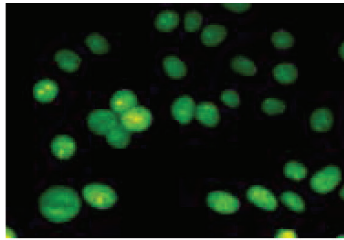
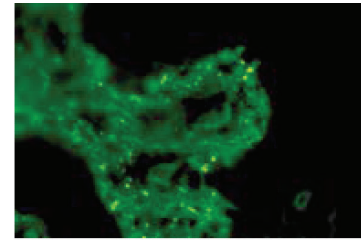


**ZŁOTE STANDARDY W DIAGNOSTYCE
CHORÓB AUTOIMMUNOLOGICZNYCH**

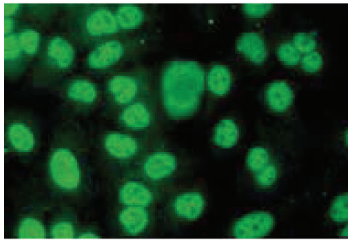
ZŁOTE STANDARDY W DIAGNOSTYCE CHORÓB AUTOIMMUNOLOGICZNYCH



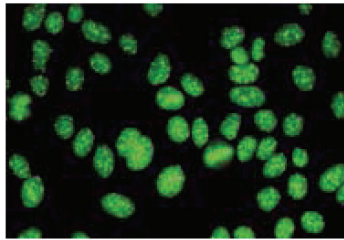
Przeciwciała przeciw topoisomerazie 1 Scl-70
Drobnoziarnista fluorescencja z przeświecającymi drobnymi jąderkami



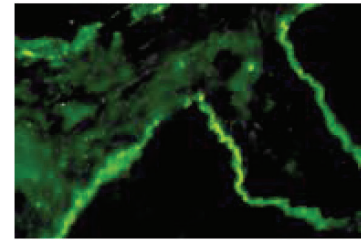
Dermatitis herpetiformis
Ziarniste złogi IgA w brodawkach skórnych
Metoda DIF



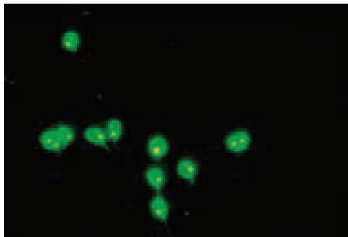
Przeciwciała przeciwjądrowe ANA
Typ RNP typ plamisty z wybarwiający się jąderkami



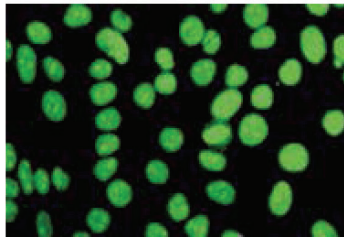
Przeciwciała przeciw centromerom ACA
Świecenie równomiernie rozsianych ziaren w komórce interfazalnej



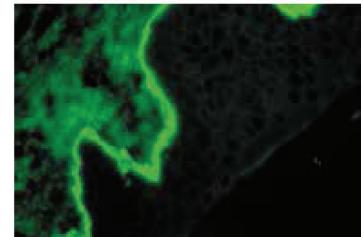
LABD linijna IgA dermatoza pęcherzowa
Linijne złogi klasy IgA wzdłuż błony podstawowej naskórka



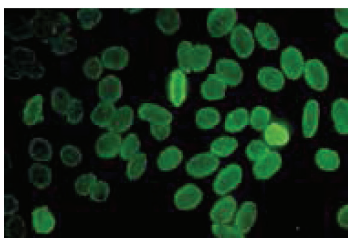
Przeciwciała przeciw natywnemu DNA
Wykrywane na komórkach wiciowca Crithidium luciliae



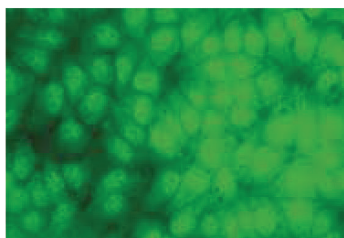
Przeciwciała ANA
Typ świecenia homogenny
Komórki HEP-2



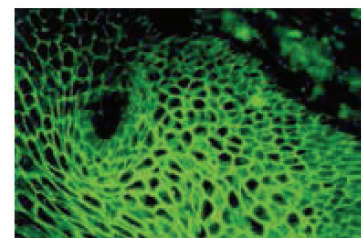
Pemphigoid
Linijne złogi klasy IgG
Metoda DIF



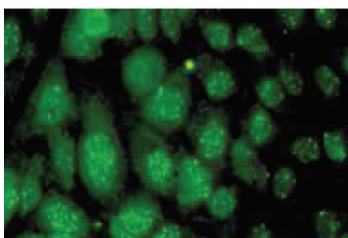
Przeciwciała ANA
Typ świecenia obwodowy



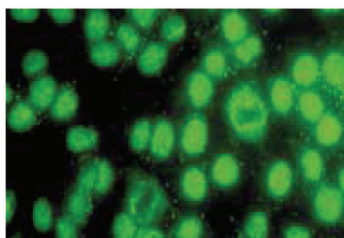
Przeciwciała ANA
Typ świecenia ziarnisto-nitkowaty charakterystyczny dla przeciwciał Ro



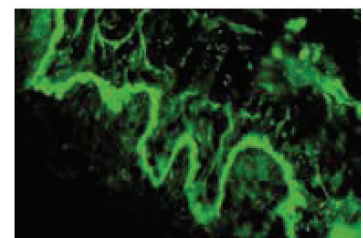
Pemphigus
na komórkach przelyku małpy
Metoda IIF



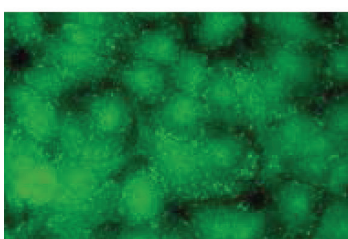
Przeciwciała ANA
Typ NSp-1 na komórkach HEP-2



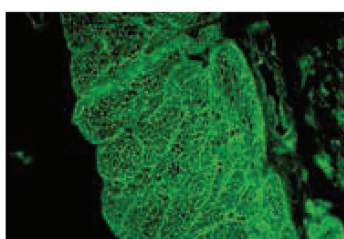
Przeciwciała przeciw jądrowe ANA
Typ charakterystyczny dla przeciwciała La
Komórki HEP-2



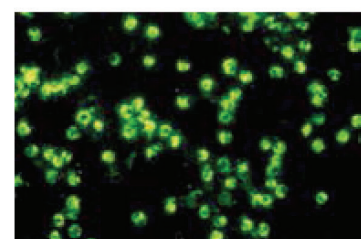
SLE układu tocznej rumieniowaty
Ziarniste złogi immunoglobulin na granicy skóronaskórkowej.



Przeciwciała przeciw histydylowej tRNA syntetazie
Ziarniste świecenie cytoplazmatyczne Jo-1
Komórki HEP-2



Przeciwciała IgA-EmA
na przelykach małpy
Metoda IIF



Przeciwciała c-ANCA
na neutrofilach ludzkich
Metoda IIF

Szanowni Państwo,

Nowoczesna medyczna diagnostyka laboratoryjna chorób autoimmunologicznych jest istotnym uzupełnieniem i potwierdzeniem diagnozy klinicznej. Opracowany 13 lat temu materiał wymagał ponownego spojrzenia i uzupełnienia. Uwzględniono w nim postęp technologii i wymagania lekarzy związane z szybszym trybem otrzymywania szczegółowej informacji o wynikach pacjenta.

Autoimmunologia jest działem medycznej diagnostyki laboratoryjnej, w którym jakość uzyskanych wyników warunkowana jest w szczególności poziomem wiedzy i doświadczenia specjalistów.

Przez te lata od 2003 roku, czyli od momentu otwarcia pracowni warszawskiej pod kierownictwem dr Zofii Kołacińskiej (1952-2012), wybitnego specjalisty w tej dziedzinie, rozwinęliśmy tę gałąź diagnostyki bardzo istotnie. Pracownia krakowska pod opieką dr. hab. n. med. Jakuba Swadźby ewoluowała do najnowocześniejszych rozwiązań technicznych i metodycznych dostępnych w Europie i na świecie. Istotą realizowanego procesu diagnostycznego jest nie tylko rodzaj zleconego badania, ale również wybór metody jego wykonania. W obecnym opracowaniu przedstawimy Państwu nowe spojrzenie i wzajemne relacje między stosowanymi metodami, wykorzystane w nowoczesnym podejściu do tego rodzaju diagnostyki.

Niezmiennie najistotniejsza jest jakość wykonanych badań przez odpowiednio wyszkolony zespół. Od ich wiedzy i doświadczenia zależy m. in. prawidłowa ocena immunofluorescencyjnych preparatów mikroskopowych oraz interpretacja uzyskiwanych wyników.

Obecnie w Diagnostyce Sp. z o.o. funkcjonują dwie pracownie zajmujące się diagnostyką autoimmunologiczną w Warszawie i Krakowie. Warszawska pracownia specjalizuje się w diagnostyce chorób tkanki łącznej oraz pęcherzowych chorób skóry i celiakii. W Krakowie zespół zajmuje się diagnostyką zespołu antyfosfolipidowego, chorób układowych tkanki łącznej, niepłodności oraz weryfikacji autoprzeciwciał narządowo specyficznych. Dodatkowo oprócz badań autoimmunologicznych pojawiła się diagnostyka chorób infekcyjnych i pasożytniczych z wykorzystaniem met IIF (np. krztusiec, lamblie). Pełny wykaz badań wykonywanych przez obie pracownie znajdziecie Państwo na końcu opracowania.

Wyniki badań autoimmunologicznych wykonanych przez naszych specjalistów opatrzone są komentarzami weryfikowanymi przez dr. hab. n. med. Jakuba Swadźbę merytorycznego opiekuna obu pracowni oraz kierowników obu pracowni dr Hannę Łabędzką w Warszawie i mgr. Elżbietę Krawczyk w Krakowie. Proponujemy ciekawy projekt dotyczący schematu diagnostycznego zlecenia oznaczenia PPJ. Jest to autorska interpretacja dr. hab. n. med. Jakuba Swadźby. Projekt powstał w celu ułatwienia lekarzom zlecenia badań oraz umożliwienia szybkiego uzyskania ostatecznej informacji, przydatnej diagnostycznie. Oferowana forma współpracy wyznacza europejskie standardy w oparciu o relacje lekarz - diagnosta w zintegrowanym systemie kompleksowej diagnostyki Pacjenta.

Oddajemy w Państwa ręce opracowanie zawierające kompendium wiedzy w zakresie badań autoimmunologicznych oferowanych w ogólnopolskiej sieci laboratoriów medycznych DIAGNOSTYKA Sp. z o. o.

Zapraszamy do współpracy.

Zespół Redakcyjny

Skład Zespołu redakcyjnego :

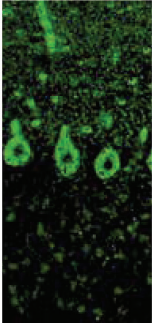
1. Dr hab. n. med. Jakub Swadźba
2. Dr n. biol. Tomasz Ochątek
3. Mgr. farmacji Danuta Kozłowska
4. Mgr. Barbara Dziarek
5. Mgr. Elżbieta Krawczyk

W opracowaniu wykorzystano materiały dr n. med. Zofii Kołacińskiej-Strasz (1952-2012) byłego Konsultanta Krajowego ds. Badań Autoimmunologicznych. W opracowaniu wykorzystano również dokumentację fotograficzną udostępnioną przez Klinikę Dermatologiczną MUW reprezentowaną wówczas przez panią dr n. med. Zofię Kołacińską-Strasz.

