



Sanquin

Bloedvoorziening

Standaardisatie van autoimmuunserologie - challenges en pitfalls

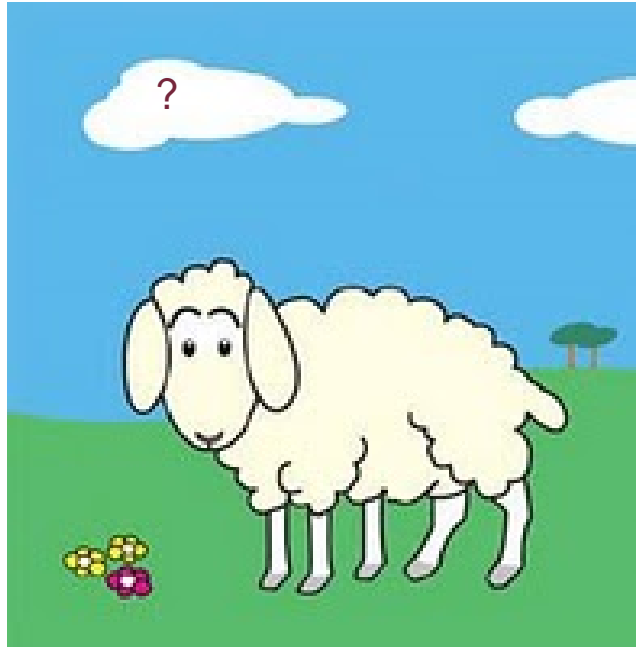
Dörte Hamann, medisch immunoloog

Manager cluster Immunopathologie en Bloedstolling IPB

Sanquin Diagnostiek, Amsterdam

De ideale situatie

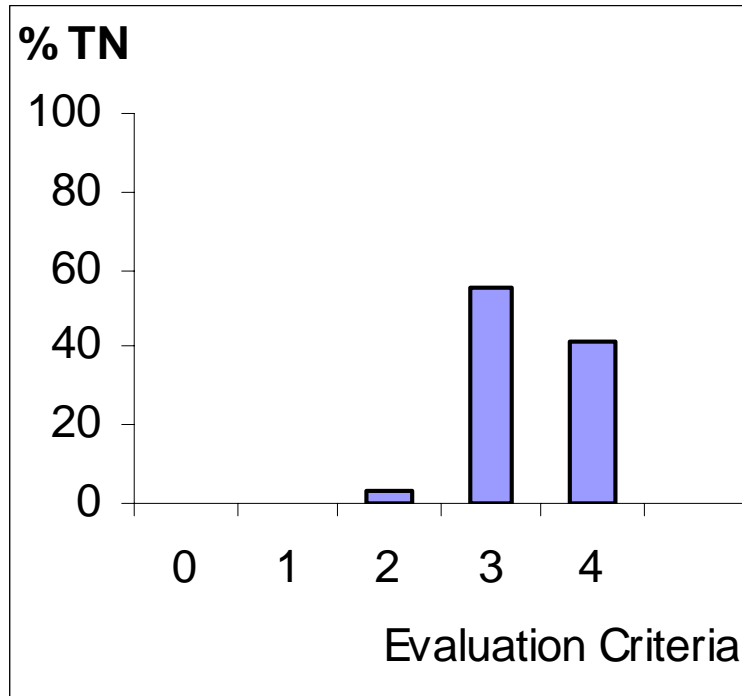
- Resultaat van auto-antistofbepalingen is overal hetzelfde



De reële situatie: Europese rondzending ECFSG

- Serum 9 2003/04
 - Vrouw, 66 jaar
 - Reumatoïde artritis sinds 1994, RF pos., a-CCP negatief, erosies
 - August 2002: start behandeling met a-TNFalpha (infiximab)
 - August 2003, huiduitslag na blootstelling aan zonlicht
 - a-TNFalpha gestopt in december 2003 omdat geen response optrad op 10 mg/kg infiximab
-
- Monster van August 2003
 - Vraag? Heeft patiënte serologische aanwijzingen voor SLE?

