

LABORATORNÍ LISTY

Č. 08/2024

STANDARDIZACE LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY V TESTOVÁNÍ ANA (PROTILÁTKY PROTI NUKLEÁRNÍM ANTIGENŮM)

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

V těchto laboratorních listech bychom Vás rádi seznámili se změnami, které jsou v souvislosti s testováním ANA (protilátky proti nukleárním antigenům) zaváděny do praxe podle mezinárodních guidelines a doporučení.

ANA je screeningové vyšetření, které je v laboratorní diagnostice především autoimunitních onemocnění používáno od 70. let minulého století. Původně bylo využíváno především k diagnostice systémového lupusu erythematoses (SLE), postupem času byly identifikovány další nejenom jaderné, ale i cytoplazmatické struktury, proti kterým se tvoří protilátky. Souběžně s rozpoznáním dalších typů protilátek se zlepšují i možnosti laboratorní diagnostiky, jak tyto protilátky identifikovat a diferenciaci typů protilátek umožňuje přesnější a rychlejší stanovení diagnózy.

Screeningovým vyšetřením první volby zůstává nadále fluorescenční průkaz ANA protilátek. Ten by měl být první volbou při úvaze nad autoimunitními a souvisejícími onemocněními, která lze diagnostikou ANA prokázat (viz Přehledová tabulka Aktuální používané AC klasifikace ANA fluorescencí na konci laboratorních listů). Doplnit lze vyšetření ANA EIA (enzymová imunoanalýza), které může být nápomocné pro záchyt positivity a objektivizaci dalšího postupu.

Pokud se ve screeningových metodách objeví pozitivní nebo hraniční hodnoty, má další algoritmus zahrnovat typizaci protilátek odpovědných za pozitivitu screeningu. Dříve tzv. ENA typizace, obvykle prováděná metodou ELISA, zahrnovala 6-7 nejčastějších antigenů. Dnes je možné typizaci ANA/ENA protilátek provádět tzv. mikrobloottingem, který je schopen aktuálně detekovat 44 různých typů protilátek. Za stejné náklady tak získáváme podstatně lepší záchyt protilátek proti jaderným a cytoplazmatickým antigenům.

S ohledem na požadavky standardizace ICAP (International consensus on ANA patterns) a na základě aktuálních doporučení nastavíme od 1. 9. 2024 v našich laboratořích algoritmus vyšetřování následovně:

Potřebujete kontakt přímo
na odběrové místo, ambulanci,
nebo laboratoř?
Veškeré kontakty naleznete na

www.labin.cz



LABORATORNÍ LISTY

ANA protilátky stanovené fluorescenčně (ANA IF) budeme nově klasifikovat podle mezinárodní klasifikace ICAP. K nálezu, na který jste byli zvyklí, doplníme označení AC a číslo klasifikace. Přehled této klasifikace najdete v příloze laboratorních listů. AC klasifikace usnadní porovnávání nálezů mezi laboratořemi, příp. umožní použití laboratorního nálezu ve studiích. U pozitivních nálezů najdete vždy uvedený titr. Nově podle kritérií titrace jsou uváděny titry 1:100, 1:320, 1:1000, 1:3200, příp. vyšší.

V přehledové tabulce najdete i nejčastější asociované diagnózy, tak jak jsou dnes popisovány na základě prováděných studií. U některých typů fluorescence nejsou dodnes známe asociované diagnózy a řešením je právě ANA/ENA typizace s cílem nalézt konkrétní protilátku a tím zpřesnit prováděnou diagnostiku. Pro možnost porovnání najdete v přehledové tabulce i původní používaný název pro typ fluorescence, pokud se od nového významně liší.

V případě **pozitivní ANA** metodou fluorescence a/nebo EIA provedeme **ANA/ENA typizaci**. Pokud při typizaci identifikujeme některou z protilátek, najdete ji na výsledku laboratorních vyšetření. Vyšetření dříve uváděné jako ENA typizace budeme na žádance a výsledcích uvádět jako ANA/ENA typizace s výčtem identifikovaných protilátek, příp. jako negativní. Vždy jsou však testovány všechny protilátky, které najdete v přehledové tabulce detekovatelných protilátek a které mimo jiné zahrnují i původně testované protilátky v ENA typizaci (dříve v rozsahu histony, SS-A, SS-B, Sm, Scl70, Jo-1, U1-RNP, Centromera B).

Přehled protilátek, které k dnešnímu dni detekujeme, najdete v přehledové tabulce „ANA/ENA typizace – přehled detekovatelných protilátek“.

ANA/ENA typizaci můžete indikovat přímo bez vlastních screeningových vyšetření. Postup je vhodný při již dříve stanovené diagnóze nebo výskytu kterékoliv protilátky, kterou je možné v typizaci detekovat.

V případě **pozitivního nálezu ANA** fluorescenční metodou s nálezem **homogenní fluorescence** doplníme měření **dsDNA EIA včetně její kvantifikace**, která by měla být výchozí hodnotou pro sledování SLE.

