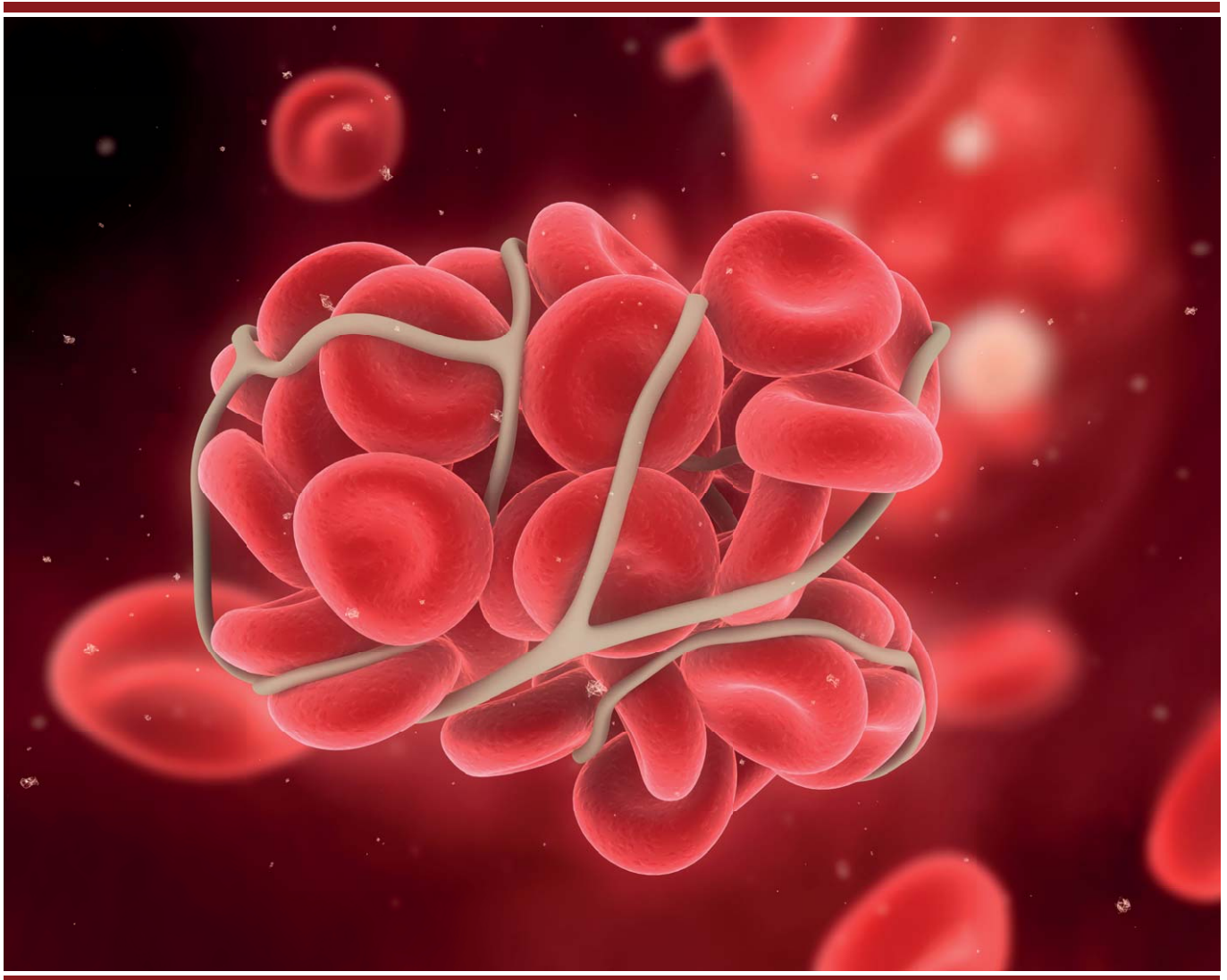




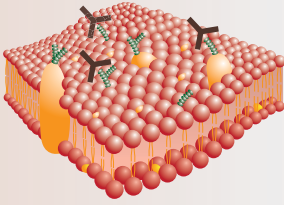
Antiphospholipid-Syndrom

EUROIMMUN-ELISA zur Bestimmung von
Autoantikörpern gegen Phospholipide



- **Hochspezifisch** – auch in kritischen Kontrollkollektiven (z. B. Lues, Hepatitis und Parvovirus B19)
- **Hohe Sensitivität** in Übereinstimmung mit Antikörper-Prävalenzen in internationalen Metastudien (Cevera et al., 2002)
- Alle im internationalen Konsensus-Statement (Lakos et al., 2012) empfohlenen Ig-Klassen einzeln verfügbar
- **Zuverlässige und vollständige Automatisierung** auf EUROIMMUN Analyzer I und I-2P

