ANCA Screen IgG NIF

ANCA screen IgG NIF	
Metoda	NIF (Nepřímá imunofluorescence)
Primární vzorek (biologický materiál)	Plná krev
Odběrová souprava	 Vacuette červený uzávěr - plast se separačním gelem gelem
Pokyny pro pacienta	
Pokyny pro odebírající personál	
Podmínky transportu	Pokojová teplota (15 - 25 °C)
Stabilita	Stabilita při 2 - 8 °C 2 dny Stabilita při -20 °C 3 měsíce
Doordinace	21 dní
Doba dodání	14 dní

Referenční meze

Věk od - do	Referenční mez
0 - 99 let	Negativní

Pozitivní výsledky jsou popsány jako typ p-ANCA, c-ANCA, a-ANCA v nejvyšším odečteném titru (1:20 – 1:1280).

Zdroj referenčních mezí

Příbalový leták výrobce Inova Diagnostics.

Indikace

- Podezření na systémovou nekrotizující vaskulitidy, rychle progredující glomerulonefritida, vaskulitidy malých cév
- Wegenerova granulomatóza
- Mikroskopická polyangitida
- Autoimunitní hepatitis, primární sklerotizující cholangitis
- Idiopatická glomerulonefritis se srpky
- Monitorování léčby, zejména imunosupresivní léčby

Interpretace

cANCA (cytoplazmatická granulární fluorescence), ve většině případů odpovídá pozitivitě protilátek proti PR3. Ty jsou jednou z příčiny rychle progredujících vaskulitid (Wegenerova granulomatóza), menší míře mikroskopické polyarteritidy a srpkovité glomerulonefritidy. Wegenerova granulomatóza je charakterizována nekrotizujícím zánětlivým procesem s tvorbou granulomů a vaskulitidou, který primárně zahrnuje horní a dolní dýchací cesty a ledviny. cANCA je přítomna až u 96 % pacientů s Wegenerovou granulomatózou s aktivním generalizovaným onemocněním, ale klesá na 65% u aktivně omezeného onemocnění a je přítomen u 30-40 % pacientů v remisi. Titr cANCA bude rovněž sledovat průběh onemocnění se snižováním titrů remise onemocnění a zvyšováním titrů relapsu onemocnění.

pANCA je vzor spojován s orgánově omezenější vaskulitidou, nebo rychle progresivní glomerulonefritidou. pANCA se typicky u systémových syndromů nevyskytuje. Nejběžnějším cílovým antigenem spojeným s pANCA je myeloperoxidáza, ale je detekována také reaktivita na elastázu a laktoferin. Téměř 90% séra pozitivních na pANCA od pacientů s glomerulonefritidou je reaktivních s myeloperoxidázou; avšak u pacientů s jinými onemocněními než glomerulonefritidou, která mají také pANCA, je mnohem nižší procento reaktivních s myeloperoxidázou. To by naznačovalo, že je možné detekovat více antigenů jako perinukleární barvení neutrofilů fixovaných ethanolem včetně séra které obsahují antinukleární protilátky. Velmi podobný obraz pANCA dávají další protilátky proti méně častým enzymům (laktoferin, elastáza, katepsin G, BPI, glukorunodiáza a další zatím neznámé atigeny). Také tyto protilátky se účastní v rozvoji vaskulitid.

Podobnou fluorescenci pANCA dávají protilátky proti jaderným antigenům (ANA), které s ANCA a chorobami, u kterých jsou nacházeny, nijak nesouvisí a mohou se objevovat i u zdravých jedinců.

Dalším typem perinukleární fluorescence je **aANCA**. Tyto protilátky nepatří fakticky k ANCA. Provázejí neutrofilní zánět probíhající ve střevě, ale nejsou jeho příčinou. Antigen zatím není znám. Tyto protilátky se vyskytují například u ulcerózní kolitidy, onemocnění jater, ale také u malých dětí do tří let věku, které trpí alergickou kolitidou. V tomto případě obvykle vymizí spolu s přecitlivělostí na antigeny z BKM, které jsou zřejmě hlavním

spouštěčem zánětu, a to i u plně kojených dětí. Protilátky se vyskytují ve třídě IgG, ale nejsou přeneseny přes placentu matky (matky jsou negativní). U dětí s alergickou kolitidou obvykle do tří let věku mizí, zatím co u pacientů s ulcerózní kolitidou a onemocněním jater přetrvává (nekopíruje aktivitu onemocnění). Pro aktivitu onemocnění je dobré stanovit koncentraci kalprotektinu ve stolici, která stoupá před relapsem onemocnění.

