



# Национальный Научный Медицинский Центр

Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ)

Современные методы диагностики системных  
аутоиммунных ревматических заболеваний (САРЗ).

Надежность комплексного иммунофлюоресцентного  
метода диагностики целиакии у детей.

Болтанова Алёна Андреевна, Специалист-лаборатории

Астана, 2023г.



Федерация Лабораторной Медицины

Национальный форум лабораторной медицины 2023г



@biologist.lab.boltanova

# Системные Аутоиммунные Ревматические Заболевания (САРЗ)



это нарушение работы  
иммунной системы

собственные ткани  
воспринимаются как  
чужеродные.

заболеваемость  
составляет 128,9 на  
100 тыс. населения

динамика прироста  
26.4% за 5 лет



протекают по типу  
воспаления

клиника может быть  
разнообразной и  
прятаться под маской  
других заболеваний

сложно сразу  
установить диагноз



Для лабораторной  
диагностики САРЗ  
доступны  
современные и  
достоверные методы,  
признанные "золотым  
стандартом":

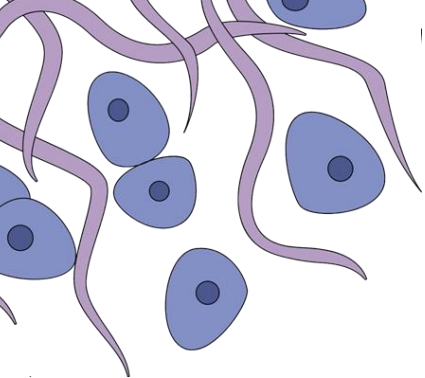
нРИФ

иммуноблотинг



Уровень владения  
информацией и  
инструментов не  
всегда удовлетворяет  
потребностям в  
диагностике АИЗ.

Пациент приходит в  
первую очередь в  
поликлинику, на этом  
этапе важно не  
пропустить!



## Мозг

Рассеянный склероз  
Синдром Гийена-Барре  
Аутоиммунные энцефалиты

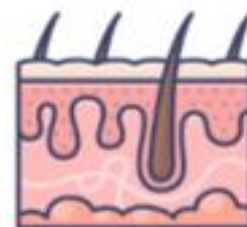


## Щитовидная железа

Тиреоидит Хашимото  
Болезнь Грейвса

## ЖКТ

Целиакия  
Диабет 1 типа  
Болезнь Крона  
Неспецифический  
язвенный колит



## Кожа

Витилиго  
Экзема  
Псориаз  
Склеродермия

# Аутоиммунные заболевания

## Кровь

Системная красная волчанка  
Гемолитическая анемия



## Кости и суставы

Ревматоидный артрит  
Болезнь Бехтерева  
Ревматическая полимиалгия

## Нервная система

Нейромиотония  
Периферическая невропатия



## Легкие

Фибромиалгия  
Гранулематоз Вегенера



## Мышцы

Полимиозит



# Антинуклеарные антитела

Более правильное название антинуклеарных антител – **антиклеточные антитела** (“anti-cell”, AC); используется в новой номенклатуре типов иммунофлюоресценции, рекомендуемой международным консенсусом по паттернам АНА – “ICAP”.



Гетерогенная группа органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы



Основной серологический маркер системных аутоиммунных ревматических заболеваний (САРЗ).

Наиболее яркими представителями САРЗ, характеризуется образованием широкого спектра антинуклеарных антител являются СКВ, а также системная склеродермия (ССД), болезнь/синдром Шегрена (БШ/СШ), идиопатические воспалительные миопатии (ИВМ), смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ) и перекрестные синдромы

# Лабораторная диагностика Аутоиммунных Заболеваний

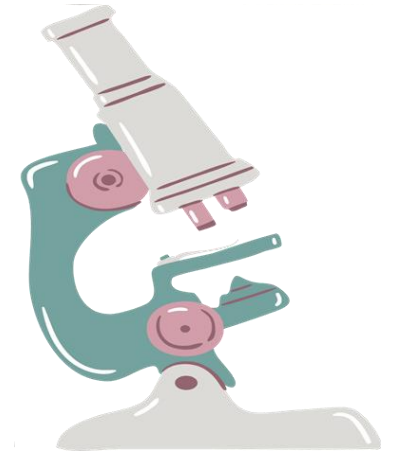
**Что является главной целью лабораторной  
диагностики АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ?**

— Главная цель лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний — это получение объективной информации о наличии и характере иммунопатологических изменений у пациента, что является важным инструментом для ранней диагностики, оценки активности, тяжести течения, прогноза болезни и эффективности проводимой терапии.



**Системная красная волчанка — одно из сложнейших аутоиммунных заболеваний,  
при которой в организме появляются антитела к собственной ДНК**

# Непрямая реакция иммунофлюоресценции (нРИФ)



**нРИФ** относится к серологическим тестам с использованием в качестве субстрата срезы ткани или клетки. И применяется для обнаружения антител в сыворотке крови

Несомненным **преимуществом нРИФ** является возможность оценки одновременного связывания аутоантител со всем разнообразием антигенов, которое имеется в тканевом или клеточном субстрате

Описание типа свечения, характерного для конкретной разновидности аутоантител, позволяет определить последующие тесты для уточнения специфичности антител. Это делает **иммунофлюоресценцию удобной для скринингового обследования** и говорит о том, что нРИФ имеет большое значение в аутоиммунной диагностике

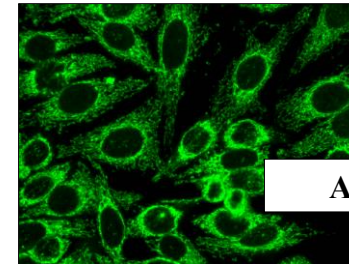


# Антинуклеарный фактор\* на клеточной линии HEp2

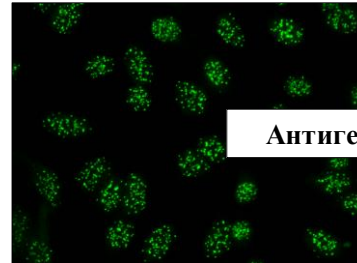
\*Антинуклеарные антитела / Анतिकлеточные антитела

**золотой стандарт** для первичного скрининга АИЗ (рекомендации ACR ANA Task Force 2008; EULAR EASI 2010, IUIS2014; Российские клинические рекомендации Ревматологов, 2017г.)

— это своего рода метод для определения антиклеточных антител (антинуклеарных и антицитоплазматических антител)



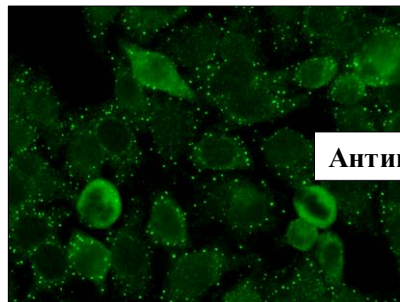
Антиген АМА



Антиген Centromere

Метод позволяет выявлять **более 150 типов** антиклеточных (ядерных и цитоплазматических) антител

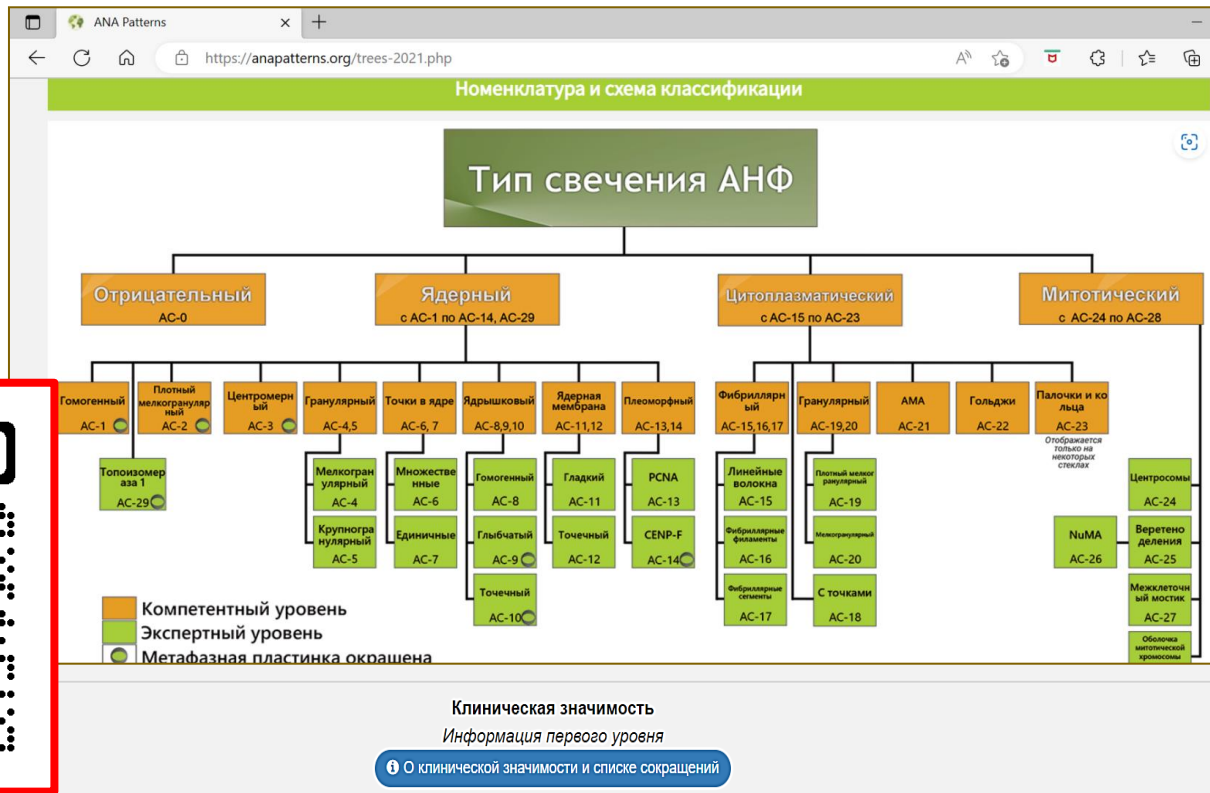
Некоторые **редкие** аутоантитела обнаруживаются **только методом ИРИФ на субстрате HEp-2**



