

# **Nabespreking SKML rondzendingen**

## **collageen en reuma**

Liesbeth Bakker-Jonges

24 november 2009

# Inhoud

## Nabespreking rondzendingen 2008.1, 2008.2 en 2009.1

- Opvallende resultaten
- Rapportage via Q base: ratio methode

## Collageen

- Wat is ANA?

## Reuma

- Vergelijking Relares referentiepreparaat in verschillende methodes door werkgroep Harmonisatie Autoimmuunserologie

# Nabespreking rondzendingen 2008.1, 2008.2 en 2009.1

# Aantallen deelnemers

			2008.1	2008.2	2009.1
COLLAGEEN			76	76	78
ANA	kwalitatief		67	67	67
	kwantitatief		39	41	45
dsDNA	kwalitatief		63	63	69
	kwantitatief		53	53	60
ENA			53	53	51
ACA	IgM		21	17	26
	IgG		26	21	26
REUMA			92	92	92
Reumafactor IgM	kwalitatief		73	80	80
	kwantitatief		73	80	80
CCP	kwalitatief		60	64	70
	kwantitatief		60	65	68

# Opvallende resultaten in rondzendingen: ANA en dsDNA

## ANA

- verschillen in spreiding worden veroorzaakt door verschil in methodes (IIF en FEIA)
- Sterkte wordt beter gescoord dan patroon

## Anti-dsDNA antistoffen

- Kwalitatief geen groot verschil in consensusresultaten:

2008.1 monster 5 in de categorie “overig” (blot, delfia, luminoscentie) vaak positief, terwijl in FEIA, IFT, RIA en ELISA negatief

2008.2 resultaten van alle categorieën vergelijkbaar

2009.1 monster 3 (referentie cardiolipine IgG) helft van deelnemers positief. Consensus dubieus. IFT methode negatief, FEIA verdeeld.

- Kwantitatief meer verschil tussen methodes

2008.1 methode “overig” lagere ratio's dan de FEIA, IFT, RIA, ELISA

2008.2 Monster 4 veel spreiding: IFT lager dan FEIA, ELISA hoger dan FEIA.

2009.1 Spreiding van de RIA is groot

# Opvallende resultaten in rondzendingen: ENA en ACA

## ENA

2008.1 Veel Scl70 antistoffen, terwijl dit niet klinisch relevant was. Dit betrof overwegend eenzelfde methode.

In drie monsters door 7 labs antistoffen tegen Scl70, ook in twee andere monsters door 1 lab

2008.2 Bij twee monsters grote verschillen in gerapporteerde antistoffen: dit kon worden gekoppeld aan de gebruikte methode.

2009.1 Goede consensus

## ACA

2008.1 Kwalitatief en kwantitatief consensus, maar wel vals positieven  
Vnl. ELISA methode, maar wel 12 verschillende firma's!

2008.2 Geen consensus positieve monsters: zeer wisselende resultaten

2009.1 Referentiepreparaat RELARES positief voor ACA IgG

# Opvallende resultaten in rondzendingen: CCP en reumafactor IgM

## Anti-CCP antistoffen

- 2008.1 Goede consensus: geen uitbijters tussen de twee methodes: FEIA en ELISA
- 2008.2 Kwantitatief iets minder dan 2008.1.
- 2009.1 Monster 4 in FEIA positief en ELISA negatief. Klinisch uiteindelijk wel RA

## Reumafactor IgM

- 2008.1 zonder omrekening naar relatieve eenheden  
monster 2 veel vals-negatieve resultaten, maar ook een zwak positief monster  
ELISA lijkt lager te scoren dan nefelometer/turbidometer
- 2008.2 monster 5 (RA in klinische remissie) had geen consensus over aan- of afwezigheid antistoffen. Er was geen duidelijke correlatie met gebruikte methode.
- 2009.1 Monster 6 geeft bij alle methoden grote spreiding en komt net op consensus positief (ratio 1.2)

# Q base-rekenmethode

## Rekenen met ratio

- Vergelijken resultaten positieve monsters van verschillende methodes met verschillende eenheden
- Rekenen met cut-off-waarde van eigen test
- Omrekenen “achter de schermen”

$$\text{Ratio} = \text{uitslag} / \text{cut-off}^*$$

*\*Cut-off waarde*

= *laagste kwantitatieve waarde  
die de deelnemer als positief interpreteert*



# Resultaten straks in Q base

## Parameters

- Spreiding tussen de labs: gepoolde SD
- Nauwkeurigheid / sensitiviteit: gemiddelde Z-score
- Reproduceerbaarheid: SD Z-scores
- Totalscore: eindcijfer

$$Z - score = \frac{\textit{individued resultaat} - \textit{consensus waarde}}{S.D.}$$

# Vragen?

## Vragen/opmerkingen:

- Monsterverzending
- Vakinhoudelijk
- Q base

Mail naar:

