

# Vergleichende Untersuchungen zur diagnostischen Effizienz handelsüblicher ELISA-Assays und eines Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztests zum Nachweis von anti-ds-DNS-Antikörpern

Comparison of diagnostic efficiency of different ELISA assays and a Crithidia luciliae immunofluorescence test for the detection of anti-ds-DNA antibodies

R. Wigand, R. Götschalk, Th. Pospiech, A. Falkenbach, J.P. Kaltwasser, D. Hoelzer

## Zusammenfassung

Der Nachweis von anti-Doppelstrang-DNS-Antikörpern (dsDNS-Ak) stellt bei klinischer Einordnung und Beachtung der ARA-Kriterien ein hervorragendes Instrument in der Hand des Klinikers bei der Diagnostik des Systemischen Lupus erythematoses (SLE) dar. In dieser Arbeit wurden drei handelsübliche ELISA-Assays und ein Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztest im Hinblick auf Sensitivität, Spezifität und diagnostische Effizienz untersucht. Das untersuchte Kollektiv umfasste 349 Probanden, 43 SLE, 49 Rheumatoide Arthritis-, 18 Psoriasis Arthritis-, 16 Arthrose- und 9 Sklerodermie-Patienten sowie 126 Blutspender und 88 gesunde Probanden.

Die ELISA-Assays zeigten untereinander hinsichtlich der Ergebnisse am Gesamtkollektiv eine hohe Korrelation (0,99) im Rangverfahren nach Spearman, die Übereinstimmung mit dem Immunfluoreszenztest betrug zwischen 92,4 % und 88,2 %. Für das Gesamtkollektiv errechnete sich bei einer SLE-Prävalenz von 0,12 bei einer Sensitivität von 0,58–0,83 und einer Spezifität von 0,91–0,99 für alle untersuchten Testsysteme eine diagnostische Effizienz von 0,90–0,94, wobei der Immunfluoreszenztest mit der niedrigsten

Sensitivität jedoch der höchsten Spezifität auch die höchste diagnostische Effizienz nachweisen konnte. Die Differenz der Ergebnisse der standardisierten Testsysteme (WHO, Wo/80) erklärt sich durch die Erfassung von Antikörpern unterschiedlicher Avidität und Klasse, erscheint aber klinisch nicht relevant, solange intraindividuelle Verlaufskontrollen nur innerhalb eines Testsystems erfolgen. Sämtliche getesteten Assays erlauben also eine sichere Bestimmung von dsDNS-Ak, wobei im Einzelfall nur die Kombination mit klinischen Befunden eine exakte Diagnostik sichert.

## Schlüsselwörter

Anti-ds-DNS-Antikörper – ds-DNS-ELISA – Crithidia luciliae – Lupus erythematoses

## Summary

One of the diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus (SLE) according to the American Rheumatism Association is the positive test for anti-ds-DNA-antibodies. We compared the diagnostic efficiency of three commercially available anti-ds-DNA-kits and one Crithidia luciliae immunofluorescence test. 349 sera were tested, 43 deriving from patients suffering from SLE, 49 from rheumatoid arthritis, 18 from psoriatic arthritis, 16 from osteoarthritis, 9 from progressive systemic sclerosis, 126 blood donors and 88 healthy individuals.

The ELISA-assays correlated very well to each other (0.99) in the Spearman's rank correlation test and also corresponded to the immunofluorescence test (88.2 % – 92.4 %). The SLE prevalence in all investigated sera, was 0.12. The sensitivity ranged from

Korrespondenz-Adresse:

Bereich Rheumatologie  
(Leiter: Prof. Dr. J.P. Kaltwasser)  
Medizinische Klinik III  
(Leiter: Prof. Dr. D. Hoelzer)  
Zentrum Innere Medizin  
Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Theodor - Stern - Kai 7  
60590 Frankfurt am Main

0.58–0.83 and the specificity from 0.91–0.99 which results in a diagnostic efficiency of 0.90–0.94 for all assays under investigation. The different results of the standardized kits can be explained by the detection of antibodies of different avidity and class which leads us to the conclusion, that intraindividual follow-ups should be performed using a single diagnostic system. All investigated kits are diagnostically useful but the results have to be clinically evaluated in any case.

### Key words

Anti-ds-DNA-antibodies – ds-DNA-ELISA – Crithidia luciliae – systemic lupus erythematosus

### Einleitung

Der systemische Lupus Erythematoses ist eine Erkrankung, die durch Beteiligung fast sämtlicher Organsysteme in wechselnder Ausprägung gekennzeichnet ist. Die Inzidenz der Krankheit wird, je nach Studie, mit 5–7,6 Neuerkrankten/100000 Einwohner/Jahr angegeben. Für die Gesamtbevölkerung wird eine Prävalenz von ca. 0,5 % angegeben. Die schwarze Bevölkerung ist ca. dreimal häufiger betroffen als die weiße Bevölkerung, Frauen erkranken je nach Studie 5–13-mal häufiger als Männer [25]. Die Krankheit manifestiert sich am häufigsten zwischen dem 20.–35. Lebensjahr [15]. Die Ätiologie ist im wesentlichen unbekannt, eine multifaktorielle Genese wird diskutiert [12]. Die genetische Prädisposition spielt sicherlich eine Rolle [15]. Allgemein liegt der Pathogenese des SLE eine Immunregulation zugrunde, bei welcher eine irreguläre Interaktion von B- und T-Zellen [35] und eine polyklonale B-Zell-Aktivierung [15, 27] zu beobachten ist. Dabei tritt eine große Zahl von Autoantikörpern auf, die gegen verschiedene nukleäre und zytoplasmatische Antigene und Oberflächenstrukturen körpereigener Zellen gerichtet sind. Als Folge hieraus entwickelt sich über die Bildung von Immunkomplexen, der wichtigste pathogenetische Mechanismus des SLE, die Immunvaskulitis. Eine unmittelbare zytotoxische

Wirkung der beim SLE auftretenden Autoantikörper spielt indes wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle [15, 18]. Immunologische Verfahren stellen das derzeit wohl wichtigste Instrument des Kliniklers in der Diagnostik von Kollagenosen dar [3]. Als sensitive, aber wenig spezifische [15] Screeningmethode hat sich der Test auf antinukleäre Antikörper in der Klinik etabliert. Hochaffine Antikörper gegen native, doppelsträngige DNS im Radioimmunoassay oder Crithidia-luciliae-Test sind sehr SLE-spezifisch. Dies gilt nicht in gleichem Maße für niedrig affine anti-dsDNS-Antikörper, wie sie in ELISA-Verfahren mit-erfaßt werden. Relativ selten und vor allem in niedrigen Konzentrationen sind dsDNS-Ak allerdings auch bei anderen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und bei Gesunden nachweisbar [15, 31]. Der hohen Spezifität der dsDNS-Ak wurde unter anderem dadurch Rechnung getragen, daß sie Bestandteil der ARA-Kriterien von 1982 zur Diagnostik des SLE sind [30].

Für die Bestimmung der anti-ds-DNS-Antikörper gibt es auf dem Markt eine Vielzahl von Assays, denen teilweise unterschiedliche Prinzipien zugrunde liegen. Einige von Ihnen werden im folgenden hinsichtlich ihrer Spezifität, Sensitivität, diagnostischer Effizienz und Durchführbarkeit näher dargestellt und miteinander verglichen.