Антиген GW Bodies

Выявление ANA на HEp2 методом ИРИФ **в титре  $\geq 1:80$**  используется как **критерий отбора** для дальнейшего обследования





| AC-1 - Ядерный гомогенный         |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Russian                           |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Синоним                           | Диффузное свечение ядра                                                                                                                                                                                                                                               | Diffuse                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Описание                          | Гомогенная и равномерная флуоресценция нуклеоплазмы. Ядрышки могут быть окрашены или не окрашены в зависимости от используемого клеточного субстрата. Конденсированный хроматин клеток в состоянии митоза (метафаза, анафаза, телофаза) интенсивно гомогенно окрашен. | Homogeneous and regular fluorescence across all nucleoplasm. nucleoli may be stained or not stained depending on cell substrat. Mitotic cells (metaphase, anaphase, and telophase) have the chr mass intensely stained in a homogeneous hyaline fashion. |
| Связь с антигенной специфичностью | дсДНК, нуклеосомы, гистоны                                                                                                                                                                                                                                            | dsDNA, nucleosomes, histones                                                                                                                                                                                                                             |

- Встречается у пациентов с СКВ, хроническим аутоиммунным гепатитом или ювенильным идиопатическим артритом
- При клиническом подозрении на СКВ рекомендуется провести последующий тест на антитела к дцДНК, отдельно или в комбинации с комплексами дцДНК/гистонов (нуклеосомы/ хроматин); антитела к дцДНК включены в критерии классификации СКВ (15, 16).
- При подозрении на хронический аутоиммунный гепатит или ювенильный идиопатический артрит последующее тестирование не рекомендуется, поскольку соответствующие аутоантигены, выявляющие паттерн AC-1, полностью не определены (17)
- Примечания: Хотя аутоантитела к топоизомеразе I (ранее Scl-70) могут быть зарегистрированы как ядерные гомогенные, они обычно обнаруживают сложный образец AC-29 HEP-2 IIFA; таким образом, клиническое подозрение на SSc может потребовать последующего тестирования на реактивность к этому антигену (14, 18)
- Хотя AC-1 является наиболее распространенным паттерном при хроническом аутоиммунном гепатите, могут встречаться и другие паттерны IIFA HEP-2, но и для этих паттернов аутоантигены полностью не определены (19)

Ссылки на информацию первого уровня

14. Андраде ЛЕК, Клотц В., Герольд М. и др.  
Международный консенсус по шаблонам антиядерных антител: определение шаблона ac-29, связанного с антителами к ДНК-топоизомеразе I. Clin Chem Lab Med 2018;56:1783-8.



# Сравнение нРИФ и ИФА, на примере Антинуклеарных антител ANA

Определение ANA методом нРИФ на клетках HEp-2 служит наиболее результативным первичным скрининговым тестом для диагностики СКВ и для других АИЗ

**ИФА-тест** определения суммарных антител к смеси из 8 антигенов (SS-A/52, SS-A/60, SS-B, RNP-70, Sm, RNP/Sm, Scl-70, Centromere B, Jo-1) менее предпочтительнее скрининговый тест для диагностики СКВ по сравнению с нРИФ-HEp2 из-за наличия **20% ЛОЖНОотрицательных результатов (столько же и ЛОЖНОположительных)**

RUSSIAN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS. 2017; 62(3)  
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-173-177>

IMMUNOLOGY

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017  
УДК 616.5-002.525.2-031.81-078.33:681.3

Верижникова Ж.Г.<sup>1</sup>, Александрова Е.Н.<sup>1</sup>, Новиков А.А.<sup>1</sup>, Панафидина Т.А.<sup>1</sup>, Середавкина Н.В.<sup>1</sup>, Попкова Т.В.<sup>1</sup>, Айзина Н.Л.<sup>2</sup>, Насонов Е.Л.<sup>1</sup>

**КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ МЕТОДОВ СКРИНИНГОВОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИНУКЛЕАРНЫХ АНТИТЕЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕПРЯМОЙ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ, ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА И МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ХМАР ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ**

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИР им В.А. Насоновой», 115522, Москва;  
<sup>2</sup>ГУЗ города Москвы «Детская городская поликлиника № 121 управления здравоохранения Южного административного округа», 115580, Москва

*Антинуклеарные антитела (АНА) – гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра и цитоплазмы. АНА – основной серологический маркер системной красной волчанки (СКВ). Внедрение в клиническую практику новых высокопроизводительных методов иммунного анализа с использованием автоматизированных систем создает предпосылки для стандартизации и улучшения воспроизводимости определения АНА.*

Ревматология Казахстана 2(6) | 2022 73

**РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ**

616.72-002.77-07-097:577.216.3 DOI:10.24353/QR.2022.65.37.013

**Диагностическое значение аутоантител при ревматоидном артрите**

**М.В. Волкова**  
Кафедра кардиологии и ревматологии, Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Беларусь

Для цитирования:  
М.В. Волкова. Диагностическое значение аутоантител при ревматоидном артрите. Ревматология Казахстана. 2022;2(6):74-80

**Цель.** Определить уровни и частоту встречаемости антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), ревматоидного фактора (РФ), антинуклеарных антител (АНА) при ревматоидном артрите (РА) и сравнить их диагностические характеристики, а также определить чувствительность и специфичность АНА при серонегативном РА. В исследование включено 270 пациентов с РА и 50 здоровых лиц. Уровни и частоты встречаемости всех исследованных антител у пациентов с РА были значимо выше по сравнению со здоровыми лицами ( $p < 0,05$ ). Наиболее высокие показатели чувствительности и специфичности для диагностики РА имели тесты на основе определения АЦЦП – чувствительность 78,01%, специфичность – 100,00%, и РФ – 70,64%, специфичность 96,97%. При серонегативном по АЦЦП и РФ РА диагностическая чувствительность определения АНА составила 54,55%, специфичность – 100%.  
**Ключевые слова:** ревматология, ревматоидный артрит, аутоантитела, диагностика, серонегативный ревматоидный артрит.

# Сравнение нРИФ и ИФА

## Indirect Immunofluorescence Report

Project: 18.05.2022...

Sample ID: 10885538

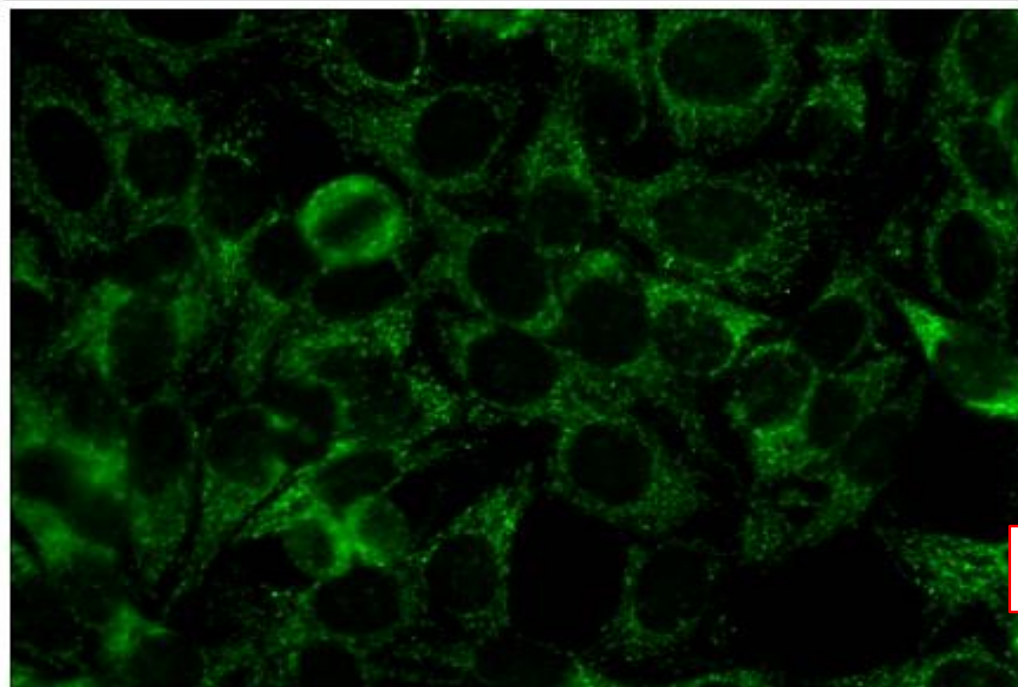
Age / Sex: 09.01.1975 / w

Dilution: 1/80

Patient Name: #9/5 5.02.K

Reported by:

Date of Analysis: 2022-05-18



Result: (+)

Intensity 76.62 AU  
Pattern speckled  
Cytoplasm positive  
Titer

АО «Национальный научный медицинский центр»

КДЛ отдел ИФА и иммунологии

Отчет о результатах ИФА - исследований по НТИЛ№5

«Исследование эффективности трансплантации ~~мезенхимальных~~ стволовых клеток аутогенного костного мозга в коррекции аутоиммунных механизмов развития первичного билиарного холангита»  
2020-2022гг

Наименование исследования: антитела к АМА-M2

Вид биоматериала: сыворотка крови

Исследование направить: терапия

Ответственный врач: Тостановская Н.В.

Дата выполнения: 15.12.2022г



| №  | per№ | дата забора | пациент                   | результаты |
|----|------|-------------|---------------------------|------------|
|    |      |             |                           | МЕ/мл      |
| 1. | 1/5  | 09.12.2021  | 5.02.K (жен., 09.01.1975) | 9,61       |
| 2. | 2/5  | 29.12.2021  | 5.03.K (жен., 01.05.1959) | 130,77     |
| 3. | 3/5  | 11.01.2022  | 5.04.K (жен., 05.02.1965) | 0,63       |
| 4. | 4/5  | 10.03.2022  | 5.05.K (жен., 02.02.1978) | 8,37       |
| 5. | 5/5  | 29.03.2022  | 5.04.O (жен., 15.10.1963) | 161,13     |
| 6. | 6/5  | 31.03.2022  | 5.05.O (жен., 22.08.1967) | 74,04      |
| 7. | 7/5  | 11.04.2022  | 5.06.O (жен., 15.11.1961) | 32,30      |
| 8. | 8/5  | 05.05.2022  | 5.01.O (жен., 25.02.1966) | 155,47     |

|    |     |            |                           |      |
|----|-----|------------|---------------------------|------|
| 9. | 9/5 | 16.05.2022 | 5.02.K (жен., 09.01.1975) | 7,66 |
|----|-----|------------|---------------------------|------|

|     |      |            |                           |        |
|-----|------|------------|---------------------------|--------|
| 11. | 11/5 | 25.05.2022 | 5.07.K (жен., 01.09.1954) | 7,25   |
| 12. | 12/5 | 25.05.2022 | 5.06.K (жен., 02.02.1964) | 25,46  |
| 13. | 13/5 | 13.06.2022 | 5.08.K (жен., 10.09.1971) | 142,91 |
| 14. | 14/5 | 16.06.2022 | 5.07.O (жен., 12.07.1983) | 45,49  |



# Особенности определения Антиядерных антител при АНА-ассоциированных заболеваниях

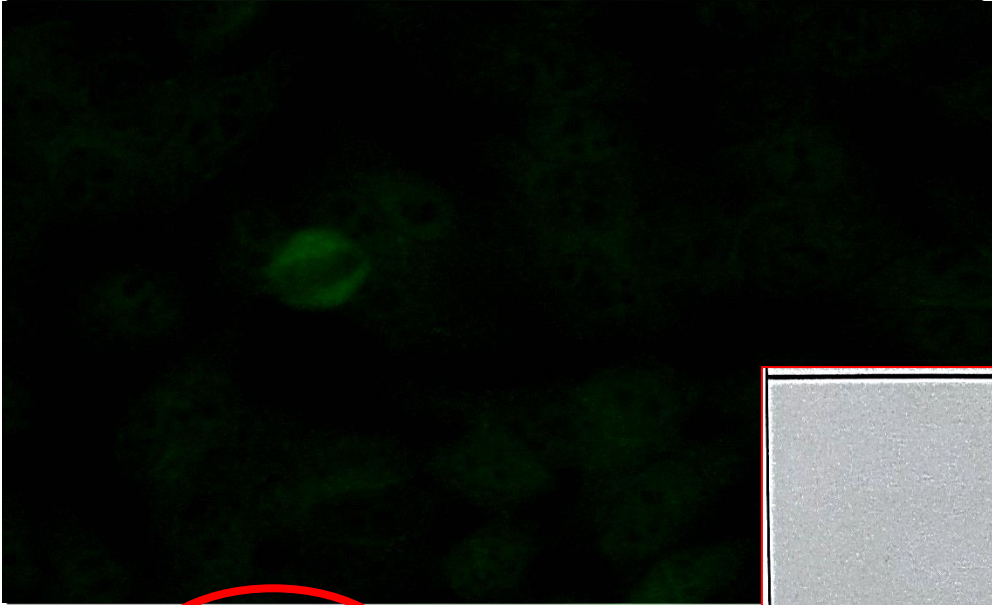
**Indirect Immunofluorescence Report**

Project: 28.04.2022..

Sample ID: 10977373      Age / Sex: 21.06.1993 / w

Dilution: 1/80      Patient Name: **А.М. Исканова**

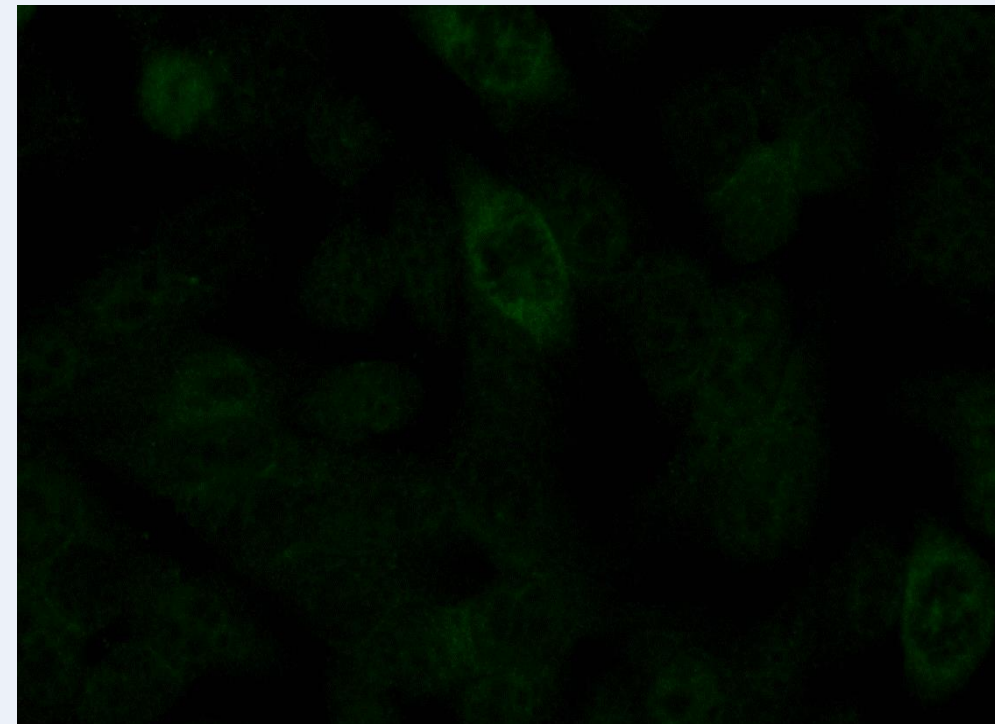
Reported by:      Date of Analysis: 2022-04-28