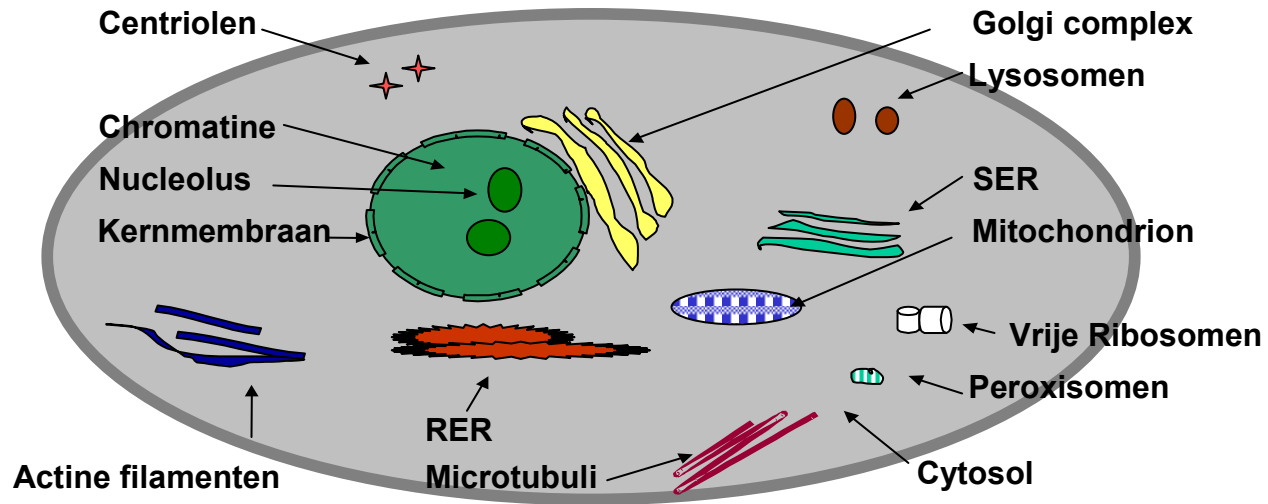
[office@skml.nl](mailto:office@skml.nl)

**Wat is een ANA?**

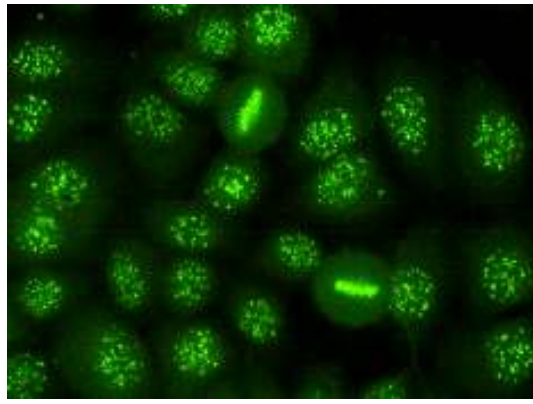
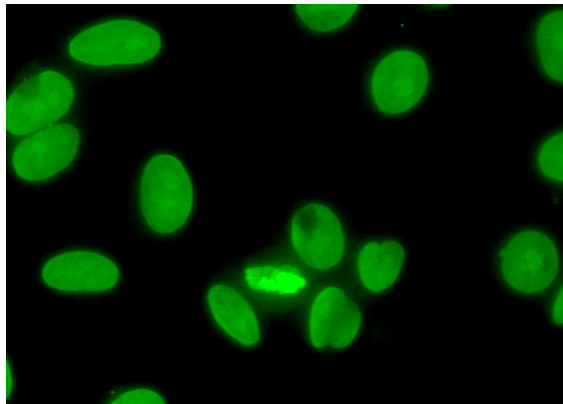
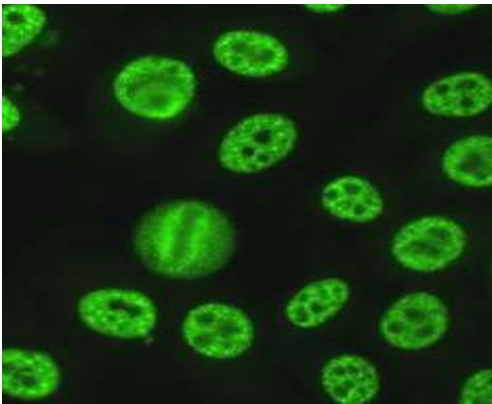
# Bepaling van anti-nucleaire antistoffen

Method	Firma	Aantal	
IIF	BMD	22	
	Immunoconcepts	14	
	Euroimmun	4	
	INOVA	1	
	Home made	2	
	Agnos	2	N=45
ELISA	Diamedix	1	
	Biorad	1	
	Siemens	1	
	Agnos	1	N=4
FEIA	Phadia	19	N=19

