

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ  
ORIGINAL ARTICLES

ИЗСЛЕДВАНЕ В СРАВНИТЕЛЕН ПЛАН НА АВТОАНТИТЕЛА, НАСОЧЕНИ  
СРЕЩУ ЦИТРУЛИНИРАНИ ПЕПТИДИ (ANTI-CCP2 и ANTI-MCV АНТИТЕЛА)

Е. Иванова-Тодорова<sup>1</sup>, Д. Кюркчиев<sup>1</sup>, С. Маринчева<sup>2</sup>, Р. Рашков<sup>2</sup> и И. Алтънкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория по клинична имунология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ – София

<sup>2</sup>Клиника по ревматология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ – София

COMPARISON OF TWO ELISA METHODS (ANTI-CCP2 AND ANTI-MCV) FOR  
THE DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST CITRULLINATED PEPTIDES

E. Ivanova-Todorova<sup>1</sup>, D. Kyurkchiev<sup>1</sup>, S. Marincheva<sup>2</sup>, R. Rashkov<sup>2</sup> and I. Altankova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Clinical Immunology, UMHAT "Sv. Iv. Rilski" – Sofia

<sup>2</sup>Clinic of Rheumatology, UMHAT "Sv. Iv. Rilski" – Sofia

**Резюме.** Автоантителата, насочени срещу цитрулинирани протеинови антигени (ACPA), играят важна роля в патогенезата на ревматоидния артрит (РА) и са част от серологичните критерии, препоръчани от EULAR. Целта на изследването е да се сравнят два комерсиални теста за ACPA по отношение на честота на положителните резултати, чувствителността, специфичността, положителната и отрицателната предиктивна стойност (PPV, NPV). Изследвани са серуми от 65 болни с различни ставни оплаквания и 20 здрави лица. Пациентите бяха разпределени в 3 групи: 1 – с диагноза РА, 2 – с РА с други аутоимунни болести и 3 – с други ставни прояви (анкилозиращ спондилит, подагра, остеоартроза). Изследването беше извършено с два търговски теста: anti-MCV, Orgentec, с автоматичен имуоанализатор „Alegria“, Orgentec, и anti-CCP2 ELISA, Axis Shield, и получените данни бяха обработени статистически. Най-висока честота на анти-MCV и анти-CCP2 Аг бе установена при болните с РА – съответно 92.86% и 73.81%, и значително по-ниска при пациентите в другите две групи. В контролната група здрави лица не бяха установени ACPA. Резултатите показваха по-висока диагностична чувствителност на анти-MCV в сравнение с анти-CCP2 теста при всички изследвани групи, а специфичността и на двата теста беше 100%. Беше установено, че положителните стойности в групата на пациенти с РА се движат във високия диапазон на измерването и на двата теста, докато при пациентите от останалите две групи са в ниски стойности. Несъвпаденията в резултатите между тестовете бяха в ниския диапазон на положителните стойности, и то главно във втора и трета група болни. PPV и при двата теста е 100%, а NPV беше по-висока при анти-MCV теста в сравнение с анти-CCP.

**Ключови думи:** ревматоиден артрит, анти-CCP, анти-MCV

**Summary.** Antibodies directed against citrullinated peptides (ACPA) play an important role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) and are a part of the criteria, recommended by the EULAR. The aim of this study was to compare the diagnostic values of two commercially available assays – second generation anti-cyclic citrullinated peptide (CCP2) antibodies ELISA (Axis Shield) and genetically modified citrullinated vimentin (anti-MCV) automated ELISA system, „Alegria“ (Orgentec). Sixty five patients were distributed in 3 groups: the first group included patients with RA; the second group – these with RA and other overlap diseases; and the third group, patients with other arthropathies (ankylosing spondylitis, osteoarthritis and podagra); 20 healthy individuals (control group) were tested to determine the frequency, sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative predictive values (NPV) of both tests. The highest frequencies of anti-MCV and anti-CCP2 antibodies were observed in the RA patients: 92.86% and 73.81% respectively. The frequency was lower in the patients with other arthropathies. In the control healthy group, the ACPA was not detected. The results showed higher diagnostic sensibility for anti-MCV in comparison with anti-CCP2 in all tested groups. Differences between the two methods were only found in the detection of low concentrations of antibodies, mainly in the group of non-RA patients. PPV in both tests was 100%. NPV was higher in anti-MCV than anti-CCP2. In conclusion, our results have showed that the measurement of serum anti-MCV level as a marker is useful and more sensitive for the diagnosis of RA than anti-CCP2, but the combined use of anti-MCV and anti-CCP2 may serve as a better prognostic factor than either method alone.