**Result:**

Intensity 17.90 AU  
Pattern negative  
Cytoplasm negative  
Titer

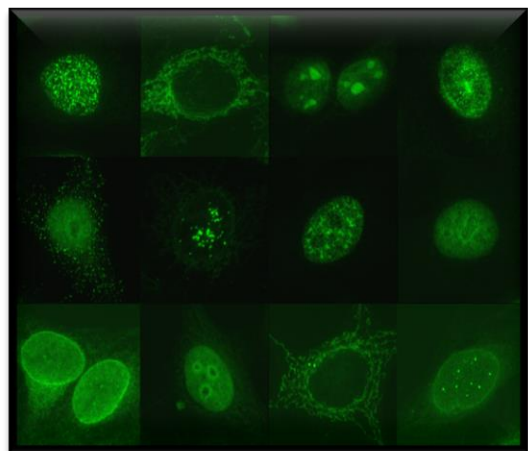
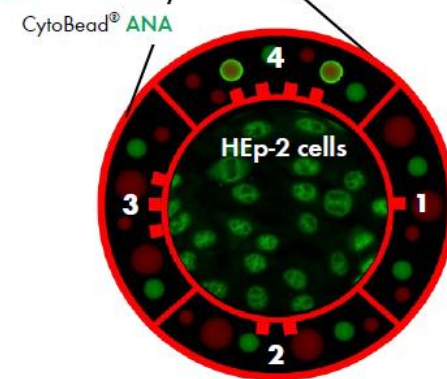
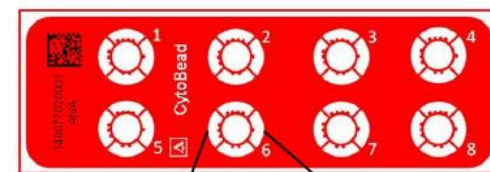
**Comment:** ANA/ Somnitel'nyi (pogranichnyi rezultat)!!! ANA-Immunodot - positive (SS-A/Ro52 ++)! Provera: Boltanova A.A.



| Serum | Dot      | Positivkontrolle | Konjugatkontrolle | Cut-off Kontrolle | dsDNA | Nucleosome | Sm | P0 | Histon | U1-snRNP | SS-A/Ro60 | SS-A/Ro52 | SS-B/La | Scl-70 | CENP-B | Jo-1 |
|-------|----------|------------------|-------------------|-------------------|-------|------------|----|----|--------|----------|-----------|-----------|---------|--------|--------|------|
| serum | position |                  |                   |                   |       |            |    |    |        |          |           |           |         |        |        |      |
| 4289  | 5        |                  |                   |                   |       |            |    |    |        |          |           | +         |         |        |        |      |
| 4289  | N        |                  |                   |                   |       |            |    |    |        |          |           | +         |         |        |        |      |



# Выявление антинуклеарных антител с помощью мультиплексного иммунологического теста





# КЛИНИЧЕСКИЙ ПРОТОКОЛ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ от «23» сентября 2021 года от (МЗ РК)

## Системная красная волчанка



Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2021 (Казахстан)

**Категории МКБ:** Системная красная волчанка (M32)

**Разделы медицины:** Ревматология

### Иммунологические исследования [1-10, 15-28]:

- АНА – гетерогенная популяция аутоантител, реагирующих с различными компонентами клеточного ядра (у 95% пациентов методом АНА на клетках Нер-2 с помощью нРИФ или эквивалентным методом (при первичном диагнозе СКВ);
- АТ к дсДНК АТ или ядерному Sm - АТ против дсДНК в иммуноанализе с продемонстрированной специфичностью  $\geq 90\%$  к СКВ выше уровня диапазона референсной лаборатории или анти-Sm антитела (10-30% пациентов);
- С3, С4 компоненты комплемента - при установленном диагнозе с целью мониторинга активности СКВ;
- АФА - определять у всех пациентов с СКВ (УД А) [7,8]. Диагностические лабораторные критерии маркеры АФС: АФЛ, ложноположительная реакция Вассермана, антикоагулянт волчанки.

**Диагностический алгоритм:** (таблица 6)

**Таблица 6 - Алгоритм диагностики СКВ (EULAR/ACR)[6]**

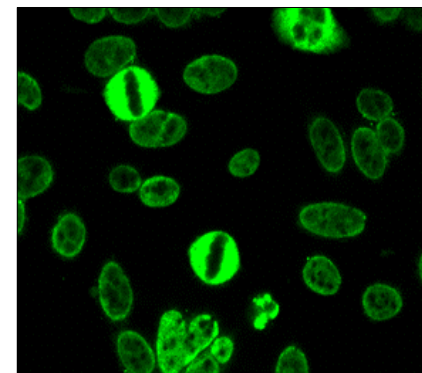
#### Критерий включения:

ANA в титре  $\geq 1:80$  на Нер-2 клетках или эквивалентный положительный тест (когда-либо) → Если отсутствует, то не классифицируйте как СКВ; если присутствует, то примените дополнительные критерии

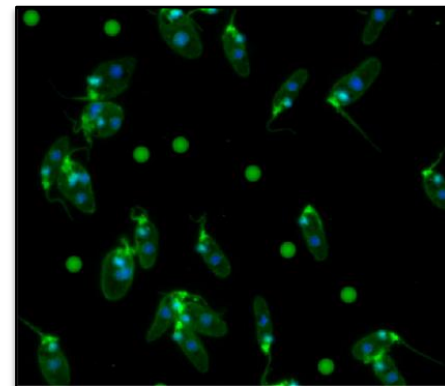
#### Дополнительные критерии:

- не рассматривайте критерий, если ему имеется более вероятное объяснение, чем СКВ;
- достаточно хотя бы однократного обнаружения критерия;
- наличие хотя бы одного клинического критерия;
- критерии не обязательно должны присутствовать одновременно; в пределах каждого домена в общий счет включается только критерий с максимальным «баллом»

| Клинические критерии: | Балл | Иммунологические критерии: | Балл |
|-----------------------|------|----------------------------|------|
|-----------------------|------|----------------------------|------|



**Антинуклеарный Фактор**



**Anti-dsDNA на клетках простейшего Crithidia luciliae**

# КЛИНИЧЕСКИЙ ПРОТОКОЛ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НЕВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ (АУТОИММУННЫЙ ГЕПАТИТ) от «28» ноября 2017г.

## Невирусные гепатиты (аутоиммунный гепатит)



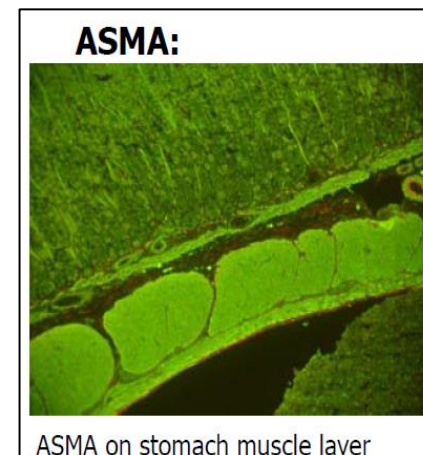
Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2017 (Казахстан)

**Категории МКБ:** Аутоиммунный гепатит (K75.4)

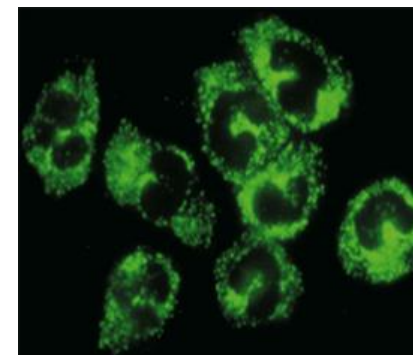
**Разделы медицины:** Гастроэнтерология детская, Педиатрия

### Лабораторные исследования [1-6]:

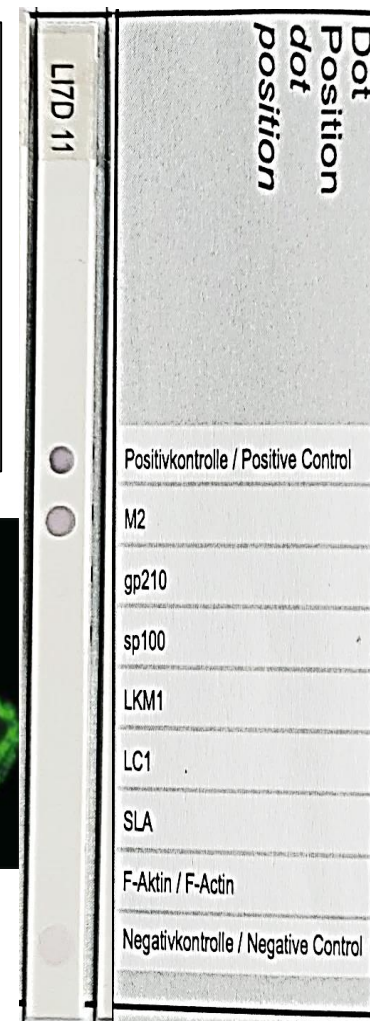
- **общий анализ крови:** лейкопения, нормохромная анемия, ретикулоцитоз, тромбоцитопения, ускоренная СОЭ, эозинофилия (редко);
- **общий анализ мочи:** как правило, без особенностей;
- **биохимический анализ крови:** увеличение уровня аминотрансфераз (в 1,5-50 раз); билирубин повышен более чем в 2 раза, преимущественно за счет прямой фракции; уровень щелочной фосфатазы обычно нормальный или слегка повышен; может быть повышена активность гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП); гипоальбуминемия; содержание  $\gamma$ -глобулинов или IgG более чем в 2 раза выше нормального уровня;
- **Серологические исследования:** ANA, SMA, LKM, LC-1 – методом непрямой иммунофлуоресценции; SLA/LP – методом ИФА/Вестерн-иммуноблотингом. В детской популяции, титры аутоантител коррелируют с активностью болезни и могут быть использованы для мониторингирования ответа на лечение. Высокий титр анти-LKM1 с высокой долей вероятности подтверждает диагноз АИГ, даже при неоднозначном результате биопсии печени. У некоторых пациентов, могут появляться через несколько месяцев после манифестации заболевания;
- **Коагулограмма** – снижение протромбинового индекса, гипофибриногенемия, снижение тромбинового времени;