# ANA in IIF



Hep2 cellen  
Hep2000 cellen  
Lever



100-150 antigenen

# “ANA” in ELISA/ FEIA

Firma	Test	Antigenen
Diamedix	ANA detect	Gezuiverde antigenen SS-A (52+60),SS-B,RNP/Sm,RNP (A,C,70),Sm (B,D,E,F,G),Scl70,Jo-1, dsDNA,ssDNA, polynucleosomes, mono-nucleosomes, histone-complex. Histon(H1,H2B,H3,H4), PM-SCL-100, Centromere B
Euroimmun	ANA screen	Native antigens: dsDNA, histone, nRNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Jo-1, Ribosomaal P, Centromeer
Agnos	?	?
Biorad	ANA screen	Gezuiverd dsDNA, histonen, SS-A, SS-B,Sm, Sm/RNP,Jo-1, Scl70, centromeer en andere antigenen geextraheerd uit HEpcellen
Phadia	ELiA Symphony	Recombinant U1RNP, RNP70, SS-A,SS-B, Scl70, CenpB en Jo-1

# ANA als diagnostische parameter

## Rol bij systemische autoimmuunziekten

- Een van de criteria bij SLE, los van specifieke ANA (Sm, dsDNA)

35% van de SLE patiënten is ANA-IIF positief, maar negatief voor ENA/  
specifieke ANA

- MCTD

Hele hoge titer ANA voor diagnose belangrijk, maar niet altijd RNP  
specificiteit

# Aanbevelingen door American College of Rheumatology

- IIF ANA assay is de gouden standaard voor het testen van ANA
- Laboratoria moeten aan kunnen tonen dat, als er een andere test voor ANA gebruikt wordt dan de IIF, de sensitiviteit en specificiteit hetzelfde of beter is dan de IIF test
- Home made testen voor ANA, dsDNA en ENA moeten worden gestandaardiseerd volgens (inter)nationale standaarden
- **Methode van ANA moet worden gemeld aan kliniek**



# Conclusie

- Realiseren dat ANA met andere methode dan IIF antigenen mist.
- Methode van ANA moet worden gemeld aan kliniek
- Voor rondzending:  
Er is ook mogelijkheid om een ENA screen in te vullen.  
In de toekomst daar ook op scoren.

RELARES referentiepreparaat in verschillende methodes  
Is standaardisatie mogelijk?

# Vraag

Harmoniseert het gebruik van een referentiepreparaat bij de bepaling van reumafactoren en CCP antistoffen de resultaten?

Resultaten in samenwerking met de werkgroep Harmonisatie

# Opzet

- RELARES preparaat is getest in de rondzending reuma 2008.1
- Resultaten van rondzending per methode en/of apparaat op een rij gezet
- Berekenen of CV verbetert als RELARES preparaat als referentie wordt gebruikt

# Methoden bepaling reumafactoren

Methode	N	Gemiddelde voor RELARES preparaat	standaarddeviatie	CV(%)
Agglutinatie	4	17	10	61
ELISA	16	18	8	46
Nefelometrisch	21	18	6	36
<i>Beckman</i>	12	16	5	31
<i>Dade</i>	8	21	6	30
Turbidimetrisch	36	20	13	65
<i>Beckman</i>	5	12	3	23
<i>Roche</i>	22	21	10	47
<i>Abott</i>	5	13	4	34

# RELARES preparaat verbetert CV bij bepaling reumafactoren op apparaat

CV(%)	RELARES	monsterC	monsterD	monsterC/ RELARES	monsterD/ RELARES	monsterC/ monsterD
	Alle methoden	53	47	78	50	54
Automaten (turbidimetrisch/ nefelometrisch)	34	33	29	20	28	28

# Methoden bepaling CCP antistoffen

Methode		N	Gemiddelde voor RELARES preparaat	standaarddeviatie	CV(%)
ImmunoCAP	Phadia	4	40	16	39
ELISA	Eurodiagnostica	16	28	158	53
Overig		21	31	17	55

# RELARES preparaat en willekeurig monster verbetert CV bij bepaling CCP antistoffen bij iedere methode

CV(%)	RELARES monster		willekeurig monster			
	monsterD	monsterB	monsterD/ RELARES	monsterB/ RELARES	monsterD/ monsterB	
Alle methoden	49	78	62	30	12	31
Phadia en Eurodiagnostica	46	74	68	2	17	15



# Conclusie

- Referentiepreparaat kan worden gebruikt voor harmonisatie van methoden bij de bepaling van reumafactor en misschien voor CCP
- Rondzendmonster verbetert CV voor resultaten CCP: matrixeffect?
- Voorkeur verdient een preparaat dat goed gedefinieerd is

## Toekomst

Per individueel laboratorium bekijken of gebruik referentiepreparaat voordelen oplevert bij harmonisatie van resultaten

# Met dank aan:

Wil van Beers

Ron Meier

Diana Dufour-Van den Goorbergh

Herbert Hooijkaas

Werkgroep Harmonisatie-HIM SKML

Sectie HIM-SKML