**Key words:** rheumatoid arthritis, anti-CCP2, anti-MCV

## Увод

Ревматоидният артрит (РА) е хронично, системно аутоимунно заболяване, което засяга около 0.8-1% от населението на света. Характеризира се с хроничен пролиферативен синовиит и прогресивна, необратима ставна деструкция [14]. Необходимостта от бързо поставяне на диагнозата и последваща терапия на заболяването, с цел намаляване на инвалидизирането на пациентите и подобряване на качеството на живот, налагат откриването на нови, рано проявяващи се и по-специфични серологични тестове. Непрекъснато се увеличава броят на автоантителата за рутинна диагностика с патогномонично значение за ревматоидния артрит. Първоначално установеният ревматоиден фактор (RF), който е доказан диагностичен и прогностичен биомаркер, все повече се допълва от редица нови тестове. Това се налага поради факта, че този маркер се позитивира при 60-80% от пациентите с РА [3]. Но RF се открива и при редица други аутоимунни заболявания, като например синдром на Сьогрен, системен лупус еритематозус (СЛЕ), както и при други неаутоимунни състояния, включително инфекциозни заболявания, а също и при малък процент сред здравата популация. Много важен е и фактът, че RF не е особено полезен при диагностиката на ранните етапи на заболяването, защото се среща при по-малко от 50% от пациентите с ранен ревматоиден артрит [22]. През последните години откриването и изследването на антитела, насочени срещу цитрулинирани пептидни антигени (АСРА), допълниха и дори изместиха ревматоидния фактор като най-полезен прогностичен биомаркер за диагностиката на ревматоидния артрит [2, 11, 26, 27]. Към тази група антитела спадат: анти-CCP (антитела, насочени срещу циклични цитрулинирани протеини), анти-MCV (антитела, насочени към мутирал/рекомбинантен цитрулиниран виментин), анти-Sa (Ат, насочени също срещу цитрулиниран виментин), както и антитела срещу цитрулинирани участъци на фибриноген,  $\alpha$ -енолаза, колагеназа тип I и II и др [15]. АСРА се приемат за високо специфичен и чувствителен (до 94-99%) серологичен маркер, играещ роля в патогенезата на ревматоидния артрит, които са добра алтернатива на RF в лабораторната диагностика. Появата им в началото на заболяването има изключително висока предсказателна стойност за развитието на ерозии по ставните повърхности и поради тази причина диагностиката с АСРА

улеснява до голяма степен намирането на най-подходящия контингент пациенти за терапия, а също така спомага и в диференциалнодиагностичен план за разграничаване на пациентите с други артрити, които имат сходна клинична изява и наличие на RF – например пациенти с хепатит С вирус-асоцирана криоглобулинемия, недиференциран полиартрит или синдром на Сьогрен [4]. Следователно АСРА имат отношение не само към диагнозата на заболяването, но и към прогнозата и хода на болестта. На базата на всички тези данни АСРА и в частност анти-CCP Ат са включени през 2010 г. като част от серологичните критерии на EULAR и ACR [1, 21]. През последните години има и множество публикации, свързани с антителата срещу MCV, където тези антитела се препоръчват като маркер за ранна диагностика на ревматоидния артрит, с много добра чувствителност и специфичност на теста [13, 18, 24]. Това го прави много добър кандидат за нов, допълващ диагнозата маркер при РА. В подкрепа на това твърдение е и фактът, че виментинът е вътреклетъчен филамент, експерсиращ се в ставния синовиум, за разлика от филагрина, белтъчния таргет на анти-CCP Ат.