ASMA on stomach muscle layer

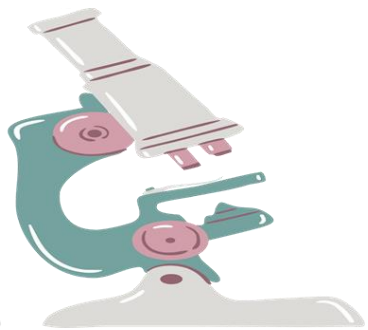


ANCA

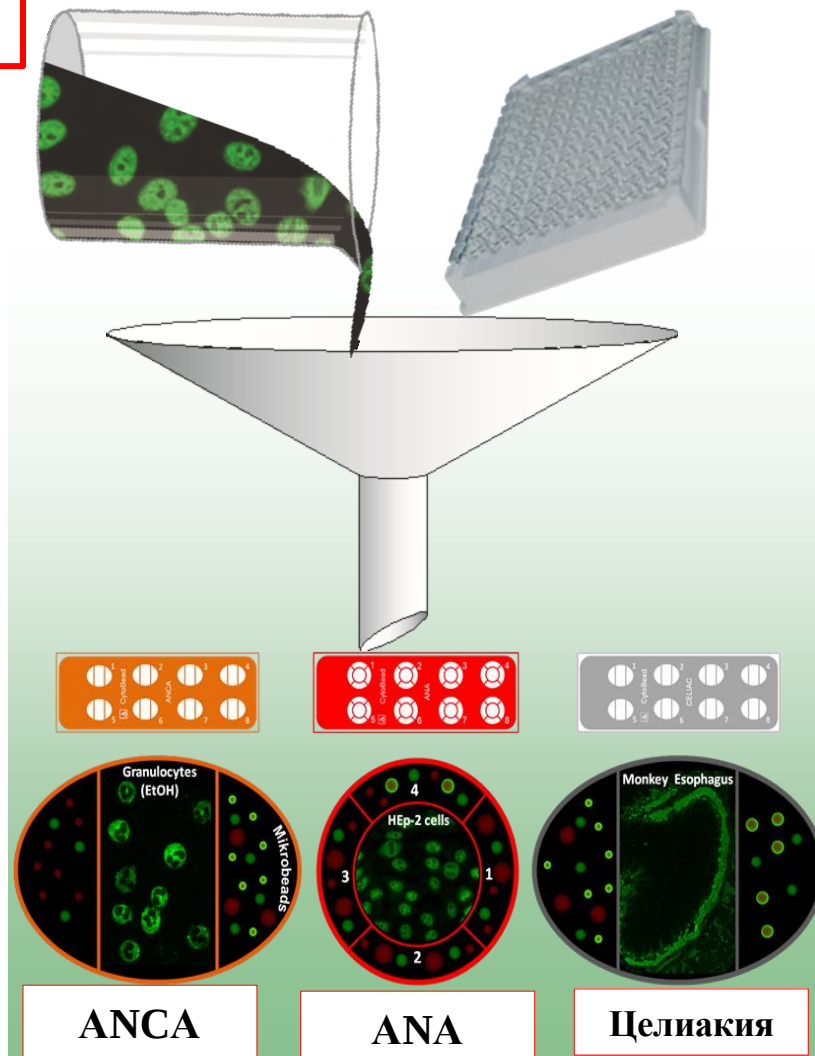
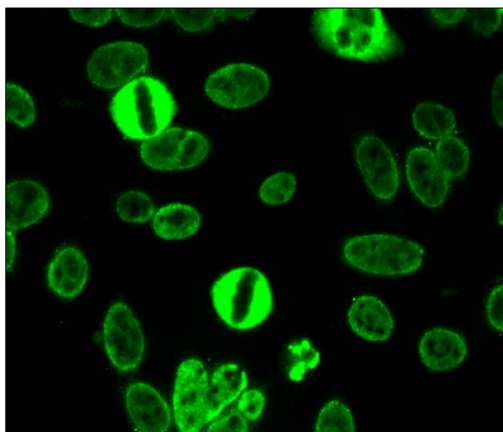
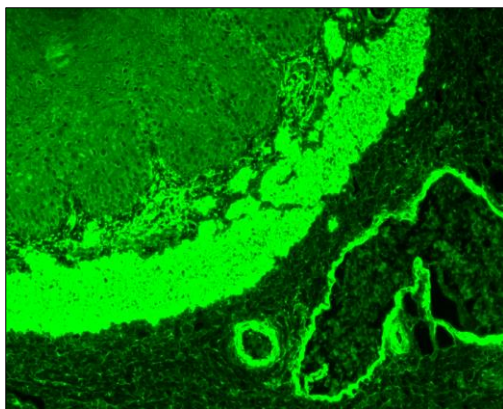


# Эволюция непрямой реакции иммунофлюоресценции

## Мультиплексные тесты с технологией cytoBead<sup>®</sup>

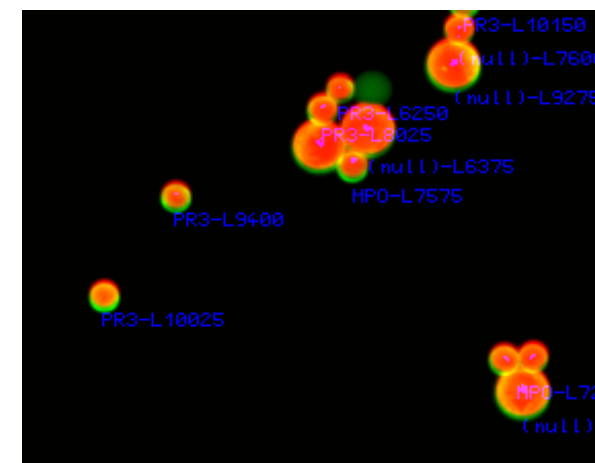
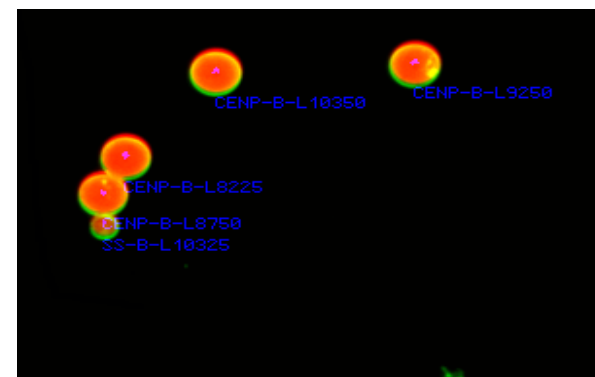


скрининг

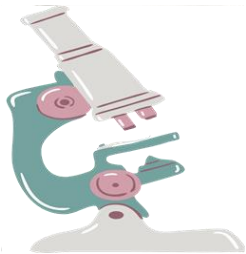


Подтверждающий тест  
(количественное\* определение  
специфических антител, МЕ/мл)

