



SPS INTERNA KLINIKA

KO za revmatologijo
Laboratorij za imunologijo revmatizma

Bolnica dr. Petra Držaja
Vodnikova 62
1000 Ljubljana
T 01/522 5486
F 01/519 5338
E sasa.cucnik@kclj.si
W www.kclj.si

LJUBLJANA, sreda 20. december 2023

Dopis:25/2023

Predmet: Nova metoda določanja aCL in anti-β2GPI ter uvedba nove preiskave s-anti-D1 β2GPI v diagnostiki APS in nova metoda določanja anti-HMGR v diagnostiki imunsko posredovane nekrotizirajoče miopatije!

Spoštovani naročniki laboratorijskih preiskav Laboratorija za imunologijo revmatizma, UKCL!

Ker uredba EU 2017/746 vsem izvajalcem laboratorijske dejavnosti odreja, da je potrebno vse tako imenovane hišne metode, za katere na tržišču obstajajo IVDR analizni kompleti, zamenjati z njimi do konca maja 2027, smo v Laboratoriju za imunologijo revmatizma (LIR) vpeljali in verificirali novo metodo določanja protiteles proti kardiolinu (**aCL IgG, IgM, IgA**), proti beta-2 glikoproteinu I (**anti-β2GPI IgG, IgM, IgA**) in proti 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA reduktazi (**anti-HMGR**) na osnovi kemiluminiscence. Uvedli smo tudi novo preiskavo **s-anti-D1 β2GPI IgG** s katero določamo prisotnost protiteles proti domeni 1 proteina β2GPI.

A. Verifikacija nove kemiluminiscenčne metode določanja protiteles aCL IgG, IgM, IgA in anti-β2GPI IgG, IgM, IgA

V okviru verifikacije smo testirali 98 vzorcev bolnikov z diagnozo antifosfolipidnega sindroma (APS), 51 vzorcev bolnikov z nepotrjenim APS, 28 vzorcev bolnikov z drugimi sistemskimi avtoimunskimi boleznimi (RA, SLE, SjS, SSc) in 139 vzorcev zdravih preiskovancev:

- Med negativnimi, nizko, srednje in visoko pozitivnimi rezultati obeh metod (hišna ELISA in CLIA) za določanje **aCL IgG in IgM** smo določili 75,7 % in 85,3 % ujemanje na skupini bolnikov z APS in drugimi sistemskimi avtoimunskimi boleznimi. Ujemanje med negativnimi in pozitivnimi rezultati za **aCL IgA** je bilo 88,6 %.



- Med negativnimi, nizko, srednje in visoko pozitivnimi rezultati obeh metod (hišna ELISA in CLIA) za določanje **anti-β2GPI IgG in IgM** smo določili 89,8 % in 91,5 % ujemanje na skupini bolnikov z APS in drugimi sistemskimi avtoimunskimi boleznimi. Ujemanje med negativnimi in pozitivnimi rezultati za **anti-β2GPI IgA** je bilo 88,6 %.
- Diagnostična občutljivost in diagnostična specifičnost je izračunana na klinično pomembno prazno vrednost 40 CU za aCL IgG, IgM in anti-β2GPI IgG, IgM ter 20 CU za aCL IgA in anti-β2GPI IgA:

	Diagnostična občutljivost (%)	Diagnostična specifičnost (%)
aCL IgG	28,4	97,5
aCL IgM	21,4	100
aCL IgA	28,6	96,1
anti-β2GPI IgG	34,7	94,9
anti-β2GPI IgM	15,7	98,7
anti-β2GPI IgA	22,4	98,0

- Rezultati so podani v novih kemiluminiscenčnih enotah – CU.
- Negativen rezultat predstavljajo vse vrednosti, ki so manjše od 20 CU, pozitiven rezultat predstavljajo vse vrednosti enake ali večje od 20 CU. Klinično pomembna vrednost rezultata glede na nove klasifikacijske kriterije (2023 ACR/EULAR antiphospholipid syndrome classification criteria. *Ann Rheum Dis.* 2023 Oct;82(10):1258-1270. doi: 10.1136/ard-2023-224609. Epub 2023 Aug 28) je srednje in/ali visoko pozitivna vrednost (**aCL IgG, IgM in anti-β2GPI IgG, IgM**).

	NEG (CU)	POZ (CU)		
		nizko	srednje	visoko
aCL IgG, IgM	< 20	20 - 39	40 - 79	≥ 80
aCL IgA	< 20	≥ 20		
anti-β2GPI IgG, IgM	< 20	20 - 39	40 - 79	≥ 80
anti-β2GPI IgA	< 20	≥ 20		

Meje za srednje in visoko pozitivne aCL IgG, IgM in anti-β2GPI IgG, IgM, glede na nove klasifikacijske kriterije v primerjavi z mejami hišnih metod ELISA, smo postavili ob upoštevanju enake diagnostične občutljivosti in diagnostične specifičnosti hišnih metod ELISA. Ker aCL IgA in anti-β2GPI IgA niso del klasifikacijskih kriterijev, nismo posebej opredeljevali srednje in visoko pozitivnega nivoja protiteles.