### Patienten und Methoden

Alle untersuchten Patienten befanden sich zum Zeitpunkt dieser Untersuchung in ambulanter und/oder stationärer Behandlung unserer Klinik. Das anhand der ARA-Kriterien überprüfte SLE-Patientenkollektiv (n = 43) wurde zusätzlich zum Zeitpunkt der Blutentnahme nach einem etablierten Schema [13, 23] bezüglich der Krankheitsaktivität eingeteilt. Hiernach hatten 13 Patienten einen aktiven und 30 Patienten einen inaktiven SLE. Die Nicht-SLE-Patientenkollektive umfassten die Diagnosen Psoriasis-Arthropathie (n = 18), Psoriasis sine Arthropathie (n = 7), Arthrose (n = 16), Progressive Systemische Sklerodermie (n = 9) und Rheumatoide Arthritis (n = 49) als wichtigstes und größtes Kollektiv, welches gemäß der ARA-Kriterien [2] nochmals überprüft wurde. Diese Patientenkollektive mit entzündlich-rheumatischen oder zumindest autoimmunologisch getriggerten Erkrankungen, welche nicht dem LE-Formenkreis zugerechnet werden können, dienten als Kontrollkollektive, die keine bzw. nur sehr geringe dsDNS-Ak-Konzentrationen aufweisen sollten. Desweiteren stellten wir zwei verschiedene Kollektive aus gesunden Probanden zusammen. Bei dem ersten handelt es sich um 126 unselektionierte Blutspender-Seren, welche uns freundlicherweise vom Blutspendedienst des DRK in Frankfurt am Main

#### Abkürzungen:

SLE	= Systemischer Lupus Erythematoses
ANA	= Antinukleäre Antikörper
Psor. A.	= Psoriasis Arthropathie
Psor.	= Psoriasis sine Arthropathie
PSS	= Progressive Systemische Sklerodermie
RA	= Rheumatoide Arthritis

überlassen wurden. Aus Datenschutzgründen lagen uns von diesen Seren keinerlei Information bezüglich der rheumatologischen Anamnese vor, weshalb wir zusätzlich ein eigenes Normalkollektiv ( $n = 88$ ) zusammenstellten, welches aus Mitarbeitern der Universitätsklinik Frankfurt am Main sowie deren Verwandten und Bekannten bestand und zuvor postulierte Kriterien [17] erfüllte.

Anti-ds-DNS-Antikörper wurden zum einen mit dem indirekten Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztest, zum anderen mittels dreier kommerzieller ELISA-Testkits bestimmt, die uns von den jeweiligen Herstellern zur Verfügung gestellt wurden.

**ELISA-Pro:** Anti (ds)-DNA diagnostic EIA-Kit, Progen Biotechnik GmbH, Heidelberg; Mikrotiterplatte, anti-IgG-Ak.

**ELISA-Org:** Quantitativer EIA zur Bestimmung von ds-DNA-Antikörpern, Organon Diagnostik und Bioanalytik GmbH, Mainz, im Vertrieb von: Hermann Biermann Diagnostika GmbH, Bad Nauheim; Mikropinplatte, anti-IgG-Ak.

**ELISA-Wal:** ds-DNA ELISA, Walker Diagnostics, im Vertrieb von: Byk Sangtec Diagnostica, Dietzenbach; Mikropinplatte, anti-IgG-Ak und anti-IgM-Ak.

**CrIF:** Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztest zum Nachweis von Antikörpern gegen native, doppelsträngige DNS; Fresenius AG, Bad Homburg.

Die Auswertung erfolgte bei allen drei ELISA-Testkits computergestützt mit dem Kinetic Analyzer und der Softmax-Auswertesoftware der Fa. Milenia (im Vertrieb von Hermann Biermann GmbH Diagnostika, Bad Nauheim).

Die BSC wurde im Westergren-Röhrchen ermittelt, die Bestimmung des C3 erfolgte mit einem Nephelometer (Fa. Behring, Marburg). Die Rheumafaktorbestimmung erfolgte zum einen mittels Latexagglutinationstest (RF) (Rapi Tex RF neu; Fa. Behring, Marburg), zum anderen mittels Hämagglutinationstest nach Waaler-Rose (WR) (Celloghost-RF micro; Fa. Behring, Marburg). Antinukleäre Antikörper wurden mittels eines Immunfluoreszenztests auf HEP2-Zellen (Fa. Viramed, Martinsried bei München) nachgewiesen.

**Statistische Auswertung:** Zur Bestimmung der Intra- und Inter-Assay-Varianz, sowie zur Bestimmung eines eigenen Grenzwertes bestimmten wir Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient. Zwecks Ermittlung der Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Tests wählten wir das Verfahren nach Spearman zur Berechnung der Rangkorrelationskoeffizienten. Um signifikante Unterschiede zwischen dem SLE-Kollektiv und anderen Kollektiven bezüglich der Testergebnisse herauszuarbeiten, verwendeten wir den zweiseitigen Wilcoxon-Test für ungepaarte Stichproben und testeten auf 97,5 %-Niveau. Die diagnostischen Testparameter wurden folgendermaßen bestimmt: Sensitivität: positive SLE-Patienten / Ge-

samtzahl der SLE-Patienten; Spezifität: negative Gesunde / Gesamtzahl der Gesunden; diagnostische Effizienz: positive SLE-Patienten + negative Gesunde / Gesamtkollektiv [36].

## Ergebnisse

Zur Bestimmung der Intra-Assay-Varianz führten wir je 40 Doppelbestimmungen mit einem auf einen Wert von 100 IU/ml eingestellten Poolserum durch. So ermittelten wir Variationskoeffizienten von 8,2 % (ELISA-Pro), 6 % (ELISA-Org) bzw. 5 % (ELISA-Wal). Zwecks Ermittlung der Inter-Assay-Varianz benutzten wir jeweils die im ELISA-Pro und ELISA-Org mitgelieferten positiven Kontrollen, bzw. für den ELISA-Wal den Standard Nr.3 und ermittelten für diese Seren als Doppelbestimmung in insgesamt 8 Testläufen die dsDNS-Ak-Konzentrationen. Wir errechneten Variationskoeffizienten von 7 % (ELISA-Pro), 9,8 % (ELISA-Org) und 7,1 % (ELISA-Wal).

Bei der Berechnung der statistischen Parameter verwendeten wir die von den Herstellern angegebenen Grenzwerte. Dennoch errechneten wir eigene Grenzwerte nach allgemein akzeptierten Methoden [11, 16, 24], um untersuchen zu können, inwieweit diese von den vom Hersteller angegebenen Grenzwerten divergieren. Es errechnete sich somit für den ELISA-Pro ein Grenzwert von 42,9 IU/ml bei einem Mittelwert von  $18,3 \pm 12,3$  IU/ml; für den ELISA-Org ermittelten wir einen Grenzwert von 27,7 IU/ml bei einem Mittelwert von  $10,5 \pm 8,6$  IU/ml und der ELISA-Wal wies einen Grenzwert von 56,3 IU/ml bei einem Mittelwert von  $24,3 \pm 16$  IU/ml auf.