SPIS TREŚCI

I. METODY STOSOWANE W DIAGNOSTYCE AUTOIMMUNOLOGICZNEJ	6
Metoda immunofluorescencji (IF).....	6
Immunodyfuzja.....	7
ELISA.....	7
Inne metody.....	7
II. NAJWAŻNIEJSZE GRUPY AUTOPRZECIWCIAŁ	8
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBAH TKANKI ŁĄCZNEJ	8
Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcytoplazmatyczne – nowa propozycja klasyfikacji.....	8
Najczęstsze choroby tkanki łącznej.....	9
Toczeń trzewny (<i>Systemic Lupus Erythematosus</i>) - SLE.....	9
Skórna postać toczenia trzewnego (<i>Discoid Lupus Erythematosus</i>) - DLE.....	9
Podostra skórna postać toczenia trzewnego (<i>Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus</i>) - SCLE.....	10
Zespół Sjögrena.....	10
Mieszana choroba tkanki łącznej (<i>Mixed Connective Tissue Disease</i>) - MCTD.....	10
Twardzina układowa (<i>Systemic Sclerosis</i>) - SSc.....	10
Zespół CREST.....	10
Zapalenia wielomięśniowe (<i>Polymyositis</i>) i skórno-mięśniowe (<i>Dermatomyositis</i>) - PM i DM.....	11
RODZAJE BADAŃ PRZECIWCIAŁ W CHOROBAH TKANKI ŁĄCZNEJ	12
Przeciwciała przeciw dsDNA.....	12
Przeciwciała przeciw nukleosomom (ANuA).....	12
Badania tkankowe (badania obecności przeciwciał w tkankach metodą DIF (<i>direct immunofluorescence</i>)).....	13
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZAPALENIACH NACZYŃ (VASCULITIS)	13
Przeciwciała przeciw antygenom cytoplazmy neutrofilów (ANCA).....	14
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBAH PĘCHERZOWYCH SKÓRY	14
Pęcherzyca zwykła (<i>PV-pemphigus vulgaris</i>) i pęcherzyca liściasta (<i>PF-pemphigus foliaceus</i>).....	14
Podnaskórkowe choroby pęcherzowe.....	15
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W GLUTENOZALEŻNEJ ENTEROPATII	15
Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgG (anty-tTG IgG) oraz w klasie IgA (anty-tTG IgA).....	15
Przeciwciała przeciw deamidowanej gliadynie (DPG) w klasie IgG oraz w klasie IgA.....	15
Przeciwciała przeciw endomysium w klasie IgG (EMA IgG) oraz w klasie IgA (EMA IgA).....	16
Przeciwciała przeciw retikulinie w klasie IgG (ARA IgG) oraz w klasie IgA (ARA IgA).....	16
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W AUTOIMMUNOLOGICZNYCH CHOROBAH WĄTROBY	16
Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA).....	16
Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA) typu M2.....	16
Przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym.....	16
Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim (ASMA).....	17
Przeciwciała przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM).....	17
Przeciwciała przeciw rozpuszczalnemu antygenowi wątrobowemu i wątrobowo-trzustkowemu (anty-SLA/LP).....	17
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOLE ANTYFOSFOLIPIDOWYM (APS)	17
Badania przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych.....	17
Antykoagulant toczniowy (LA).....	17
Przeciwciała antykardiolipinowe w klasie IgG i IgM.....	18
Przeciwciała przeciw β 2-glikoproteinie I w klasie IgG i IgM (anty β 2-GPI).....	18
Przeciwciała przeciw protrombinie w klasie IgG i IgM.....	18
Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie w klasie IgG i IgM.....	19
Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi w klasie IgG i IgM.....	19
Przeciwciała przeciw kompleksowi protrombina fosfatydyloseryna.....	19

PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z AUTOIMMUNOLOGICZNYMI PRZYCZYNAMI NIEPŁODNOŚCI.....	19
Przeciwciała przeciw plemnikom w surowicy.....	19
Przeciwciała przeciwplemnikowe w nasieniu.....	19
Przeciwciała przeciw antygenom jajnika	19
Przeciwciała przeciw komórkom Leydiga jąder.....	19
Przeciwciała przeciw antygenom łożyska.....	19
PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z CHOROBYMI AUTOIMMUNOLOGICZNYMI TARCZYCY.....	20
Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (anty-TPO).....	20
Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (anty-TG).....	20
Przeciwciała przeciw receptorom TSH (TRAb).....	20
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW.....	20
Przeciwciała przeciw cyklicznemu białku bogatemu w cytrulinę (anty-CCP).....	20
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE MIASTENII.....	20
Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholiny (anty-AChR).....	21
Przeciwciała przeciw mięśniom poprzecznie prążkowanym.....	21
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE CUKRZYCY TYPU 1.....	21
Anty-GAD.....	21
Anty-IA2.....	22
Przeciwciała przeciw wyspom trzustki.....	22
INNE PRZECIWCIAŁA NARZĄDOWO-SWOISTE.....	22
Przeciwciała przeciw komórkom okładzinowym żołądka (APCA).....	22
Przeciwciała przeciw czynnikowi wewnętrznemu Castle'a.....	22
Przeciwciała przeciw błonie podstawnej kłębuszków nerkowych (anty-GBM) i błonie pęcherzyków płucnych.....	22
Przeciwciała przeciw mięśniowi sercowemu.....	22
Przeciwciała przeciw komórkom kubkowatym jelit.....	22
Przeciwciała przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki.....	22
Przeciwciała przeciw <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA).....	23
Przeciwciała przeciw korze nadnerczy.....	23
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOŁACH NEUROLOGICZNYCH.....	23
Panel neuroimmunologiczny.....	23
Zestawienie badań z zakresu autoimmunologii dostępne w ofercie Diagnostyka Sp. z o.o.....	24
OGÓLNE ZASADY WSPÓŁPRACY.....	26



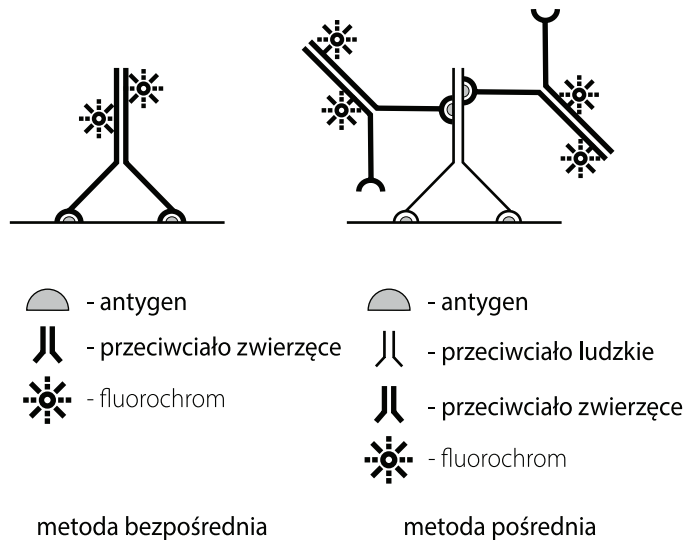
I. METODY STOSOWANE W DIAGNOSTYCE AUTOIMMUNOLOGICZNEJ

Metoda immunofluorescencji (IF)

Technika ta, wprowadzona ponad 40 lat temu, wciąż pozostaje standardową techniką immunologiczną („gold standard technique”) szeroko stosowaną w wielu laboratoriach na świecie. Charakteryzuje się bardzo dobrą czułością i swoistością, zwłaszcza, gdy postępuje się nią zespół z wieloletnim doświadczeniem. W metodzie immunofluorescencji źródłem natywnych (niezmienionych) antygenów są substraty tkankowe i rozmazy komórkowe pozwalające na wykrywanie szerokiego spektrum przeciwciał. Historycznie rozpoczynając pracę z tą metodą jako podstawowe wyposażenie pracowni, niezbędne do wykonywania badań immunofluorescencyjnych był kriostat (urządzenie pozwalające na krojenie zamrożonych tkanek) oraz mikroskop fluorescencyjny, w którym oglądało się preparaty po przeprowadzonej reakcji immunologicznej. Obecnie standardem jest posługiwanie się zestawami przygotowanymi przez renomowane firmy produkujące gotowe preparaty ze skrawków tkankowych czy zawiesin komórek odpowiednio przygotowanych do przeprowadzenia reakcji immunochemicznej. W mikroskopie wykorzystuje się obecnie lampy ledowe (zamiast rtęciowych), które dają stabilny strumień światła pozwalający na powtarzalną ocenę intensywności i rodzaju świecenia. Niezmienna pozostała zasada znakowania fluorochromem przeciwciała które sprawia, że w miejscu związania ze swoistym antygenem w tkance, w mikroskopie obserwuje się charakterystyczną żółto-zieloną fluorescencję.

Stosuje się dwa podstawowe warianty metody immunofluorescencji (IF):

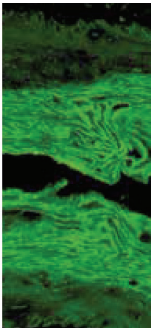
- metodę bezpośrednią (DIF - Direct ImmunoFluorescence)
- metodę pośrednią (IIF - Indirect ImmunoFluorescence)



Metodę bezpośrednią stosuje się do wykrywania immunoglobulin i dopełniacza związanych *in vivo* w tkankach. Jest to metoda jednofazowa, w której skrawki tkanki umieszczone na szkiełku inkubuje się ze znakowanym przeciwciałem zwierzęcym skierowanym przeciw ludzkim immunoglobulinom.

Metoda pośrednia jest metodą dwufazową, 10-krotnie bardziej czułą niż metoda bezpośrednia. Jest stosowana rutynowo do wykrywania przeciwciał krążących. Technika ta oparta jest na zdolności wiązania się przeciwciał krążących z odpowiednim antygenem obecnym w tkance użytej jako substrat antygenowy. W drugim etapie skrawek tkankowy lub umieszczona na szkiełku zawiesina komórek ze związanym ludzkim przeciwciałem inkubuje się z przeciwciałem zwierzęcym znakowanym fluorochromem (koniugatem).

W badaniu półilościowym poprzez inkubowanie substratu tkankowego w pierwszym etapie reakcji IF z kolejnymi rozcieńczeniami badanej surowicy określa się poziom (miano) przeciwciał.



Immunodyfuzja

Metoda immunodyfuzji jest ważną metodą pomocniczą przy wykrywaniu przeciwciał precypitujących, skierowanych przeciw grupie rozpuszczalnych antygenów jądrowych (ENA - Extractable Nuclear Antigen). Należą do nich, Ro, La, Jo1 Scl-70, nRNP, Sm. Źródłem antygenów w tej metodzie jest specjalnie przygotowany wyciąg grasicy cielęcej lub innej tkanki bogatej w materiał jądrowy. Metoda polega na podwójnej dyfuzji w żelu agarozowym surowicy z badanymi przeciwciałami i ekstraktu grasicy cielęcej, który jest mieszaniną rozpuszczalnych antygenów jądrowych i cytoplazmatycznych. W miejscu spotkania przeciwciała z odpowiednim antygenem w żelu powstają linie precypitacyjne. Porównanie tych linii z liniami precypitacyjnymi uzyskanymi ze znanymi przeciwciałami (surowice standardowe z przeciwciałami La, Sm, Ro itd.) pozwala określić swoistość przeciwciała w badanej surowicy w zależności od tego czy uzyskana linia jest identyczna, częściowo identyczna, czy też nieidentyczna z linią precypitacyjną znanego przeciwciała. Metoda odznacza się wysoką swoistością, a jej dużą zaletą jest użycie natywnych, niezdenaturowanych antygenów. Niestety brak wystandaryzowanych wzorców dla większości przeciwciał i czas reakcji zmniejszają przydatność tej metody.

Metoda immunoblot

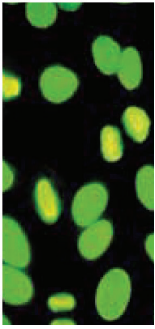
Ta technika rozwinęła się w ostatnim dziesięcioleciu niezmiernie dynamicznie. Otrzymanie rozdziału poszczególnych antygenów np. na pasku lub membranie okazało się najszybszą ścieżką diagnostyczną. Wykonanie samego badania jest bardzo proste, gdyż odpowiedni pasek lub membranę z naniesionymi punktowo antygenami, inkubuje się z surowicą badaną, a następnie z koniugatem przeciw ludzkim immunoglobulinom (przeciwciała zwierzęce sprzężone z enzymami, skierowane przeciw ludzkim immunoglobulinom). W ostatnim etapie reakcji paski inkubuje się z substratem enzymatycznym, który w wyniku działania enzymu (peroksydaza, fosfataza alkaliczna) daje barwny produkt w miejscu gdzie na pasku znajduje się odpowiedni antygen. Wyrafinowana i dokładna technika immunoblotu pozwala wykrywać przeciwciała w niskich mianach. Umożliwia też dokładne określenie podjednostki antygenów, z którymi łączą się przeciwciała.

ELISA

Testy oparte na metodach immunoenzymatycznych (ELISA - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) są żądziej stosowane niż opisane wyżej IIF i immunoblot. W tej metodzie otrzymujemy wyniki ilościowe. Technika ELISA wykorzystywana jest najczęściej do obserwowania terapii, czy potwierdzenia obecności pojedynczych antygenów przy rozpoznawaniu schorzeń autoimmunologicznych. Może być testem jakościowym jeśli do reakcji wykorzystana jest mieszaninę różnych antygenów.

Inne metody

- koagulometryczne - do oznaczania antykoagulantu toczeniowego,
- nefelometryczne - do oznaczania czynnika reumatoidalnego,
- chemiluminescencyjne - używane w automatach immunodiagnostycznych.



II. NAJWAŻNIEJSZE GRUPY AUTOPRZECIWCIAŁ

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBAH TKANKI ŁĄCZNEJ

Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne

Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA - Anti Nuclear Antibodies) swoją nazwą obejmują heterogenną grupę przeciwciał skierowanych przeciw różnym antygenom zarówno jądrowym, jak i cytoplazmatycznym. ANA inkubowane z substratem antygenowym dają różne typy fluorescencji (patterns), w zależności od lokalizacji antygeny, przeciw któremu są skierowane. Typ fluorescencji jest charakterystyczny i dostarcza niezwykle ważnych informacji na temat swoistości przeciwciała, która następnie jest weryfikowana za pomocą metody immunofuzji.

Podstawowe typy fluorescencji jądrowej:

- homogenny
- obwodowy
- ziarnisty
- nuclear dots
- centromerowy(ACA)
- jąderkowy

Podstawowe typy świecenia cytoplazmatycznego:

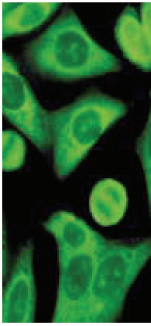
- granularny np. mitochondrialny
- fibrylarny np. aktynowy

W metodzie IIF niezwykle ważny jest dobór właściwego substratu do reakcji. W Pracowniach Autoimmunologicznych DIAGNOSTYKI substratami z wyboru są: przełyk małpy, przełyk świnki morskiej, komórki wątroby małpy oraz komórki linii HEp-2. Surowica jest badana na różnych substratach zwierzęcych dając często nieco różne reakcje z każdym z nich, co pozwala na bardziej szczegółową charakterystykę poszukiwanego przeciwciała i ułatwia interpretację wyniku zwiększając diagnostyczne znaczenie testu.