Множеството проучвания за ролята на антителата срещу цитрулинирани протеини (анти-CCP и анти-MCV) в диагностиката на РА, макар и общо взето еднопосочни, понякога се различават в детайлите относно честотата на положителните резултати, изследваните контингенти болни и др., както и в зависимост от използваните диагностични тестове. Това определи и целта на настоящата работа – да се сравнят техническите и диагностичните показатели на двата вида търговски тестове: анти-MCV (фирма Orgentec, Германия) и anti-CCP2 IgG ELISA Kit (фирма Axis Shield, Норвегия) по отношение на честотата на положителните резултати, чувствителността, специфичността, положителната и отрицателната предсказателна стойност при различни групи пациенти.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

### *Изследвани болни и здрави лица*

Това проучване включва серуми от 86 лица, между 26-60-годишна възраст, от които 68 са жени и 18 – мъже. Те бяха разпределени в следните групи: 20 здрави контроли и 65 пациенти със заболявания, общото между които е наличието на различни ставни оплаквания. Групирането на изследваните лица по диагнози е показано на табл. 1.

**Таблица 1. Изследвани лица**

Диагноза	Брой	Мъже	Жени
Ревматоиден артрит	42	8	34
РА + други автоимунни болести	6	0	6
Други артрити: АС, подагра, ОА	17	8	9
Здрави контроли	20	2	18

Всички пациенти бяха диагностицирани и лекувани в Клиниката по ревматология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ – София, а изследването на серуми от тях за АСРА бе извършено в Лабораторията по клинична имунология към същата болница. Информирано съгласие бе получено от всички изследвани лица.

**Таблица 2. Технически показатели на тестовете АСРА**

Антиген	Производител	Метод	Инкубационно време	Конюгат	Cut-off	Измерителен интервал
CCP2 поколение	Axis-Shield Diag.	ELISA	120 min	AP anti-human IgG	5 U/ml	0-100 U/ml
MCV	Orginteg-Alegria®	ELISA	90 min	HRP anti-human IgG	20 U/ml	0-1000 U/ml

Тестването за анти-MCV Ат (Anti-MCV EIA, ORG 248-24, ORGENTEC® Diagnostika GmbH, Mainz, Germany) беше извършено с автоматичен имуноанализатор „Alegria“, ORGENTEC® Diagnostika GmbH, Mainz, Germany, съгласно инструкциите на фирмата производител.

Тестването за анти-CCP2 Ат беше извършено с anti-CCP2 IgG ELISA Kit, Axis Shield, Норвегия, съгласно инструкциите на фирмата производител и любезно предоставен за целите на настоящата работа от ИМЕССА – София.

#### **Статистически методи за обработка на получените данни**

Получените данни бяха подложени на статистическа обработка, като бяха изчислени чувствителност, специфичност, положителна и отрицателна предсказателна стойности на изследваните тестове за АСРА, чрез общоприетите формули (НВ Urtis CA and Ashwood ER: Tierz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders, 234-261), както и чрез Student's-t Test.

#### **РЕЗУЛТАТИ**

Първоначално беше изчислена вътреметодната неточност с помощта на общ коефициент на вариация (CVt) за anti-CCP2 IgG ELISA теста,

на всички изследвани лица беше взета периферна венозна кръв, при рутинна венепункция във вакуумтейнери за серум (BD Vacutainer®, CAT REF 369032, 4 ml). Впоследствие серумните проби бяха изследвани за анти-MCV Ат с автоматичен имуноанализатор „Alegria“, Orgentec, а част от пробите бяха съхранени на -20°C и изследвани едновременно за наличие на анти-CCP2 Ат, чрез CCP2 ELISA, Axis Shield.

#### **Изследване на АСРА**

Тестването на серумните проби за наличие на АСРА беше извършено чрез два търговски кита, използвани за рутинно изследване на антитела срещу цитролинирани протеини. Техническите характеристики на двата теста са показани на табл. 2.

като беше съпоставена проба с висока концентрация на антитела от пациент с ревматоиден артрит и проба с отрицателна стойност от здрав контролен серум. Вътреметодната неточност беше установена, като се използваша и стойностите на отрицателната и положителната контролна проба от самия тест. Беше установено, че CVt е 2%. По данни на фирмата производител за anti-MCV EIA „Alegria“, ORGENTEC®, вътреметодната неточност е 2-2.3%.

