



Anti-M2-3E-ELISA (IgG)



- **Quantitatives serologisches Testsystem zur unterstützenden Diagnostik der Primär-biliären Cholangitis (PBC)**
- **Höchste Sensitivität und Spezifität durch die Kombination nativer und rekombinanter M2-Proteine**
- **Monospezifisches Testsystem mit hoher diagnostischer Aussagekraft**

Technische Daten

Antigen	Gemisch aus boviner PDH und rekombinantem Fusionsprotein BPO, welches die immunogenen Domänen der E2-Untereinheiten der BCOADH, PDH und OGDH umfasst (Expressionssystem: <i>E. coli</i>)
Kalibrierung	Quantitativ, in relativen Einheiten pro Milliliter (RE/ml) bei einem Cut-off von 20 RE/ml < 20 RE/ml: negativ ≥ 20 RE/ml: positiv
Probenverdünnung	Serum oder Plasma, 1:101 in Probenpuffer
Reagenzien	Gebrauchsfertig, Ausnahme: Waschpuffer (10x)
Testablauf	30 min / 30 min / 15 min, Raumtemperatur, voll automatisierbar
Messung	450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
Packungsformat	96 einzeln abbrechbare Reagenzgefäße inkl. aller Reagenzien
Bestell-Nr.	EA 1622-9601 G

Klinische Bedeutung

Die Primär-biliäre Cholangitis (PBC, früher Primär-biliäre Leberzirrhose) ist eine immunmedierte, chronisch-entzündliche, cholestatische Lebererkrankung. Sie tritt vorwiegend bei Frauen (> 90%) im Alter zwischen 40 und 60 Jahren auf. Schätzungsweise beträgt die Inzidenz der PBC weltweit 4–31 Fälle/Million im Jahr. PBC ist durch eine Infiltration der kleinen intra-hepatischen Gallengänge (Canaliculi biliferi) mit Lymphozyten und eine Anstauung der Gallenflüssigkeit (Cholestase) gekennzeichnet. Die Erkrankung zeichnet sich anfänglich durch unspezifische, stark variierende Symptome wie beispielsweise Juckreiz (Pruritus), Erschöpfung und Schmerzen im rechten oberen Bauchbereich aus. Nach einem unbestimmten Zeitraum entwickelt sich ein Ikterus. Die Diagnose einer PBC umfasst Leberfunktionstests (Nachweis von Alkalinphosphatase [ALP], Aspartattransaminase [AST] und Alanintransaminase [ALT]), die Bestimmung von Serumlipiden, AMA- und ANA-Suchtests sowie die Abgrenzung gegenüber anderen chronisch-entzündlichen Lebererkrankungen wie chronische Virushepatitis, Autoimmunhepatitis oder primär-sklerosierende Cholangitis.

Stellenwert

Der Nachweis antimitochondrialer Antikörper (AMA) ist bei der Diagnose der PBC von großer Bedeutung. Bislang wurden vier von neun verschiedenen AMA-Typen (Anti-M2, -M4, -M8 und -M9) im Serum von PBC-Patienten nachgewiesen. Anti-M2-Antikörper stellen die diagnostischen Marker mit der höchsten Sensitivität und Spezifität dar. Sie kommen bei bis zu 95% aller PBC-Patienten vor. Ein positiver Anti-M2-Befund mit hohem Titer ist ein wichtiger Hinweis bei der Diagnose einer PBC und hat einen hohen positiven prädiktiven Wert für die Entstehung einer PBC bei Patienten ohne ausgeprägte Leberfunktionsstörungen oder Symptome cholestatischer Erkrankungen. M2-Antikörper sind ebenfalls bei anderen, gleichzeitig mit PBC auftretenden Krankheiten oder Mischformen nachweisbar wie z. B. Autoimmunhepatitis und immunpathologische Erkrankungen, die nicht vorrangig die Leber betreffen (Progressive Systemisklerose, Sjögren-Syndrom und Systemischer Lupus erythematodes).