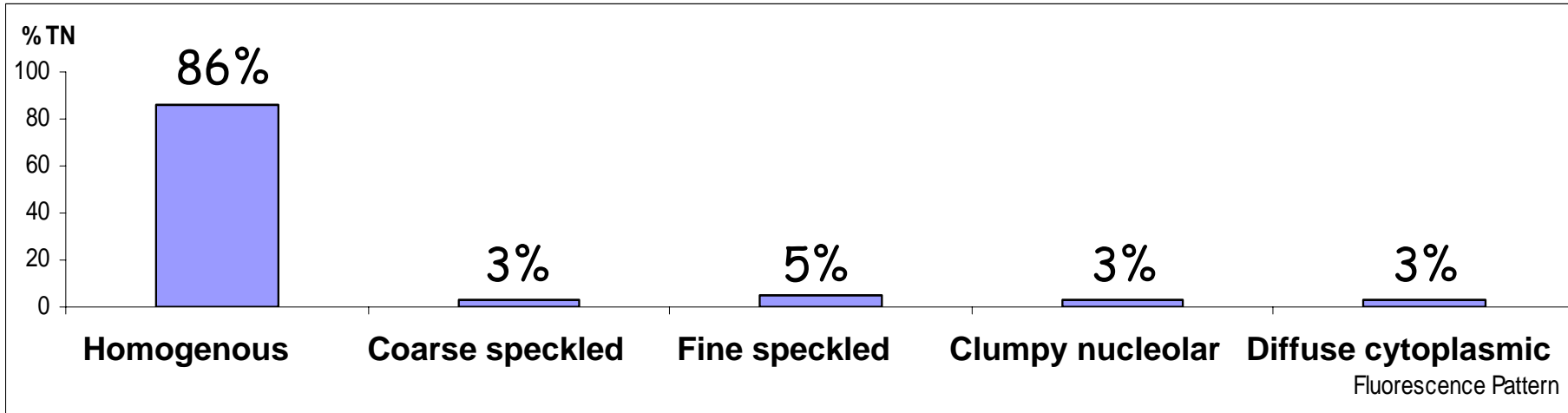
ANA (IIFT) n=36



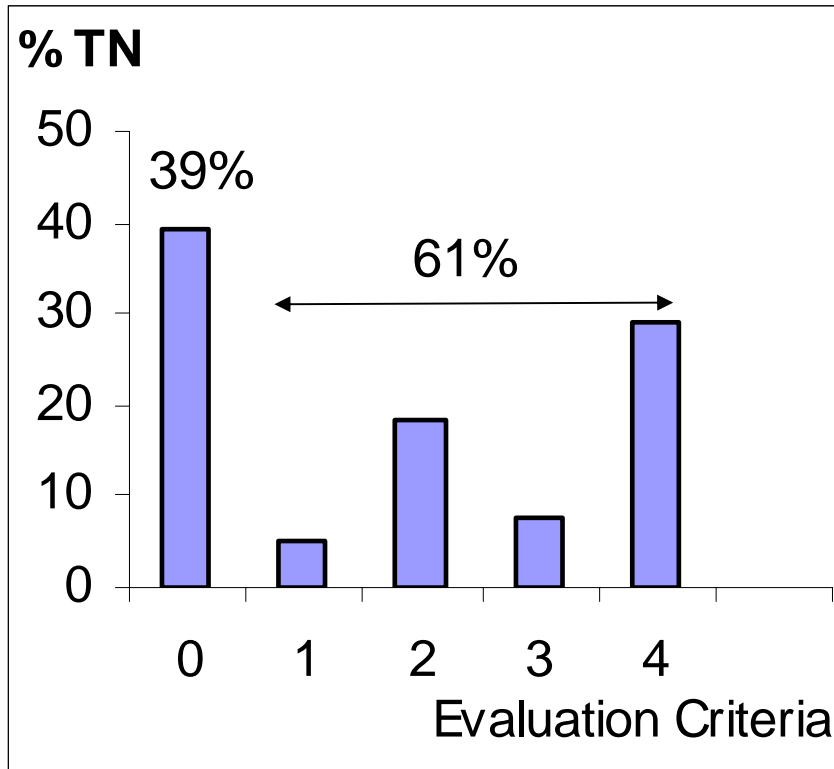
Criteria:

- 0 Negative
- 1 Borderline
- 2 low positive
- 3 positive
- 4 high positive

Fluorescentie patroon n=38



ds-DNA (eindresultaat) n=38

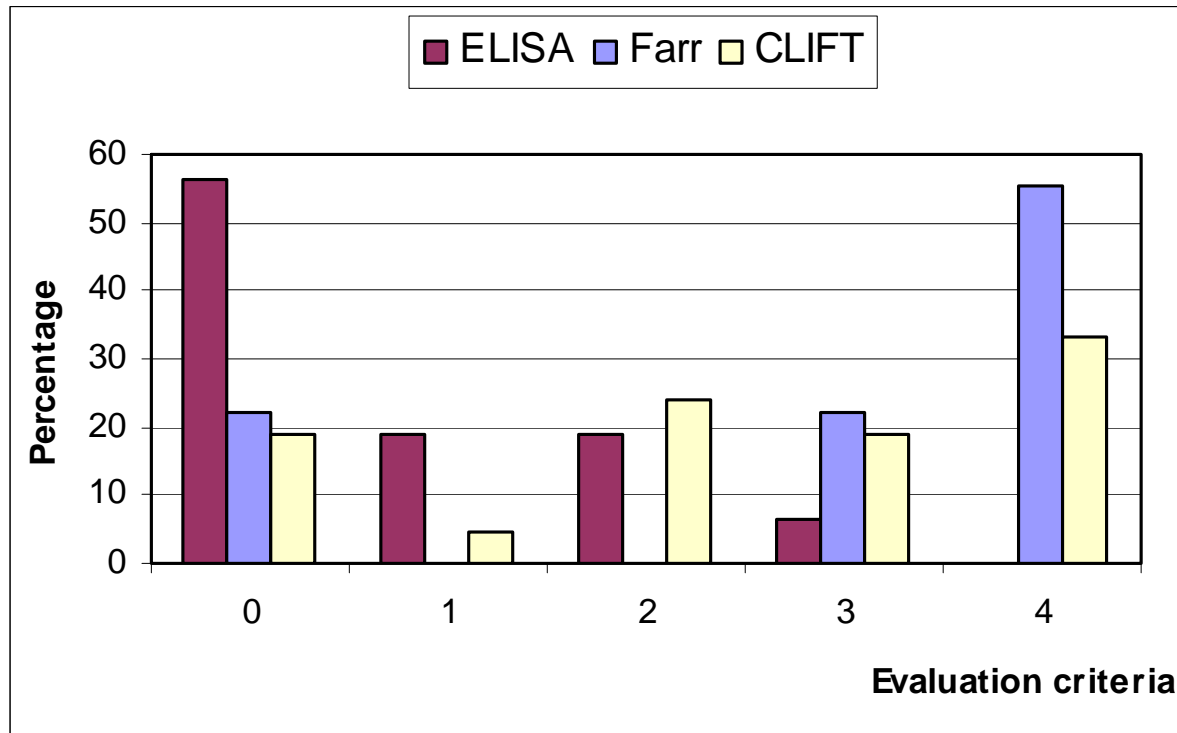


0 Negative 1 Borderline 2 low positive 3 positive 4 high positive

Geen consensus!