Die prozentuale Verteilung der positiven Testergebnisse in den verschiedenen Kollektiven zeigt Tabelle 1. Die Verteilung der dsDNS-Ak-Testergebnisse zwischen den einzelnen Kits in den jeweiligen Kollektiven sind in den Abbildungen 1 - 4 aufgeschlüsselt. Als Kollektive dienten hierbei die beiden Nichter-

**Tabelle 1.** Prozentuale Verteilung der positiven Testergebnisse bezogen auf die verschiedenen Kollektive (NK = Normalkollektiv, BS = Blutspender)

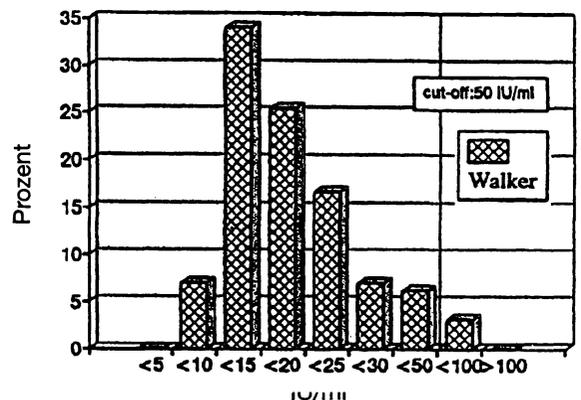
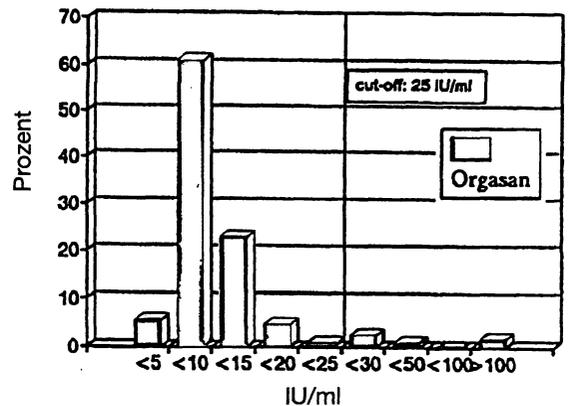
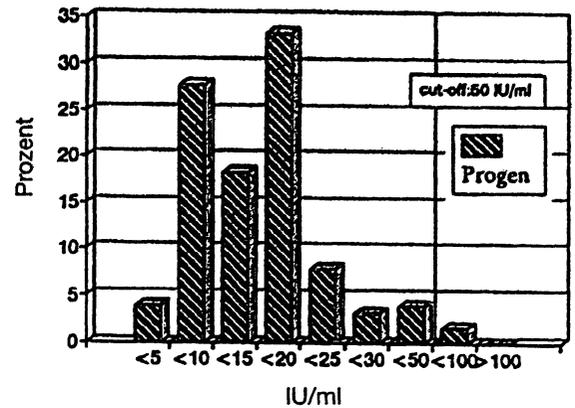
	NK (n=88)	BS (n=126)	SLE (n=43)	Nicht-SLE (n=99)
RF	11,4%	14,3%	39,5%	52,5%
WR	3,4%	14,3%	6,9%	29,3%
ANA	1,4%	1,6%	83,7%	11,1%
CrIF	0,0%	0,0%	58,1%	3,0%
Progen	3,4%	1,6%	69,8%	12,1%
Organon	1,4%	4,8%	60,5%	9,1%
Walker	10,2%	3,2%	83,7%	15,2%

kranken-Kollektive (Blutspender- und Normalkollektiv) sowie das SLE-Kollektiv und die Gruppe der an einer rheumatologischen -aber nicht dem SLE-Kollektiv zuzurechnenden- Erkrankung im weiteren Sinne erkrankten (Nicht-SLE-Kollektiv). Das Blutspender-[(Abb. 1), ELISA-Pro 1,6 %, ELISA-Org 4,8 %, ELISA-Wal 3,2 %] und das Normalkollektiv [(Abb. 2), ELISA-Pro 3,4 %, ELISA-Org 1,4 %, ELISA-Wal 10,2 %] zeigten durchweg einen sehr kleinen Anteil positiver Ergebnisse. Der CrIF war bei keinem der Seren obengenannter Kollektive positiv, die ANA-Positivität lag bei 1,6 % (Blutspender) bzw. 1,4 % (Normalkollektiv). Im SLE-Kollektiv (Abb. 3) fanden sich 69,8 % (ELISA-Pro), 60,5 % (ELISA-Org) und 83,7 % (ELISA-Wal) der Seren positiv. Der CrIF war bei 58 % der Seren dieses Kollektivs positiv, der ANA-IFT zeigte in 83,7 % ein positives Ergebnis. Im Nicht-SLE-Kollektiv (Abb. 4) fanden wir eine geringe Zahl positiver Ergebnisse: 12,1 % für ELISA-Pro, 9,1 % für ELISA-Org und 15,2 % für ELISA-Wal. Der CrIF war im Nicht-SLE-Kollektiv in 3 %, ANA in 11 % der Seren positiv. Die prozentuale Verteilung der positiven Ergebnisse auf die verschiedenen Diagnosegruppen in diesem Kollektiv ist in Tabelle 2 aufgeführt.

**Tabelle 2.** Prozentuale Verteilung der positiven Testergebnisse in den verschiedenen Diagnosegruppen des Nicht-SLE Kollektivs

	RA (n=49)	Arthrose (n=16)	Psor. (n=7)	Psor.A. (n=18)	PSS (n=9)
RF	81,6%	31,3%	0,0%	16,7%	44,4%
WR	55,1%	12,5%	0,0%	0,0%	0,0%
ANA	10,2%	6,3%	0,0%	0,0%	55,5%
CrIF	4,1%	0,0%	0,0%	5,6%	0,0%
Progen	20,4%	0,0%	0,0%	5,6%	11,1%
Orgasan	10,2%	6,3%	0,0%	5,6%	22,2%
Walker	18,4%	6,3%	0,0%	11,1%	33,3%

Das SLE-Kollektiv unterschied sich auf 97,5 %-Niveau (zweiseitiger Wilcoxon-Test für ungepaarte Stichproben) signifikant von dem Nicht-SLE-, Blutspender- bzw. Normalkollektiv. Die Prüfung der Übereinstimmung der unterschiedlichen Testverfahren in der dsDNS-Ak-Bestimmung fand die drei ELISA-Assays sehr hoch miteinander korreliert ( $r = 0,99$ ), sie zeigen somit auch im Vergleich zu den anderen eingesetzten Testsystemen identische Ergebnisse. Die Übereinstimmung zwischen den drei ELISA-Kits und dem CrIF wurde mittels der Vierfeldertafel am Gesamtkollektiv evaluiert, es fand sich eine 92,4 %-ige Übereinstimmung von ELISA-Pro und ELISA-Org und eine 88,2 %-ige von ELISA-Wal gegenüber dem CrIF.