ANA są charakteryzowane na ludzkich komórkach nabłonkowych wywodzących się z raka krtani (komórki HEp-2). Ocena typu fluorescencji jądrowej na komórkach HEp-2 jest dużo łatwiejsza niż na substratach tkankowych ze względu na duże rozmiary jądra komórkowego. Komórki HEp-2 zawierają ponadto ludzkie antygeny, dlatego spektrum antygenów HEp-2 lepiej odpowiada swoistości ludzkich przeciwciał. Nie bez znaczenia jest również fakt, że komórki HEp-2, oprócz interfazalnych, prezentują pewien odsetek komórek mitotycznych. Umożliwia to identyfikację przeciwciał przeciw specyficznym strukturom mitotycznym, jak również pewniejszą identyfikację przeciwciał np. przeciw centromerom. Wiele przeciwciał przeciwjądrowych, które mogą być wykryte przy użyciu komórek HEp-2, nie reaguje z substratami tkankowymi, a z kolei istnieje pewien niewielki procent przeciwciał przeciwjądrowych, które nawet przy wysokim mianie nie są wykrywane na komórkach HEp-2, lecz mogą być zidentyfikowane przy zastosowaniu substratu tkankowego. Właściwa diagnostyka ANA wymaga więc równoległego badania surowicy Pacjentów na substratach: komórkach HEp-2, wątrobie małpy, skrawkach przełyków małpy i świnki morskiej.

Szczególnym źródłem antygenów jądrowych jest komórka wiciowca *Crithidium luciliae*, używana jako swoisty substrat do wykrywania przeciwciał przeciw dwuniciowemu (natywnemu) DNA (dsDNA).

Po określeniu typu świecenia oraz miana przeciwciał dalsza ich identyfikacja prowadzona jest metodą immunofuzji lub metodą immunoblotu.



Podstawowymi rodzajami przeciwciał przeciwjądrowych są:

dsDNA	marker ciężkich postaci toczenia trzewnego (SLE), a w szczególności jego postaci z zajęciem nerek
histonowe	obecne w toczeniu indukowanym lekami (szczególnie prokainamidem i hydralazyną), rzadko w SLE bez etiologii polekowej, występują także w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS)
U1-nRNP	marker mieszanej choroby tkanki łącznej (MCTD), Sharp Syndrom u 95-100% pacjentów i SLE o łagodnym przebiegu
Ro (SS-A)/La (SS-B)	obecne w różnych postaciach toczenia, w zespole Sjögrena i w twardzinie układowej, pierwotnej marskości żółciowej wątroby, w toczeniu noworodkowym
Rybosomalne białko P	wysoka specyficzność dla LUPUS ERTHEMATOSUS DISSEMINATUS
Sm	marker ciężkich postaci toczenia, często z zajęciem układu nerwowego
Scl-70	marker twardziny układowej
ACA (przeciwciała antycentromerowe)	marker łagodnej postaci twardziny, zespołu CREST
Jo-1	marker zapalenia wielomięśniowego (polymyositis) oraz skórno-mięśniowe
U3-nRNP-(fibrylarynowe)	obecne w twardzinie układowej
RNA-polimeraza	obecne w twardzinie układowej
PM-SCL (PM-1)	występują w zespołach nakładania, w 50-70% pacjentów z overlap syndrome dla PM, DM oraz PSS
PCNA (cyklinowe)	występują w toczeniu układowym trzewnym
Ku	obecne w toczeniu układowym, twardzinie, w zespołach nakładania
Mi-1 i Mi-2	występują w zapaleniu skórno-mięśniowym (dermatomyositis)
Antyrybosomalne	obecne w toczeniu z zaburzeniami psychicznymi
ANuA	występują w toczeniu trzewnym, wykorzystywane są do różnicowania toczenia trzewnego od twardziny układowej
Aktyna	autoimmunologiczne zapalenie wątroby (AIH)
AMA-M2	charakterystyczne dla pierwotnej żółciowej marskości wątroby
Nuclear dots	pierwotna żółciowa marskość wątroby

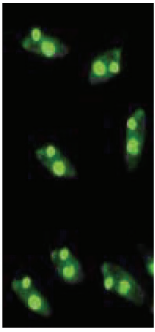
NAJCZĘSTSZE CHOROBY TKANKI ŁĄCZNEJ

Toczeń trzewny (Systemic Lupus Erythematosus) – SLE

W surowicach chorych na SLE występują przeciwciała przeciw wielu antygenom jądrowym: dsDNA, histonom, Sm, nRNP, Ro (SS-A) i La (SS-B), rybosomom, Ku, PCNA, AnuA. Częstość wykrywania ANA w aktywnym okresie choroby wynosi 95-100%, a w okresie nieaktywnym 85-100%. Przeciwciała Sm i dsDNA są wysoce swoiste dla SLE, natomiast inne mają mniejsze znaczenie w diagnostyce, gdyż wykrywane są także w innych kolagenozach. Przeciwciała przeciw dsDNA są najbardziej swoiste dla toczenia trzewnego z zajęciem nerek (*lupus nephritis*) i są jednym z najważniejszych kryteriów diagnostycznych SLE. Dodatkowo istnieje korelacja pomiędzy aktywnością procesu chorobowego a poziomem tych przeciwciał i dlatego ocena ich miana służy do kontroli terapii. W zależności od aktywności choroby przeciwciała przeciw dsDNA występują w 30-50% przypadków SLE. Drugim obok dsDNA markerem patognomonicznym dla SLE są przeciwciała przeciwjądrowe Sm występujące u 5-20% chorych. Są one charakterystyczne dla ciężkich postaci toczenia, często z zajęciem układu nerwowego. Innymi przeciwciałami wykrywanymi w SLE są przeciwciała przeciw nukleosomom (AnuA), które stwierdzane są u 75-90% pacjentów z toczeniem trzewnym.

Skórna postać toczenia trzewnego (Discoid Lupus Erythematosus) – DLE

W DLE w 30-40% przypadków wykrywa się przeciwciała Ro (SS-A). Miana tych przeciwciał są niskie w porównaniu z ich poziomem w innych chorobach autoimmunologicznych.



Podostra skórna postać tocznia trzewnego (Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus – SCLE)
W SCLE występują głównie przeciwciała Ro (SS-A) i La (SS-B). Stwierdza się je w ok. 70% przypadków tej choroby.

Zespół Sjögrena

Przeciwciała Ro/La wykrywa się w zespole Sjögrena (40-90%) i w tej jednostce najczęściej występują one razem.

Mieszana choroba tkanki łącznej (Mixed Connective Tissue Disease) - MCTD

W chorobie tej występują w wysokich mianach przeciwciała przeciw rybonukleoproteinie jądrowej (U1-nRNP). Częstość występowania przeciwciał przeciw U1-nRNP wynosi 95-100% przypadków, a ich miano koreluje z aktywnością choroby. Przeciwciała przeciw U1-nRNP występują również u 30-40% pacjentów z SLE, ale na ogół w niższych mianach i prawie zawsze razem z przeciwciałami Sm.

Twardzina układowa (Systemic Sclerosis) - SSc

W twardzinie układowej ANA wykrywa się w ponad 95% przypadków. Najbardziej swoiste dla tej choroby są przeciwciała przeciw antygenowi Scl-70 (przeciw enzymowi topoisomerasie I DNA) i przeciwciała ACA. Chociaż immunofluorescencja, jaką dają przeciwciała Scl-70 jest bardzo charakterystyczna to wykrywanie tego przeciwciała powinno być zawsze potwierdzone w metodzie immunodyfuzji lub immunoblotu. W przebadanej w Pracowni Autoimmunologii serii ponad 500 przypadków SSc, przeciwciała Scl-70 występowało w około 80% przypadków twardziny układowej rozsianej dSSc (diffuse Systemic Sclerosis) i w około 50% twardziny ograniczonej LSSc (Limited Systemic Sclerosis).

Zespół CREST

Drugie co do częstości występowania przeciwciała przeciw centromerom (ACA) są markerem zespołu CREST. W tych przypadkach mogą mieć one znaczenie prognostyczne i Pacjenci powinni być obserwowani w związku z możliwością rozwinięcia się pełnoobjawowej twardziny układowej. Poza dwoma podstawowymi markerami SSc w surowicach chorych z twardziną układową występują również przeciwciała skierowane przeciw antygenom jąderkowym. Należą do nich przeciwciała fibrylarynowe (U3-nRNP) dające w IIF jąderkowy typ świecenia zwany „clumpy” oraz przeciwciała przeciw polimerazie I RNA dające ziarnisty typ świecenia jąderkowego. Homogenny typ fluorescencji jąderkowej jest charakterystyczny dla przeciwciał PM-Scl, które są markerem *scleromyositis* tj. zespołu łączącego w sobie cechy twardziny układowej i *myositis*.

Zapalenia wielomięśniowe (Polymyositis) i skórno-mięśniowe (Dermatomyositis) - PM i DM

Swoistym dla DM przeciwciałem jest przeciwciała Mi-2, dające charakterystyczną drobnoziarnistą przypominającą koronkę fluorescencję jądrową. Występuje ono jednak dość rzadko, bo tylko w ok. 15-20% przypadków tej choroby. W PM najczęściej wykrywanym przeciwciałem jest Jo-1. Przeciwciała Jo-1 dają ziarnistą fluorescencję cytoplazmy interfazalnych komórek HEp-2 i wymagają potwierdzenia metodą immunodyfuzji lub immunoblotu. Skierowane są przeciw antygenowi cytoplazmatycznemu, który zidentyfikowano jako syntetazę histydylową. Przeciwciała Jo-1 są wykrywane w polymyositis (ze śródmiąższowym zwłóknieniem płuc), a częstość ich wykrywania wynosi 25-35%.

RODZAJE BADAŃ PRZECIWCIAŁ W CHOROBY TKANKI ŁĄCZNEJ:

ANA 1 (Badanie 600)

Badanie przesiewowe metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem linii komórek HEp-2, na obecność lub brak przeciwciał przeciwjądrowych i antycytoplazmatycznych.

Wynik ogólny: dodatni/ujemny. Surowica dodatnia standardowo jest bankowana na okres 1 miesiąca, co umożliwia wykonanie diagnostyki rozszerzonej o badania od ANA 2 do ANA 10.

Czas oczekiwania na wynik: 3 dni robocze.

ANA 2 (Badanie 601)

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem linii komórek HEp-2, określające typ świecenia oraz miano przeciwciał przeciwjądrowych i antycytoplazmatycznych.

Dla homogenego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu *Critidium luciliae* do oznaczenia przeciwciał dsDNA, z podaniem ich miana. W przypadku cytoplazmatycznego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu tkanki świnki morskiej do oznaczenia przeciwciał AMA, z podaniem ich miana.

Dla wszystkich wyników dodatnich wykonujemy badanie DID w celu potwierdzenia obecności lub braku możliwych antygenów.

Wynik obejmuje: typ świecenia i miano oraz informuje o obecności lub braku linii dla odpowiedniego ekstraktu DID. Surowica dodatnia jest standardowo bankowana na okres 1 miesiąca w celu rozszerzenia diagnostyki o badania od ANA 3 do ANA 9.

Czas oczekiwania na wynik: 6 dni roboczych.

ANA 3 (Badanie 602)

Badanie określające HEp-2 obecność przeciwciał przeciw 16 antygenom rozpuszczalnym i nierozpuszczalnym: DSF 70, nRNP/Sm, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, Centromer B (CENP B), PCNA, dsDNA, nukleosomom, histonom, rybosomalnemu białku P (Ryb. białku P) i AMA-M2.

Wynik jakościowy w postaci: + ; - ; +/- dla poszczególnych antygenów.

Czas oczekiwania na wynik: 4 dni robocze.

ANA 4 (Badanie 605)

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem linii komórek HEp-2, określające typ świecenia oraz miano przeciwciał przeciwjądrowych i antycytoplazmatycznych.

Dla homogenego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu *Critidium luciliae* do oznaczenia przeciwciał dsDNA, z podaniem ich miana. W przypadku cytoplazmatycznego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu tkanki świnki morskiej do oznaczenia przeciwciał AMA, z podaniem ich miana.

Dla wszystkich badanych określamy metodą immunoblotu obecność przeciwciał przeciw 16 antygenom rozpuszczalnym i nierozpuszczalnym: DSF 70, nRNP/Sm, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, Centromer B (CENP B), PCNA, dsDNA, nukleosomom, histonom, rybosomalnemu białku P (Ryb. białku P) i AMA-M2.

Wynik obejmuje:

typ świecenia i miano oraz informuje o obecności lub o braku przeciwciał dla poszczególnych antygenów: + ; - ; +/-.

Czas oczekiwania na wynik: 4 dni robocze.

ANA 5 (Badanie 619)

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem linii komórek HEp-2, określające typ świecenia oraz miano przeciwciał przeciwjądrowych i antycytoplazmatycznych.

Dla homogenego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu *Critidium luciliae* do oznaczenia przeciwciał dsDNA, z podaniem ich miana. W przypadku cytoplazmatycznego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu tkanki świnki morskiej do oznaczenia przeciwciał AMA, z podaniem ich miana.

Dla wszystkich wyników wykonujemy diagnostykę ENA (przeciwiata dla 7 antygenów rozpuszczalnych) metodą immunoblotu: nRNP/Sm, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, Jo-1.

Wynik obejmuje:

typ świecenia i miano oraz informuje o obecności lub braku przeciwciał dla poszczególnych ENA, w postaci: + ; - ; +/-.

Czas oczekiwania na wynik: 4 dni robocze.

ANA 6 (Badanie 3297)

Badanie określające metodą immunoblotu obecność przeciwciał dla antygenów ENA (7 antygenów rozpuszczalnych): nRNP/Sm, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, Jo-1.