- 39% van de labs vindt geen anti-dsDNA
- 61% van de labs vindt wel anti-dsDNA

Verschillende technieken – verschillend resultaat

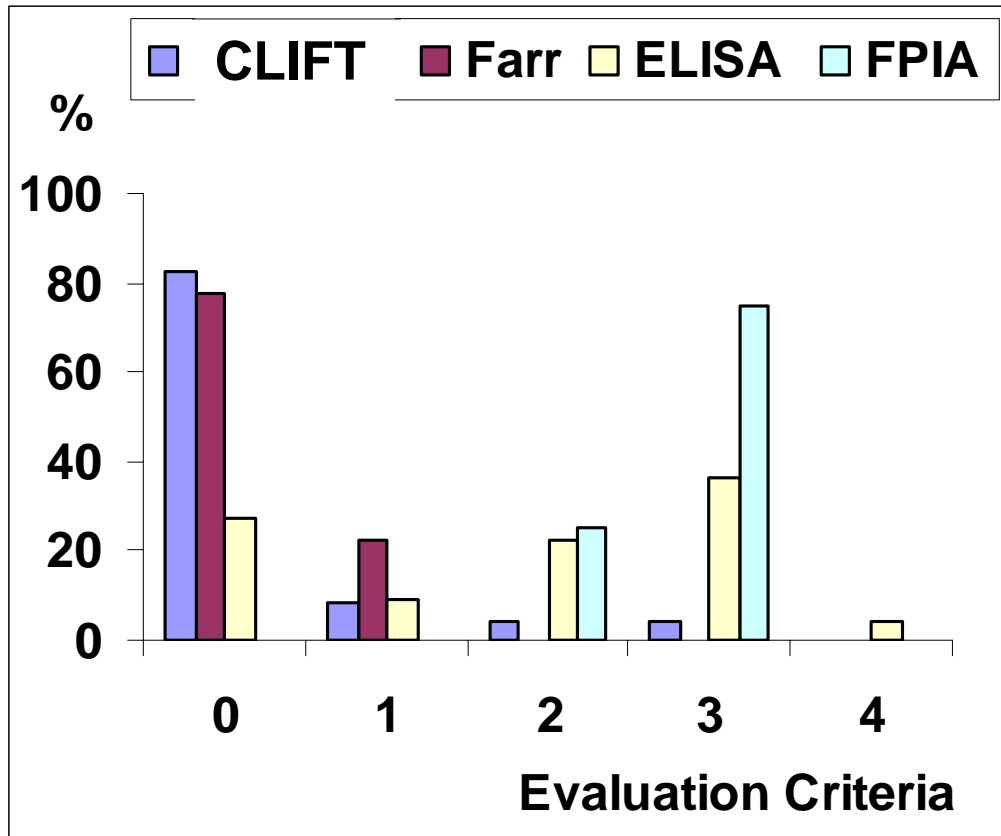


ELISA: n=16

Farr: n=9

CLIFT: n=20

Verschillende technieken – verschillend resultaat



CLIFT n=23

Farr n=9

ELISA n=22

FPIA n=8

Crithidia and Farr negatief

ELISA and FPIA positief

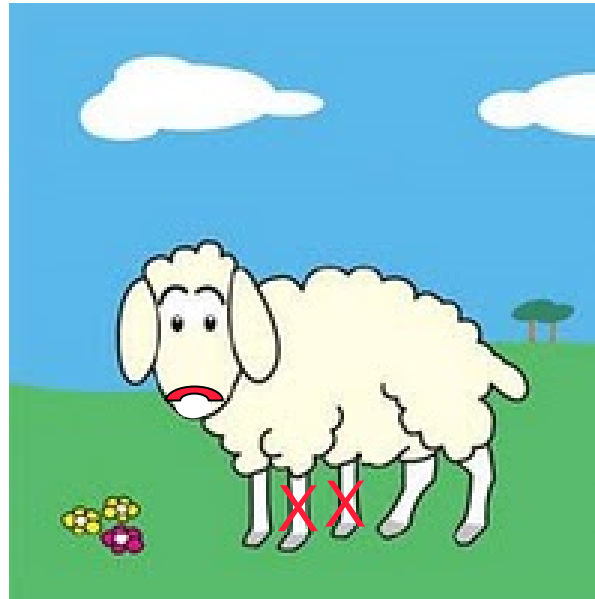
0 Negative 1 Borderline 2 low positive 3 positive 4 high positive

Serum 10
2007/08

Wat nu? Wat is de waarheid?