**Abb. 1.** ds-DNS-Ak-ELISA-Werte des Blutspender - Kollektivs

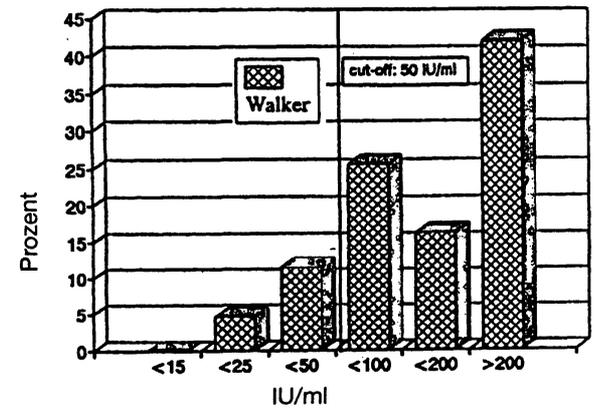
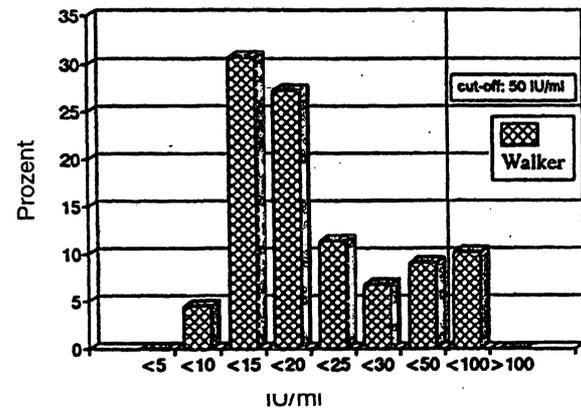
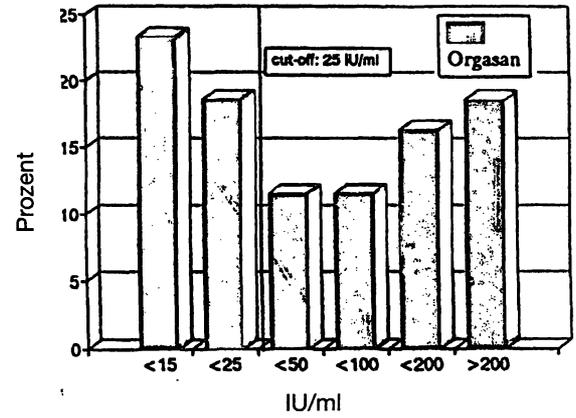
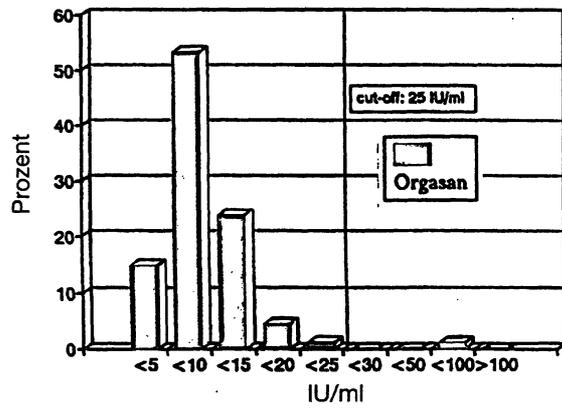
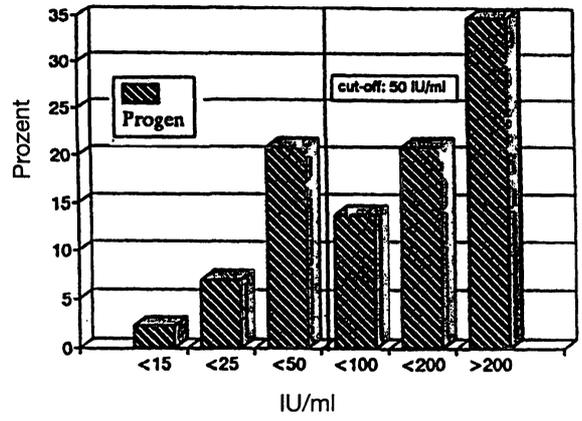
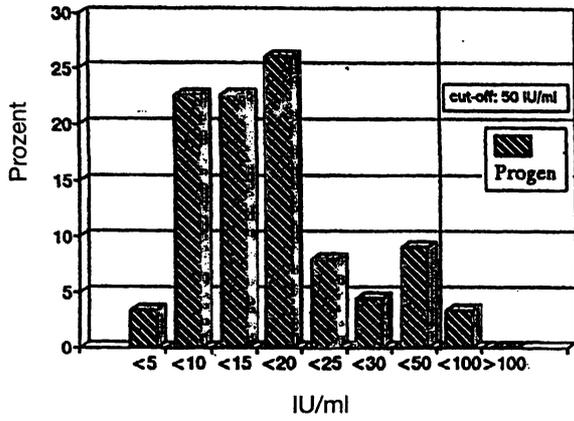


Abb. 2. ds-DNS-Ak-ELISA-Werte des Normalkollektivs

Abb. 3. ds-DNS-Ak-ELISA-Werte des SLE - Kollektivs

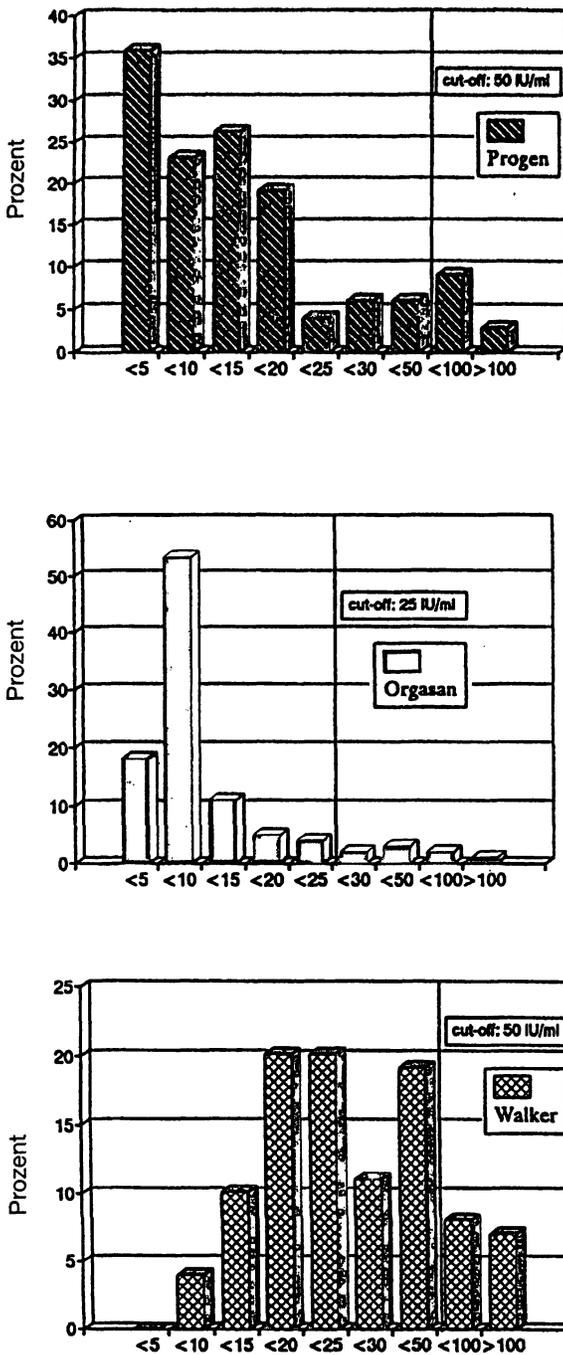


Abb. 4. ds-DNS-Ak-ELISA-Werte des Nicht-SLE - Kollektivs

Zwecks Evaluierung der klinischen Relevanz von quantitativen dsDNS-Ak-Bestimmungen mit den drei vorliegenden Tests haben wir den nicht-parametrischen zweiseitigen Wilcoxon-Test für ungepaarte Stichproben zwischen hochaktivem und mäßig-aktivem SLE-Kollektiv auf 97,5 %-Niveau durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei keinem der drei ELISA-Kits ein signifikanter Unterschied, wenn auch bei sämtlichen durchgeführten Verfahren ein höherer Anteil positiver Ergebnisse im aktiven im Vergleich zum inaktiven Kollektiv bestimmt wurden.

Die diagnostischen Testparameter zeigten für den CrIF eine Sensitivität von 0,58, eine Spezifität von 0,99 und eine diagnostische Effizienz von 0,94; fast identisch waren die Werte des ELISA-Org (Sensitivität 0,6; Spezifität 0,95; diagnostische Effizienz 0,91), bei ELISA-Pro und ELISA-Wal bestimmten wir folgende Werte: Sensitivität: 0,7 (ELISA-Pro), 0,83 (ELISA-Wal); Spezifität: 0,95 (ELISA-Pro), 0,91 (ELISA-Wal); diagnostische Effizienz: 0,92 (ELISA-Pro), 0,9 (ELISA-Wal).