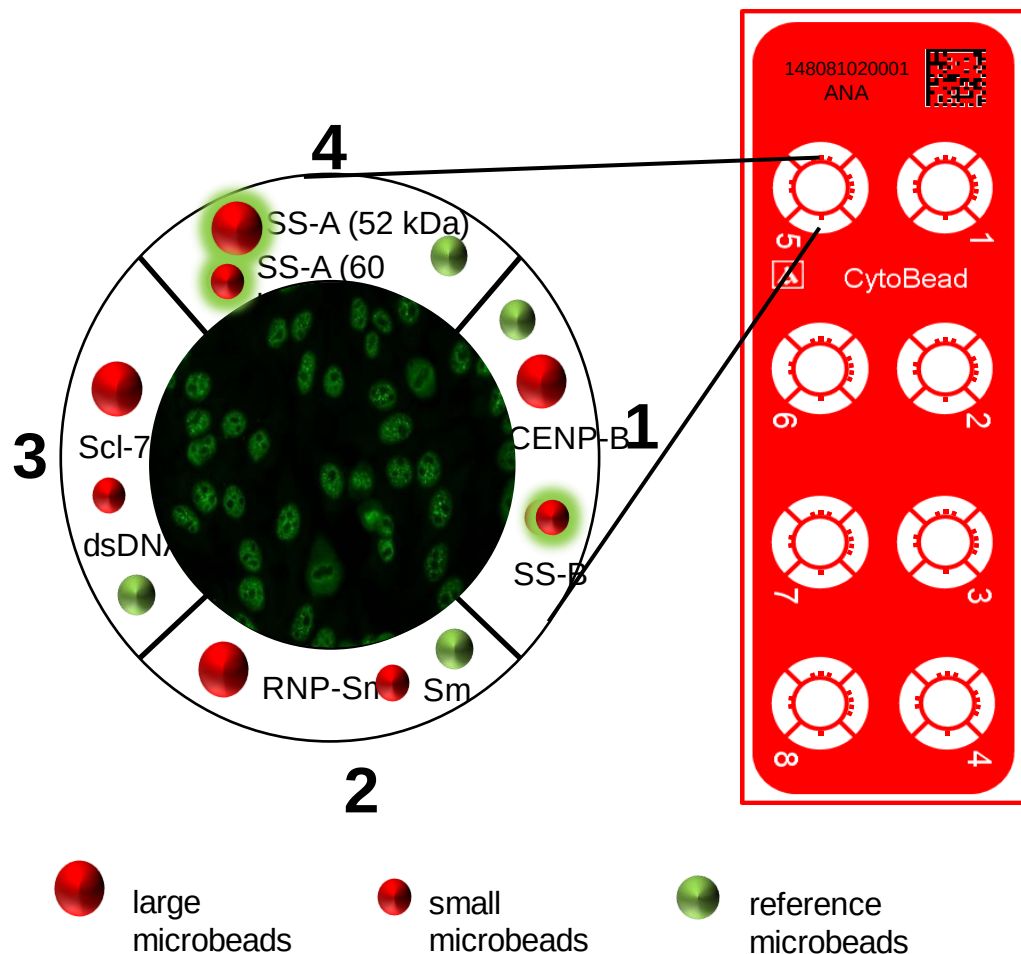
*\*при использовании автоматической системы  
Aklides или Akiron Neo*







# Определение антинуклеарных антител при оценке эффективности трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с высокодозной иммуносупрессивной терапией у больных с СКВ и ССД в казахской популяции.

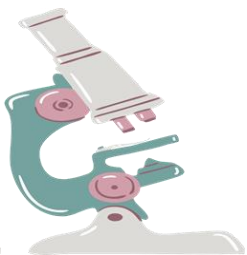


**Методы и материалы:** у 5 пациентов с СКВ (1 мужчина и 4 женщины) и у 5 пациентов с ССД (2 мужчин и 3 женщины) определили уровень антинуклеарного фактора на клетках HEp2 (АНФ HEp2), антител к двуспиральной ДНК (дсДНК) и топоизомеразе-1 (Scl-70) с помощью количественного мультиплексного иммунологического теста **ANA CytoBead методом ИРИФ на автоматической платформе Aklides** (Medipan, Германия) до и после (через 3 месяца) трансплантации МСК.

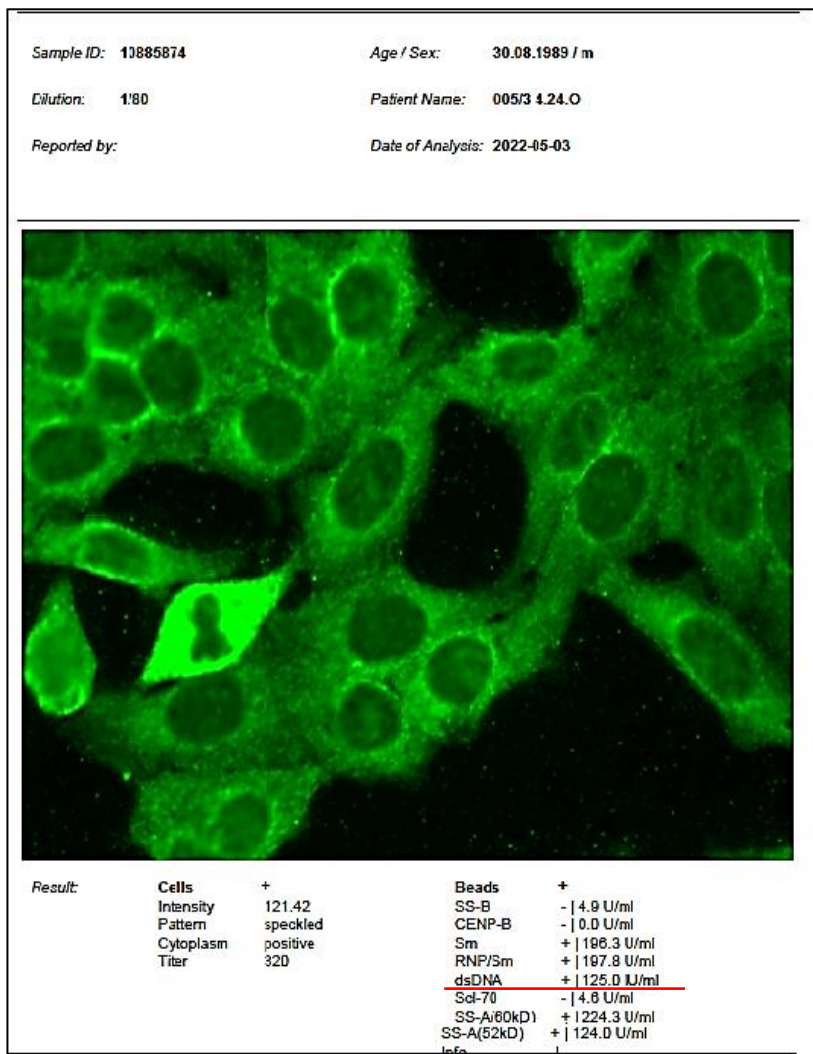
Научно исследовательская программа 2020-2023гг. «Оценка эффективности трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с высокодозной иммуносупрессивной терапией у больных с СКВ и ССД в казахской популяции»

Национальный научный медицинский центр. г.Астана, Казахстан.

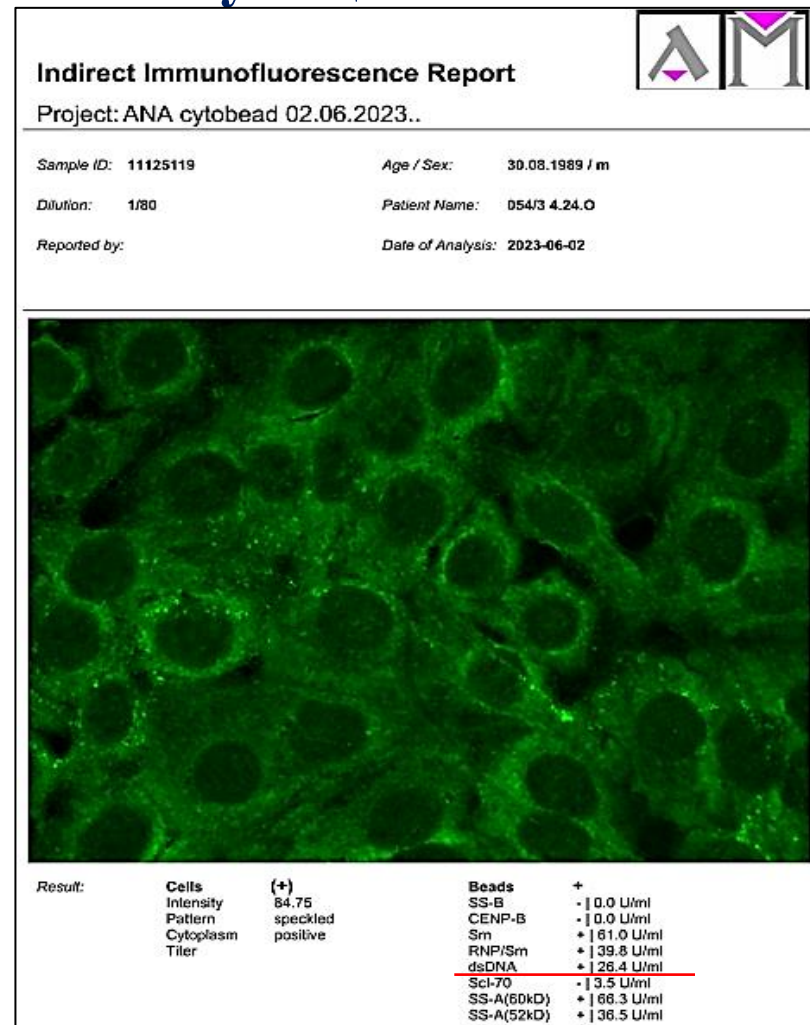


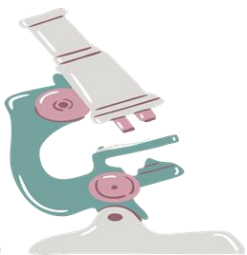


# Определение антинуклеарных антител при оценке эффективности трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с высокодозной иммуносупрессивной терапией у больных с СКВ и ССД в казахской популяции.