- Verschillende technieken – verschillend resultaat
 - CLIFT is een semikwantitatieve immunofluorescentietechniek, afhankelijk van de gekozen buffers en zoutsterkte aantonen van laag en/of hoog avide antistoffen, in principe alle Ig isotypen aantoonbaar, vaak alleen IgG
 - Farr is een radio-immuno-assay waarin alleen sterk bindende (hoog avide) antistoffen kunnen worden aangetoond, alle Ig isotypen aantoonbaar
 - ELISA, laag en hoog avide antistoffen, meestal alleen IgG
- Ook binnen een techniek verschillend resultaat
- Nader onderzoek: zowel IgM als IgG anti-dsDNA aanwezig
- Verschil ligt dus niet in de detectie van een subset van antistoffen

De reële situatie: ieder lab meet iets anders



Waarom zijn resultaten van autoantistofbepalingen verschillend?

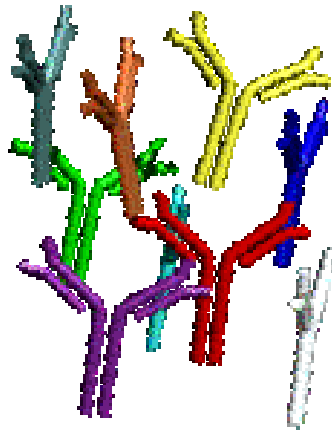
- Geen standaard of standaard is niet commuteerbaar
- Verschil in methodiek
- Verschil in gebruikt autoantigeen

Standaardisatie nodig om te harmoniseren

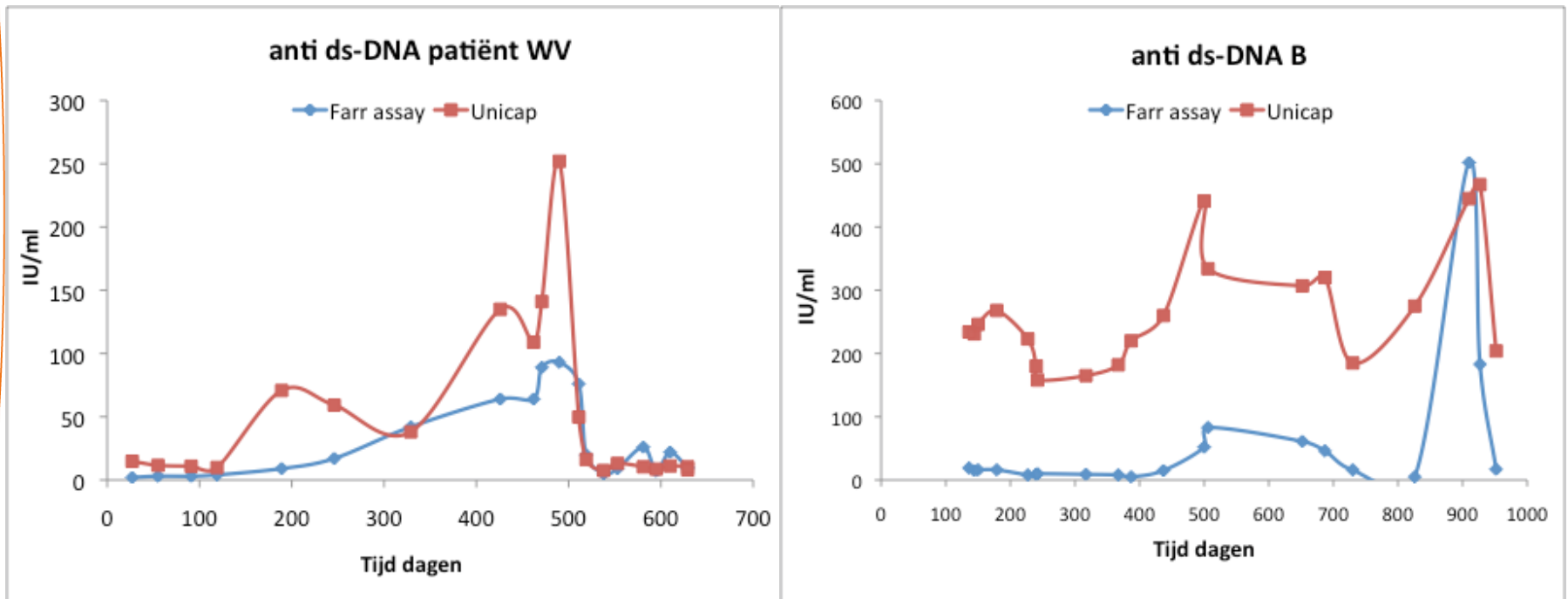
- Wat is de juiste aanpak?
- Beschikbaar stellen van een standaard voldoende?
- Hoe moet een standaard worden gemaakt?
 - Van een enkel patiënt (plasmapheresis)
 - Van meerdere patiënten

