

Methodenvergleich von kommerziellen ELISA-Kits zum Nachweis von Autoantikörpern bei Auto-immun-bullösen Dermatosen der Hersteller MBL und Euroimmun

Fuchs Mirjam, BMA 18-21 B

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Autoimmun- und Allergiediagnostik, Zentrum für Labormedizin, Inselspital

1. Zusammenfassung

Ziel dieser Diplomarbeit ist der Vergleich von vier ELISA-Kits der Hersteller MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO. LTD. (MBL) und Euroimmun. Es wurden verschiedene Antikörper (Ak) ausgetestet, welche bei Autoimmun-bullösen Dermatosen vorkommen. Das Probenkollektiv bestand aus 66 Proben mit 9 bis 24 positiven Werten. Die Messungen mit allen Kits wurden auf dem Dynex Dsx ELISA-Roboter durchgeführt. Die Resultate wurden untereinander als auch dem Goldstandard verglichen. Daraus wurde die Sensitivität und Spezifität berechnet. Ausserdem wurde die Intra- und Inter-Assay-Präzision der Kits von Euroimmun bestimmt. Die Sensitivität ist jeweils bei MBL höher, die Spezifität ist bei Euroimmun höher. Die Variationskoeffizienten (VK) bei Euroimmun liegen zwischen 3 und 16%. Die Resultate sprechen für einen Wechsel auf Euroimmun da diese die bessere Übereinstimmung mit dem Goldstandard zeigen. Ein weiterer Schritt könnte sein, die Werte mit der Klinik zu vergleichen.

2. Einleitung

Ausgangslage:

Im Zentrum für Labormedizin (ZLM) werden in der Routine die ELISA-Kits von MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO. LTD. (MBL) verwendet.

Die Krankheiten: Bullöses Pemphigoid und Pemphigus

Bei den Auto-immun-bullösen Dermatosen handelt es sich um Erkrankungen bei welchen Autoantikörper gegen Haut und/oder Schleimhaut zur Spalt- und Blasenbildung der Haut führen. Die häufigste davon ist das Bullöse Pemphigoid (BP), hier sind die Hauptantigene BP180 und BP230, diese sind Teil der Basalmembran (BM). Seltener als das BP ist der Pemphigus, hier richten sich die Ak gegen Bestandteile der Desmosomen, Desmoglein (Dsg) 1 und 3 im Stratum spinosum. Therapiert werden beide Erkrankungen symptomatisch sowie mit Immunsuppressiva und Glucocorticoiden. [1]

Die Methoden: ELISA und IIF

In meiner Diplomarbeit habe ich mit Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) und der indirekten Immunfluoreszenz (IIF) gearbeitet. In diesem Fall weisen beide Methoden Antikörper (Ak) im Serum nach. Ein positives Resultat ist rechts zu sehen.

