seren verwendet, welche ein Sklerodermie spezifisches Fluoreszenzmuster auswiesen.

IIF: Der AAK aus dem Patientenserum binden an das passende Antigen der HEp-2-Zelle. Nach einem Wachsschritt bindet ein fluoreszenzmarkierter Sekundärantikörper an den AAK. Mittels Fluoreszenzmikroskop können dann die entstandenen Muster protokolliert werden. [5]

AP16 IF Blot Systems: Mit diesem Geräte des italienischen Herstellers «das» wurde von jedem Serum eine IIF mit verschiedenen Verdünnungen hergestellt. Als Titer galt die letzte Verdünnungsstufe, welche noch eine deutliche Fluoreszenz aufwies. Durch Parallelläufe auf beiden OT konnten die Fluoreszenzmuster und die Titer miteinander verglichen werden.

Resultate: Diese wurden in einer Kreuztabelle dargestellt.

5. Ergebnisse

Tabelle 1: Ergebnisse der Fluoreszenzmuster-Bestimmung, vertikal die Resultate ohne Aktin und horizontal die Resultate mit Aktin (Egli, 2023)

		ohne Aktin				Total Proben:
		Scl-70	Zentromer	nukleolär	fein gesprenkelt	
mit Aktin	Scl-70	7	0	0	0	7
	Zentromer	0	6	0	0	6
	nukleolär	0	0	8	0	8
	fein gesprenkelt	0	0	0	2	2
	Total Proben:	7	6	8	2	23

Tabelle 2: Ergebnisse des Titervergleichs, vertikal die Resultate ohne Aktin und horizontal die Resultate mit Aktin (Egli, 2023)

		ohne Aktin								Total Proben:
		1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	
mit Aktin	1:80	1	2	0	0	0	0	0	0	3
	1:160	1	2	0	0	0	0	0	0	5
	1:320	0	0	3	4	0	0	0	0	7
	1:640	0	0	1	1	2	0	0	0	4
	1:1280	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1:2560	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	1:5120	0	0	0	0	0	2	0	0	2
Total Proben:	2	4	6	5	2	3	1	0	23	

6. Diskussion

Fluoreszenzmuster: Die Tabelle 1 zeigt, dass alle 23 Proben auf beiden OT gleich beurteilt wurden. Diese Resultate sind grün hinterlegt. Somit wurden 100 % der Proben auf beiden OT identisch beurteilt. Proben mit einem Scl-70-Muster und solche mit einem nukleolären Muster und gleichzeitig niedrigen Titer waren auf den HEp-2-OT ohne Aktin schlechter erkennbar. Mit Bestätigungstests könnten unsichere Resultate künftig bestätigt werden.

Titer: In der Tabelle 2 zeigt der grüne Bereich die akzeptierte Titerabweichung von +/- 1 Titerstufe auf, wobei die Ansätze auf den HEp-2-OT mit Aktin als Referenz dienen. 12 Proben wurden auf beiden OT mit demselben Titer beurteilt. Vier Proben, also 17 % des Probenkollektivs, lagen ausserhalb des grauen Bereiches, wiesen also eine Titerabweichung von grösser +/- 1 Titerstufe auf. Die Tabelle 2 zeigt auch, dass Titer auf den HEp-2-OT ohne Aktin tendenziell niedriger beurteilt wurden.

Durch die gute Vergleichbarkeit zwischen den HEp-2-OT mit und ohne Aktin können die HEp-2-OT ohne Aktin als Ersatz verwendet werden.

Referenzen

- [1] Schinke, S., & Riemekasten, G. (2019). Systemische Sklerose. Der Internist, 60(12), 1251–1269. <https://doi.org/10.1007/s00108-019-00699-7>
- [2] Conrad, K., Schössler, W., & Hiepe, F. (2012). Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen (4. Aufl.). Pabst Science Publishers.
- [3] Psychyrembel Online | Hep-2-Zellen. (2019). <https://www-psychyrembel-de.medi.swissconsortium.ch/Hep-2-Zellen/A0VTK/doc/>
- [4] ICAP. (2023). ANA Patterns. <https://www.anapatterns.org/index.php>
- [5] Packungsbeileger ANA (Hep-2 Actin) Slides, 2017

Abbildungen

- Abb. 1 ICAP. (2023). ANA Patterns. <https://www.anapatterns.org/index.php>
- Abb. 2 ICAP. (2023). ANA Patterns. <https://www.anapatterns.org/index.php>
- Abb. 3 ICAP. (2023). ANA Patterns. <https://www.anapatterns.org/index.php>