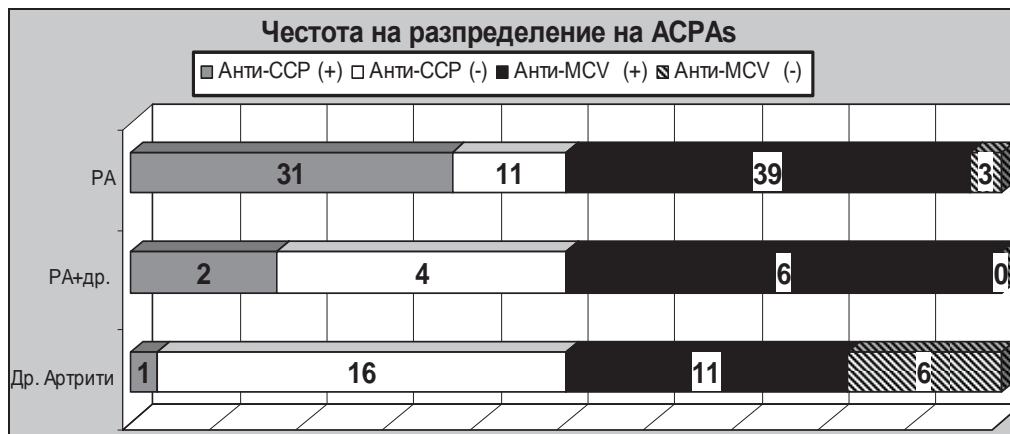
Не беше установено наличие на серумни нива на изследваните АСРА при нито един от изследваните здрави доброволци, използвани като контролна група. Получените при тях стойности не надвишаваха съответно 5 U/ml (за анти-CCP2 антитела) и 20 U/ml за (анти-MCV антитела) – cut off стойности, над които изследваната проба се счита за положителна.

При изследване на анти-MCV Ат и анти-CCP2 Ат в групите пациенти беше установено, че концентрацията на АСРА и при двата теста беше статистически достоверно по-висока в сравнение с контролната група серуми ( $p < 0.0001$ ).

При анализиране на получените положителни резултати за наличие на АСРА при изследваните групи пациенти беше установено след-

ното: при пациентите с ревматоиден артрит от 42-ма болни 39 са положителни за анти-MCV Ат и 31 са положителни за анти-CCP2 Ат. Подобно е разпределението на изследваните автоантитела при останалите две групи пациенти, съответно – от 6 пациенти с ревматоиден артрит, припокриващ се с друго автоимунно заболяване, всичките са положителни за анти-MCV Ат и 2-ма пациенти са положителни за анти-CCP2 Ат. В третата изследвана група на неревматоидни-

те артрити 11 от общо 17 са положителни за анти-MCV Ат и само 1 е положителен за анти-CCP2 Ат (фиг. 1). Също така беше установено, че най-висока е честотата на разпределение на анти-MCV Ат и анти-CCP2 Ат в групата на пациенти с РА – съответно 92.86% за анти-MCV Ат и 73.81% за анти-CCP2 Ат, и значително по-ниска при пациентите в групата на неревматоидните артрити – съответно 64.70% анти-MCV Ат и 5.89% анти-CCP2 Ат.



Фиг. 1. Сравнение на разпределението на АСРА при различните групи пациенти

Впоследствие бяха съпоставени серумните нива на анти-CCP2 и анти-MCV антителата при изследваните групи пациенти. Беше установено, че положителните стойности и на двата теста в групата на пациенти с чист ревматоиден артрит се движат във високия диапазон на измерената оптична плътност (съответно и U/ml), докато при пациентите от останалите две групи с РА, припокриващ се с други автоимунни заболявания, както и групата на пациентите с други артрити (анкилозиращ спондилит, подагра и остеоартрит) се наблюдаваха положителни резултати предимно в ниския диапазон на оптична плътност (и U/ml).

Бяха изчислени чувствителност, специфичност, положителна и отрицателна предсказателна стойност за изследваните анти-CCP2 и анти-MCV антитела, използвайки cut off стойностите, препоръчани от фирмите производители на съответните търговски тестове. Резултата-

тите показаха по-висока диагностична чувствителност на анти-MCV теста в сравнение с анти-CCP2 теста при всички изследвани групи пациенти (табл. 3). Стойностите на чувствителността и при двата теста за пациентите с диагноза ревматоиден артрит отговаряха на посочените високи проценти от фирмите производители. Установи се, че и в двете групи с чист ревматоиден артрит, както и при припокриващ се с други автоимунни заболявания, диагностичната чувствителност на анти-MCV теста за честота на положителните стойности е съответно – 92.86% и 100%, в сравнение с диагностичната чувствителност, установена при анти-CCP2 теста – 73.81% и 33.33%.