Cílem výše nastavených algoritmů je nejenom dodržení požadavků aktuálních guidelines, ale rovněž efektivní cesta k výsledku, který by měl podstatně rychleji a přesněji pomoci ve stanovení diagnózy a zahájení léčby pacienta.

Jsme si vědomi, že rozsah informací uváděný v přehledových tabulkách je velmi obsáhlý. Pokud kdykoliv v budoucnu budete chtít konzultovat nálezy ANA IF resp. ANA/ENA typizace, budeme Vám v laboratoři k dispozici pro případné upřesnění asociovaných diagnóz nebo konzultaci ve věci navazujících diagnostických metod. Přehledové tabulky budou kdykoliv v laboratoři na vyžádání, budeme je průběžně aktualizovat.

Pěkné léto Vám přeje

Lab In – Institut laboratorní medicíny, s.r.o.

Potřebujete kontakt přímo
na odběrové místo, ambulanci,
nebo laboratoř?
Veškeré kontakty naleznete na

www.labin.cz



Autor: Ing. Mgr. David Hepnar, MBA



**Institut
laboratorní
medicíny**

Aktuální používané AC klasifikace ANA fluorescencí (dle ICAP – International consensus on ANA Patterns)

Nová klasifikace typu fluorescence	Označení vzoru	Dříve užívaný název	Nejčastější asociované diagnózy*
Negativní	AC-0	Negativní	
Homogenní jaderná	AC-1		SLE, chronická autoimunitní hepatitis, juvenilní idiopatická artritida
Hustě jemně zrnitá jaderná	AC-2	DFS70	SARD
Centromera	AC-3	CENP-A/B	SSc, PBC
Jemně zrnitá jaderná	AC-4		SARD, SjS, SLE, DM
Hrubá zrnitá jaderná	AC-5		SLE, SSc, MCTD
Četné jaderné tečky	AC-6		PBC, DM
Ojedinelé jaderné tečky	AC-7		
Homogenní jadérka	AC-8		SARD, SSc
Chuchvalcovitá jadérka	AC-9		SSc
Tečkovitá jadérka	AC-10		SSc, Raynaudův fenomén, SjS, karcinomy
Hladká jaderná membrána	AC-11		Autoimunitní cytopenie, AIH, SARD
Tečkovaná jaderná membrána	AC-12	Póry v jaderné membráně	PBC, AIH, SARD
PCNA podobná	AC-13		SLE, SSc, RA, HCV
CENP-F podobná	AC-14		Neoplastické útvary
Lineární vláknitá cytoplazmatická	AC-15	Aktin	AIH-1, chronická HCV
Filamentózní vláknitá cytoplazmatická	AC-16	Vimentin	AIH (asociace s cytokeratiny 8,18,19)
Segmentovaná vláknitá cytoplazmatická	AC-17	Tropomyosin	
Diskrétní cytoplazmatické tečky	AC-18	Lysosom	SARD
Hustá jemně zrnitá cytoplazmatická	AC-19	Difúzní cytoplazmatická	SLE, ASS, Raynaudův fenomén
Jemně zrnitá cytoplazmatická	AC-20	Zrnitá cytoplazma	ASS, Raynaudův fenomén
Retikulární / AMA cytoplazmatická	AC-21		PBC, SSc, SjS
Polární cytoplazmatická / Golgi podobná	AC-22		
Tyčinky a kroužky	AC-23		HCV léčené interferony
Centrozom	AC-24	Centrioly	SLE, SSc, Raynaudův fenomén, RA
Vlákna dělicího vřeténka	AC-25		
NuMA podobná	AC-26	Póly dělicího vřeténka	SjS, SLE, CTD, RA, orgánové autoimunity
Mezibuněčné můstky	AC-27	Dělicí tělísko	
Mitotický chromozomální	AC-28	Chromatinová destička	
Topo I podobná	AC-29	Scl-70	Difúzní SSc

*zdroj <https://www.anapatterns.org/>

ASS – antisynthetázový syndrom, PM – polymyozitida, DM – Dermatomyozitida, ILD – Intersticiální plicní onemocnění, IMNM – Imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie, NM – Nekrotizující myopatie, CDM – s nádorem asociovaná myozitida, IBM – myozitida s inkluzními tělísky, SLE – systémový lupus erythematosus, MCTD – Smíšené onemocnění pojiva, SSc – Systémová sklerodermie, SjS – Sjögrenův syndrom, PBC – primární biliární cirhóza, SARD – systémové autoimunitní revmatologické onemocnění, IIM – idiopatická zánětlivá myopatie, AIH – autoimunitní hepatitis, RA – revmatoidní artritida, HCV – hepatitis C