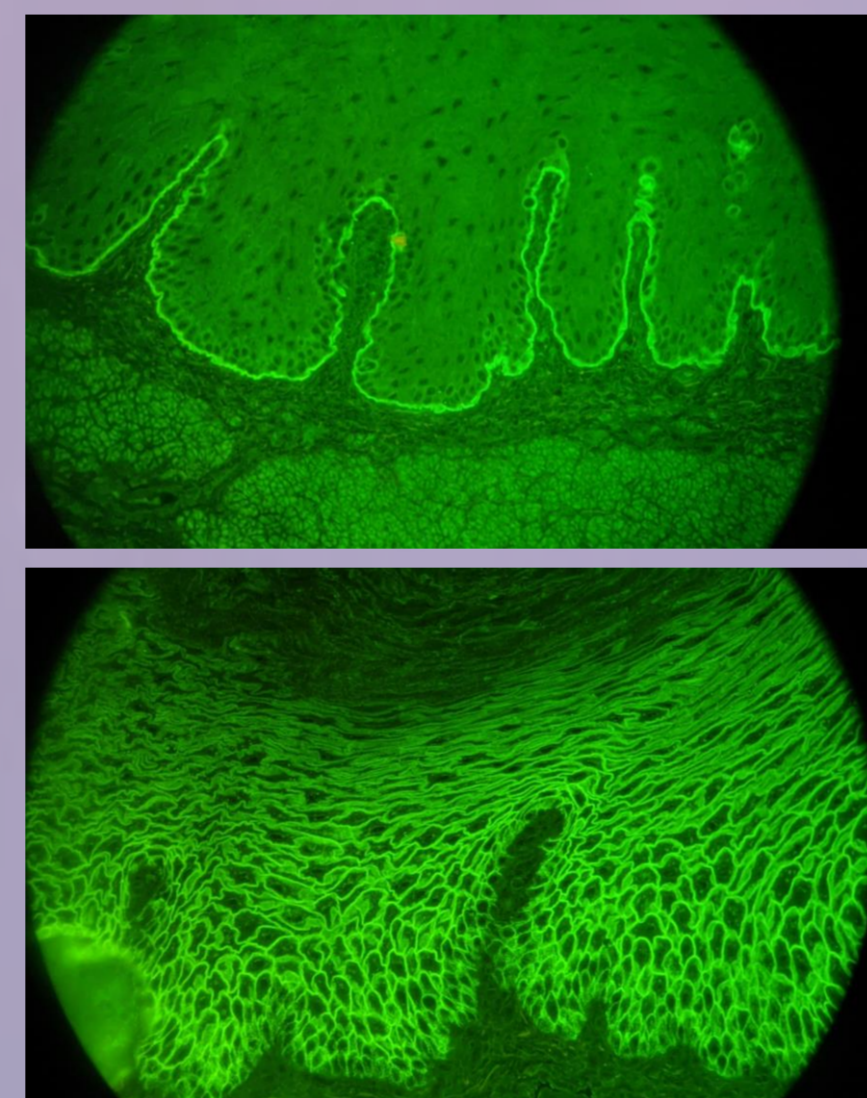


Abb.1 positive IIF, Basalmembran oben, Stratum spinosum unten (eigene Grafik)

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel: Einführung des ELISA-Test-Kit von Euroimmun

Können die Testkits von Euroimmun validiert und in die Routine eingeführt werden?

1. Ist die Intra- und Inter-Assay-Präzision der Euroimmun-Kits <5%?
2. Sind die Resultate mit denen von MBL vergleichbar?
3. Wie hoch sind Sensitivität und Spezifität der Tests? Welcher ELISA passt besser zur IIF?

Referenzen

[1] Blasenbildende Autoimmundermatosen, amboss.com

Abbildungen + Tabellen

Abb.1 positive IIF, Basalmembran oben, Stratum spinosum unten, Aufnahme. 03/2021 (eigene Grafik)

Abb.2 VKs Intra- und Inter-Assays, erstellt 09/2021 (eigene Grafik)

Abb.3 Passing-Pablok-Regression zusammengefasst, erstellt 09/2021 (eigene Grafik)

Tabelle 1 Statistische Werte aus Vergleich mit IIF, erstellt 06/2021 (eigene Tabelle)

4. Material, Methodik, Vorgehen

Die Messungen wurden alle auf dem Dynex DSX durchgeführt. Das Probenkollektiv wurde anhand der Resultate bei MBL ausgewählt und bestand aus 66 Proben mit 9 bis 24 positiven Werten. Die Messungen mit MBL liefen zum grössten Teil in der Routine. Bei den Kits beider Hersteller werden Kalibratoren und Kontrollen mitgeführt. Für die Intra- und Inter-Assays wurden pro Analyt 2 Proben unterschiedlichen Levels benutzt. Die Vergleichsmessungen wurden mit Passing-Pablok analysiert. Für den Vergleich mit der IIF wurden BP180+B230 mit BM auf Affenösophagus und Dsg1+3 mit dem Resultat der Desmosomen im Stratum spinosum verglichen. Daraus wurde die Übereinstimmung und die statistischen Werte berechnet.

