

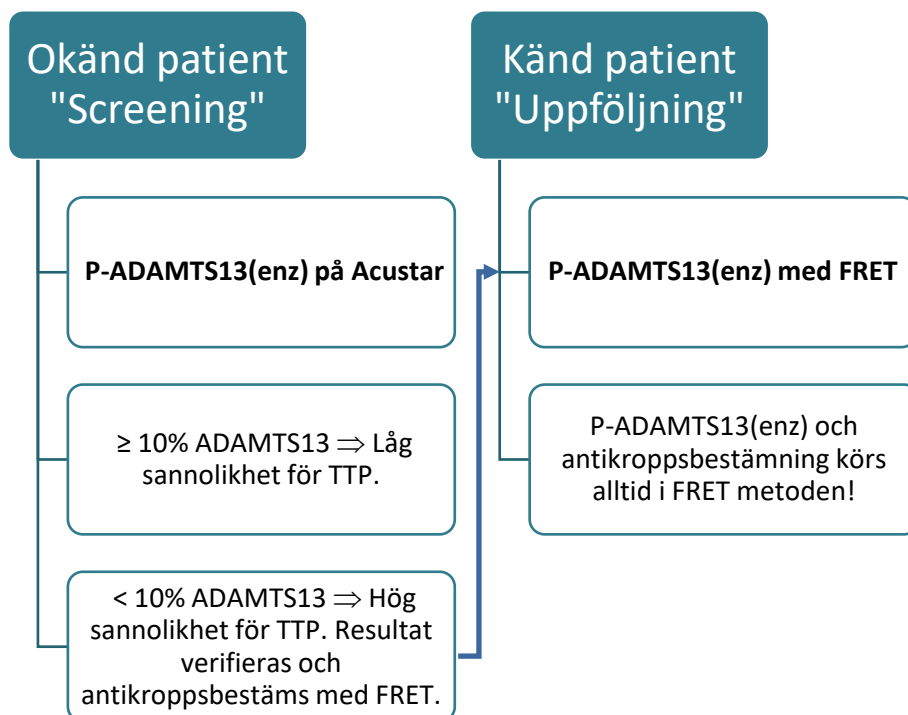
P-ADAMTS13 (enz) screen

Bakgrund

ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 motifs) är ett von Willebrand faktor (VWF) klyvande metalloproteas med en molekylmassa på 190 kDa. Enzymet reglerar mängden av de adhesiva stora VWF multimererna, genom att det spjälkar en bestämd peptidbindning i VWF. Brist på ADAMTS13 innebär att hyperaktiva ospjälkade von Willebrand faktor multimerer, kan bilda trombocyttromber i mikrocirkulationen, vilket visat sig involverat i TTP (trombotisk trombocytopenisk purpura) patogenesen [1-4].

Brist på ADAMTS13 är ärftlig eller förvärvad. Ärftlig brist orsakas av mutationer i ADAMTS13 genen. De flesta patienter med TTP har, till skillnad vid HUS (hemolytisk uremiskt syndrom) och andra trombotiska mikroangiopatier, svår brist på ADAMTS13 (<5% av normal aktivitet). Analysen kan därför användas vid utredning av mikroangiopatier för att utesluta TTP. Förvärvad brist är vanligare och orsakas av autoantikroppar mot ADAMTS13, vilka kan bildas antingen spontant (i ca 30 % av fallen) eller i samband med graviditet, autoimmuna sjukdomar, infektioner och medicinintag. Patienter med familjär TTP svarar oftast på behandling med plasma, medan patienter med förvärvad TTP ofta måste behandlas med plasmaferes för att ta bort antikropparna. Lätt till måttligt sänkta värden (<50%) ses vid svårare sjukdomstillstånd av olika slag, ofta med njurengagemang.