Linearität

Zur Bestimmung der Linearität des Anti-M2-3E-ELISA (IgG) wurden mindestens 4 serielle Verdünnungen verschiedener Patientenproben durchgeführt. Der Anti-M2-3E-ELISA (IgG) ist mindestens im untersuchten Konzentrationsbereich (3 RE/ml bis 199 RE/ml) linear.

Referenzbereich

Bei 400 Seren gesund erscheinender Blutspender zwischen 19 und 68 Jahren (149 Frauen, 251 Männer) wurden die Spiegel der Anti-M2-3E-Antikörper (IgG) mit dem EUROIMMUN Anti-M2-3E-ELISA (IgG) bestimmt. Die mittlere Konzentration der Antikörper gegen M2 betrug 3,9 RE/ml (\pm 3,2 RE/ml Standardabweichung) und umfasste einen Bereich von 0,2 und 15,9 RE/ml. Bei einem Cut-off von 20 RE/ml war kein Blutspender anti-M2-positiv.

Blutspender (n = 400)			
Perzentil	95,0%	98,0%	99,0%
Cut-off (RE/ml)	10,1	12,6	13,5

Reproduzierbarkeit

Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten mit 4 Proben ermittelt. Den Intra-Assay-Variationskoeffizienten liegen jeweils 20 Bestimmungen, den Inter-Assay-Variationskoeffizienten jeweils 4 Bestimmungen in 6 verschiedenen Testansätzen zugrunde.

Serum	Intra-Assay-Variation, n = 20		Inter-Assay-Variation, n = 4 x 6	
	Mittelwert (RE/ml)	VK (%)	Mittelwert (RE/ml)	VK (%)
1	45	3,1	39	6,5
2	70	2,3	67	8,6
3	101	2,2	103	6,0
4	144	1,6	158	3,0

Spezifität und Sensitivität

Insgesamt wurden 1395 klinisch charakterisierte Proben mit dem EUROIMMUN Anti-M2-3E-ELISA (IgG) untersucht (251 von PBC-Patienten, 15 von Patienten mit PBC/AIH-Überlappungssyndrom und 1129 aus dem Kontrollkollektiv). Die Sensitivität des ELISA für PBC betrug 93,2%, bei einer Spezifität von 97,9%. AMA sind auch in anderen mit PBC überlappenden Krankheiten nachweisbar, wie z. B. Autoimmunhepatitis, Systemische Sklerose, Systemischer Lupus erythematodes und Sjögren-Syndrom.

Kollektiv	Anti-M2-3E-ELISA (IgG)	
	n	positiv (%)
PBC	251	233 (92,8%)
PBC/AIH-Überlappungssyndrom	15	15 (100,0%)
Sensitivität für PBC	266	248 (93,2%)
Autoimmunhepatitis	131	6 (4,6%)
Virushepatitis	239	0 (0%)
Primäre Sklerosierende Cholangitis	19	0 (0%)
Systemischer Lupus erythematodes	100	8 (8,0%)
Sjögren-Syndrom	120	8 (6,7%)
Rheumatoide Arthritis	120	2 (1,7%)
Blutspender ohne Symptome	400	0 (0,0%)
Spezifität für PBC	1129	24 (97,9%)

In einer ROC-Analyse der Ergebnisse (AUC: 0,966) von 170 Patientenproben mit PBC und 989 Kontrollproben wurden folgende Werte ermittelt:

Cut-off	Spezifität	Sensitivität
13,7 RE/ml	95%	94%
19,6 RE/ml	98%	93%
26,5 RE/ml	99%	92%

Literatur

1. Bowlus et al. **The diagnosis of primary biliary cirrhosis.** Autoimmun Rev. 2014;13(4-5):441-444.
2. Dähnrich et al. **New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies.** Clin Chem. 2009;55(5): 978-985.
3. European Association for the Study of the Liver. **EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis.** J Hepatol. 2017;67:145-172.
4. Huang. **Recent advances in the diagnosis and treatment of primary biliary cholangitis.** World J Hepatol. 2016;8(33):1419-1441.