Wynik jakościowy: + ; - ; +/-, oznaczający obecność lub brak przeciwciał dla poszczególnych ENA.

Czas oczekiwania na wynik: 4 dni robocze.

ANA 7 (Badanie 3306)

Badanie określające metodą ELISA obecność przeciwciał dla panelu 9 antygenów: nRNP/Sm, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, Jo-1, PCNA, PM-Scl, rybosomalnemu białku P (Ryb. białku P). Surowica dodatnia standardowo jest bankowana na okres 1 miesiąca w celu rozszerzenia diagnostyki o badanie od ANA 2 do ANA 10.

Wynik ogólny dla panelu: dodatni/ujemny.

Czas oczekiwania na wynik: 5 dni roboczych.

ANA 8 (Badanie 3281)

Badanie określające metodą DID obecność przeciwciał dla 6 antygenów rozpuszczalnych, ENA: La, Ro, Jo-1, Scl-70, nRNP, Sm. W badaniu stwierdza się obecność lub brak przeciwciał tych samych co w badaniu ANA 6 (metoda immunoblotu). W pewnych przypadkach ANA 8 stosowane jest do weryfikacji wyników uzyskanych metodą immunoblotu (jako metody „nadczyteń”).

Wynik stwierdza obecność przeciwciał dla określonych antygenów panelu.

Czas oczekiwania na wynik: 8 dni roboczych.

ANA 9 (Badanie 3280)

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem linii komórek HEp-2, określające typ świecenia oraz miano przeciwciał przeciwjądrowych i antycytoplazmatycznych. Badanie alternatywne do ANA 1, może być zlecane dodatkowo obok ANA 2.

Wynik obejmuje: typ świecenia i miano.

Czas oczekiwania na wynik: 4 dni roboczych.

ANA 10 (Badanie 695)

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem linii komórek HEp-2, określające typ świecenia oraz miano przeciwciał przeciwjądrowych i antycytoplazmatycznych. W przypadku homogenego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem substratu *Critidium lucillae* do oznaczenia przeciwciał dsDNA, z podaniem miana. W przypadku cytoplazmatycznego typu świecenia poszerzamy diagnostykę o badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) z użyciem jako substratu tkanki świnki morskiej do oznaczenia przeciwciał dla AMA, z podaniem miana.

Dla wszystkich wyników dodatnich wykonujemy badanie DID w celu identyfikacji przeciwciał dla antygenów rozpuszczalnych (ENA): La, Ro, Jo-1, Scl-70, nRNP, Sm.

Wynik obejmuje: typ świecenia i miano oraz obecność przeciwciał dla określonych antygenów panelu.

Czas oczekiwania na wynik: 12 dni roboczych.

Przeciwciała przeciw dsDNA (Badanie 603 i 3260)

Test ten zlecany jest u Pacjentów z podejrzeniem o *lupus nephritis* w przypadkach wcześniejszego wykrycia przeciwciał dsDNA, w celu monitorowania zmiany poziomu tych przeciwciał. Jest to istotne z klinicznego punktu widzenia gdyż odzwierciedla aktywność procesu chorobowego. Najczęściej monitorowanie miana dsDNA stosuje się w przypadku leczenia tocznia nerkowego lekami immunosupresyjnymi.

Przeciwciała przeciw nukleosomom (ANuA) (Badanie 602 - jeden z parametrów)

Badanie w kierunku przeciwciał przeciw nukleosomom szczególnie wskazane jest w przypadku różnicowania pomiędzy SLE a SSc, gdy w badaniu ANA 2 nie stwierdza się przeciwciał dsDNA. Testy wykorzystujące tzw. nukleosomy II generacji stosowane do oznaczeń przeciwciał przeciw nukleosomom posiadają wysoką specyficzność względem SLE sięgającą 72-100% - metoda immunoblot.

Badania tkankowe (badania obecności przeciwciał w tkankach metodą DIF (direct immunofluorescence) (Badanie 687)

W SLE w wycinkach skóry zdrowej i w zmianach skórnych wykrywa się przede wszystkim złogi immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej. Złogi mają na ogół charakter ziarnisty lub liniowo-ziarnisty. Wykrycie tego zjawiska w skórze zdrowej ma duże znaczenie diagnostyczne dla SLE i zostało nazwane „lupus band test - LBT”.

W złogach na granicy skórno-naskórkowej wykrywa się na ogół przeciwciała klasy IgG, IgA, IgM i składową C3 dopełniacza. Intensywność fluorescencji na granicy skórno-naskórkowej koreluje z aktywnością procesu chorobowego i poziomem przeciwciał przeciw natywnemu DNA. Zjawisku temu może towarzyszyć fluorescencja złogów immunoglobulin w ścianach powierzchniowych naczyń w skórze oraz fluorescencja jąder keratynocytów w naskórku.

Test DIF jest dodatni w przypadku 50-100% wycinków ze zmian skórnych w SLE. Częstość wykrywania dodatniego LBT jest niższa w skórze zdrowej i zależy od tego czy jest to część odsłonięta czy zasłonięta. Leczenie immunosupresyjne wyraźnie obniża częstość dodatniego LBT w SLE.

W SCLE złogi z immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej mogą być również obecne (głównie w klasie IgG i IgM), natomiast zjawiskiem bardziej charakterystycznym dla tej jednostki jest występowanie drobnoziarnistej fluorescencji „dust” w cytoplazmie i jądrach komórek naskórka.

W DLE złogi immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej stwierdza się w wycinkach ze zmian skórnych. Mają one charakter linijny lub linijno-ziarnisty i są grubsze niż złogi na granicy skórno-naskórkowej w SLE.

Dla potwierdzenia diagnozy DLE najbardziej odpowiednim miejscem pobrania wycinka do badania DIF jest stara nieleczona zmiana skórna. W skórze zdrowej w DLE nie stwierdza się złogów immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej (LBT - ujemny).

MCTD łączy w sobie skórne i narządowe cechy SLE oraz twardziny układowej (SSc). DIF wycinków skóry jest często dodatni i ma charakterystyczną morfologię. Złogi immunoglobulin wykrywa się głównie w jądrach komórek naskórka w postaci ich gruboziarnistej fluorescencji, a rzadko na granicy skórno-naskórkowej.

W twardzinie układowej (SSc) nie wykrywa się szczególnych zjawisk immunologicznych w bioptach i nie mają one znaczenia diagnostycznego.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZAPALENIACH NACZYŃ (VASCULITIS)

Przeciwciała przeciw antygenom cytoplazmy neutrofilów (ANCA)

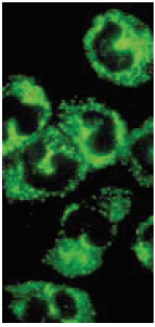
Występują one w różnych chorobach naczyniowych. Wykorzystując metody immunofluorescencji pośredniej wyróżnia się ich dwa podstawowe typy:

- **cytoplazmatyczny (cANCA)** związany z ziarniniakowością Wegenera, chorobą Crohna, Churg -Straussa, *polyarteritis nodosa*. Antygenem reagującym z surowicą pacjenta jest proteinaza 3 (PR3) znajdująca się w cytoplazmie granulocytów.

- **perinuklearny (pANCA)** związany z innymi zapaleniami naczyń, np. *polyangiitis microscopica* i niekiedy z innymi chorobami np. *glomerulonephritis* czy *colitis ulcerosa*. Antygenami reagującymi z surowicą pacjenta są mieloperoxydaza (MPO), elastaza, laktoferyna, lizozym lub katepsyna G dyfundujące do błony jądrowej granulocytów. Badanie wykonuje się używając rozmazu ludzkich granulocytów utwralonych etanolem.

Największe znaczenie diagnostyczne testu ANCA wykazano w ziarniniakowości Wegenera. Jest to w 2/3 przypadków wielonarządowa choroba, której objawy często przypominają ciężkie zakażenie lub rozsiany proces nowotworowy. Wskazania do wykonania testu są bardzo różne, co wynika z wielkiej różnorodności objawów klinicznych i radiologicznych. Są to zarówno pojedyncze objawy jak: krwioplucie, krwawienia z nosa, przewlekła niedrożność nosa, przewlekły ropny proces w obrębie górnych dróg oddechowych, owrzodzenia skóry, skrzydełek nosa, języka, krtani towarzyszące zmianom w płucach, przedłużające się objawy ogólne jak: wysoka ciepota ciała, utrata masy ciała, osłabienie oraz całe zespoły chorobowe m.in. przewlekające się objawy zapalenia płuc, niereagujące na leczenie przeciwprątkowe stany podejrzane o etiologię gruźliczą.

Odrębną grupę wskazań stanowią nieprawidłowe obrazy radiologiczne płuc w postaci mnogich cieni okrągłych, zmian rozsianych, obecność płynu w opłucnej, zmian naciekowych z dużym rozpadem, które nie odpowiadają typowym jednostkom chorobowym. Dodatkową trudnością w diagnostyce ziarniniakowości Wegenera jest fakt, iż nawet obraz histologiczny zajętych narządów czasem budzi wątpliwości w różnicowaniu z gruźlicą i innymi chorobami ziarniniakowymi. Dzięki zastosowaniu testu ANCA jednoznacznie identyfikuje się pacjentów z ziarniniakowością Wegenera, a jego czułość jest bliską 95% w aktywnym stadium choroby i 30-40% w remisji. Miano przeciwciał skorelowane jest z kliniczną aktywnością choroby.



PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBYCH PĘCHERZOWYCH SKÓRY

Autoimmunologiczne choroby pęcherzowe są wynikiem odpowiedzi immunologicznej na cząsteczki adhezyjne komórek naskórka i błony podstawowej naskórka (BMZ).

Pęcherzyca zwykła (*PV-pemphigus vulgaris*) i pęcherzyca liściasta (*PF-pemphigus foliaceus*).

Metoda IIF

W pęcherzycy przeciwciała skierowane są przeciw białkom desmosomalnym obecnym na powierzchni keratynocytów; w pęcherzycy zwykłej przeciw desmogleinie 3 i często również desmogleinie 1, a w pęcherzycy liściastej wyłącznie przeciw desmogleinie 1. Dowiedziono, że przeciwciała w obu postaciach pęcherzycy, oddziałując na funkcję desmosomów, są odpowiedzialne za powstawanie akantolizy i tworzenie się pęcherzy śródskórnokowych. W IIF surowice *pemphigus* reagują z substancją międzykomórkową nabłonka przetyku małpy i przetyku świnki morskiej. Przeciwciała *pemphigus vulgaris* (PV) barwią przestrzenie międzykomórkowe nabłonka w całym nabłonku przetyku małpy (bogaty w desmogleinę 3) i słabiej oraz w niższych mianach reagują z przetykiem świnki morskiej (bogaty w desmogleinę 1). Przeciwciała *pemphigus foliaceus* reagują tylko z górnymi warstwami substancji międzykomórkowej nabłonka małpy (nazywamy to typem *foliaceus*) dając przy tym intensywną fluorescencję i często wyższe miana na przetyku świnki morskiej (bogaty w desmogleinę 1). W pęcherzycy miano przeciwciał krążących koreluje z aktywnością procesu chorobowego. Dlatego wykonywanie testu IIF w regularnych odstępach czasu jest niezwykle ważnym czynnikiem w monitorowaniu stanu pacjentów z tą chorobą. Szczególnym typem pęcherzycy jest pęcherzyca paraneoplastyczna (PNP). W tej postaci oprócz przeciwciał przeciw desmogleinie 1 i 3 występują dodatkowo przeciwciała przeciw desmoplakinom (1 i 2) oraz przeciw periplakinie i envoplakinie. Te ostatnie w odróżnieniu od przeciwciał w pęcherzycy zwykłej i liściastej reagują z substancją międzykomórkową nabłonków przejściowych. Najlepszym testem na ich wykrycie jest reakcja z nabłonkiem pęcherza moczowego świnki morskiej i/lub małpy. Badając surowice chorych z PNP stwierdza się dodatkowo w większości przypadków występowanie przeciwciał przeciwcytoplazmatycznych skierowanych przeciw cytokeratynom komórek nabłonka. Przeciwciała te dają charakterystyczną homogenną fluorescencję komórek nabłonka przetyku oraz świecenie cytoszkieletu w cytoplazmie ludzkich komórek nabłonkowych HEp-2.

Wszystkie wymienione przeciwciała pemphigus występują w klasie IgG. W rzadkich przypadkach pemphigus przeciwciała występują w klasie IgA i skierowane są przeciw desmogleinie 1. Wykrywalność przeciwciał pemphigus w aktywnym okresie choroby wynosi ponad 98%.

Badania tkankowe - METODA DIF

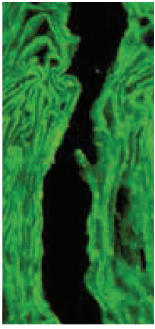
W wycinkach skórnych pobranych ze skóry niezmienionej z najbliższego otoczenia zmiany we wszystkich typach pęcherzycy obserwujemy fluorescencję substancji międzykomórkowej, która jest wynikiem wiązania się *in vivo* przeciwciał *pemphigus* z białkami desmosomalnymi na powierzchni keratynocytów. Typ fluorescencji w przestrzeniach międzykomórkowych skóry niezmienionej obserwowany w PV i PF jest podobny. Jeśli wycinek obejmuje również zmianę skórną, to w PV obserwuje się tworzący się pęcherz śródskórnokowy z obfitą akantolizą i świecącymi obwodowo komórkami akantolitycznymi. W PF tworzenie się pęcherza i zjawisko akantolizy występuje częściej w wyższych partiach naskórka. Wynik DIF jest pozytywny u około 100% pacjentów w aktywnym okresie choroby, o ile wycinek skóry lub błony śluzowej został właściwie pobrany (z najbliższego otoczenia pęcherza lub nadżerki).