## Diskussion

Bei der vergleichenden Beurteilung testinmanenter Parameter der verwendeten dsDNS-Ak-Nachweisverfahren können wir bezüglich der Variationskoeffizienten keine wesentlichen Unterschiede zwischen den ELISA-Kits feststellen. Vergleichbare Werte für die Inter- und Intra-Assay-Varianz bezüglich der von uns verwendeten ELISA-Kits fanden wir nur bei einer Arbeit (Inter-Assay-Varianz 11,2 %, Intra-Assay-Varianz 9,6 %) [20], in welcher ebenfalls der ELISA-Wal getestet wurde. Wir können durch die von uns errechneten Inter- und Intra-Assay-Varianzen sowie durch den Vergleich mit den Herstellerangaben eine vergleichbare Präzision aller drei verwendeten ELISA-Kits hervorheben.

Die dsDNS-Ak-Bestimmung mittels Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztest und drei verschiedenen ELISA-Verfahren wies innerhalb der einzelnen Kollektive zum Teil beträchtliche Unterschiede auf. Der CrIF erwies sich als Verfahren mit einer herausragenden Spezifität und zeigte im Normal- und Blutspender-Kollektiv überhaupt keine und im Nicht-SLE-Kollektiv nur 3 % positive Ergebnisse, muß allerdings bezüglich der Diagnose SLE als Testverfahren mit einer nur mäßigen Sensitivität (0,58) angesehen werden. Hervorzuheben ist aber die sehr gute Differenzierungsfähigkeit des CrIF bei der Differentialdiagnose zwischen SLE- und Nicht-SLE-Erkrankungen. Die von uns mit dem CrIF ermittelten Ergebnisse stimmen in der Mehrzahl mit in ähnlichen Studien veröffentlichten Ergebnissen überein (Tabelle 3). Im Vergleich zu anderen dsDNS-Ak-Nachweisverfahren verfügt dieser Test über eine herausragende Spezifität

**Tabelle 3.** *Crithidia luciliae* – Immunfluoreszenztest: Prozentualer Anteil positiver Testergebnisse verschiedener Studien (aufgeteilt nach Kollektiven)

	SLE	Nicht-SLE	Gesunde
Aarden et al.1975	30%		0%
Clarke et al.1986	68%	21%	
Eaton et al.1983	58%		
Geißler et al.1986	47%	4%	
Isenberg et al.1987	13%	0%	
McMillan et al.1988	53%	3%	0%
Tzioufas et al.1990	33%	0%	
Vorliegende Studie	58%	3%	0%

(0,95–1,0) bei eher mäßiger Sensitivität (0,3–0,7) [1, 6, 10, 20]. Die Abweichungen der Einzelergebnisse verschiedener Untersucher beruhen sicherlich in der unterschiedlichen Zusammensetzung der Patientenkollektive, worauf auch andere Autoren bereits hinwiesen [5, 14].

Bezüglich der Sensitivität bei SLE zeigten die ELISA-Tests differente, jedoch mindestens im Bereich des CrIF liegende Werte; der ELISA-Wal war deutlich sensitiver als die ebenfalls noch guten ELISA-Pro und ELISA-Org. Die Ergebnisse anderer Studien, in denen in einem SLE-Kollektiv mittels ELISA-Technik dsDNS-Ak gemessen wurden, sind in Tabelle 4 dargestellt. Der Anteil an testpositiven Resultaten schwankt erheblich von 22 % [26] bis 94 % [4]. Bei Betrachtung dieser Ergebnisse muß davon ausgegangen werden, daß alle drei von uns untersuchten ELISA-Kits – allen voran der ELISA-Wal – bezüglich des Anteils testpositiver

**Tabelle 4.** Prozentualer Anteil dsDNS-Ak-positiver ELISA-Testergebnisse bei SLE-Kollektiven verschiedener Studien

Blazek et al.1991	
(ELISA-Pro)	94%
(ELISA-Wal)	94%
Clarke et al.1986	60%
Eaton et al.1983	80%
Erlen et al.1990	52%
Geißler et al.1986	87%
Halbert et al.1981	85%
Isenberg et al.1987	33%
Kadlubowski et al.1991	46%
McMillan et al.1988	
(ELISA-Wal)	91%
Miller et al.1981	> 90%
Rubin et al.1983	22%
Tzioufas et al.1987	73%
Tzioufas et al.1990	80%
Vorliegende Studie	
(ELISA-Pro)	70%
(ELISA-Org)	61%
(ELISA-Wal)	84%

SLE-Patienten im Vergleich mit zahlreichen vergleichbaren Studien in einem guten bis sehr guten Bereich liegen. Allerdings möchten wir darauf hinweisen, daß andere Autoren [4, 20], welche ebenfalls den ELISA-Wal – wenn auch in einer modifizierten Kitkonfektionierung – testeten, mit 94 % bzw. 91 % positiver Resultate innerhalb des SLE-Kollektivs eine höhere Sensitivität des ELISA-Wal als wir errechneten. Gleiches gilt für den ebenfalls bereits zuvor getesteten ELISA-Pro [4], für den ein Anteil positiver Resultate im SLE-Kollektiv von 94 % angegeben wird. Bei den anderen angeführten Studien wurden andere als die von uns getesteten ELISA-Kits bewertet. In den gesunden Kollektiven (Blutspender- und Normalkollektiv) war bei allen drei ELISA-Kits ein gewisser Prozentsatz positiver Ergebnisse zu messen. Die Beobachtung, daß mittels ELISA gemessene und vor allem niedrigtitrige und wohl eher niedrig avide dsDNS-Ak bei einem kleinen Anteil einer gesunden Normalpopulation (2,5 %–5 %) vorkommen, wird von einigen Autoren geteilt [6, 11, 20], während in anderen Studien bei Gesunden keine dsDNS-Ak nachgewiesen wurden [7, 21, 32]. Auffallend war allerdings, daß in unserer Studie der ELISA-Wal mit 10,2 % positiven Ergebnissen im Normalkollektiv deutlich zu hoch lag und bei 11 % der CrIF-negativen Seren ein positives Ergebnis gab, wobei keines dieser Seren von einem SLE-Patienten stammte. Diese mangelnde Spezifität des ELISA-Wal in einem Normalkollektiv fiel auch schon früher [20] auf, hier wurden mit dem ELISA-Wal ebenfalls 10 % Testpositive in einem gesunden Kollektiv nachgewiesen.

In der rheumatologischen Praxis steht die häufig sehr schwierige Differentialdiagnose von Erkrankungen des autoimmunen Formenkreises im Vordergrund. Es war deshalb eine zentrale Fragestellung dieser Arbeit, inwieweit die ELISA-Verfahren bei klinisch eindeutig definierten Patientenkollektiven in der Lage sind, den SLE von anderen Autoimmunopathien mit rheumatologischer Symptomatik zu differenzieren. Die statistische Testung zeigte für alle drei Kits eine signifikante Differenzierungsfähigkeit. Diese Feststellung steht in Übereinstimmung mit anderen Autoren [14, 32], die ebenfalls mittels ELISA-Technik eine signifikante Differenzierung zwischen SLE und Nicht-SLE herausarbeiten konnten. Eine eingehendere Betrachtung der Einzelergebnisse zeigt jedoch, daß aufgrund seiner relativ hohen Spezifität der ELISA-Org beim Nicht-SLE-Kollektiv am wenigsten positive Ergebnisse aufwies. Der ELISA-Wal und der ELISA-Pro lagen innerhalb des Nicht-SLE-Kollektivs schon entsprechend höher. Innerhalb der einzelnen Nicht-SLE-Unterkollektive konnten wir mittels ELISA-Technik nennenswerte dsDNS-Ak-Konzentrationen nur innerhalb des RA- und des PSS-Kollektivs feststellen. Im größten Nicht-SLE-Einzelkollektiv, dem RA-Kollektiv

tiv. wies der ELISA-Org nur 10,2 % positive Ergebnisse auf, während der ELISA-Wal bzw. der ELISA-Pro immerhin in 18,4 % bzw. in 20,4 % der Fälle positiv waren. Beim PSS-Kollektiv bewegte sich der Anteil testpositiver Patienten zwischen 11 % und 33 %, wobei diese Zahlen aufgrund der geringen Fallzahl statistisch nur bedingt aussagefähig sind. Bei der klinisch wohl relevantesten Frage der Differenzierungsfähigkeit der Kits zwischen SLE und Nicht-SLE-Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, erzielte der ELISA-Org somit die besten Ergebnisse.