Standaarden

- Meeste inspanningen voor harmonisatie zijn gedaan op het gebied van standaarden
- Auto-antistofresponsen zijn polyklonaal, ieder patiënt heeft zijn eigen antistofprofiel, profiel kan veranderen onder therapie



Zelfde standaard WHO-Wo80 – twee technieken



Individuele patiëntensera gedragen zich verschillend

Standaarden

- Voor een aantal auto-antistofbepalingen zijn internationale standaarden beschikbaar
- Standaarden zijn niet per definitie commutteerbaar -> bv anti-beta2GPI, anti-dsDNA en RF!

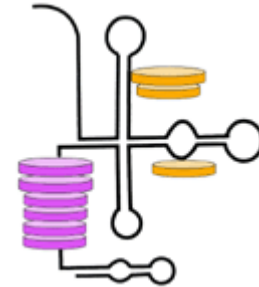
Verskil in methodiek

- Veel verschillende technieken in gebruik
 - Historisch gegroeid
 - Ontwikkeld in onderzoeksinstellingen, door overheid of industrie
 - Geen coördinatie op het gebied van assay-ontwikkeling

- Geen referentiemethode gedefinieerd
 - Voor anti-dsDNA “Gold standard” is Farr assay
 - Technische ontwikkeling gaat richting ELISA

Verskil in gebruikt antigeen

- Verschil in gebruikt autoantigeen
 - Autoantigenen zijn vaak heel complex
- Gebruik van gezuiverd antigeen versus recombinant
- Antigenen zijn niet gestandaardiseerd



U1-RNP

Samenvatting

- Reële doelen van harmonisatie formuleren
 - Kwalitatieve overeenstemming indien toereikend
 - Kwantitatieve overeenstemming waar noodzakelijk
- Beschikbaar stellen van standaardsera nodig maar niet voldoende
- Standardisatie van auto-antigenen
- Definiëren van referentiemethoden

Samenvatting

- In Nederland: Werkgroep Harmonisatie Autoimmuunserologie (WGHAS) van de sectie Humorale Immunologie van de SKML
- Nationale initiatieven niet voldoende -> internationaal:
 - COMMITTEE OF AUTOANTIBODY STANDARDIZATION
INTERNATIONAL UNION OF IMMUNOLOGICAL SOCIETIES
(AutoAb.org) <http://www.dental.ufl.edu/faculty/echan/AASC/home.htm>
 - European Autoimmunity Standardisation Initiative (EASI)
<http://www.easi-network.com/>