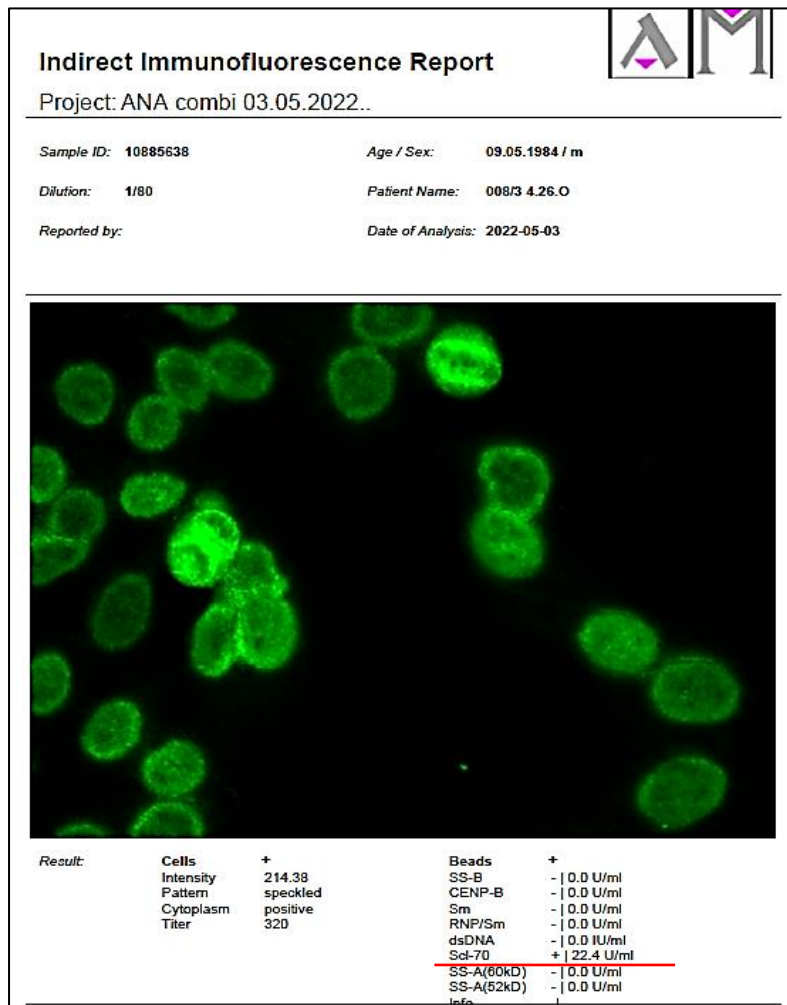


У пациентов с СКВ наблюдалось снижение уровня титра антинуклеарного фактора (до минимального диагностического титра 1:320-1:80), и значительное снижение концентрации антител к дсДНК (до нормальных значений либо выше референтного интервала; <9,5 МЕ/мл - отрицательно; 9,5-10,0 МЕ/мл – пограничное значение; >10,0 МЕ/мл - положительно).

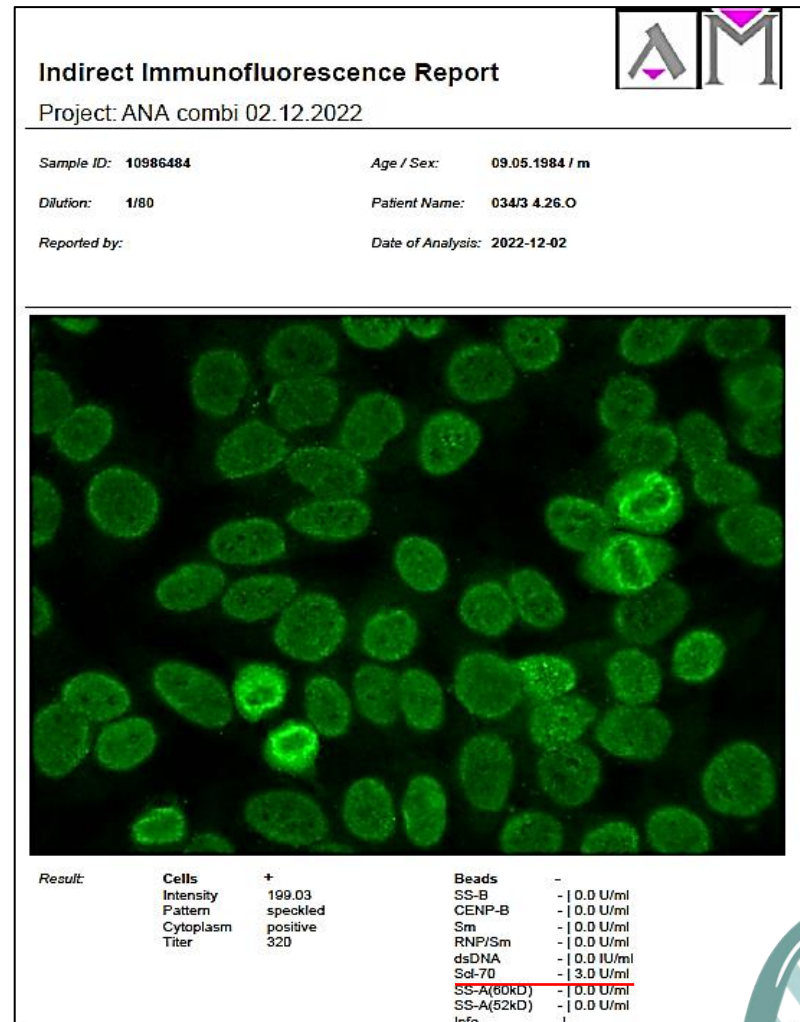


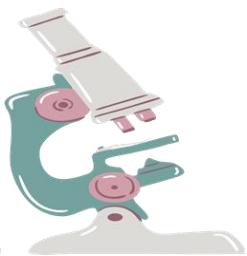


# Определение антинуклеарных антител при оценке эффективности трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с высокодозной иммуносупрессивной терапией у больных с СКВ и ССД в казахской популяции.



У пациентов с ССД уровень титра антинуклеарного фактора снизился незначительно либо оставался на том же уровне, тогда как концентрация антител к Scl-70 снизилась до нормальных значений (в пределах референтного интервала: <8,0 МЕ/мл - отрицательно; 8,0-10,0 МЕ/мл – пограничное значение; >10,0 МЕ/мл - положительно).





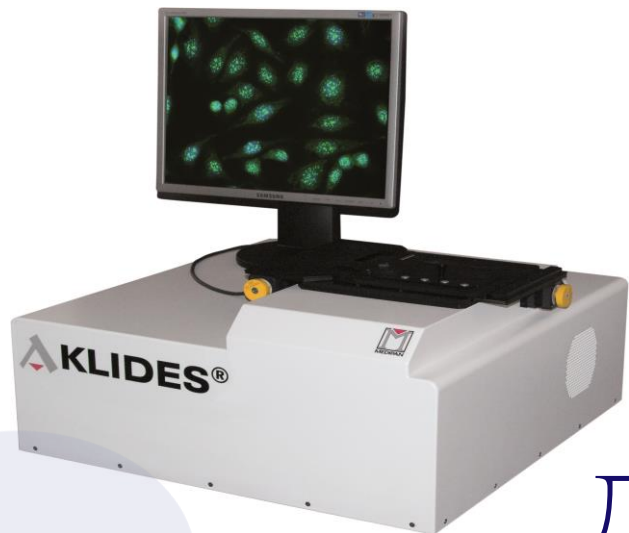
# **Определение антинуклеарных антител при оценке эффективности трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с высокодозной иммуносупрессивной терапией у больных с СКВ и ССД в казахской популяции.**

Предварительные результаты эффективности трансплантация МСК продемонстрировали значительный эффект в снижении уровня аутоантител, тем самым благоприятно влияя на терапевтический эффект при СКВ и ССД.