Die Frage, ob die Höhe des dsDNS-Ak-Titers mit der SLE-Krankheitsaktivität korreliert, wird bis heute kontrovers diskutiert. Die Wichtigkeit dieser Frage wird deutlich, wenn man bedenkt, daß -vorausgesetzt dsDNS-Ak-Titer und Krankheitsaktivität korrelieren tatsächlich - Aktivitätsschübe unter Umständen durch Anstieg der dsDNS-Ak vorausgesehen und vor Ausbruch des Schubes massiv immunsuppressiv behandelt werden könnten [29]. Viele Autoren konnten in ELISA-Studien eine signifikante Korrelation zwischen dsDNS-Ak-Titer und SLE-Krankheitsaktivität nachweisen [5, 9, 10, 24, 28, 29, 32]. Im Gegensatz hierzu konnten andere Autoren keine [14] bzw. nur eine mäßige [20] Korrelation des dsDNS-Ak-Titers mit der Krankheitsaktivität feststellen. Als mögliche Gründe für diese verschiedenen Ergebnisse nennen Autoren die unterschiedlichen Aktivitätskriterien [32] bzw. die differierenden ELISA-Methoden [29] in den verschiedenen Studien.

Wir ermittelten in unserer Studie mit dem ELISA-Pro und dem ELISA-Org im aktiven SLE-Kollektiv mehr positive Ergebnisse als im inaktiven SLE-Kollektiv, während mit dem ELISA-Wal und dem CrIF keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden konnten. Rechnerisch stellten wir bei den drei ELISA-Kits keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen aktivem und inaktivem SLE fest. Als weiteres Aktivitätsmerkmal des SLE gilt das Komplement C3, welches im Aktivitätsschub stark abfällt [15, 19, 34]; man hätte also unter Umständen eine negative Korrelation zwischen der Höhe des Komplement C3 und der Höhe des dsDNS-Ak-Titers erwarten können. Diese inverse Beziehung konnten verschiedene Autoren [5, 6, 24, 32] signifikant nachweisen und schlossen daraus, daß es sich bei den im ELISA nachgewiesenen Antikörpern höchstwahrscheinlich um Komplement-bindende Antikörper handelt [5, 22]. Wir konnten jedoch in linearen Regressionsanalysen bei allen drei ELISA-Kits einen umgekehrt proportionalen Zusammenhang zwischen den beiden Größen nicht finden. Die Frage, ob die quantitative dsDNS-Ak-Messung mittels ELISA-Technik gegenüber einem semiquantitativen Titerstufenverfahren wie dem CrIF einen Zugewinn an klinischer Aussagekraft bringt, müssen wir damit im Rahmen unserer Studienbe-

dingungen relativieren, wobei wir allerdings folgende Punkte zu bedenken geben:

1. Das von uns erstellte SLE-Kollektiv stammt ausschließlich aus der Rheumaambulanz. Die Patienten leiden zu einem geringeren Anteil an der prognostisch ungünstigeren und oft mit hochaktiven Schüben einhergehenden Nierenbeteiligung. In Vorarbeiten [14], bei welchen ebenfalls keine Korrelation zwischen dsDNS-Ak-Titer und Krankheitsaktivität nachweisen werden konnte, wurde eindringlich auf diesen Punkt hingewiesen. Bei den SLE-Patienten unseres Kollektivs handelt es sich zum Großteil um ambulante Patienten, woraus im SLE-Kollektiv eine relativ große Zahl wenig aktiver Patienten, die zudem auch nur einen Teil des möglichen klinischen Spektrums dieser Erkrankung repräsentieren, resultiert.
2. Das Hauptproblem bei der Beurteilung der Korrelation zwischen Krankheitsaktivität und den mittels ELISA gemessenen dsDNS-Ak-Titern dürfte aber darin zu sehen sein, daß wir lediglich das SLE-Kollektiv als Gesamtheit und nicht intraindividuelle Verläufe beobachtet haben. Bei den SLE-Patienten wurden also einmalige, isolierte dsDNS-Ak-Bestimmungen durchgeführt. Zu dieser Problematik wurde zuvor bereits darauf hingewiesen [29], daß eine isolierte dsDNS-Ak-Bestimmung zwar ein guter diagnostischer Wegweiser, nicht aber ein geeignetes Meßsystem für die SLE-Krankheitsaktivität sei. Auch wir sind der Ansicht, daß erst die intraindividuelle Verlaufsbeobachtung bezüglich klinischer SLE-Aktivität und der Höhe des dsDNS-Ak-Titerverlaufs (wie z. B. bei [32]) bei einer großen Anzahl von SLE-Patienten befriedigend darüber Aufschluß geben kann, ob diese Parameter tatsächlich korrelieren. Desweiteren könnte man sicherlich erst bei der intraindividuellen Verlaufsbeobachtung eines SLE-Kollektivs, welche hinsichtlich ihres Umfangs den Rahmen dieser Studie sprengt hätte, endgültige Aussagen über die klinische Wertigkeit eines quantitativen ELISA-Verfahrens im Vergleich zu semiquantitativen Techniken wie dem CrIF machen.

Ursächlich für die differierenden Ergebnisse der drei ELISA-Kits in unserer Studie dürften vielfältige, jedoch insgesamt testimmanente Faktoren sein, wobei ein Problem sicherlich im unterschiedlichen Aufbau der Kits zu sehen ist. So mißt der ELISA-Wal IgG- und IgM-Ak, während der ELISA-Pro und der ELISA-Org nur IgG-Ak messen, was sich, wie auch zuvor beschrieben [4], unter Umständen in einem höheren und klinisch nicht nachvollziehbaren Meßsignal des ELISA-Wal niederschlägt. Desweiteren dürften sich die ELISA-Kits in der Auswahl und Bindungsart des Testantigens, sowie den Mechanismen zur Blockierung von nicht mit Antigen bedeckten Stellen unterschei-

den. Daraus folgend kann es zu unspezifischen Bindungsreaktionen unterschiedlichen Ausmaßes kommen. Schließlich muß auch noch rein prinzipiell bedacht werden, daß die Antikörper der Patientenproben nicht die gleiche Avidität zum Testantigen aufweisen wie das zur Standardisierung der einzelnen Kits benutzte Material, was zu nicht-linearen und von Kit zu Kit differierenden Dosis-Bindungsbeziehungen führen könnte.