Podnaskórkowe choroby pęcherzowe

Bullous pemphigoid (PB), *epidermolysis bullosa aquasita (EBA)*, *cicatricial pemphigoid (CP)*, *linear IgA bullous dermatosis (LABD)*, *dermatitis herpetiformis*

Metoda IIF

W wymienionych powyżej jednostkach chorobowych przeciwciała klasy IgG w surowicy skierowane są przeciw antygenom błony podstawowej (BMZ), w BP i CP przeciw hemidesmosomom i *lamina lucida*, w EBA przeciw typowi VII kolagenu. Wyniki dodatnie stwierdza się w około 75% przypadków BP



i 50% EBA. Typ fluorescencji - linijne świecenie błony podstawnej nabłonka przetyku nie pozwala na różnicowanie BP i EBA. Pomocna w ich różnicowaniu jest IIF skóry zdrowej inkubowanej w roztworze NaCl celem wytworzenia sztucznego pęcherza podnaskórkowego (metoda splitu). Fluorescencja błony podstawnej w pokrywie pęcherza jest charakterystyczna dla BP, a fluorescencja ograniczona wyłącznie do dna pęcherza jest typowa dla EBA. Przeciwciała klasy IgA przeciw antygenom błony podstawnej są charakterystyczne dla LABD. Spotyka się je w 30-50% przypadków. W *dermatitis herpetiformis* w ok. 70% przypadków wykrywa się przeciwciała klasy IgA przeciw endomysium (EmA IgA). Przeciwciała te są także markerem gluteno zależnej enteropatii (CD) i występują u około 100% przypadków CD po prowokacji glutenem.

Metoda bezpośrednia DIF

Wykrycie w tej metodzie złogów immunoglobulin w błonie podstawnej (BMZ) jest charakterystyczne dla podnaskórkowych chorób pęcherzowych skóry. Złogi przeciwciał IgG i składowej C3 dopełniacza stwierdza się w BP, CP i EBA. Złogi najczęściej mają charakter liniowy. W BP intensywność fluorescencji złogów przeciwciał IgG jest często słabsza niż składowej C3 dopełniacza, w EBA na ogół złogi przeciwciał IgG świecą mocniej niż składowa C3. Obecność w BMZ innych immunoreaktantów takich jak przeciwciała IgA i IgM jest bardziej charakterystyczna dla EBA. Istotnym badaniem w chorobie Dühringa pozostaje też wykrycie ziarnistych złogów przeciwciał IgA w brodawkach skóry.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W GLUTENOZALEŻNEJ ENTEROPATII

Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgG (anty-tTG IgG) oraz w klasie IgA (anty-tTG IgA)

Transglutaminaza tkankowa stanowi docelowy antygen dla przeciwciał przeciw endomysium mięśni gładkich przewodu pokarmowego (EmA). Metody wykorzystywane do ilościowej analizy anty-tTG IgA (immunochemiluminescencja) i anty-tTG IgG (ELISA), charakteryzują się swoistością i czułością w zakresie 90-100%. Anty-tTG uznawane są za wysoce specyficzny marker celiakii, ponieważ nie występują u osób zdrowych, a także u chorych z innymi schorzeniami przewodu pokarmowego. Ze względu na możliwość współwystępowania niedoboru IgA z celiakią, zaleca się jednocześnie oznaczanie anty-tTG IgA oraz anty-tTG IgG.

Przeciwciała przeciw deaminowanej gliadynie (DPG) w klasie IgG oraz w klasie IgA

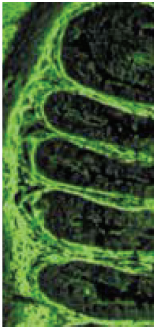
Przeciwciała przeciw deaminowanej gliadynie, występują u chorych z objawami enteropatii gluteno zależnej (celiakia) i w chorobie Dühringa. Są to formy gliadyny powstające na skutek oddziaływania transglutaminazy tkankowej *in vivo*. Prawie zawsze występują w klasie IgA, rzadko w klasie IgG i wówczas mogą występować też u osób zdrowych (mniejsza swoistość). Zmiana ich poziomu koreluje z aktywnością schorzenia, a ich badanie jest przydatne do kontroli diety bezglutenowej. Przeciwciała przeciw deaminowanej gliadynie w aktywnych schorzeniach zazwyczaj współwystępują z przeciwciałami przeciw endomysium.

Przeciwciała przeciw endomysium w klasie IgG (EMA IgG) oraz w klasie IgA (EMA IgA)

Markerem gluteno zależnej enteropatii pozostają również przeciwciała przeciw endomysium mięśni gładkich przewodu pokarmowego (EMA). Antygenem dla tych przeciwciał jest enzym - transglutaminaza tkankowa (tTG). Występują one najczęściej w klasie IgA, a w klasie IgG zazwyczaj tylko przy niedoborach immunoglobuliny A.

EMA IgA wykrywa się również w chorobie Dühringa (w ok. 70% przypadków), natomiast w celiakii występują w około 100% przypadków u chorych po prowokacji glutenem. Przeciwciała te są najbardziej swoiste z opisanych dotychczas przeciwciał (przeciw retikulinie, przeciw gliadynie) i są one indukowane przez gluten (zanikają pod wpływem diety bezglutenowej i pojawiają się ponownie po podaniu glutenu).

Badania porównawcze wykonywane w naszym Laboratorium metodami IIF i ELISA (gdzie antygenem jest oczyszczona transglutaminaza tkankowa tTG) wykazały zbieżność zdecydowanej większości wyników otrzymanych przy użyciu obu metod, przy czym metoda IIF okazała się bardziej czuła.



Przeciwciała przeciw retikulinie w klasie IgG (ARA IgG) oraz w klasie IgA (ARA IgA)

Przeciwciała ARA są skierowane przeciw innym epitopom peptydowym (92,5kD) inaczej niż EMA IgA (82kD). Są one wykrywane w naszym laboratorium metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu (jednoczesnym) nerki i wątroby szczura jako substratów antygenowych.

Pełny algorytm powstępowania diagnostycznego rozpoznawania celiaki, uwzględniający badania genetyczne wg. ESPGHAN 2012 przedstawiamy w opracowaniu pt. „Diagnostyka celiaki - badania przeciwciał i diagnostyka molekularna.”

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W AUTOIMMUNOLOGICZNYCH CHOROBY WĄTROBY

W zależności od typu występowania autoprzeciwciał można wyróżnić trzy typy przewlekłego autoimmunologicznego zapalenia wątroby:

- I. Z obecnością przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) i przeciwciał przeciw mięśniom gładkim (ASMA).
- II. Z przeciwciałami przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM).
- III. Z przeciwciałami przeciw rozpuszczalnemu antygenowi wątrobowemu i wątrobowo-trzustkowemu (anty-SLA/LP).

Innym markerem AIH II są przeciwciała przeciw antygenowi cytoplazmatycznemu wątroby typu 1 (anty-LC-1).

Pierwotna żółciowa marskość wątroby (PBC - Primary Biliary Cirrhosis) jest inną ciężką chorobą autoimmunologiczną wątroby. Występuje ona około 10 razy częściej u kobiet niż u mężczyzn. Postępująca destrukcja małych i średnich kanalików żółciowych z włóknieniem doprowadza do całkowitej marskości wątroby i często nawet do śmierci. Najbardziej specyficznymi markerami tego schorzenia są przeciwciała przeciwmitochondrialne typu M2. Dodatkowo w tej chorobie można stwierdzić obecność przeciwciał przeciwjądrowych o typie świecenia „nuclear dots” (NSp-1, Sp100). Ich fluorescencja, zwłaszcza na komórkach HEp-2, przypomina fluorescencję ACA. W różnicowaniu pomocne są jednak komórki mitotyczne w metafazie HEp-2, które w przypadku NSp-1 są w obrębie chromatydy ujemnej, podczas gdy ACA dają charakterystyczne świecenie chromosomów w różnych fazach podziału. Przeciwciała NSp-1 w PBC na ogół towarzyszą AMA. Ponadto w 75% przypadków w tej chorobie można stwierdzić przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym.

Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA)

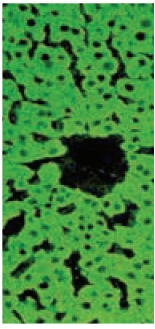
Przeciwciała przeciwmitochondrialne wykrywa się najczęściej metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratu antygenów nerki szczura i komórek HEp-2. Antygenem są liczne substancje biochemiczne występujące zarówno po wewnętrznej jak i po zewnętrznej stronie błony mitochondriów. Występują one w pierwotnej żółciowej marskości wątroby (PBC), ale także w toczniu trzewnym, zapaleniu mięśnia sercowego, kile, zespole antyfosfolipidowym i twardzinie układowej.

Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA) typu M2

Specyficznym i czułym markerem pierwotnej żółciowej marskości wątroby są przeciwciała przeciwmitochondrialne przeciw zespołowi antygenów określanych jako M2. Jest on zespołem trzech spokrewnionych kompleksów multienzymatycznych wewnętrznej błony mitochondrium, który uczestniczy w łańcuchu oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu, α -ketoglutaranu i α -ketokwasów. Przeciwciała mitochondrialne typu M2 są wykrywane w 96% u chorych z PBC. Przeciwciała przeciwmitochondrialne z różnicowaniem w kierunku typu M2 można diagnozować metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu kombinacji substratów złożonych z nerki szczura i powierzchni opłaszczonych antygenami M2. Można też do różnicowania różnych podtypów przeciwciał przeciwmitochondrialnych zastosować metody immunoblotu.

Przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym

Stwierdzane są w 75% przypadków pierwotnej żółciowej marskości wątroby.



Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim (ASMA)

Standardowe badania wykonuje się metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratów tkanek szczura (żołądka, przełyku i jelit). W autoimmunologicznym zapaleniu wątroby najważniejszym antygenem docelowym jest aktyna F. Przeciwciała przeciw aktynie można wykryć metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratów komórek HEp-2 i wątroby. Wysokie miana przeciwciał przeciw mięśniom gładkim sugerują autoimmunologiczne zapalenie wątroby typu I, a zmiana ich mian może korelować z aktywnością choroby. Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim można też wykryć w mononukleozie zakaźnej, infekcjach wirusowych, w marskości poalkoholowej, raku sutka i jajnika oraz w czerniaku złośliwym.

Przeciwciała przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM)

Przeciwciała te są markerem autoimmunologicznego zapalenia wątroby typu II. Antygenem dla tych przeciwciał jest cytochrom P450IID6 zlokalizowany w mikrosomach. W technice immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratów nerki i wątroby szczura dają charakterystyczną fluorescencję na obu substratach.

Przeciwciała przeciw rozpuszczalnemu antygenowi wątrobowemu i wątrobowo-trzustkowemu (anty-SLA/LP)

Uważane są za najbardziej specyficzne przeciwciała dla diagnostyki autoimmunologicznego zapalenia wątroby. Każdy wynik dodatni, o ile występują odpowiednie objawy kliniczne, potwierdza rozpoznanie autoimmunologicznego zapalenia wątroby. W podziale zapaleń wątroby związane są z III typem tej choroby.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOLE ANTYFOSFOLIPIDOWYM (APS)

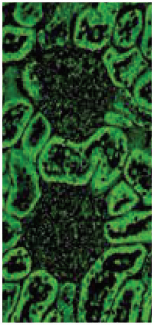
Badania przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych

Badanie przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych jest wykorzystywane w diagnostyce zespołu antyfosfolipidowego, którego charakterystycznymi objawami są zakrzepica (żylna, tętnicza, drobnych naczyń) oraz niepowodzenia położnicze u kobiet. Mogą im towarzyszyć także małopłytkowość, zmiany skórne o typie *livedo reticularis* czy zmiany na zastawkach serca. Wykonanie badania wskazane jest także w przypadku rozpoznanej kolagenozy, fałszywie dodatnich wyników VDRL oraz przy niejasnych przedłużeniach aPTT (czas kaolinowo-kefalinowy).