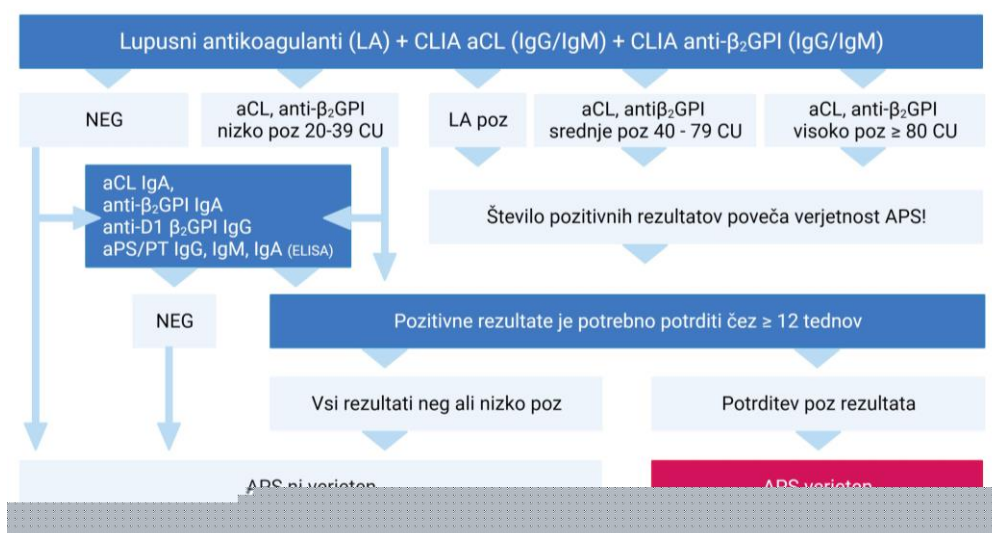
B. Uvedba nove preiskave za določanje protiteles proti domeni 1 anti-β2GPI IgG (s-anti-D1 β2GPI IgG)

V okviru verifikacije smo testirali 98 vzorcev bolnikov z diagnozo antifosfolipidnega sindroma (APS), 51 vzorcev bolnikov z nepotrjenim APS, 28 vzorcev bolnikov z drugimi sistemskimi avtoimunskimi boleznimi (RA, SLE, SjS, SSc), 139 vzorcev zdravih preiskovancev.

- Diagnostična občutljivost **anti-D1 β2GPI IgG** 51,1 % (45,0-57,2 %)
- Diagnostična specifičnost: **anti-D1 β2GPI IgG** 99,6 % (98,9-99,9 %)
- Rezultati so podani v novih kemiluminiscenčnih enotah – CU.

- Negativen rezultat predstavljajo vse vrednosti, ki so manjše od 20 CU, pozitiven rezultat predstavljajo vse vrednosti enake ali večje od 20 CU.
- Določitev protiteles anti-D1 β 2GPI IgG naj bi bila neke vrste potrditveni test za aPL, ki so povezana z APS. Protitelesa anti-D1 β 2GPI IgG se namreč običajno ne pojavljajo v času okužbe, pri otrocih z atopičnim dermatitisom ali pri otrocih rojenih materam z avtoimunskim obolenjem, ki ni APS.

Priporočen algoritem določanja aPL v LIR:



Laboratorijski testi, ki niso namenjeni razvrščanju, kot so s-anti-D1 β 2GPI IgG (CLIA) ali s-aPS/PT (ELISA), bi lahko pomagali pri izključitvi ali potrditvi diagnoze APS. Na primer, pomanjkanje reaktivnosti proti D1 β 2GPI pri bolniku, ki ima določena samo pozitivna protitelesa anti- β 2GPI IgG ali npr. negativen rezultat na aPS/PT ob edino pozitivnem rezultatu LA, vzbuja dvom v dejansko prisotnost APS. Strategija uporabe panela bioloških označevalcev (npr. različnih avtoprotiteles) prihaja vse bolj v ospredje pri diagnostični obravnavi bolnikov z APS. V LIR tako od 01.01.2024 sočasno določamo aCL IgG, IgM in IgA in ne več posebej kot dve ločeni preiskavi (s-aCL IgG, IgM in s-aCL IgA) in uvajamo novo preiskavo s-anti-D1 β 2GPI IgG.

C. Zamenjava metode ELISA ter verifikacija nove kemiluminiscenčne metode za določanje protiteles proti **3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA reduktazi (anti-HMGCR)**.

V okviru verifikacije smo testirali 79 vzorcev zaporednih bolnikov poslanih v LIR z naročeno preiskavo s-anti-HMGCR:

- Med pozitivnimi in negativnimi rezultati obeh metod za določanje **anti-HMGCR** smo določili 96,2 % ujemanje.
- Diagnostična občutljivost anti-HMGCR: **82,1 %** (71,3-89,4 %)
- Diagnostična specifičnost: anti-HMGCR: **99,7 %** (98,4-99,9 %)
- Rezultati so podani v novih kemiluminiscenčnih enotah – CU.
- Negativen rezultat predstavljajo vse vrednosti, ki so manjše od 20 CU, pozitiven rezultat predstavljajo vse vrednosti enake ali večje od 20 CU.

Z izvedbo preiskav za določanje aPL in anti-HMGCR po novem postopku bomo pričeli **03.01.2024**.

Zaradi avtomatizacije določenih preiskav v Laboratoriju za imunologijo revmatizma, potrebujemo za izvedbo naročenih preiskav 1 veliko 7 mL ali 2 majhni 4 mL biokemični epruveti krvi brez dodatkov ali 2 mL seruma.

Vodja Laboratorija za imunologijo revmatizma

Izr. prof. dr. Saša Čučnik, spec. med. biokem.