Ein weiterer Grund für abweichende Ergebnisse der drei ELISA-Kits dürfte darin zu sehen sein, daß die Testparameter Sensitivität und Spezifität - und somit auch die diagnostische Effizienz- sehr stark von den Grenzwertangaben der Hersteller abhängig sind. Diese werden in der Regel unter Zuhilfenahme von unselektionierten Blutspenderkollektiven und nicht anhand klinisch eindeutig definierter Patientenkollektive festgelegt, so daß der angegebene Grenzwert im Prinzip nur eingeschränkt aussagefähig ist [6]. Diese Vermutung wird dadurch unterstützt, daß die Hersteller von ELISA-Pro und ELISA-Org Graubereiche angeben, innerhalb derer der Befund nach Herstellerangaben fraglich ist. Desweiteren empfehlen alle Hersteller bei Verwendung ihres Tests im Labor die Erstellung eines eigenen Grenzwerts anhand eigener Patientenkollektive. Der von uns an unserem klinisch und anamnestisch als gesund definierten Normkollektiv errechnete Grenzwert lag für den ELISA-Pro 14,2 % unter, für den ELISA-Org 10,8 % und den ELISA-Wal 12,6 % über den Grenzwertangaben der Hersteller. Für die Berechnung der diagnostischen Parameter verwendeten wir wegen der besseren Vergleichbarkeit mit anderen Studien die Grenzwertangaben der Hersteller. Legten wir die eigenen Grenzwerte zugrunde, so würde sich für den ELISA-Pro eine höhere Sensitivität bei einer niedrigeren Spezifität ergeben. Der ELISA-Org und der ELISA-Wal hätten bei einer niedrigeren Sensitivität eine höhere Spezifität aufgewiesen. Zu diskutieren bleibt nun, ob man eher Wert auf eine hohe Spezifität oder eine hohe Sensitivität legen soll. Aus klinischer Sicht bevorzugen wir eine hohe Spezifität, um eine Erkrankung möglichst sicher ausschließen zu können; eine hohe Sensitivität gibt zwar einen Hinweis auf die Richtigkeit des positiven Ergebnisses, dieses stellt jedoch nach den ARA-Kriterien nur einen von vier zur Diagnose eines SLE erforderlichen Parameter dar. Aus diesen o. g. Gründen favorisieren wir den ELISA-Pro und den ELISA-Org gegenüber dem ELISA-Wal. Dies nicht zuletzt deshalb, weil der ELISA-Wal im Normkollektiv immerhin 10,2 % positive Ergebnisse aufwies und weil dieser Test bezüglich der Differenzierungsfähigkeit zwischen SLE und Nicht-SLE am schlechtesten abschnitt.

Das Ziel dieser Studie - die laborpraktische und klinische Evaluierung dreier konfektionierter ELISA-Kits zum Nachweis von dsDNS-Ak im Vergleich zu dem

bislang wohl verbreitetsten Verfahren, dem Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztest läßt sich nach Ergebnismbetrachtung und Diskussion der Einzelaspekte in vier Punkten zusammenfassen:

1. Der Crithidien-Immunfluoreszenztest hat sich als Verfahren mit einer herausragenden Spezifität und einer sehr guten Differenzierungsfähigkeit zwischen SLE- und Nicht-SLE- Erkrankungen erwiesen. Unter Berücksichtigung auch pekuniärer Aspekte erscheint dieser Test für Laboratorien mit weniger hohem Serenaufkommen prädestiniert.
2. Der Nachweis einer Überlegenheit des quantitativen ELISA-Verfahrens gegenüber dem semiquantitativen CrIF-Titerstufenverfahren konnte im Hinblick auf die SLE-Aktivitätsbeurteilung im Rahmen unserer Studienbedingungen nicht geführt werden.
3. Alle drei gegen den WHO-Standard Wo/80 kalibrierten ELISA-Testkits können als Verfahren mit einer hohen Präzision und Reproduzierbarkeit angesehen werden. Alle drei Kits können signifikant zwischen SLE- und Nicht-SLE-, sowie zwischen SLE- und gesunden Kollektiven unterscheiden. Ferner zeichnet alle drei Kits eine sehr hohe Korrelation zueinander und eine hohe Korrelation zu dem Crithidien-Immunfluoreszenztest aus. Es handelt sich also bei allen drei ELISA-Kits um -besonders in Laboratorien mit hohem Serenaufkommen in der Routine- vorteilhafte Verfahren zum Nachweis von dsDNS-Ak.
4. Innerhalb der ELISA-Kits würden wir den ELISA-Org favorisieren. Er hat eine sehr hohe Spezifität und weist auch sonst fast identische diagnostische Testparameter wie der Crithidien-Immunfluoreszenztest auf. Darüber hinaus zeigt er innerhalb der drei ELISA-Kits die beste Differenzierungsfähigkeit zwischen SLE- und Nicht-SLE-Kollektiven, was in der klinisch-rheumatologischen Praxis von überragender Bedeutung ist. Der ELISA-Pro, für den wir geringfügig bessere diagnostische Testparameter errechneten, hat eine etwas schlechtere Differenzierungsfähigkeit zwischen SLE und Nicht-SLE als der ELISA-Org. Desweiteren crachten wir die Testdauer des ELISA-Pro, welche praktisch das Vierfache jener der anderen beiden Kits beträgt, für nachteilig zu lang. Der ELISA-Wal zeichnet sich innerhalb der drei ELISA-Kits zwar durch die höchste Sensitivität, aber auch gleichzeitig durch die niedrigste Spezifität und die geringste Differenzierungsfähigkeit zwischen SLE und Nicht-SLE aus.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß eine über die Wo/80-Standardisierung hinausgehende, internationale Normierung der dsDNS-Ak-Bestimmung zur besseren Vergleichbarkeit ermittelter Ergebnisse erforderlich scheint. Die Kombination eines (Screening-) ANA-

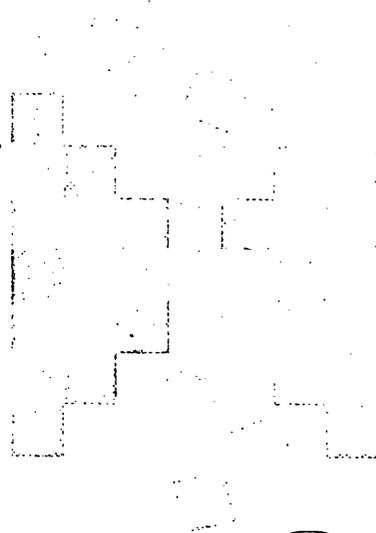
IFT mit einem dsDNS-Ak-ELISA oder auch CrIF bringt zusätzliche diagnostische Sicherheit und therapeutische Entscheidungshilfe. Eine sich an diese etablierten Nachweisverfahren anschließende Untersuchung auf Antikörper gegen extrahierbare nukleäre Antigene (ENA) läßt eine noch höhere Nachweispfeindlichkeit erwarten und dürfte -stets unter dem Gesichtspunkt der klinischen Einordnung der ermittelten Befunde- zum Standard der Differentialdiagnostik von Kollagenosen werden.