Rozpoznanie APS można postawić, jeżeli stwierdzono co najmniej jedno kryterium kliniczne i jedno kryterium laboratoryjne, o ile nie dzieli je więcej niż 5 lat. Wyniki dodatnie badań laboratoryjnych muszą być potwierdzone w odstępie co najmniej 12 tygodni. W diagnostyce APS, w pierwszej kolejności należy wykonać oznaczenia obecności przeciwciał antykardiolipinowych w klasach IgM i IgG i antykoagulantu toczniowego. Zgodnie z najnowszą definicją zespołu antyfosfolipidowego (kryteria Sydney) w przypadku wyników ujemnych powinno się dodatkowo oznaczyć przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I, by ostatecznie wykluczyć zespół antyfosfolipidowy. W sytuacjach niejednoznacznych, które wymagają dalszej diagnostyki, można dodatkowo oznaczyć przeciwciała przeciw: protrombinie, fosfatydyloserynie lub przeciwko kompleksowi protrombina –fosfatydyloseryna oraz fosfatydyloinozytolowi

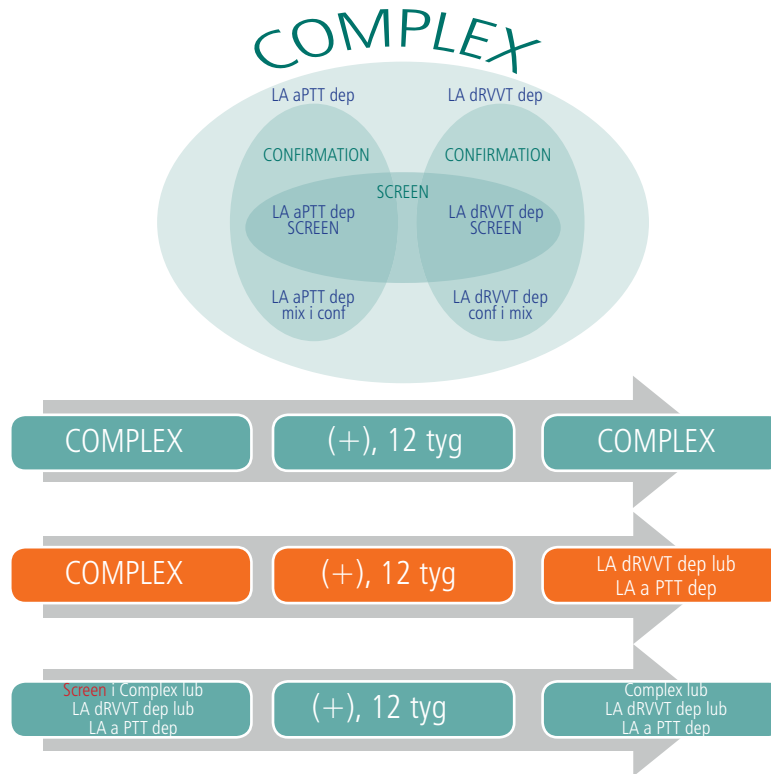
Antykoagulant toczniowy (Lupus anticoagulant, LA)

Antykoagulant toczniowy to heterogenna grupa przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych, które *in vitro* przedłużają czasy krzepnięcia osocza zależne od fosfolipidów. Procedura oznaczania LA jest trójstopniowa. W pierwszym etapie obserwuje się przedłużenie czasów krzepnięcia, takich jak wrażliwe na LA aPTT (activated Partial Thrombin Time) lub dRWT (dilute Russel Viper Venom Time). W drugim etapie prowadzi się testy mieszania osocza badanego i kontrolnego. Korekcja przedłużonego czasu krzepnięcia świadczy o niedoborze czynników krzepnięcia, a brak korelacji o obecności antykoagulantu. W trzecim etapie wykonuje się testy potwierdzające. Polegają one na skróceniu czasów krzepnięcia po dodaniu nadmiaru fosfolipidów. Wielu badaczy uważa, że LA najlepiej koreluje z ryzykiem powikłań zatorowo-zakrzepowych wśród wszystkich rodzajów przeciwciał antyfosfolipidowych. Każdy dodatni wynik antykoagulantu toczniowego oznaczonego dwukrotnie w odstępie nie krótszym niż 12 tygodni, daje podstawy do rozpoznania zespołu antyfosfolipidowe-



go (przy współistnieniu objawów klinicznych). Należy pamiętać, że dla diagnostyki antykoagulantu toczniowego bardzo ważna jest faza przedlaboratoryjna, w tym właściwe pobieranie materiału oraz wirowanie próbki.

Algorytm diagnostyczny przy antykoagulancie toczniowym



Przeciwciała antykardiolipinowe w klasie IgG i IgM

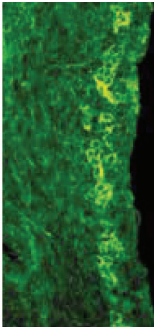
Przeciwciała te są najczęściej wykonywanymi oznaczeniami w diagnostyce zespołu antyfosfolipidowego. Należy jednak pamiętać, że wykluczenie APS wymaga wykonania oznaczeń LA i przeciwciał przeciw β_2 -glikoproteinie I. Każde badanie przeciwciał antykardiolipinowych z wynikiem dodatnim należy powtórzyć po 12 tygodniach - dopiero dwa wyniki dodatnie uzyskane w odstępie co najmniej 12-tu tygodni dają podstawę do rozpoznania zespołu antyfosfolipidowego. Duże ryzyko powikłań związane jest z występowaniem przeciwciał antykardiolipinowych w średnich lub wysokich mianach. Wyniki nisko dodatnie traktuje się natomiast jako wątpliwe i niedające podstaw do rozpoznania choroby (stanowią one jedynie przesłankę do dalszej obserwacji i ewentualnego powtarzania badania).

Przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I w klasie IgG i IgM (anty β_2 -GPI)

Prawdopodobnie β_2 -glikoproteina I jest właściwym epitopem dla przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych. Uważa się, że test ten jest bardziej specyficzny, ale mniej czuły w odniesieniu do obecności objawów zespołu antyfosfolipidowego od testu na obecność przeciwciał antykardiolipinowych, natomiast ich korelacja z objawami choroby jest bardzo podobna. Wydaje się, że najważniejszym wskazaniem do oznaczenia tych przeciwciał jest mocne podejrzenie zespołu antyfosfolipidowego przy ujemnych wynikach przeciwciał antykardiolipinowych w klasach IgG i IgM oraz antykoagulantu toczniowego.

Przeciwciała przeciw protrombinie w klasie IgG i IgM

Protrombina wydaje się być drugim najważniejszym kofaktorem przeciwciał antyfosfolipidowych. Przeciwciała przeciw protrombinie są w niektórych przypadkach związane ze zjawiskiem antykoagulantu toczniowego. Ich korelacja z objawami klinicznymi zespołu antyfosfolipidowego jest słabsza niż poprzednich dwóch grup przeciwciał.



Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie w klasie IgG i IgM

Fosfatydyloseryna wydaje się być znacznie bardziej fizjologicznym kofaktorem β_2 -glikoproteiny I czy protrombiny niż kardiolipina, gdyż występuje ona na powierzchni aktywowanych błon komórkowych płytek krwi i śródbłonna. W praktyce przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie oraz przeciwciała antykardiolipinowe często współistnieją ze sobą.

Przeciwciała przeciwko kompleksowi protrombina – fosfatydyloseryna

Przeciwciała oceniane metoda ELISA stanowią mieszaninę aPT i aPS/PT znalazły zastosowanie diagnostyczne u chorych na TRU, wykryto ich związek z większym ryzykiem wystąpienia zakrzepicy żyłnej i tętniczej oraz zawału serca. W doniesieniach z ostatnich lat wskazuje się na ich większą przydatność diagnostyczną, niż oznaczanie przeciwciał przeciw protrombinie i fosfatydyloserynie osobno.

Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi w klasie IgG i IgM

Obecność przeciwciał przeciw fosfatydyloinozytolowi czasami współistnieje z obecnością innych przeciwciał antyfosfolipidowych. W badaniach wykonywanych w pracowni DIAGNOSTYKI ich obecność szczególnie wiązała się z tendencją do występowania poronień u kobiet.

PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z AUTOIMMUNOLOGICZNYMI PRZYCZYNAMI NIEPŁODNOŚCI

Przeciwciała przeciw plemnikom w surowicy

Badanie wykonywane jest techniką immunofluorescencji pośredniej z użyciem ludzkich plemników. Przeciwciała przeciwplemnikowe mogą wiązać się z różnymi częściami morfologicznymi plemnika i w zależności od tego mieć różne znaczenie kliniczne. Przeciwciała, które mają miejsce wiązania na główce plemnika (zwłaszcza w okolicy akrosomu) utrudniają reakcję plemnika z komórką jajową. Wędrowkę plemnika mogą zaburzać przeciwciała wiążące się z jego wtyką. Badanie na obecność przeciwciał przeciwplemnikowych winno więc określać miejsce ich wiązania. Tylko w bardzo dużych mianach przeciwciała przeciwplemnikowe hamują płodność całkowicie, a w niskich nie mają znaczenia lub jedynie zmniejszają płodność. Przeciwciała przeciwplemnikowe można badać zarówno u kobiet jak i u mężczyzn.

Przeciwciała przeciwplemnikowe w nasieniu

Pomimo, że większość stosowanych technik wykorzystuje dla celów przesiewowych surowicę, faktyczne intensywne wytworzenie przeciwciał przeciwplemnikowych występuje w samej plazmie nasienia. Przeciwciała przeciwplemnikowe opłaszczają plemniki prowadząc do zmniejszenia ich zdolności do zapłodnienia. Obecność przeciwciał przeciwplemnikowych w nasieniu może być przyczyną zmniejszenia płodności lub całkowitego jej zahamowania.

Przeciwciała przeciw antygenom jajnika

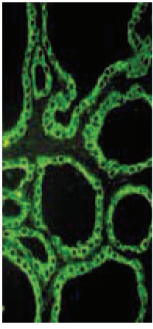
Przeciwciała przeciw tkankom jajnika wiążą się z niepłodnością oraz z zespołem przedwczesnego wygaszania czynności jajników (POF - Premature Ovarian Failure). Przeciwciała przeciw antygenom osłonki przezroczystej (*zona pellucida*) odgrywają rolę w niepłodności. Obecnie ze względu słabą jakość skrawków tkankowych (brak oocytów w odpowiednim stadium) w proponowanych zestawach do IIF, posługujemy się metodą ELISA ,którą możemy ilościowo oznaczyć obecność przeciwciał przeciwjajnikowych w trzech klasach IgA, M, G. Studzienki testu ELISA zostały opłaszczane ludzkimi białkami jajników. Oznaczanie tych przeciwciał jest istotne w pierwotnej niewydolności jajników oraz przy autoimmunologicznych poliendokrynopatiach. Osobnym testem ELISA określamy obecność przeciwciał przeciw osłonie przejrzystej. Ich obecność utrudnia wiązanie plemników z komórką jajową oraz jej penetrację. Oznaczane są łącznie z testem dla przeciwciał przeciwjajnikowych.

Przeciwciała przeciw komórkom Leydiga jąder

Przeciwciała te mogą być jedną z przyczyn niepłodności męskiej.

Przeciwciała przeciw antygenom łożyska

Przeciwciała te mają znaczenie dla diagnostyki wczesnych poronień i niepłodności żeńskiej.



PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z CHOROBYMI AUTOIMMUNOLOGICZNYMI TARCZYCY

Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (anty-TPO)

Przeciwciała antyperoksydazowe nazywane były dawniej przeciwciałami antymikrosomalnymi, gdyż stwierdzano je na powierzchni mikrosomów komórki tarczycy. Są to autoprzeciwciała, głównie klasy IgG, rozpoznające różne epitopy na cząsteczce peroksydazy tarczycowej - tkankowo specyficznej glikoproteinie stanowiącej podstawowy enzym w syntezie hormonów tarczycy. Związanie przeciwciała z epitopem w centrum aktywnym enzymu prowadzi do inhibicji aktywności enzymatycznej peroksydazy. Uszkodzenia tarczycy przez przeciwciała anty-TPO wiąże się z aktywacją dopełniacza. Anty-TPO wykrywane są u 80-99% chorych na chorobę Hashimoto i w 60-70% przypadków choroby Gravesa-Basedowa. Przeciwciała te oznaczane są zautomatyzowaną metodą chemiluminescencyjną.

Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (anty-TG)

Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie są autoprzeciwciałami głównie klasy IgG, niewiązącymi dopełniacza i rozpoznającymi różne epitopy na powierzchni cząsteczki tyreoglobuliny. Uszkadzają tkankę na drodze zależnej od przeciwciał cytotoksyczności komórkowej. Anty-TG wykrywane są u 35-90% chorych na chorobę Hashimoto i do 50% przypadków choroby Gravesa-Basedowa. Oznaczanie poziomu przeciwciał anty-TG znajduje zastosowanie również w monitorowaniu chorób nowotworowych tarczycy. Przeciwciała te oznaczane są zautomatyzowaną metodą chemiluminescencyjną.

Przeciwciała przeciw receptorom TSH (TRAb)

Przeciwciała przeciw receptorom TSH doprowadzają do stymulacji tarczycy analogicznie jak po związaniu TSH (wzrost syntezy hormonów tarczycy i rozrost tarczycy). TRAb występują w 70-100% przypadków choroby Gravesa-Basedowa i rzadko w autoimmunologicznym zapaleniu tarczycy (choroba Hashimoto). Oznaczanie poziomu TRAb znajduje zastosowanie w diagnostyce nadczynności tarczycy, monitorowaniu i prognozowaniu leczenia choroby Gravesa-Basedowa oraz przewidywaniu nadczynności tarczycy u dzieci kobiet ciężarnych obciążonych chorobą Gravesa-Basedowa. Ilościowe oznaczenia TRAb wykonuje się metodą ELISA.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW

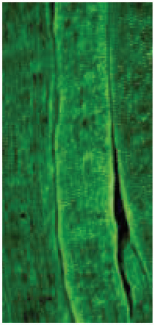
Przeciwciała przeciw cyklicznemu białku bogatemu w cytrulinę (anty-CCP)

Przeciwciała przeciw CCP należą przeważnie do klasy IgG. Są to przeciwciała skierowane przeciw cytrulinie (aminokwas) będącej składnikiem białka fillagryny (składnik filamentów keratynowych). Test charakteryzuje się wysoką specyficznością dla RZS (do 97%, vs. RF 62%) przy zachowaniu porównywalnej z czynnikiem reumatoidalnym (RF) czułości (anty-CCP: 80%, RF: 79%). W odróżnieniu od czynnika RF przeciwciała anty-CCP pojawiają się przed wystąpieniem pełnoobjawowego RZS. Występują one we wczesnej fazie choroby i cechuje je duża wartość prognostyczna: Pacjenci z przeciwciałami anty-CCP prezentują znacznie częściej zmiany radiologiczne, niż Pacjenci anty-CCP negatywni. Przeciwciała te występują we wczesnym okresie choroby u ok. 79% Pacjentów. Ze względu na swoją wysoką specyficzność, anty-CCP mogą być pomocne w różnicowaniu RZS z innymi zapaleniami stawów przebiegającymi z dodatnimi czynnikami reumatoidalnymi. Anty-CCP pozwalają także na potwierdzenie diagnozy u pacjentów z seronegatywnym RZS. Anty-CCP wykonuje się za pomocą metody ELISA i jest to badanie ilościowe.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE MIASTENII

Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholin (anty-AChR)

W laboratorium DIAGNOSTYKI obecność autoprzeciwciał AChR wykrywa się za pomocą metody radioimmunoenzymatycznej (RIA). Antygenem w tym teście jest receptor acetylocholiny wyodrębniony z ludzkiego mięśnia. Receptory znakuje się ¹²⁵I α-bungarotoksyną (toksyna jadu żmiji). Au-



toprzeciwciała obecne w surowicy pacjenta wiążą się z tak wyznakowanymi receptorami, a powstały kompleks ulega precypitacji z przeciwciałami przeciw ludzkim IgG. Odczytana ilość radioaktywności jest wprost proporcjonalna do stężenia autoprzeciwciał AChR w badanej próbce. Badanie to wykonuje się w celu potwierdzenia miastonii. Miastenia (*myasthenia gravis*) jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym.