Phospholipide



Unter dem Begriff Phospholipide werden verschiedene phosphorhaltige Lipide zusammengefasst. Sie bilden als „Doppellipidschicht“ den **Hauptbestandteil der Zellmembran**. Darüber hinaus fungieren sie bei der **Blutgerinnung** als reaktive Oberflächen und ermöglichen so die Ausbildung von Multienzymkomplexen der Gerinnungskaskade. Zu den wichtigsten Phospholipiden zählen Cardiolipin und Phosphatidylserin.

Antiphospholipid-Antikörper



Antiphospholipid-Antikörper (APLA) sind eine sehr heterogene Gruppe von Antikörpern, die sich gegen verschiedene Phospholipide oder Plasmaproteine richten. Zielantigene sind vor allem Cardiolipin und Phosphatidylserin, aber auch Proteine, wie das β_2 -Glykoprotein 1 oder Prothrombin, die als Phospholipid-bindende Cofaktoren fungieren. In einigen Fällen richten sich die Antikörper auch gegen Neoepitope, welche bei der Bildung eines Komplexes z.B. von Cardiolipin und β_2 -Glykoprotein 1 entstehen. Wird ein Antiphospholipid-Syndrom vermutet, sind im Wesentlichen drei Substanzklassen diagnostisch bedeutsam: **Antikörper gegen Cardiolipin und β_2 -Glykoprotein 1 (β_2 GP1)** sowie Lupus Antikoagulans.

Antiphospholipid-Syndrom



Das **Antiphospholipid-Syndrom (APS)** zählt zur Gruppe der Autoimmunerkrankungen. Der Körper bildet Antikörper gegen Phospholipide und assoziierte Proteine, wodurch sich ein breites Spektrum an klinischen Symptomen entwickeln kann. Charakteristisch sind eine **erhöhte Thromboseneigung und Schwangerschaftskomplikationen**. Von den Gefäßverschlüssen können sowohl Venen als auch Arterien betroffen sein. Am häufigsten sind Beinvenen-Thrombosen und Lungenembolien. Bei Schwangeren ist das APS mit einem deutlich erhöhten Risiko für das Auftreten von Komplikationen wie Spontanaborten oder Frühgeburten verbunden. Treten bei einer Frau wiederkehrende Fehlgeburten ohne erkennbare Ursache auf, sollte an ein APS gedacht werden.

Beim APS wird unterschieden zwischen dem primären und dem sekundären APS. Ein primäres APS tritt ohne Begleiterkrankung auf. Treten APLA in Kombination mit anderen Autoimmunerkrankungen auf, spricht man von einem sekundären APS. Dieses tritt vor allem bei Kollagenosen auf – zumeist bei systemischem Lupus erythematodes, seltener bei Sklerodermie oder Sjögren-Syndrom.

Testsysteme



Für den Nachweis der APLA ist der ELISA die Methode der Wahl, da er hochsensitiv ist, einfach durchgeführt werden kann und kein frisches Plasma benötigt. EUROIMMUN bietet **Mikrotiter-ELISA** zur quantitativen Bestimmung von Autoantikörpern gegen **Cardiolipin (ACA), β_2 -Glykoprotein 1 und Phosphatidylserin** an, bei denen die Immunglobulin-Klassen IgA, IgG und IgM separat oder gemeinsam (IgAGM) untersucht werden können.