ANA/ENA typizace – přehled detekovatelných protilátek

Antigen	Molekula antigenu	Pravděpodobná asociace s onemocněním
Jo-1	Hystidyl tRNA synthetase	ASS, PM, DM
PL-7	Threonyl tRNA synthetase	ASS, PM, DM, Raynaudův fenomén
PL-12	Alanyl tRNA synthetase	ASS, PM, DM, Raynaudův fenomén
EJ	Glycyl tRNA Synthetase	ASS
OJ	Isoleucyl tRNA synthetase	ASS, ILD
KS	Asparaginyl tRNA synthetase	ILD, PM, DM, ASS
YARS	Tyrosyl tRNA synthetase (Ha)	ASS
ZoA	Phenylalanyl tRNA synthetase	ASS
ZoB	Phenylalanyl tRNA synthetase	ASS
HMGCR	3-hydroxy-3-methylglutaryl- coenzyme A reductase	IMNM, Statiny indukovaná NM
SAE-1	Small ubiquitin-like modifier activating enzyme	ASS, CDM
SAE-2	Small ubiquitin-like modifier activating enzyme	ASS, CDM
SRP54	Signal recognition particle	IMNM, PM, DM, ASS
Mi-2	Helicase protein—nuclear transcription	Juvenilní DM, DM
TIF1γ	Transcription intermediary factor 1	DM, CDM, Juvenilní DM
MDA5	Melanoma differentiation associated protein 5 (CADM- 140)	Amyopatická DM s progresí ILD
NXP2	Nuclear matrix protein 2 (p140, MJ)	Juvenilní DM
PMScl 100	Human exosome complex	Difuzní SSc, PM/SSc,
PMScl 75	Human exosome complex	Difuzní SSc, PM/SSc,
Scl70	DNA-topoisomerase I	Difuzní SSc, SSc s rizikem rozvoje pulmonální fibrózy
CENP A	Centromere A	SSc, CREST syndrom
CENP B	Centromere B	SSc, CREST syndrom
POLR3A	RNA polymerase III	Difuzní SSc
NOR90	Nucleolar transcription factor 1 (Ubtf1)	SSc, Raynaudův fenomén, SLE, SjS
Th/To	Ribonuclease P protein subunit 25 (Rpp25)	SSc s rizikem rozvoje pulmonální fibrózy
PDGFR-β	Platelet-derived growth factor receptor beta	SSc s rizikem rozvoje pulmonální fibrózy, svalové dystrofie a svalové fibrózy
Fibrillarin	U3 RNP - fibrillarin	SSc s rizikem rozvoje pulmonální hypertenze
Ro52	TRIM21	DM s progresí ILD, Raynaudův fenomén, SLE, neonatální LE, SSc
Ro60	Sjögren's-syndrome-related antigen A (SS-A)	SjS, neonatální LE, SLE
La	Sjögren's-syndrome-related antigen B (SS-B)	SjS, neonatální LE, SLE
RNP A	U1 small nuclear ribonucleoprotein A	SLE, MCTD, Raynaudův fenomén
RNP 68/70	U1 small nuclear ribonucleoprotein 68/70 kDa	SLE, MCTD, Raynaudův fenomén
RNP C	U1 small nuclear ribonucleoprotein C	SLE, MCTD, Raynaudův fenomén
SmB	Smith antigen B	SLE
SmD	Smith antigen D	SLE
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen	SLE
P0	Ribosomal protein P0	SLE
Ku	Ku (p70/p80)	SLE, MCTD, PM/SSc
Nucleolin	Nucleolin	SLE
Histony	Histone	Polékový LE, SLE
Nukleozom	Nucleosome	SLE s rizikem rozvoje lupusové nefritidy
dsDNA	Double-stranded DNA	SLE
M2	Mitochondrial M2 (AMA-M2)	Primární biliární cirhóza, SSc s progresí PBC
DFS70	Dense fine speckled 70 antigen	Atopická dermatitida, SjS, osamoceně - biomarker pro vyloučení SARD

ASS – antisyntetázový syndrom, PM – polymyozitida, DM – Dermatomyozitida, ILD - Intersticiální plicní onemocnění, IMNM – Imunitně zprostředkovaná nekrotizující myopatie, NM – Nekrotizující myopatie, CDM – s nádorem asociovaná myozitida, IBM – myozitida s inkluzními tělísky, SLE – systémový lupus erythematoses, MCTD – Smlíšené onemocnění pojiva, SSc – Systémová sklerodermie, SjS – Sjögrenův syndrom, PBC – primární biliární cirhóza, SARD – systémové autoimunitní revmatologické onemocnění, IIM – idiopatická zánětlivá myopatie, AIH – autoimunitní hepatitida, RA – revmatoidní artritida, HCV – hepatitida C

LABORATORNÍ LISTY

Potřebujete kontakt přímo
na odběrové místo, ambulanci,
nebo laboratoř?
Veškeré kontakty naleznete na

www.labin.cz



LABORATORNÍ LISTY

Potřebujete kontakt přímo
na odběrové místo, ambulanci,
nebo laboratoř?
Veškeré kontakty naleznete na

www.labin.cz