Metoden används för att diagnosticera TTP som medför svår brist på ADAMTS13. Metoden används som en screeningmetod för att snabbt påvisa/utesluta TTP i ett akutläge med en automatiserad metod. Se **figur 1** nedan för flödesdiagrammet för val av ADAMTS13 analys på special koagulation.



Figur 1. Flödesschema över val av analys för ADAMTS13(enz) metod.

Svar/Tolkning/Bedömning

Resultat besvaras i % med 1 decimal. Kontroller hanteras med 1 decimal.

Resultat mindre än 0,2 % besvaras < 0,2 %.

Resultat mer än 150 % besvaras > 150 %.

En fast kommentar lämnas automatiskt till analysen: " ADAMTS13 protein < 10 % (motsvarande 0.10 E/L), d.v.s. kraftigt sänkt, anses specifikt för TTP. Vid resultat < 10 % konfirmeras resultatet samt kompletteras med antikroppsbestämning. Lättmåttligt sänkta värden 10-40 % ses vid olika sjukdomstillstånd. Marginellt sänkta värden mellan 40-60 % utgör en gråzon. Analysinformation finns på: www.skane.se/labmedicin."

Vid resultat < 10 % verifieras resultatet med P-ADAMTS13 ak (enz) med FRET metod [C-2067](#).

Vid misstanke om närvaro av antikroppar kvantifieras dessa även med FRET metoden.

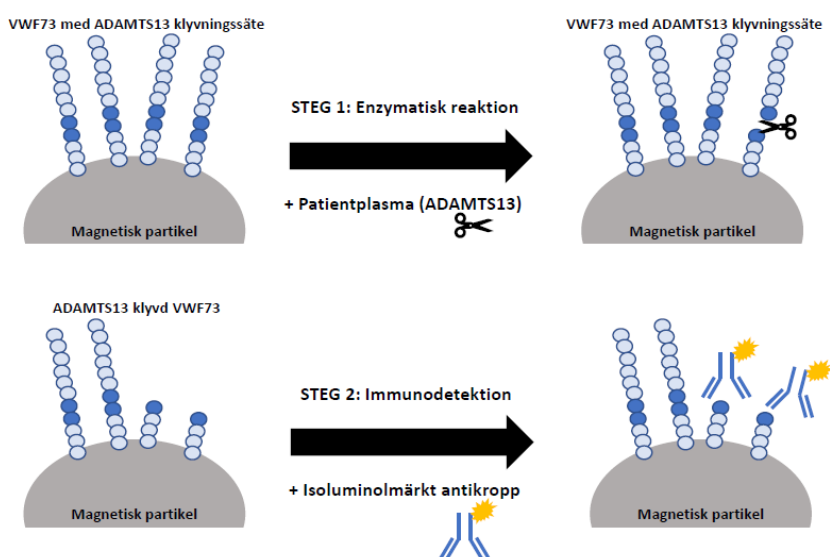
Vid resultat > 10 % kan antikroppar avbeställas i samråd med ansvarig personal.

Har beställaren kryssat i önskan om antikroppar måste analysen beställas och besvaras med kommentar K8439: "Analysen är avbeställd pga hög aktivitet av proteinet och därmed låg sannolikhet att antikropp föreligger." Då ska även debiteringen ändras i LIMS genom att dubbelklicka i D-fältet och ändra från Y (Debitering JA) till N (Debitering NEJ), se bild nedan.

Resultat	<>	Ref.intervall	Enhet	P	Rs	R	D	Tg	IS	Rt	CtT	AK	Analy
			g/L		I	Y	Y	Y				E	
					I			Y				E	