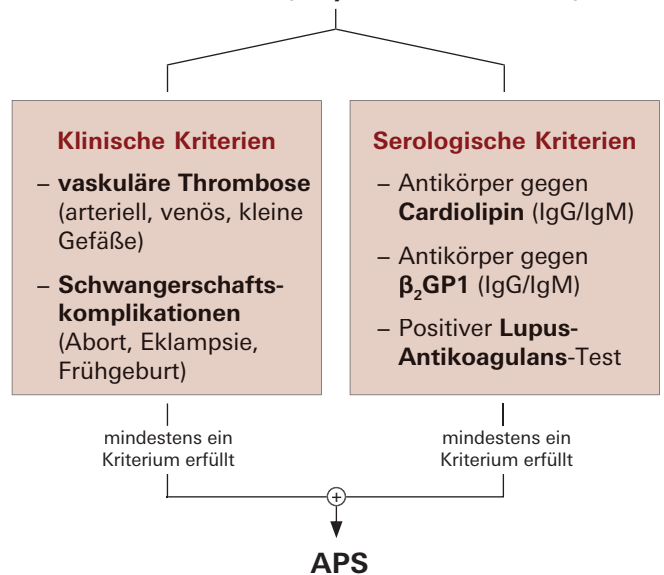
Alternativ kann auch Lupus Antikoagulans über einen Test nachgewiesen werden, bei dem eine Verlängerung der Gerinnungszeit gemessen wird. Die dafür verwendeten Testsysteme weisen eine hohe Spezifität für APS auf, sind jedoch weniger sensitiv als die Autoantikörper-ELISA. Darüber hinaus ist der Nachweis komplex und aufwendig durchzuführen – im Gegensatz zu den APLA-ELISA, die sowohl manuell als auch vollautomatisch abgearbeitet werden können.

Die APS-Klassifikationskriterien

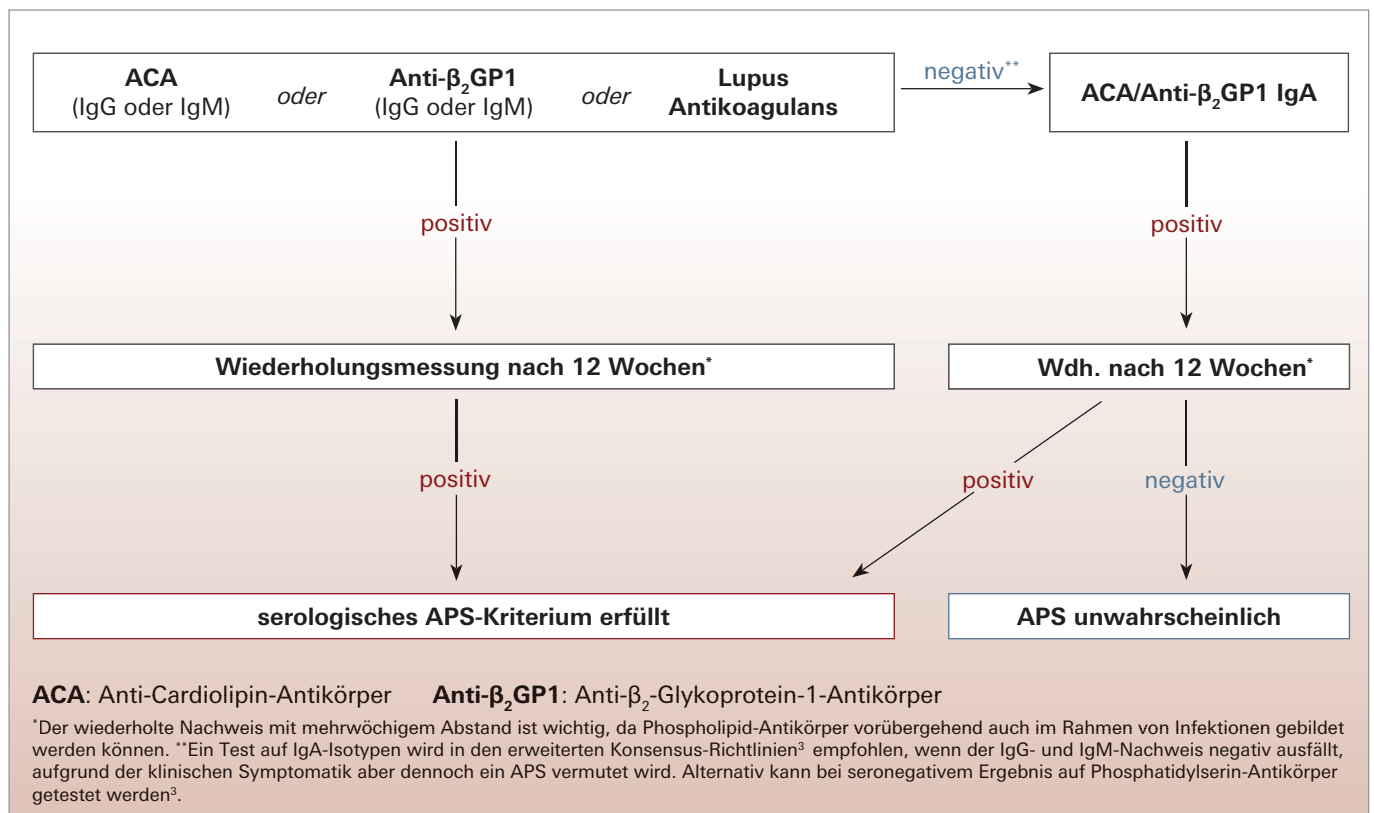
Offizielle Klassifikationskriterien für das Anti-Phospholipid-Syndrom wurden erstmals 1998 auf einem Workshop im Anschluss an das „8th International Symposium on Antiphospholipid Antibodies“ in Sapporo, Japan formuliert („**Sapporo-Kriterien**“)¹. Gemäß diesen gilt ein APS als erwiesen, wenn jeweils mindestens ein klinisches und ein serologisches Kriterium erfüllt sind. Bei der Aktualisierung der Kriterien 2006 („**Miyakis-Kriterien**“)² wurden Antikörper gegen β_2 -Glykoprotein 1 ergänzt (siehe Abbildung).