5. Ergebnisse/ Resultate

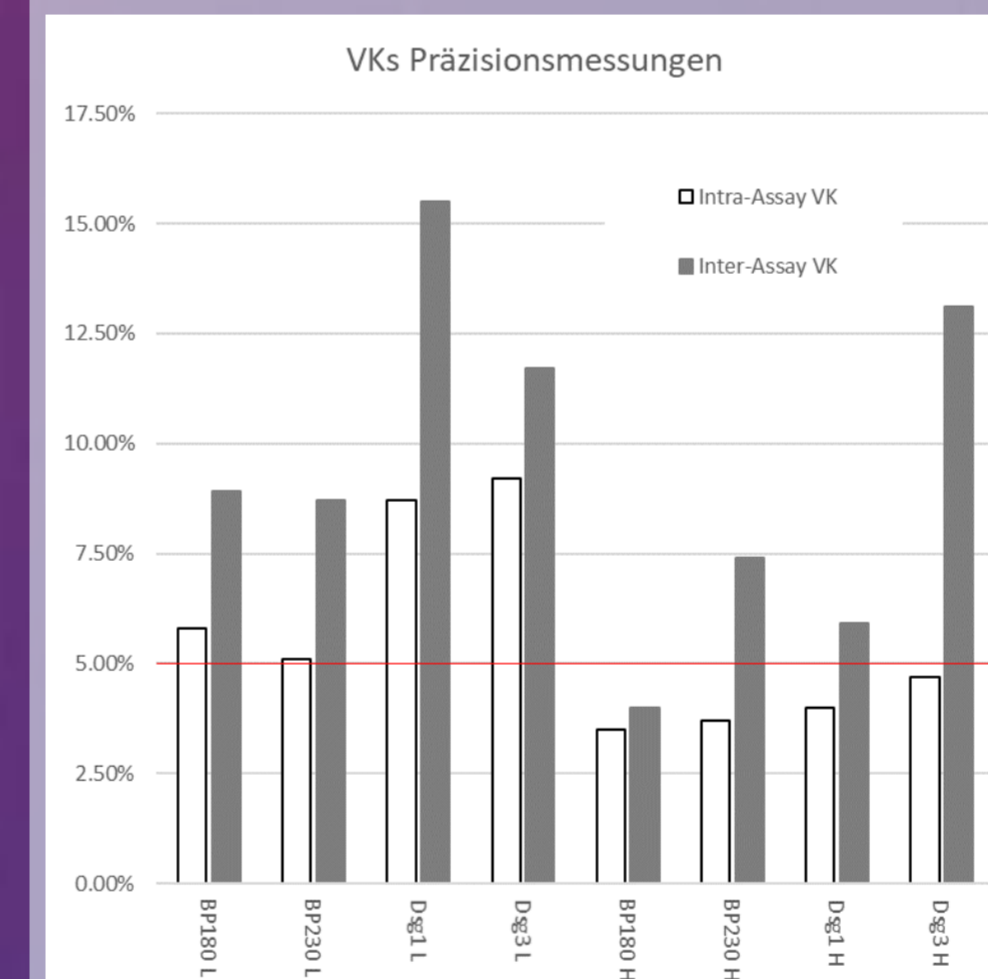


Abb.2 VKs Intra- und Inter-Assays (eigene Grafik)