Existuje nejméně šest identifikovaných ANCA antigenů a mnoho z nich je stále neidentifikovaných. Většina z těchto antigenů se jeví jako enzymy pobývající v primárních granulích neutrofilů. Mezi tyto enzymy patří myeloperoxidáza (MPO), serinová proteáza 3 (PR3), elastáza, laktoferin, katepsin G a kationtový protein 57 (CAP-57). Pro detekci mnoha důležitějších neutrofilních protilátek byly vyvinuty testy ELISA, přesto většina odborníků v oboru autoimunitní vaskulitidy stále doporučuje, aby byla pro počáteční screening použita metoda IFA (imunofluorescent assay).

Serologické testování protilátek proti cytoplazmě neutrofilních granulocytů (ANCA) je významné pro diagnostiku autoimunitních onemocnění. Vyšetření ANCA-Profile zahrnuje autoprotilátky IgG třídy proti proteináze 3 (PR3), laktoferinu, myeloperoxidáze (MPO), elastáze, cathepsinu G a BPI (protein baktericidní/zvyšující permeabilitu).

	c-ANCA	p-ANCA	Atypická p-ANCA
Wegenerova granulomatóza	+	-	-
Mikroskopická polyarteritida	+	+	-
syndrom Churg-Straussové	+	+	-
Polyarthritis nodosa	-	+	-
Idiopatická glomerulonefritida se srpky	-	+	-
SLE	-	+	+
Revmatoidní arthritida	-	+	+
Ulcerózní kolitida	-	-	+
Crohnova choroba	-	-	+
Primární sklerotizující cholangitis	-	-	+
Autoimunitní hepatitida	-	-	+
Primární biliární cirhóza	-	-	+

Mezi hlavní protilátky proti cytoplazmě neutrofilních leukocytů patří MPO. MPO je hlavním antigenem vyvolávajícím typ p-ANCA. Nejvyšší hladiny protilátky MPO se dají zachytit během nejaktivnější fáze onemocnění, tudíž dobře slouží jako marker onemocnění i jeho aktivity.

Výskyt MPO:

Onemocnění	Výskyt
Nekrotizující / srpečkovitá glomerulonefritida	77 % - 100 %
Nekrotizující vaskulitida	65 %
Mikroskopická polyangiitida	45 %
Churg-Straussův syndrom	60 %
Wegenerova granulomatóza	10 %
Polyartritis nodosa	60 %
Alergická granulomatóza	

PR3 je hlavním antigenem vyvolávajícím typ c-ANCA. Stejně jako MPO, PR3 se zvyšuje během nejaktivnější fáze onemocnění a může sloužit jako marker onemocnění a jeho aktivity. Autoprotilátky proti PR3 mohou fungovat jako markery onemocnění i jeho aktivity, protože hladiny protilátky se zvyšují během nejaktivnější fáze onemocnění.

Výskyt PR3:

Onemocnění	Výskyt
Wegenerova granulomatóza	>95 %
Chronické zánětlivé onemocnění střev	
Mikroskopická polyangiitida	
Churg-Straussův syndrom	30 %

Interference

- Protilátky proti hladkému svalstvu (aktinu) mohou reagovat s lidskými neutrofily fixovanými v ethanolu i s aloprotilátkami, jako je mart nebo NB1. Protilátky proti aktinu nebo hladkému svalstvu reagují s cytoplazmou neutrofilů a poskytují spíše homogenní než typický hrubý skvrnitý vzor barvení cANCA. Alloprotilátky také reagují s cytoplazmou neutrofilů a vytvářejí jemný zrnitý vzor barvení. Typicky bude fluoreskovat pouze 40% buněk nebo méně.
- Vzorky mohou obsahovat více než jednu protilátku, např. cANCA a pANCA nebo cANCA a ANA.
- U typu a ANCA a současné pozitivitě ANA screen se může jednat o přesvit, případně může být přítomen jiný antigen (BPI, elastáza, katepsin G, lysozym, laktoferin).
- Někteří pacienti se zánětlivým onemocněním střev nebo ulcerózní kolitidou mají protilátky reagující na neutrofily. Tyto vzorky se na neutrofilech fixovaných ethanolem vyznačují vzorem typu pANCA s velmi zvýrazněným perinukleárním barvením. Typicky se tyto vzorky objevují jako negativní nebo se slabou homogenní cytoplazmatickou fluorescencí na sklíčkach neutrofilů fixovaných formalinem.
- Samotný tento test by neměl být považován za diagnostický. Je nutné vzít do úvahy také všechny ostatní faktory včetně anamnézy pacienta a další sérologické výsledky nebo výsledky biopsie.

Poznámka

Laboratoř doporučuje vyšetření celkového IgG z důvodu ovlivnění výsledků u metod vyšetřujících specifické autoprotilátky.

Revize	6. 1. 2025
Autor:	Ing. Jana Boháčová, Ph.D.
Metoda je akreditována	