При определяне на процентната вероятност за липса на заболяване сред здравите лица, изразяваща се чрез изчисление на специфичността на двата теста, беше установено, че тя е 100%.

Таблица 3. Сравнение на чувствителността на ELISA тестове анти-MCV-Orgintec и анти-CCP2-Axis Shield

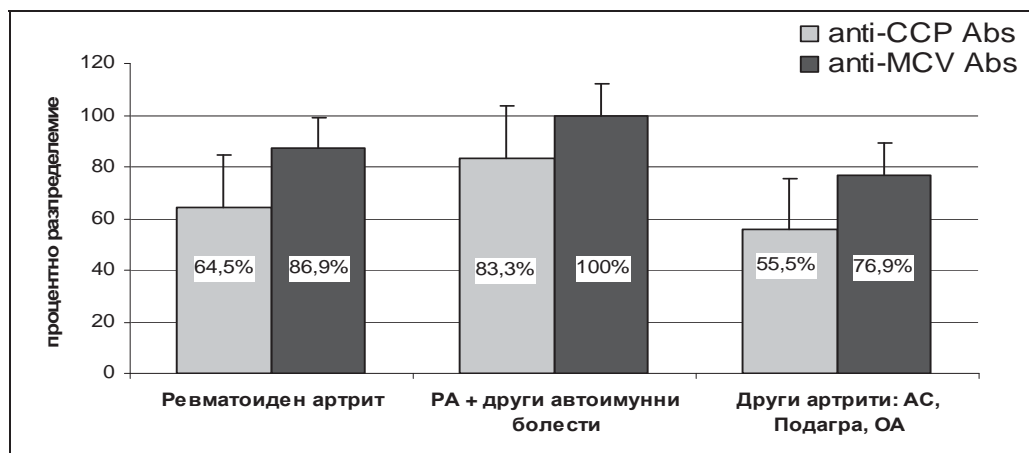
Диагноза	Чувствителност за анти-CCP2 ELISA	Чувствителност за анти-MCV ELISA
1. Ревматоиден артрит	73.81 %	92.86%
2. RA + други автоимунни болести	33.33%	100%
3. Други артрити: АС, подагра, ОА	5.88 %	64.70%

Изчислени бяха и положителната (PPV), и отрицателната (NPV) предсказателна стойност на двата теста. Беше установено, че PPV и за двата теста е 100%, докато NPV е по-висока при анти-MCV ELISA, в сравнение с анти-CCP2 ELISA и при трите изследвани групи (фиг. 2).

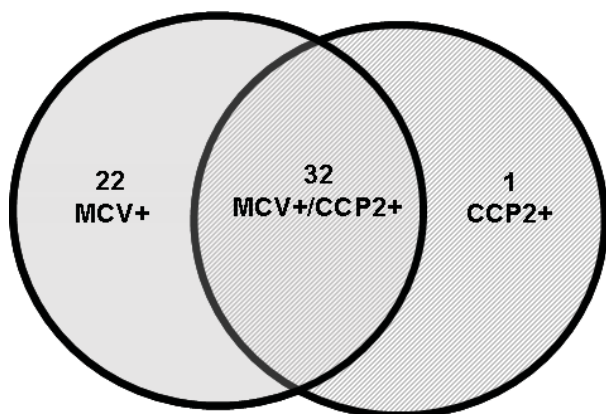
Припокриване на резултатите за положителни стойности за АСРА при двата теста се наб-

людава при общо 32-ма (57%) от изследваните пациенти, като те бяха главно от групата на РА (фиг. 3). Намерени бяха и несъвпадения в резултатите между двата изследвани търговски теста. При общо 22-ма (33.8%) от изследваните пациенти беше открито наличие само на анти-MCV, докато само при 1 (1.5%) пациент имаше положителни анти-CCP2 без анти-MCV.

Негативна предсказателна стойност за изследваните групи



Фиг. 2. Сравнение на негативна предсказателна стойност на двата метода



Фиг. 3. Съвпадение на положителните резултати при анти-MCV-Orgintec и анти-CCP2-Axis Shield

В повечето случаи несъвпаденията бяха установени при серумни проби с отчетена оптична плътност (U/ml) в ниския диапазон и предимно в групите на пациентите с РА с припокриващи се автоимунни заболявания, както и при пациентите с неревматоидни артрити. Много по-нисък беше процентът на несъвпадения (23.8%) в групата с чист ревматоиден артрит, в сравнение с останалите 2 групи. Също така бяха сравнени броят и видът на тестовете с по-голяма чувствителност по отношение на положителните резултати при различните групи пациенти. Установи се, че само при 1 от изследваните серумни проби анти-CCP2 методът е по-чувствителен, а в останалите случаи по-голямата чувствителност е за сметка на анти-MCV тестовете (табл. 4).