Für die **Erfüllung der serologischen Kriterien** wird somit der Nachweis mindestens einer der drei folgenden Parameter empfohlen: **Antikörper gegen Cardiolipin** oder **β_2 -Glykoprotein 1 (Ig-Klassen G oder M)** oder ein positiver **Lupus-Antikoagulans (LA)-Test**. Gemäß den Klassifikationskriterien muss der jeweilige serologische Befund nach 12 Wochen durch einen erneuten Test bestätigt werden. In der Erweiterung der Kriterien 2012 wird zudem empfohlen, bei einem negativen ACA- oder Anti- β_2 GP1 Nachweis für IgG und IgM zusätzlich Antikörper der Klasse IgA zu untersuchen (siehe Abbildung unten).

APS-Kriterien (Miyakis et al., 2006)



Diagnostik-Strategie



Literatur:

¹ Wilson W et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome, Arthritis Rheum 1999

² Miyakis S et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS), J Thromb Haemost 2006

³ Lakos G et al. International Consensus Guidelines on Anticardiolipin and Anti- β_2 -Glycoprotein I Testing, Arthritis Rheum 2012



Studiendaten zu den EUROIMMUN-Testsystemen

Die EUROIMMUN-ELISA zur Detektion von Antikörpern gegen Cardiolipin und β_2 GP1 zeigen in klinischen Studien eine hohe Spezifität. Seren von Patienten mit Virus-Hepatitis, Parvovirus-B19-Infektionen und von gesunden Blutspendern ergaben nur in 0–2% der Fälle positive Ergebnisse. In Studien mit Mitbewerber-Testsystemen wurden deutlich höhere Werte (bis zu 50%) gemessen. Im Rahmen einer Syphilis-Erkrankung kann es auch zur Bildung von APLA kommen, was das gehäufte Auftreten von ACA und Anti- β_2 GP1 erklärt. Das Vorkommen beider Autoantikörper bei APS und SLE entspricht den Daten in der aktuellen Literatur. Insbesondere bei den Prävalenzen von ACA wurde eine sehr hohe Übereinstimmung mit einer internationalen Metastudie⁴ gefunden.