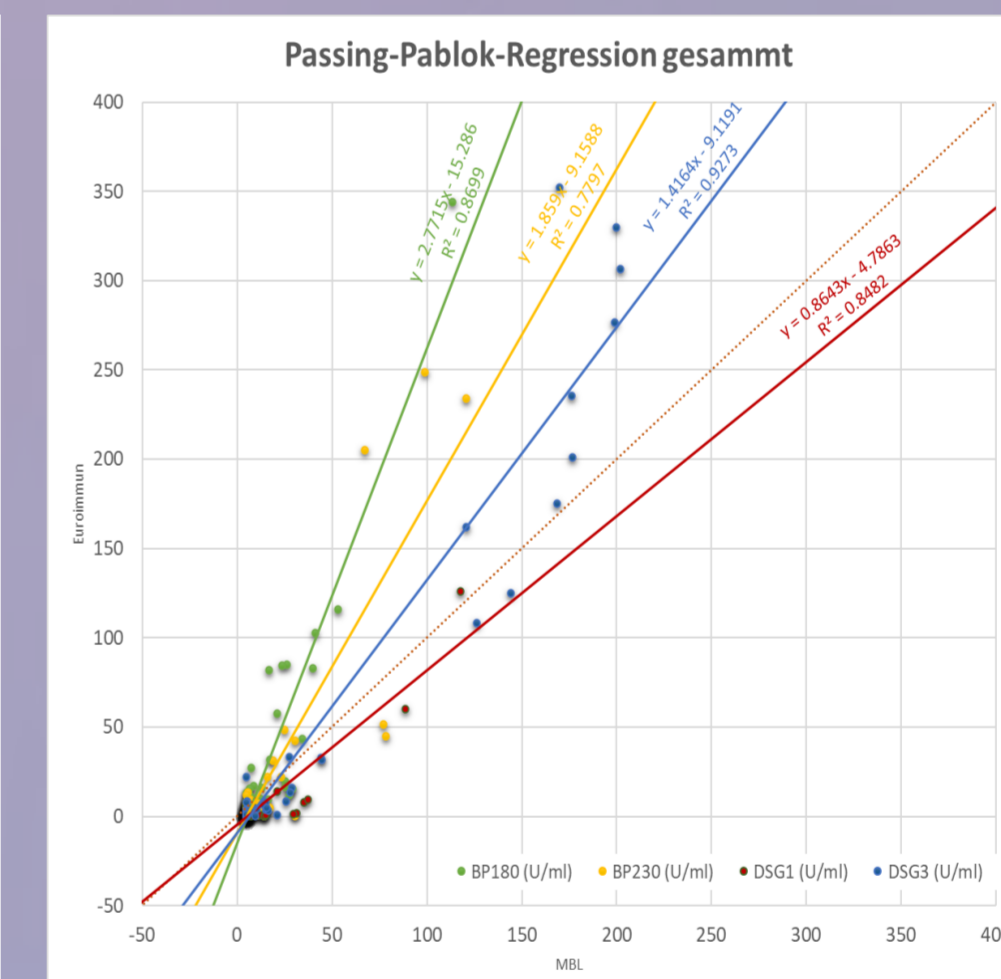


Abb.3 Passing-Pablok-Regression zusammengefasst (eigene Grafik)

BP180 + BP230 / Basalmembran		
	MBL	Euroimmun
Sensitivität	72%	50%
Spezifität	65%	88%
PPW	42%	56%
NPW	89%	84%
Richtige	67%	77%

Desmoglein 1+3 / Stratum Spinosum		
	MBL	Euroimmun
Sensitivität	93%	80%
Spezifität	76%	96%
PPW	54%	86%
NPW	98%	94%
Richtige	80%	92%

Tabelle 1 Statistische Werte aus Vergleich mit IIF (eigene Tabelle)

Die VKs der Interassays sind höher als diejenigen der Intraassays. In 10 Fällen liegt der VK über 5%.

Die Werte variieren stark. Die Steigung ist zwischen 0.8 und 2.7. Die Korrelationskoeffizienten sind von 0.78 bis 0.92.

MBL ist sensitiver, Euroimmun ist spezifischer und passt gesamt besser zur IIF.

6. Diskussion / Schlussfolgerung

Die Präzision ist nicht unter 5%, was jedoch bei immunologischen Methoden zu erwarten ist. Die VKs sprechen nicht gegen die Methode. Die Vergleichsmessungen ergaben teils sehr unterschiedliche Resultate. Gründe dafür könnten sein, dass unterschiedliche Teile der Antigene verwendet werden und die Referenzbereiche anders sind. Eine Schwierigkeit war, dass fast keine klinische Angaben bekannt waren, und so der Therapiestatus unbekannt ist. Möglicherweise reagieren die Methoden verschieden schnell auf die Therapie. Dies fällt beim Vergleich mit der IIF auf.

Fazit: Die Resultate sprechen für einen Wechsel auf Euroimmun. In der Umstellungsphase müssen Parallelmessungen durchgeführt werden, damit der Verlauf beurteilbar ist.