Таблица 4. Сравнение на чувствителността и броя на несъвпаденията на резултатите между анти-CCP ELISA и анти-MCV ELISA тестовете

Групи пациенти	Група 1	Група 2	Група 3
Брой несъвпадения между двата теста	10/42 несъвп.	4/6 несъвп.	9/17 несъвп.
Процентно съотношение	23.8 %	66.7%	53.00%
Брой и вид на теста с по-голяма чувствителност на (+) резултат	9 – анти-MCV теста 1 – анти-CCP2 теста	4 – анти-MCV теста	9 – анти-MCV теста
Брой несъвпадения в ниските стойности на измерената оптична плътност	8 теста	4 теста	8 теста

## ОБСЪЖДАНЕ

Първоначално, когато се откриват АСРА от Schellekens et al. [19], те се диагностицират чрез ELISA метод, чиято чувствителност е едва 48% [20]. Впоследствие техниките за синтезиране и пречистване на цитролинирани протеини се усъвършенстват, като в момента предлаганите търговски тестове за рутинна диагностика на АСРА показват чувствителност над 70%, достигаща при някои от тестовете до 90%. Тази тенденция, наблюдаваща се при новите генерации тестове, е от голямо значение за диагностиката на ранните форми на RA, когато е важно откриването на точния патогенетичен механизъм, водещ до необратимото увреждане на ставния синовиум. През последните години се установи, че АСРА са доказани както в серуми, така и във възпалената синовиална тъкан на пациенти с RA, разпознаващи множество различни цитролинирани протеини, включват  $\alpha$ -енолаза, фибриноген, колагеназа-II тип, виментин и филагрин [6].

Знае се, че са намерени повишени анти-ССР при пациенти с RA години преди изявата на същинските симптоми [16, 17]. Също така е установено, че комбинирането на анти-ССР Ат с RF многократно увеличава специфичността и чувствителността на методите, необходими за ранната диагностика на пациенти с RA [17, 23].

През последните години се натрупаха и множество данни, свързани с анти-MCV антителата, използвани като маркер за ранна диагностика на ревматоидния артрит, с много добра чувствителност и специфичност на теста [18, 24]. Това го прави много добър кандидат за нов допълващ диагностичен маркер за RA. Виментинът е вътреклетъчен филамент, експресиращ се в ставния синовиум. Той се секретира и цитрулинира от макрофагите по време на процеси на апоптоза в ставата и при определени обстоятелства може да играе роля на автоантиген. Установено е също, че анти-MCV Ат се диагностицират при пациенти с ранни форми на ревматоиден артрит и се асоциират с по-агресивно протичащ ход на заболяването [3]. Нови данни показват, че и двата вида антитела (анти-MCV и анти-ССР) се свързват с индуциране и прогресия на субклинични атеросклеротични увреди при пациенти с ранен RA, установени чрез ултрасонографско изследване на интима-медия индекс на каротидните артерии [7, 8]. През последните години се натрупаха и множество данни за ролята на анти-MCV Ат в диагностиката на па-

циенти с RA, които са анти-ССР негативни, тъй като около 12-15% от тези анти-ССР негативни пациенти са положителни за анти-MCV Ат [13, 18, 24]. Такива са данните и в настоящата работа, където 21% от RA пациентите са негативни за антитела срещу ССР2 и едновременно са с това положителни анти-MCV Ат.