⁴Cervera R. et al., Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients; Arthritis and Rheumatism 2002

| Kollektiv | n | ACA positiv (IgG und/oder IgM) | Anti- β_2 GP1 positiv (IgG und/oder IgM) | Literatur |
|-----------------------------|-----|--------------------------------|------------------------------------------------|------------|
| APS | 26 | 86% | 86% | 40-90% |
| SLE | 347 | 24% | 25% | 20-40% |
| Syphilis | 45 | 11% | 13% | bis zu 50% |
| Virus-Hepatitis | 336 | 2% | 1% | bis zu 50% |
| Anti-Parvovirus-B19 positiv | 42 | 0% | nicht bestimmt | 20-30% |
| Gesunde Blutspender | 504 | 0,6% | 0,4% | bis zu 12% |

Der EUROIMMUN Anti-Cardiolipin-ELISA im Vergleich mit Mitbewerber-Testsystemen

In einer Vergleichsstudie zu Anti-Cardiolipin-ELISA zweier Mitbewerber konnte gezeigt werden, dass der ELISA von EUROIMMUN die höchste Spezifität (100%) bei gleicher Sensitivität (93%) aufweist.

*grenzwertige Seren wurden als positiv gezählt, **grenzwertige Seren wurden als negativ gezählt

| Anti-Cardiolipin-ELISA (IgG und/oder IgM) | | |
|-------------------------------------------|------------|--------------|
| | Spezifität | Sensitivität |
| EUROIMMUN | 100% | 93% |
| Mitbewerber A | 96% | 93% |
| Mitbewerber B | 82*/59**% | 93*/86**% |

| Spezifität des Anti-Cardiolipin-ELISA (IgG und/oder IgM) | | | |
|----------------------------------------------------------|-------------|-----------|---------|
| Kontrollen (n = 142) | | EUROIMMUN | |
| | | positiv | negativ |
| Mitbewerber A | positiv | 0 | 6 |
| | negativ | 0 | 136 |
| Mitbewerber B | positiv | 0 | 25 |
| | grenzwertig | 0 | 34 |
| | negativ | 0 | 83 |

| Sensitivität des Anti-Cardiolipin-ELISA (IgG und/oder IgM) | | | |
|------------------------------------------------------------|-------------|-----------|---------|
| APS (n = 29) | | EUROIMMUN | |
| | | positiv | negativ |
| Mitbewerber A | positiv | 26 | 1 |
| | negativ | 1 | 1 |
| Mitbewerber B | positiv | 25 | 0 |
| | grenzwertig | 1 | 1 |
| | negativ | 1 | 1 |

Prävalenzen der Autoantikörper gegen Cardiolipin und β_2 GP1 in APS-Patienten

Mit dem Nachweis von Anti-Cardiolipin- bzw. Anti- β_2 GP1-Antikörpern der Klassen IgA, IgG und IgM konnten in einer Studie 86% der APS-Patienten erfasst werden. Die zusätzliche Untersuchung von IgA führte bei Anti- β_2 GP1 zu einer Erhöhung der serologischen Trefferquote um 19% im Vergleich zur Untersuchung von IgM und IgG. Die höchste Sensitivität wurde durch eine gleichzeitige Untersuchung von ACA und Anti- β_2 GP1-Antikörpern erzielt, bei der 100% der APS-Patienten serologisch erfasst werden konnten (Daten nicht gezeigt).

| Ig Klasse | Prävalenz | |
|-----------------|---------------------|------------------------|
| | Anti-Cardiolipin-Ak | Anti- β_2 GP1-Ak |
| IgA | 0% | 19% |
| IgG | 48% | 10% |
| IgM | 10% | 19% |
| IgG + IgM | 86% | 67% |
| IgA + IgG + IgM | 86% | 86% |

Produktübersicht

Alle drei ELISA-Systeme haben die gleichen Inkubationsbedingungen und -zeiten. Sie können zur Bestimmung der verschiedenen Immunglobulin-Klassen auf einer Mikrotiterplatte miteinander kombiniert werden.

| Antikörper gegen | Ig-Klassen | Bestell-Nummer |
|---------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| Anti-Cardiolipin | IgA, IgG, IgM, IgAGM | EA 1621-9601 A, G, M oder P |
| Anti- β_2 -Glykoprotein 1 | IgA, IgG, IgM, IgAGM | EA 1632-9601 A, G, M oder P |
| Anti-Phosphatidylserin | IgA, IgG, IgM, IgAGM | EA 162a-9601 A, G, M oder P |