## Literatur

- Aarden L.A., E.R. de Groot, T.E.W. Feltkamp (1975) Immunology of DNA. Crithidia Luciliae, a simple substrate for the determination of Anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. *Ann NY Acad Sciences* 254, 505-515
- Arnett F.C., S.M. Edworthy, D.A. Bloch, D.J. McShane, J.F. Fries, N.S. Cooper, L.A. Healey, S.R. Kaplan, M.H. Liang, H.S. Luthra, T.A. Medsger, D.M. Mitchell, D.H. Neustadt, R.S. Pinals, J.C. Schaller, J.T. Sharp, R.L. Wilder, G.C. Hunder (1988) The American rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 31, 315-324
- Bach G.L. Lupus erythematoses In: Schwiegl H., Buchhorn E. (Hrsg.) *Handbuch der inneren Medizin*; Bd.6; Teil 2, 5. Auflage 'Rheumatologie' Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York 1983
- Blazek M., E. Werle, W. Fiehn (1991) Vergleich der diagnostischen Effizienz von handelsüblichen RIA und ELISA Assays und einem Crithidia luciliae Immunfluoreszenztest beim Nachweis von anti-ds-DNA-Antikörpern. *Lab med* 15, 490-495
- Clarke M.C., R. Carr, N.M. Burdash, Z. Chen, S.K. Ainsworth (1986) A comparison of three anti-double stranded DNA antibody assays on sera from SLE and other diseases *Diagn. Immunol* 4, 288-293
- Eaton R.B., G. Schneider, P.H. Schur (1983) Enzyme immunoassay for antibodies to native DNA. *Arthr Rheum* 26, 52-62
- Emlen W., P. Jarusiripipat, G. Burdick (1990) A new ELISA for the detection of double-stranded DNA antibodies. *J Immunol Meth* 132, 91-101
- Feltkamp T.E.W., T.B.L. Kirkwood, R.N. Maini, L.A. Aarden (1988) The first international standard for antibodies to double stranded DNA. *Ann Rheum Dis* 47, 740-746
- Froelich C.J., J. Wallman, J.L. Skosey, M. Teodorescu (1990) Clinical value of an integrated ELISA system for the detection of 6 autoantibodies (ssDNS, dsDNA, Ssn, RNP/Sn, SSA, SSB). *J Rheum*, 17; 2, 192-200
- Geißler K., W. (1986) Graninger Antikörper gegen ds-DNS bei systemischem Lupus erythematoses - Wertigkeit für Diagnose und Aktivitätsbestimmung Immunität und Infektion. 3, 119-120
- Halbert S.P., J. Karsh, M. Anken (1981) Studies on autoantibodies to deoxyribonucleic acid and deoxyribonucleoprotein with enzyme-immunoassay (ELISA). *J Lab Clin Med* 97, 97-110
- Hettenkofer H.J. *Rheumatologie*, 2., überarb. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York 1989
- Isenberg D.A., Y. Shoenfeld, R.S. Schwartz (1984) Multiple serologic reactions and their relationship to clinical activity in systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheu* 27, 132-138
- Isenberg D.A., C. Dudency, W. Williams, I. Addison, S. Charles, J. Clarke, A. Todd-Pokropek (1987) Measurement of anti-DNA antibodies: a reappraisal using five different methods. *Ann Rheum Dis* 46, 448-456
- Jäger L. (Hrsg.) *Klinische Immunologie und Allergologie*, 3., erw. Aufl. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/New York 1989
- Kadlubowski M., M. Jackson, P.L. Yap, C. Neill (1991) Lack of specificity for antibodies to double stranded DNA found in four commercial kits. *J Clin Pathol* 44, 246-250
- Kaltwasser P., M. Schmitt, R. Wigand, K. Jörgens, A. (1990) Martinovic Serum-Interleukin-2-Rezeptor bei RA und SLE. *Klin. Wochenschr* 68 (19), 282
- Koffler D., C. Biesecker, S.M. Katz (1982) Immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum* 25, 858-861
- Lloyd W., P.H. Schur (1981) Immune complexes complement and anti-DNA in exacerbations of systemic lupus erythematosus (SLE). *Medicine* 60, 208-217
- McMillan S.A., A.C. Fay (1988) Evaluation of five commercial kits to detect dsDNA antibodies. *J Clin Pathol* 41, 1223-1228
- Miller T.E., R.G. Lahita, V.J. Zarro, J. MacWilliam, D. Koffler (1981) Clinical significance of anti-double-stranded DNA antibodies detected by a solid phase enzyme immunoassay. *Arthr Rheum* 24, 602-610
- Miniter M.F., B.D. Stollar, V. Agnello (1979) Reassessment of the clinical significance of native DNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum* 22, 959-967
- Morrow W.J.W., D.A. Isenberg, A. Todd-Pokropek, H.F. Parry, M.L. Snaith (1982) Useful laboratory measurements in the management of Systemic Lupus Erythematosus. *QJ Med* 202, 125-138
- Orr K.B., J. Foerster (1990) An ELISA procedure to detect anti-double-stranded and anti-single-stranded DNA binding antibodies in connective tissue disorders. *J Clin Lab Anal* 4 (5), 328-336
- Peter H.H. *Systemischer Lupus Erythematoses* In: Gerok W. (Hrsg.) *Innere Medizin der Gegenwart*, Bd.9 Urban & Schwarzenberg, München/Wien/Baltimore 1991
- Rubin R.L., F.G. Joslin, E.A. Tan (1983) An improved ELISA for Anti-Native DNA by Elimination of Interference by Anti-Histone Antibodies. *J Immunol Meth* 63, 359-366
- Siegenthaler W. (Hrsg.) *Lehrbuch der inneren Medizin* Thieme-Verlag, Stuttgart/New York 1984
- Smeenk R. Detection of antibodies to DNA by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) In: Pal S.B., *Immunoassay technology*, Vol.2 Walter de Gruyter, Berlin/New York 1986
- Swaak A.J.C., J. Groenwold, L.A. Aarden, L.W. Stenius van Ebs, T.E.W. Feltkamp Prognostic value of anti-dsDNA in SLE *Ann Rheum Dis* 41 (1982), 388-395

30. Tan E.M., A.S. Cohen, J.F. Fries, A.T. Masi, D.J. Mc Shane, N.F. Rothfield, J.C. Schaller, N. Talal, R.J. Winchester(1982) The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum* 25, 1271-1277
31. Tan E.M., Chan K.L., Sullivan K.F., Rubin R.L.(1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin Immunol Immunopath* 47, 121-141
32. Tzioufas A.G., M.N. Manoussakis, A.A. Drosos, A.E. Silis, A.E. Gharavi, H.M. Moutsopoulos Enzyme immunoassays for the detection of IgG and IgM anti-dsDNA antibodies: clinical significance and specificity *Clin Exp Immunol* 5 (1987), 247-253
33. Tzioufas A.G., C. Terzoglou, E.D. Stavropoulos, S. Athanasiadou, H.M. Moutsopoulos(1990) Determination of anti-ds-DNA antibodies by three different methods: Comparison of sensitivity, specificity and correlation with lupus activity index (LAI). *Clin Rheum* 9 (2), 186-192
34. Valentijn R.M., H. van Overhagen, H.M. Hazevoet, J. Hermaus, A. Cats, M.R. Daha, L.A. van Es (1985) The value of complement and immune complex determinations in monitoring disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum* 28 (8), 904-913
35. Zvaiffler N.L. Etiology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus In: Kelley W.N., Harris E.D., Ruddy S., Sledge C.B. *Textbook of rheumatology*, Vol. I.,II. W.B. Saunders Company, Philadelphia/London/Toronto 1981
36. Zöfel P. *Statistik in der Praxis* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1985

## ALLE WEGE SIND MÖGLICH!



**Gemeinsam  
mit Fresenius Diagnostik  
vom Autoimmun Screening  
zum gesicherten Typing**

## INDIVIDUELL

ANA Hep2 IFT / ANA Screen ELISA  
ENA-ELISAs / Western Blot  
nDNS IFT / dsDNS ELISA

## VARIABEL

Abhängig vom Screening-Befund geben Sie das spezifische Typing vor.

## WIRTSCHAFTLICH

Die angebotenen Testsysteme bieten für jedes Probenaufkommen die spezifische Bestimmungszahl

**Interesse?**

**Rufen Sie uns an!**

**Fresenius**  
DIA•GNOSTIK

Fresenius AG, Bereich Diagnostik  
61343 Bad Homburg  
Tel.: 0 61 71 / 60 22 82  
Fax: 0 61 71 / 60 23 17