

# APLA v EHK

Ivana Stiborová

Centrum imunologie a mikrobiologie  
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

# APLA1 /09

## 57 laboratoří

- 46 českých
- 11 ze Slovenska

**Vzorek A** – plazmafiltrát bez přítomnosti antifosfolipidových protilátek

**Vzorek B** – sérum pacientky s dlouhodobě zvýšenými hladinami protilátek proti kardiolipinu a beta-2-glykoproteinu I i proti dalším fosfolipidům (fosfatidylserin, fosfatidylinositol)

# ACLA

## (461) anti-kardiolipin screening

A	(1) EIA metody	>>>	22	Negativní			<b>100%</b>
		Celkem:	22		Úspěšnost:	100,0 %	
B	(1) EIA metody	>>>	22	Pozitivní			<b>100%</b>
		Celkem:	22		Úspěšnost:	100,0 %	
Celková úspěšnost v tomto kontrolním cyklu: 100,0 %							<b>100%</b>

## (463) anti-kardiolipin IgG

A	(1) EIA metody	>>>	44	Negativní			
				1	Hraniční (neprůkazný výsledek)		
				1	Pozitivní		<b>95,7%</b>
		Celkem:	46		Úspěšnost:	95,7 %	
B	(1) EIA metody		7	Negativní			
				1	Hraniční (neprůkazný výsledek)		
		>>>	38	Pozitivní			<b>82,6%</b>
		Celkem:	46		Úspěšnost:	82,6 %	
Celková úspěšnost v tomto kontrolním cyklu: 80,4 %							<b>80,4%</b>

## (464) anti-kardiolipin IgM

A	(1) EIA metody	>>>	43	Negativní			<b>100%</b>
		Celkem:	43		Úspěšnost:	100,0 %	
B	(1) EIA metody		1	Negativní			
		>>>	42	Pozitivní			<b>97,7%</b>
		Celkem:	43		Úspěšnost:	97,7 %	
Celková úspěšnost v tomto kontrolním cyklu: 97,7 %							<b>97,7%</b>

# Beta-2-GPI

## (465) anti-beta2-GPI screening

A	(1) EIA metody	>>>	14	Negativní			
		Celkem:	14		Úspěšnost: 100,0 %		100%
B	(1) EIA metody		1	Negativní			
		>>>	13	Pozitivní			
		Celkem:	14		Úspěšnost: 92,9 %		92,9%
Celková úspěšnost v tomto kontrolním cyklu: 92,9 %							

## (467) anti-beta2-GPI IgG

A	(1) EIA metody	>>>	32	Negativní			
			2	Hraniční (neprůkazný výsledek)			
		Celkem:	34		Úspěšnost: 94,1 %		94,1%
B	(1) EIA metody		4	Negativní			
			2	Hraniční (neprůkazný výsledek)			
		>>>	28	Pozitivní			
		Celkem:	34		Úspěšnost: 82,4 %		82,4%
Celková úspěšnost v tomto kontrolním cyklu: 79,4 %							

## (468) anti-beta2-GPI IgM

A	(1) EIA metody	>>>	32	Negativní			
			1	Hraniční (neprůkazný výsledek)			
		Celkem:	33		Úspěšnost: 97,0 %		97,0%
B	(1) EIA metody		1	Negativní			
		>>>	32	Pozitivní			
		Celkem:	33		Úspěšnost: 97,0 %		97,0%
Celková úspěšnost v tomto kontrolním cyklu: 97,0 %							

## Komentář ...

Úspěšnost laboratoří v tomto kontrolním cyklu je možné hodnotit jako dobrou, což je nejspíš důsledkem výběru vzorků s jasně definovanou reaktivitou.

Pro optimální ověření stanovení antifosfolipidových protilátek by však bylo vhodné do systému externí kontroly kvality zařadit často diskutované vzorky s nízkou reaktivitou daných analytů – zkušenosti z minulých kontrolních cyklů ale ukazují, že zařazení takových vzorků většinou vede ke stavu, kdy není dosaženo konsenzu.

## Antiphospholipid Syndrome: Association Between Laboratory Tests and Clinical Practice

Monica Galli

Division of Hematology, Ospedali Riuniti, Bergamo, Italy

With respect to anticardiolipin, anti- $\beta$ 2-glycoprotein I, and antiprothrombin antibody measurement, the situation is not better. Most laboratories now commonly use the so-called "Harris" or "Louisville" standards and express anticardiolipin results in units, even though a multicenter study did not show any advantage [28]. Despite several standardization workshops on anticardiolipin antibodies have been performed since 1987 [29-32], a recent international survey organized by the European Forum on antiphospholipid antibodies showed an agreement with the "consensus" values of 25% for G and 0% for M anticardiolipin antibodies among 24 Centres [33]. Similar, disappointing results have been

... Co se týče stanovení protilátek proti kardiolipinu,  $\beta$ -2-GPI a protrombinu, není situace lepší. **Většina laboratoří nyní běžně používá tzv. „Harrisovy“ a „Louisvillské“ standardy a vyjadřuje výsledky stanovení antikardiolipinových protilátek v jednotkách, i když multicentrická studie neukázala žádnou výhodu.** Přesto, že od roku 1987 proběhlo několik standardizačních workshopů o antikardiolipinových protilátkách, nedávný mezinárodní průzkum organizovaný Evropským fórem o antikardiolipinových protilátkách, kterého se zúčastnilo 24 mezinárodních center, dosáhl shody s „konsenzuálními“ hodnotami 25% pro IgG a 0% pro IgM. ...