В изследването са сравнени и техническите характеристики на методите за установяване на антитела срещу цитролинирани протеини, като и при двата се установи добра вътреметодна неточност CVt < 10%, варираща между 2-2,7%. Сравнението на диагностичната чувствителност на двата метода при различните групи пациенти показва по-ниска чувствителност за анти-ССР2 в сравнение с анти-MCV теста, като при групите на пациентите с RA с припокриващи се автоимунни заболявания и други артрити, беше установена значително по-висока чувствителност на анти-MCV метода. Този резултат е в потвърждение на изследвания, проведени от G. Keskin et al., N. Bizzaro et al. [4, 5, 10]. Други автори, сравняващи различни търговски тестове за анти-ССР и анти-MCV антитела, дават превес в чувствителността на анти-ССР2 тестовете [3], но като цяло диагностичната чувствителност на различните тестове за АСРА, докладвани от различни колективи, варират в широки граници – между 40-94% [4], което може да се дължи, от една страна, на различните аналитични характеристики на използваните методи, а от друга – на различните групи пациенти, включени в проучванията, включително и от факта на какъв етап и фаза от заболяването са диагностицирани – ранен или установен RA и съответно RA в активна фаза или ремисия.

При проведеното изследване за наличие на анти-ССР2 и анти-MCV антитела сред пациенти с доказан ревматоиден артрит беше установена диагностична чувствителност, съответно 73.81% и 92.86%, която е в рамките на посочената от други авторски колективи [4, 5, 10]. Прави впечатление високият процент на диагностичната чувствителност (100%) на анти-MCV теста в група на пациенти с RA с припокриващо се друго автоимунно заболяване, което може да се дължи и на малкия брой изследвани пациенти (6 пациенти).

Установената в настоящото изследване висока диагностична чувствителност и специфичност на двата сравнявани търговски теста не изключва някои положителни резултати, полу-

чени в групата на пациентите със заболявания като анкилозираш спондилит, подагра и остеоартрит. Подобни резултати се докладват и от други автори [9, 12, 25], но както и в техните публикации, анти-CCP2 и анти-MCV тестовете показва висока предсказателна стойност както за отрицателните (между 64-83.3% анти-CCP2 и 86.9-100% за анти-MCV), така и за положителните (100%) резултати. Интерес представлява и анализът на положителните стойности, получени при тази група пациенти (с анкилозираш спондилит, подагра и остеоартрит). Те бяха само в ниския диапазон на измерването – около cut off стойностите, препоръчани от фирмите производители, за разлика от положителните стойности, получени в останалите две изследвани групи, където преобладаваха стойности от високия диапазон.

Повечето от установените несъвпадения между тестовете също бяха в ниския диапазон на положителните стойности, като само при 1 от изследваните серумни проби анти-CCP2 методът е по-чувствителен, а в останалите случаи по-голямата чувствителност е за сметка на анти-MCV тестовете. Важно е да се отбележи и фактът, че повечето от несъвпаденията бяха установени при серумните проби на пациенти, чиято диагноза не е ревматоиден артрит.

В заключение, проведеното сравнително изследване с двата търговски теста за изследване на АСРА – анти-CCP2 и анти-MCV антитела, показва, че и двата теста са удобни, чувствителни и с добри тестови характеристики за лабораторната диагностика на РА. Изследването на anti-MCV Ат, извършено чрез имуноанализатора “Алегрис”, Orgintec, показва малко по-висока диагностична чувствителност и отрицателна предсказателна стойност в сравнение с anti-CCP2 ELISA. Дали това е свързано с характера на показателя, или с характеристиките на търговския кит и апаратурата, изисква още допълнителни изследвания върху по-голям контингент хора и сравнения с други производители.