W schorzeniu tym, dochodzi do uszkodzenia przewodnictwa nerwowo-mięśniowego spowodowanego zniszczeniem receptorów cholinergicznym (AChR) przez autoprzeciwciała skierowane przeciw tym receptorom. Podstawową cechą choroby jest osłabienie i zmęczenie mięśni po wysiłku ustępujące po odpoczynku. Przeciwciała antycholinergiczne wykrywa się u 80-90% pacjentów z postacią uogólnioną miastonii i u 55-70% pacjentów z miastenią oczną. Poziom przeciwciał koreluje z nasileniem objawów choroby z wyjątkiem miastonii ocznej i w okresie remisji. Istnieje też grupa chorych, u których nie stwierdza się przeciwciał anti-AChR. Negatywne wyniki na obecność przeciwciał przeciw receptorom acetylocholino (seronegatywna postać miastonii) najczęściej występują w grupie chorych z miastenią oczną (11-76% pacjentów). Niski (niewykrywalny) poziom opisywanych autoprzeciwciał występuje również na początku choroby, w remisji po leczeniu immunosupresyjnym oraz po tymektomii. Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholino wykrywa się także w przebiegu takich chorób jak: SLE, choroba Gravesa-Basedowa, grasiczak, w stwardnieniu zanikowym bocznym.

Przeciwciała przeciw mięśniom poprzecznie prążkowanym

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem mięśni poprzecznie prążkowanych pozwala wykryć autoprzeciwciała u 90% chorych na miastenię z towarzyszącym grasiczakiem (bez grasiczaka u 20%). Wykrywano je też w przewlekłych zapaleniach wątroby, grasiczakach bez miastonii i rakowiaku.

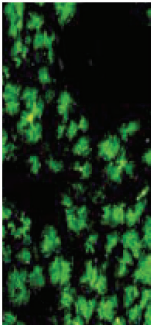
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE CUKRZYCY TYPU 1

Cukrzyca typu 1 (DMT1 - Diabetes mellitus type 1) jest chorobą autoimmunologiczną, w której na skutek zniszczenia komórek trzustki dochodzi do niedoboru lub całkowitego braku wydzielania insuliny. W przypadku DMT1 praktycznie cały proces chorobowy prowadzący do destrukcji komórek trzustki przebiega bezobjawowo (okres *prediabetes*). Dopiero, gdy ok. 80% tych komórek ulegnie zniszczeniu pojawiają się typowe zespoły objawów zwiastujących kliniczny początek choroby. Wcześniejsza diagnostyka cukrzycy typu 1 jest możliwa dzięki oznaczeniom obecności autoprzeciwciał, w tym przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego (anty-GAD) i przeciwciał przeciw fosfatazie tyrozynowej (anty-IA2). U 90% pacjentów w chwili rozpoznania choroby i u 80% pacjentów w fazie preklinicznej wykrywane są przeciwciała przeciwko wyspom trzustki (IIF). Ryzyko wystąpienia choroby rośnie wraz z liczbą wykrywanych jednocześnie rodzajów specyficznych autoprzeciwciał i zależy od ich stężenia w surowicy. Anty-GAD i anty-IA2 wykorzystuje się w diagnostyce różnicowej cukrzycy ciężarnych (ujawniona lub wykryta w czasie ciąży nietolerancja glukozy) oraz ocenie ryzyka rozwoju cukrzycy u krewnych osób z rozpoznaną cukrzycą typu 1. Oznaczanie autoprzeciwciał zwłaszcza anty-GAD, może być także rozstrzygające dla diagnostyki różnicowej cukrzycy typu 2 z LADA (Latent Autoimmune Diabetes In Adults), będącej wolno postępującą formą cukrzycy typu 1.

W laboratorium DIAGNOSTYKI do oznaczeń przeciwciał anty-GAD i anty-IA2 w diagnostyce cukrzycy stosuje się metodę ELISA, która pod względem specyficzności i czułości jest porównywalne z testami RIA, uznawanymi za „złoty standard”. Jednoczesne oznaczanie dwóch typów wymienionych autoprzeciwciał zwiększa czułość i swoistość metody.

Anty-GAD

Anty-GAD jest enzymem katalizującym syntezę neurotransmitera GABA (kwas gamma-amino-masłowy) i występuje w tkance nerwowej, trzustce, jajnikach i jądrach. Anty-GAD są przeciwciałami skierowanymi przeciw jednej z izoform dekarboksylazy kwasu glutaminowego (GAD65). Izoforma GAD65, obecna przede wszystkim w trzustce, stanowi główny antygen docelowy dla przeciwciał skierowanych przeciw wyspom Langerhansa. Częstość występowania anty-GAD u nowozdiagnozowanych pacjentów wynosi 60-80%.



Anty-IA2

Przeciwciała przeciw fosfatazie tyrozynowej (anty-IA2) występują u 48-80% zdiagnozowanych chorych. Ponieważ pojawiają się w późnej fazie okresu preklinicznego, stanowią tym samym wskaźnik bardzo wysokiego ryzyka.

Przeciwciała przeciw wyspom trzustki

Metodą immunofluorescencji pośredniej przeciwciała przeciw wyspom trzustki najczęściej w klasie IgG, można wykryć u 75-90% chorych z cukrzycą typu 1, ale występują one także w cukrzycy typu 2 w około 10% przypadków.

INNE PRZECIWCIAŁA NARZĄDOWO-SWOISTE

Przeciwciała przeciw komórkom okładzinowym żołądka (APCA)

Do wykrywania tego typu przeciwciał służy najczęściej test immunofluorescencji pośredniej z użyciem komórek okładzinowych żołądka szczura lub małpy jako źródła antygenów (H/K ATPazy). Rzadziej wykonywaną są testy ELISA. Wskazaniami do wykonania badania są przede wszystkim przewlekłe zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka, anemia złośliwa, a także choroba Addisona czy bielactwo.

Przeciwciała przeciw czynnikowi wewnętrznemu Castle'a

Autoprzeciwciała te są bardziej swoiste od przeciwciał przeciw komórkom okładzinowym żołądka dla anemii złośliwej spowodowanej niedoborem czynnika wewnętrznego (IF - intrinsic factor), transportera witaminy B12. Badania na ich wykrycie wykonuje się testem ELISA lub metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem czynnika wewnętrznego opłaszczonego na szkiełku.

Przeciwciała przeciw błonie podstawnej kłębuszków nerkowych (anty-GBM) i błonie pęcherzyków płucnych

Autoprzeciwciała te są wykrywane w zespole Goodpasture'a. Uważa się, że antygenem dla nich są epitopy znajdujące się na kolagenie typu IV.

Przeciwciała przeciw mięśniowi sercowemu

Metoda immunofluorescencji pośredniej najlepiej wykrywa autoprzeciwciała, dla których antygenami są fibrylaryna i białka sarkolemy. Występują one w pierwotnej rozstrzeniowej kardiomiopatii, zapaleniach mięśnia sercowego, zespole Dresslera, chorobie Chagasa i reumatycznym zapaleniu mięśnia sercowego.

Przeciwciała przeciw komórkom kubkowatym jelit

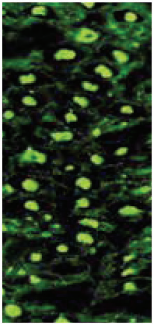
Metodą immunofluorescencji pośredniej można wykryć przeciwciała przeciw komórkom kubkowatym jelita występującym prawie zawsze w klasie IgG, które są specyficzne dla *colitis ulcerosa*, ale występują tylko w około 30% przypadków. Należy pamiętać, że znacznie częściej, bo w około 70% przypadków w tej chorobie można wykryć przeciwciała pANCA, które są jednak mniej specyficzne.

Przeciwciała przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki

Wykrywa się je metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu tkanek trzustki małpy. Przeciwciała te należą zarówno do klasy IgG jak i IgA i są markerem choroby Leśniowskiego-Crohna. Występują u około 40% chorych. Także w tej chorobie można wykryć przeciwciała pANCA u około 40% pacjentów.

Przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)

Oznaczanie przeciwciał przeciw *Saccharomyces cerevisiae* jest pomocne przy różnicowaniu typowego *colitis ulcerosa* oraz choroby Leśniowskiego-Crohna. ASCA stwierdza się w 70% przypadkach choroby Leśniowskiego-Crohna i wraz z oznaczaniem przeciwciał przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki zwiększa trafność diagnostyczną w diagnostyce różnicowej zapaleń jelit.



Przeciwciała przeciw korze nadnerczy

Metodą immunofluorescencji pośredniej można wykryć przeciwciała przeciw korze nadnerczy u pacjentów z chorobą Addisona, z niewydolnością jajników lub w zespole wielogruczołowym typu I.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOŁACH NEUROLOGICZNYCH

Panel neuroimmunologiczny

Panel neuroimmunologiczny obejmuje jakościowe oznaczenia przeciwciał występujących u chorych z zespołami neurologicznymi o podłożu autoimmunologicznym. Przeciwciała onkoneuronalne (anty-Ri, anty-Hu, anty-Yo) są przydatne w diagnostyce neurologicznych zespołów paraneoplastycznych, a przeciwciała anty-GAD u chorych z zespołem sztywnego człowieka (Stiff-Man Syndrome). Panel obejmuje również oznaczanie przeciwciał anty-MAG, które wykorzystywane są w diagnostyce neuropatii o podłożu autoimmunologicznym oraz przeciwciała przeciw mielinie mające znaczenie ratownicze u chorych z pierwszym epizodem objawów związanych z demielinizacją.

Przeciwciała onkoneuronalne (anty-Ri, anty-Hu, anty-Yo)

Przeciwciała onkoneuronalne występują u chorych z neurologicznymi zespołami paraneoplastycznymi. Są to zaburzenia układu nerwowego pojawiające się u chorych z nowotworem, a nie spowodowane przerzutami lub miejscowym działaniem guza. W obrębie ośrodkowego układu nerwowego obejmują one najczęściej zapalenie układu limbicznego, podostre zwyrodnienie mózdzku, zapalenie pnia mózgu, opsoklonie/mioklonie, podostrą martwiczą mielopatię, chorobę neuronu ruchowego i zespół sztywnego człowieka. Natomiast w obwodowym układzie nerwowym, na poziomie złącza nerwowo-mięśniowego i mięśni szkieletowych zespoły paraneoplastyczne przyjmują postać podostrej neuropatii czuciowej, neuropatii czuciowo-ruchowej, podostrej neuropatii ruchowej, zespołu miastenicznego Lamberta-Eatona, zapalenia wielomięśniowego i skórno-mięśniowego. Wykrycie przeciwciał onkoneuronalnych pozwala na pewne rozpoznanie neurologicznego zespołu paraneoplastycznego według kryteriów Graussa (2004 r.). Badania obecności przeciwciał anty-Hu, anty-Yo i anty-Ri przeprowadza się metodą immunofluorescencji pośredniej, a następnie potwierdza się techniką Western-blot. Przeciwciała anty-Hu występują u chorych z rakiem drobnokomórkowym płuc, piersi, jajnika, przetyku, jąder, prostaty, czerniakiem, grasiczakiem i ziarnicą złośliwą. U 81% chorych z przeciwciałami anty-Hu stwierdza się obecność raka drobnokomórkowego płuc, natomiast 17% chorych z tym nowotworem ma przeciwciała anty-Hu. Przeciwciała anty-Ri stwierdza się u chorych z rakiem piersi i rakiem płuc (drobnokomórkowym i innymi nowotworami płuc). U 86% osób, u których wykryto przeciwciała anty-Ri jest rozpoznawana choroba nowotworowa. Przeciwciała anty-Yo towarzyszą rozwojowi raka piersi, jajnika, żołądka, przetyku i ślinianki. Zespół mózdkowy związany z obecnością przeciwciał anty-Yo u 63% chorych występuje przed rozpoznaniem nowotworu, u 30% po rozpoczęciu leczenia onkologicznego, a u 20% towarzyszy wznowie choroby nowotworowej.

Przeciwciała anty-GAD

Przeciwciała anty-GAD stwierdza się u ponad 80% chorych z zespołem sztywnego człowieka. Obecność przeciwciał anty-GAD wykrywa się w panelu neuroimmunologicznym metodą immunofluorescencji pośredniej.