Metodik/mätprincip

Analysen bestämmer koncentrationen av enzymatiskt aktivt ADAMTS13 i plasma. Principen är baserad på en immunoassay metod i uppdelad i två steg; varav en enzymatisk reaktion och en immunodetektion med efterföljande chemiluminiscent detektion (se **figur 2** nedan). Steg 1: Patientplasma blandas med buffert och magnetiska partiklar belagda med ett 73 aminosyra långt peptidfragment av von Willebrand faktor (GST-VWF73) som innehåller spjälkningsstället (Tyr1605Met1606) för ADAMTS13. Partiklarna tvättas och separeras. Steg 2: Partiklarna från steg 1 tillsätts en monoklonal antikropp, märkt med isoluminol, som binder in till den klyvda peptiden. Partiklarna separeras och tvättas igen och två triggers tillsätts som möjliggör chemiluminiscent detektion och mätning som relative light units (RLU) i instrumentet. RLU är direkt proportionell mot ADAMTS13 aktiviteten i plasmaprovet.



Figur 2. Analysprincip för bestämningen av ADAMTS13 aktivitet på Acustar

Interferenser/Felkällor

Ingen interferens upp till 500 mg/dL hemoglobin, 18 mg/dL bilirubin och 1250 mg/dL triglycerider. Granska provet för HIL. Vid misstanke om hemolys eller lipemi analysera dessa (H och L) på Sysmex CS-5100. I-index mäts inte. Omräknat på Sysmex CS-5100 är H-index 5 och L-index 5. Vid hög interferens rådgör med d-BMA, metodansvarig eller medicinskt ansvarig. Vid stark interferens och Adamts13 resultat <20 %, behöver resultatet godkännas av ansvarig personal på bedömningen. Ingen interferens upp till 1 ug/mL human anti-mus antikroppar (HAMA) och 2 kIE/L ofraktionerat heparin och lågmolekylärt heparin. P-von

Willebrand faktor hämmar kompetitivt spjälkningen av VWF73 och ingen interferens upp till 2 kIE/L VWF. Närvaro av Rheuma-faktor kan orsaka underestimering av ADAMTS13 aktivitet. [6]. Halveringstid för ADAMTS13 enzymet är 2-4 dagar, vilket innebär att det bör ha gått 7 dagar efter given plasmabehandling, innan prov för ADAMTS13 aktivitet tas.

Mätområde

0,2 % – 150 % [6].

Detektionsgräns

0,1 % [6].

Spårbarhet

Metoden är spårbar till det gällande internationella referensmaterialet (12/252) för ADAMTS13 [7].

Mätosäkerhet

Mätosäkerheten uppmättes under inkörning 2022 (en begränsad inkörning som måste fortsätta efter driftstart) till:

Kontrollnivå	CV _{tot} (%)	n
Normal kontroll (≈80 %)	9,6	13
Låg kontroll (≈33 %)	17,0	19

Patologisk kontroll (< 10 %) infördes efter driftsättning från och med 2023 och följs i QM.

Referenslitteratur

1. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin, 10:e utgåvan 2018. Studentlitteratur. Koagulationsrubbnings s. 171-207.
2. Levy GG, Mott DG, Ginsburg D. ADAMTS13 turns 3. Blood 2005; 106: 11-17.
3. Lämmle B, Kremer Hovinga JA, Alberio L. Thrombocytic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost 2005; 1663-75.
4. Gøtze JP, Lindblom A, Björk P, Nielsen LB, Strandberg K, Manea M, Hillarp A. ADAMTS 13-aktör och markör vid trombotisk mikroangiopati, Läkartidningen 2008; 15:1092-5.
5. Dimopoulos K, Gøtze JP. Automatiseret kvantificering af ADAMTS13 aktivitet ved mistanke om Trombotisk Trombocytopenisk Purpura, Klinisk Biokemi i Norden 2022;1.
6. HemosIL AcuStar ADAMTS13 Activity Insert 0009802048.
7. Hubbard AR et al. Subcommittee on von Willebrand Factor. Establishment of the WHO 1st International Standard ADAMTS13, plasma (12/252): communication from the SSC of ISTH. J Thromb Haemost. 2015;13:1151-1153.
8. Instrumenthandhavande Acustar dok id 22-268.