#### Библиография

1. Aletaha, D. et al. Rheumatoid arthritis classification criteria. An ACR/EULAR. Colaborative initiative. – *Arthritis Rheum.*, **62**, 2010, 2569-2581.
2. Avouac, J. et al. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. – *Ann. Rheum. Dis.*, **65**, 2006, 845-851.
3. Bartoloni, E. et al. Diagnostic value of anti-mutated citrullinated vimentin in comparison to anti-cyclic 3 citrullinated peptide and anti-viral citrullinated peptide 2 antibodies in rheumatoid arthritis: An Italian multicentric study and review of the literature. – *Autoimmunity Rev.*, In Press.
4. Bizzaro, N. et al. Analytical and diagnostic characteristics of 2<sup>nd</sup>- and 3<sup>rd</sup>- generation immunoenzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins. – *Clin. Chem.*, **53**, 2007, №8, 1527-1533.
5. Coenen, D. et al. Technical and Diagnostic Performance of 6 Assays for the Measurement of Citrullinated Protein/Peptide Antibodies in the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. – *Clin. Chem.*, **53**, 2007, №3, 498-504.
6. Conrad, K. et al. Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. – *Autoimmun. Rev.*, **9**, 2010, 431-435.
7. El-Barbary, A. et al. Asociación of anti-modified citrullinated vimentin with subclinical atherosclerosis in early rheumatoid arthritis compared with anti-cyclic citrullinated peptide. – *J. Rheumatol.*, **38**, 2011, 828-834.
8. Gerli, R. et al. Association of anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies with subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. – *Ann. Rheum. Dis.*, **67**, 2008, 724-725.
9. Janse, A. et al. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. – *J. Rheumatol.*, **29**, 2002, 2074-2076.
10. Keskin, G. et al. Diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-modified citrullinated vimentin antibodies in rheumatoid arthritis. – *Protein Pept. Lett.*, **15**, 2008, №3, 314-317.
11. Kudo-Tanaka, E. et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptide 2 (CCP2) are superior to other potential diagnostic biomarkers for predicting rheumatoid arthritis in early undifferentiated arthritis. – *Clin. Rheumatol.*, **26**, 2007, 1627-1633.
12. Lee, D. et P. Schur. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. – *Ann. Rheum. Dis.*, **62**, 2003, 870-874.
13. Luime, J. et al. Dose anti-mutated citrullinated vimentin have additional value as a serological marker in the diagnostic and prognostic investigation of patients with rheumatoid arthritis? A systematic review. – *Ann. Rheum. Dis.*, **69**, 2010, 337-344.
14. Lutteri, L. et al. Comparison of second- and third generation anti-cyclic citrullinated peptide antibodies assays for detecting rheumatoid arthritis. – *Clinica Chimica Acta*, **386**, 2007, 76-81.
15. Mewar, D. et al. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: a review. – *Biomed. Pharmacother.*, **60**, 2006, 648-655.
16. Nielen, M. et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. – *Arthritis Rheum.*, **50**, 2004, 380-386.
17. Rantapaa-Dahlqvist, S. et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA reumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. – *Arthritis Rheum.*, **48**, 2003, 2741-2749.
18. Roland, P. et al. Antibodies to mutated citrullinated vimentin for diagnosing rheumatoid arthritis in anti-CCP-negative patients and for monitoring infliximab therapy. – *Arthritis Res. Ther.*, **10**, 2008, R142.

19. Schellekens, G. A. et al. Citruline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. – J. Clin. Invest., 101, 1998, 273-281.
20. Schellekens, G. A. et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. – Arthritis Rheum., 43, 2000, 155-163.
21. Szodoray, P. et al. Anti-citrullinated protein/peptide autoantibodies in association with genetic and environmental factors as indicators of disease outcome in rheumatoid arthritis. – Autoimmun. Rev., 9, 2010, 140-143.
22. Taylor, P. et al. A systematic review of serum biomarkers anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor as tests for rheumatoid arthritis. – Autoimmun. Rev., 10, 2010, 90-93.
23. Vallbracht, I. et al. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. – Ann. Rheum. Dis., 63, 2004, 1079-1084.
24. Van der Linden, M. et al. Value of anti-mutated citrullinated vimentin and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide compared with second-generation anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor in predicting disease outcome in undifferentiated arthritis and rheumatoid arthritis. – Arthritis Rheum., 60, 2009, 2232-2241.
25. Van Gaalen, F. et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. – Arthritis Rheum., 50, 2004, 709-715.
26. Wyness, S. et al. Performance characteristics of three random access cyclic citrullinated peptide antibody assays. – Clin. Chim. Acta., 411, 2012, 428-432.
27. Zedman, A. J. et al. Use and significance of anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis. – Rheumatology (Oxford), 45, 2006, 20-25.

*Постъпил за печат на 8 октомври 2012 г.*

✉ Адрес за кореспонденция:

Д-р Е. Иванова-Тодорова  
Лаборатория по клинична имунология  
УМБАЛ „Св. Ив. Рилски“  
Медицински университет  
бул. „Акад. Ив. Гешов“ № 15  
1431 София  
☎ 02 8524957

✉ Address for correspondence:

E. Ivanova-Todorova, M.D., Ph. D.  
Laboratory of Clinical Immunology  
UMHAT "Sv. Iv. Rilski"  
Medical University  
15, Acad. Iv. Geshov Blvd.  
Bulgaria – 1431 Sofia  
☎ +359 2 8524957