Przeciwciała anty-MAG

Przeciwciała przeciw glikoproteinie związanej z mieliną (MAG - Myelin-Associated Glycoprotein) stwierdza się u chorych z zespołem Guillain-Barre lub neuropatią demielinizacyjną między innymi w przebiegu białaczki włochatokomórkowej, czy też makroglobulinemii Waldenstroma. Przeciwciała anty-MAG wykrywa się metodą immunofluorescencji pośredniej.

Przeciwciała przeciw mielinie

Przeciwciała przeciw mielinie występują u chorych z pierwotnym izolowanym zespołem objawów oraz z rozpoznaniem stwardnieniem rozsianym. Występują one u 62% osób z pierwotnym izolowanym zespołem objawów (PIZO), u których wcześniej rozpoznaje się ostatecznie stwardnienie rozsiane niż u chorych bez obecności przeciwciał. Obecność przeciwciał przeciw mielinie wykrywa się metodą immunofluorescencji pośredniej.

Zestawienie badań z zakresu autoimmunologii dostępne w ofercie Diagnostyka Sp. z o.o.

DIAGNOSTYKA CHORÓB TKANKI ŁĄCZNEJ

600 PPJ (ANA1) met. IIF, test przesiewowy	surowica
601 PPJ (ANA2) met. IIF i DID ENA screening	surowica
602 PPJ (ANA3) met. immunoblot (16 antygenów)	surowica
605 PPJ (ANA4) met. IIF i immunoblot (16 antygenów)	surowica
619 PPJ (ANA5) met. IIF i immunoblot ENA (7 antygenów)	surowica
3297 PPJ (ANA6) met. immunoblot ENA (7 antygenów)	surowica
3306 PPJ (ANA7) met. ELISA (9 antygenów)	surowica
3281 PPJ (ANA8) met. DID ENA (6 antygenów)	surowica
3280 PPJ (ANA9) met. IIF, typ świecenia, miano	surowica
695 PPJ (ANA10) met. IIF i DID ENA (6 antygenów)	surowica
608 PPJ panel Myositis met. immunoblot	surowica
609 PPJ panel sklerodermia met. immunoblot	surowica
603 PPJ dsDNA met. IIF	surowica
674 P/c. p. błonie podst. kłęb. nerk.(anty-GMB) i błonie pęch. płucnych met. IIF	surowica
675 P/c. p. błonie podstawnej kłęb. nerkowych (anty-GMB) met. IIF	surowica
686 P/c. p. keratynie (AKA) met. IIF	surowica
3260 P/c. p. dsDNA IgG met. ELISA	surowica
3298 PPJ anty-SS-B (La) met. ELISA	surowica
3299 PPJ anty-SS-A (Ro) met. ELISA	surowica
3302 PPJ anty-Scl-70 met. ELISA	surowica

DIAGNOSTYKA CHOROBY TRZEWNEJ

620 P/c. p. endomysium (EmA) w kl. IgA met. IIF	surowica
622 P/c. p. endomysium (EmA) w kl. IgG i IgA (łącznie) met. IIF	surowica
638 P/c. p. deamidowanej gliadynie (DGP) IgA met. ELISA	surowica
639 P/c. p. deamidowanej gliadynie (DGP) IgG met. ELISA	surowica
632 P/c. p. transglutaminazie tkankowej (anty-tTG) w kl. IgA met. ELISA	surowica
633 P/c. p. transglutaminazie tkankowej (anty-tGT) w kl. IgG met. ELISA	surowica
634 P/c. p. transglutaminazie tkankowej (anty-tGT) w kl. IgG i IgA met. ELISA	surowica
672 P/c. p. kom. okładzinowym żołądka (APCA), met. IIF	surowica
673 P/c. p. czynnikiowi wewnętrznemu Castle'a i p. kom. okładzinowym żołądka (APCA), met. IIF	surowica

DIAGNOSTYKA CHORÓB PĘCHERZOWYCH

688 P/c. p. pemphigus (desmogleina 1 i desmogleina 3) i pemphigoid IgG met. IIF	surowica
694 P/c.p. pemphigus (desmogleina1 i desmogleina3) i pemphigoid IgG, IgA met. IIF	surowica
699 P/c.p. PNP (pęcherzyca paraneoplastyczna) IgG, met.IIF	surowica
689 P/c. p. antygenom błony podstawnej (BMZ), badanie na splicie skóry, met. IIF	surowica
687 Badania tkankowe (IgG, IgA, IgM, a-C3), met. DIF*	wycinek skóry
3279 PPJ SES (SES-ANA) met. IIF	surowica

DIAGNOSTYKA AUTOIMMUNOLOGICZNYCH SCHORZEŃ WĄTROBY

607 P/c. p. aktynie met. IIF	surowica
610 P/c. p. mitochondrialne (AMA) met. IIF	surowica
611 P/c. p. mitochondrialne (AMA) typ M2 met. IIF	surowica
612 P/c. p. mięśniom gładkim (ASMA) met. IIF	surowica
613 P/c. p. mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM) met. IIF	surowica
614 P/c. p. kanalikom żółciowym (BCA) met. IIF	surowica
615 P/c. p. antygenowi cytoplazmatycznemu wątroby typu 1 (anty-LC-1) met. immunobloting	surowica

616 Panel wątrobowy pełny (ANA2,AMA,ASMA,anty-LKM,anty-LSP,anty-SLA) met. IIF,DID	surowica
617 Panel wątrobowy SPECJALISTYCZNY (anty-LKM-1, anty-SLA/LP, AMA M2, anty-LC-1) met. Immunobloting	surowica
3294 P/c. p. mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM 1) met. ELISA	surowica
3295 P/c. p. mitochondrialne (AMA) typ M2 met. ELISA	surowica

DIAGNOSTYKA CHORÓB ZAPALNYCH JELIT I NACZYŃ

677 P/c. p. wyspom trzust., kom. zewnątrz wydzielniczym trzust. i kom. kubkowatym jelit met. IIF	surowica
678 Panel jelitowy (p/c. p.kom. zewnątrz wydziel. trzustki i kom. kubk. jelit, ASCA,ANCA) met. IIF	surowica
679 P/c. p. Saccharomyces cerevisiae (ASCA) met. IIF	surowica
684 P/c. p. wyspom trzustki met. IIF (ICA)	surowica
606 P/c. p. antygenom cytoplazmy neutrofilów ANCA (pANCA i cANCA), met. IIF	surowica
635 P/c. p. mieloperoksydazie w kl. IgG (pANCA) met. Elisa	surowica
636 P/c. p. proteinazie 3 w kl. IgG (cANCA) met. Elisa	surowica
637 P/c. p. mieloperoksydazie (MPO) (pANCA) i proteinazie 3 (PR-3) (cANCA) met. immunoblot	surowica

DIAGNOSTYKA CHORÓB NEUROIMMUNOLOGICZNYCH I MIĘŚNI

665 P/c. p. kinazie tyrozynowej (anty-MuSK) met. RIA	surowica
669 P/c. p. mięśniom poprzecznie prążkowanym met. IIF	surowica
670 P/c. p. receptorom acetylocholino (anty-ACHR) (RIA)	surowica
671 P/c. p. mięśniom poprzecznie prążkowanym i p. mięśniowi sercowemu (miasthenia gravis), met. IIF	surowica
676 P/c. p. mięśniowi sercowemu, met. IIF	surowica
685 Panel neuroimmunologiczny (a-Ri, a-Hu, a-Y o, a-GAD, a-MAG, p/c. p. mielinie), met. IIF, immunoblot	surowica
217 P/c. onkoneuronalne met. IIF	surowica

PANEL PŁODNOŚCIOWY

3274 P/c. p. antygenom jajnika i osłonie przejrzystej IgG, IgM, IgA (łącznie), met. ELISA	surowica
661 P/c. p. antygenom łożyska met. IIF	surowica
662 P/c. p. komórkom Leydiga jader met. IIF	surowica
663 P/c. p. plemnikom met. IIF	nasienie

DIAGNOSTYKA ZESPOŁU ANTYFOSFOLIPIDOWEGO

640 P/c. p. kardiolinie (aCL) w kl. IgG met. ELISA	surowica
641 P/c. p. kardiolinie (aCL) w kl. IgM met. ELISA	surowica
642 P/c. p. kardiolinie (aCL) w kl. IgG i IgM (łącznie) met. ELISA	surowica
643 P/c. p. beta-2-glikoproteinie I w kl. IgG met. ELISA	surowica
644 P/c. p. beta-2-glikoproteinie I w kl. IgM met. ELISA	surowica
645 P/c. p. beta-2-glikoproteinie I w kl. IgG i IgM (łącznie) met. ELISA	surowica
656 P/c. p. kompleksom fosfatydyloseryna/protrombina (aPS/PT), IgG	surowica
657 P/c. p. kompleksom fosfatydyloseryna/protrombina (aPS/PT), IgM	surowica
658 P/c. p. kompleksom fosfatydyloseryna/protrombina (aPS/PT), IgG i IgM	surowica
648 P/c. p. protrombinie w kl. IgG i gM (łącznie) met. ELISA	surowica
651 P/c. p. fosfatydyloserynie w kl. IgG i IgM (łącznie) met. ELISA	surowica
654 P/c. p. fosfatydyloinozytolowi w kl. IgG i IgM (łącznie) met. ELISA	surowica
655 Antykoagulant toczniowy (LA) – test kompleksowy	osocze cytrynianowe
3276 Antykoagulant toczniowy (LA) – testy przesiewowe (aPTT, dRVVt)	osocze cytrynianowe
3277 Antykoagulant toczniowy (LA) – test przesiewowy/potwierdzający (aPTT)	osocze cytrynianowe
3278 Antykoagulant toczniowy (LA) – test przesiewowy/potwierdzający (dRVVt)	osocze cytrynianowe

OGÓLNE ZASADY WSPÓŁPRACY

Mając na uwadze jakość wykonywanych badań chcielibyśmy zwrócić Państwa uwagę na istotne aspekty przedanalizacyjnej fazy procedury diagnostycznej. Szczególnie ważne jest prawidłowe pobranie i transport materiału. Wychodząc naprzeciw Państwa potrzebom oferujemy również kompleksową obsługę fazy poanalizacyjnej.

FAZA PRZEDANALIZACYJNA

Zasady pobrania i przygotowania materiału.

Surowica

Krew należy pobrać na skrzep, a następnie odwirować i oddzielić surowicę. Surowica nie powinna nosić znamion hemolizy. Materiał do większości badań jest bardzo stabilny, jednak w przypadku dłuższego przechowywania materiału, surowicę należy zamrozić przed wysłaniem i unikać wielokrotnego jej rozmrażania.

Osocze

UWAGA! Postępowanie w przypadku antykoagulantu toczniowego:

1. Krew należy pobrać na cytrynian sodu w sposób wykluczający aktywację czynników krzepnięcia (wypływ krwi powinien być szybki i ciągły).
2. Do 2 godz. od pobrania krew należy dwukrotnie odwirować: 3000-3500 obrotów/10 minut (usunięcie większości płytek krwi).
3. Próbkę osocza (min. ilość osocza – 2 ml) należy zamrozić (-20°C) i przesać do laboratorium. Próbka nie może ulec rozmrożeniu.

Jeżeli istnieje możliwość dostarczenia materiału do laboratorium w czasie nieprzekraczającym 2 godz. od pobrania, próbkę należy natychmiast przesać do laboratorium w temp. 2-8°C. Nie zamrażać! (na skierowaniu podać godzinę pobrania materiału).

Tkanka

W przypadku badań tkankowych, odpowiednio pobrany materiał (wycinek skórny) należy umieścić w probówce z płynem Michaela. Probówki z płynem Michaela mogą zostać przesłane do Państwa przez laboratorium. Materiał przygotowany wg instrukcji należy opisać i wypełnić zlecenie dostarczone przez DIAGNOSTYKĘ, koniecznie z uwzględnieniem informacji dodatkowych dotyczących objawów choroby i stosowanego leczenia. Pełne informacje zawarte w zleceniu dają możliwość zamieszczenia na wyniku kompetentnego komentarza konsultanta naukowego.

Istnieje możliwość oznakowania materiału i zlecenia, za pomocą dostarczonych przez DIAGNOSTYKĘ kodów kreskowych, które w sposób jednoznaczny identyfikują materiał przypisany do zlecenia i wykluczają możliwość pomyłki.

FAZA POANALIZACYJNA

Monitorowanie materiału

Dzięki zastosowaniu laboratoryjnego systemu informatycznego DIAGNOSTYKI na bieżąco możemy udzielać informacji o terminie wykonania oznaczenia.

Bank surowic

W Pracowniach Autoimmunologii, w przypadku otrzymania dodatniego wyniku testu ANA1 istnieje możliwość poszerzenia diagnostyki o testy od ANA2 do ANA10. Jeżeli badanie z wybranego panelu zostanie zlecone w okresie 1 miesiąca możliwe jest wykonanie tego badania z surowicy przechowywanej w banku surowic Pracowni Autoimmunologii.

Wydanie wyniku

Sposób dostarczania wyników badań jest dostosowywany do Państwa indywidualnych potrzeb. Wyniki są przesyłane drogą pocztową, elektroniczną (Karty Dostępowe) lub przez kuriera.

Kontakt ze specjalistami

DIAGNOSTYKA umożliwia lekarzowi zlecającemu bezpośredni kontakt z diagnostą wykonującym badanie lub z konsultantem naukowym. Kontakt mailowy na adres: konsultacja.malopolska@diag.pl. Ta forma współpracy jest pomocna w interpretacji wyników czy określeniu dalszego postępowania diagnostycznego.



Diagnostyka S.A.

31-864 Kraków, ul. prof. M. Życzkowskiego 16

tel: 12 29 50 140

www.diagnostyka.pl