- **E. N. Harris et al. – 1987**

- 30 laboratoří
- 7 vzorků připravených smícháním různých poměrů séra pacienta A (pozitivní ACLA IgG), séra pacienta B (pozitivní ACLA IgM) a séra pacienta N (ACLA negativní)
- **Horší shoda u směsí se slabou reaktivitou ACLA (<15 GPL, <13 MPL)**

- **G. Reber et al. – 1995**

- 9 komerčních kitů, jeden in-house protokol
- 90 kontrolních a patientských sér, 6 standard (Louisville)
- **Zastoupení pozitivit**
  - » IgG: 31 – 60%
  - » IgM: 6 – 50%

- **A. Tincani et al. – 2001**

- 30 expertních center – dotazník: ACLA ELISA – nejčastější testu pacientů se susp. APS, významné rozdíly v jednotlivých protokolech
- Mezilaboratorní porovnávání 10 sér do 24 center – **konsenzuální protokol**, monoklonální standardní séra do 19 laboratoří – **významný pokles variability zejména při použití konsenzuální ELISA**

- **G. Reber et al. – 2002**

- European Group on APLA a standardizační skupina
- 30 vzorků, 6 kalibrátorů – 21 evropských center (6 komerčních souprav, ostatní in-house systémy)
- **Zastoupení pozitivit**
  - » **IgG: 50 – 93%**
  - » **IgM: 13 – 70%**

- **E. J. Favalaro, R. Silvestrini – 2002**

- Quality Assurance Program (Royal College of Pathologists of Australasia) – ACLA, 56 laboratoří, 12 vzorků – 8 komerčních souprav a řada in-house protokolů
- **Celkový konsenzus:**
  - 33% (4/12) pro IgM
  - < 20% (2/12) pro IgG
  - u více jak 50% vzorků nebyl dosažen vůbec

- **M. P. A. Audrain et al. – 2004**

- ACLA, b-2-GPI
- Zastoupení pozitivit IgG ACLA – 18 – 64%

- **V. Pengo et al. – 2007**

- aCLA – 35 laboratoří, 3 vzorky s různou reaktivitou APLA, 3 negativní vzorky
- aCLA – CV ... 79%, 59% resp. 53%
- b-2-GPI – CV ... 85%, 95% resp. 50%

# Shrnutí

- Velká variabilita u slabě pozitivních vzorků
- Ani po zavedení PL jednotek nebylo dosaženo standardizace stanovení ACLA
- Rozdíly cut-off → rozdíly v interpretaci
- Možná bude nutný „krok zpět“ – pozitivní je takový výsledek, který je vyšší než průměr zdravých kontrol o 2,8 SD; čím vyšší než průměr, tím vyšší prediktivní hodnota stanovení (Harris et al.)
- Kvalitativní hodnocení? (slabě pozitivní vzorky považovat podle diagnostických kritérií za negativní)
- Řešení? – Zařazení mezinárodního standardu do každého testu (EHK) pro výpočet podle této reference

# Testované soupravy – přehled

		Auesku Diag.	Genesis	Hycor	OrgenTec	Varelisa	Euroimmun	Binding Site
ACLA	screen		X	X				X
	IgG	X	X	X	X	X	X	X
	IgM	X	X	X	X	X	X	X
	$\beta$ 2-GPI	Navázaný v destičce	Navázaný v destičce	Navázaný v destičce	Navázaný v destičce	Navázaný v destičce	Ve vzorkovém pufru	Navázaný v destičce
anti- $\beta$ 2-GPI	screen					X	X	X
	IgG	X	X	X	X	X	X	X
	IgM	X	X	X	X	X	X	X

# Testované soupravy – normální rozmezí

		Auesku Diag.	Genesis	Hycor	OrgenTec	Varelisa	Euroimmun	Binding Site
ACLA	IgG [GPL U/ml]	0 - 15	0 - 10	0 - 10	0 - 10	0 - 15	0 - 12	0 - 10
	IgM [MPL U/ml]	0 - 15	0 - 10	0 - 10	0 - 7	0 - 15	0 - 12	0 - 10
anti-β2-GPI	IgG [U/ml]	0 - 15	0 - 10	0 - 16	0 - 5	0 - 15	0 - 20	0 - 20
	IgM [U/ml]	0 - 15	0 - 10	0 - 16	0 - 5	0 - 15	0 - 20	0 - 20

# Testované soupravy – zastoupení pozitivních vzorků [%]

		Auesku Diag.	Genesis	Hycor	OrgenTec	Varelisa	Euroimmun	Binding Site
ACLA	IgG	18,2	36,4	54,5	65,0	90,9	9,1	31,8
	IgM	45,5	50,0	68,2	55,0	100,0	31,8	68,2
anti-β2- GPI	IgG	50,0	36,4	63,6	72,7	36,4	22,7	40,9
	IgM	40,9	31,8	63,6	54,5	40,9	59,1	59,1

Min / Max

## Co změnit v SEKK APLA?

- Ověření schopnosti laboratoří otestovat vzorek v závislosti na diagnostických kritériích -> Obnovení kvantitativního (semikvantitativního) hodnocení?
- Standardy Louisville University

## CIK v EHK?

- Zařazení kontroly o známé koncentraci pro výpočet podle této reference
- Stabilitní studie
- Pokus s „dobrovolníky“

Děkuji za pozornost