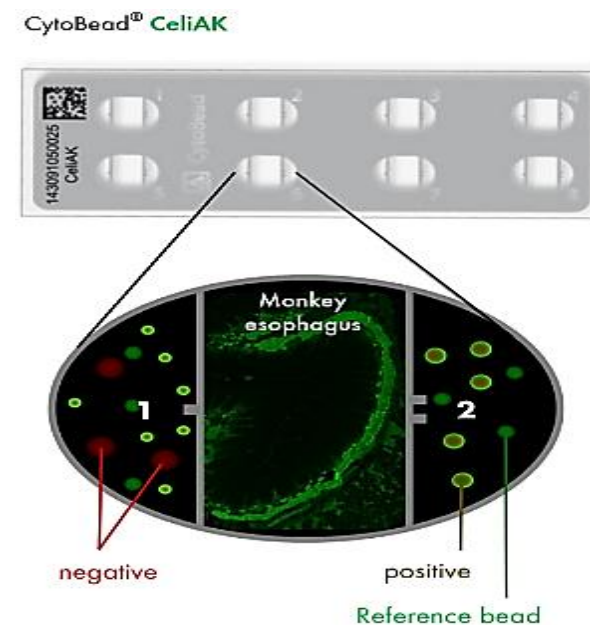
В данный момент начато исследование по диагностики СКВ и ССД, с определением аутоиммунных маркеров, цитокинов и генетических мутаций, с установлением генетической предрасположенности пациентов к развитию аутоиммунных заболеваний.







# Диагностика целиакии с помощью инновационных лабораторных методов



# Целиакия

## (глютеновая болезнь, глютеновая энтеропатия)

**Целиакия (глютеновая энтеропатия)** – это аутоиммунное заболевание, возникающее у предрасположенных лиц в ответ на поступление с пищей белка глютена.

**Не бывает целиакии без глютена.**

**Обязательна генетическая предрасположенность и пусковой фактор.**

**Целиакия может начаться в любом возрасте (но чаще первые симптомы проявляются в детском возрасте).**

При целиакии наблюдаются различные иммунологические нарушения. Особенность целиакии заключается в том, что при своевременной диагностике и соблюдении строгой безглютеновой диеты симптомы болезни полностью исчезают. Кроме того, учитывая повышенный риск развития других аутоиммунных заболеваний и лимфомы тонкого кишечника у пациентов с целиакией, своевременная диагностика и лечение этого заболевания играют огромную роль. Ранняя диагностика особенно важна у детей, так как в этой возрастной группе целиакия может приводить к нарушению роста, развития и задержке полового созревания.



# Целиакия

## (глютеновая болезнь, глютеновая энтеропатия)

И если в детском возрасте симптомы целиакии более классические, ....(такие как: нарушением всасывания (отсюда и анемии и дефициты витаминов), диареей, болями в животе и другими кишечными расстройствами, а также потерей веса.) ..... то диагностика целиакии у взрослых затруднена множеством различных симптомов. Затруднена из за того, что во взрослом возрасте симптомы целиакии проявляются не так как у детей. Могут быть атипичная и латентная формы.

Примерно у 70% взрослых целиакия протекает под «масками» различных заболеваний и патологических состояний:

- анемия устойчивая к традиционному лечению (железодефицитной или связанной с дефицитом витамина B12 и фолиевой кислоты);
- поражения кожи (дерматиты, псориаз, атопический нейродермит);
- заболевания костно-мышечной системы (остеопороз, мышечная атрофия, артрит, боли в суставах);
- заболеваний нервной системы (периферическая нейропатия, мозжечковая атаксия, эпилепсия, головные боли);
- аллергические проявления (бронхиальная астма, пищевая непереносимость продуктов);
- нарушение репродуктивной функции (женское и мужское бесплодие, невынашивание беременности).

**И все эти симптомы атипичной целиакии возникают в 10 раз чаще у взрослых пациентов с целиакией.**





# Диагностика целиакии

## Целиакия у детей



Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2015 (Казахстан)

МКБ-10: Целиакия (K90.0)

Раздел медицины: Гастроэнтерология детская, Педиатрия

## Целиакия (глютеновая энтеропатия) у взрослых



Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2019 (Казахстан)

МКБ-10: Целиакия (K90.0)

Раздел медицины: Гастроэнтерология

### Серологическая диагностика

- \* определение уровня сывороточного Ig A (при селективном дефиците Ig A)
- \* необходимо определять оба класса специфических IgG и IgA); проводится с целью верификации диагноза, решения вопроса о необходимости биопсии СОТК у лиц из группы риска, контроля за соблюдением АГД
- \* определение АГА в сыворотке крови (в настоящее время не используется для диагностики целиакии за исключением детей до 2-х лет):
- \* определение anti-tTG Ig A в сыворотке крови у детей
- \* определение ЭМА: положительные

Лабораторная диагностика 1. Исследования сывороточных антител к tTG класса IgA высокочувствительны и специфичны для целиакии. Они определяются в крови методом непрямой иммунофлюоресценции (нРИФ), иммунобллотинга (ИБ) и иммуноферментным анализом (ELISA) [15,16]. Антитела к эндомизиуму (EmA) IgA (anti-IgAEmA) имеют чувствительность 80% и высокую специфичность (100%) из всех серологических методов [17].

# Диагностика целиакии

## Целиакия у детей



Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2015 (Казахстан)

МКБ-10: Целиакия (K90.0)

Раздел медицины: Гастроэнтерология детская, Педиатрия

## Целиакия (глютеновая энтеропатия) у взрослых



Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2019 (Казахстан)

МКБ-10: Целиакия (K90.0)

Раздел медицины: Гастроэнтерология

### **NB.** Рекомендации [4,18]

- (1) Антитела IgA-tTG (anti-IgA-tTG) является единственным тестом для выявления целиакии в любом возрасте (*УД А*).
- (2) Необходимо определение общего IgA наряду с серологическими тестами. Если IgA в дефиците возможен ложноотрицательный результат IgA-tTG (*УД В*).
- (3) У пациентов с селективным общим дефицитом IgA тестирование на основе IgG к дезамидированным пептидам глиадина (DGP) или tTG должно проводиться и при первичной диагностике и при последующем наблюдении (*УД В*).
- (4) Все серологические тесты должны проводиться, когда пациенты находятся на глютенсодержащей диете (*УД А*).
- (5) Антиглиадиновые антитела (anti-АГА), не рекомендуются для первичного выявления целиакии (*УД А*).
- (6) Скрининговые серологические тесты на целиакию рекомендуется пациентам с аутоиммунными и эндокринологическими заболеваниями (группы риска) без изменения диеты (*УД А*).

# Диагностика целиакии

Определение аутоантител методом нРИФ или ИФА

Антитела IgA к:  
эндомизию EmA +  
тканевой  
трансглутаминазе tTG +  
дезаминированному  
пептиду глиадина DPG +

\*обязательное определение  
общего иммуноглобулина  
IgA для исключения  
селективного дефицита.  
Т.к. при дефиците  
иммуноглобулина А,  
антитела IgA к EmA, tTG,  
DPG могут быть ложно  
отрицательны.  
В этом случае определяют  
антитела IgG

Антитела IgA к:  
эндомизию EmA -  
тканевой  
трансглутаминазе tTG  
-  
дезаминированному  
пептиду глиадина DPG  
+

**Целиакия**

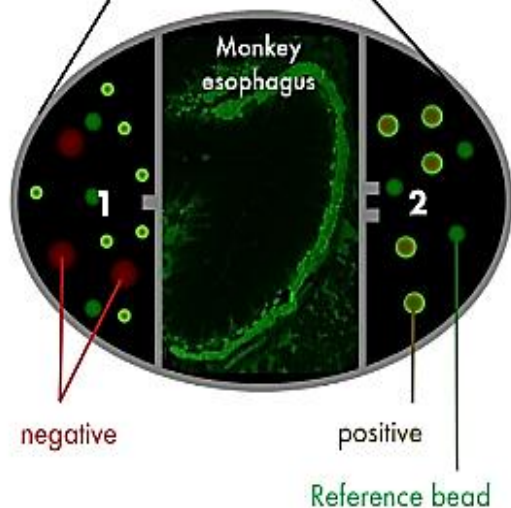
\*выявление высоких  
титров антител позволяет  
заменить биопсию  
тонкого кишечника

Диагноз целиакия под  
вопросом.

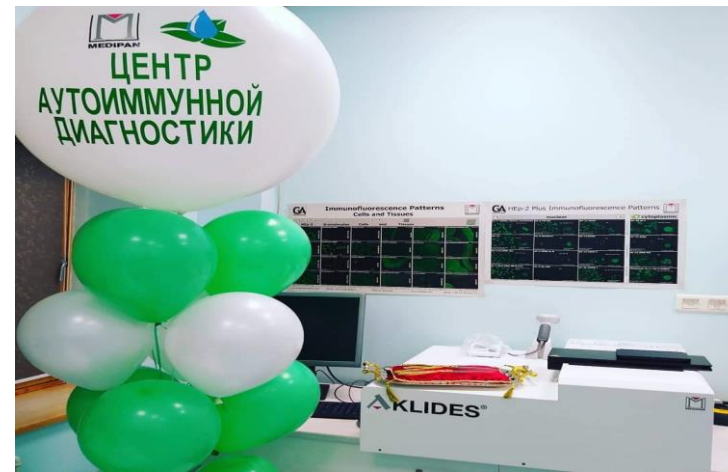
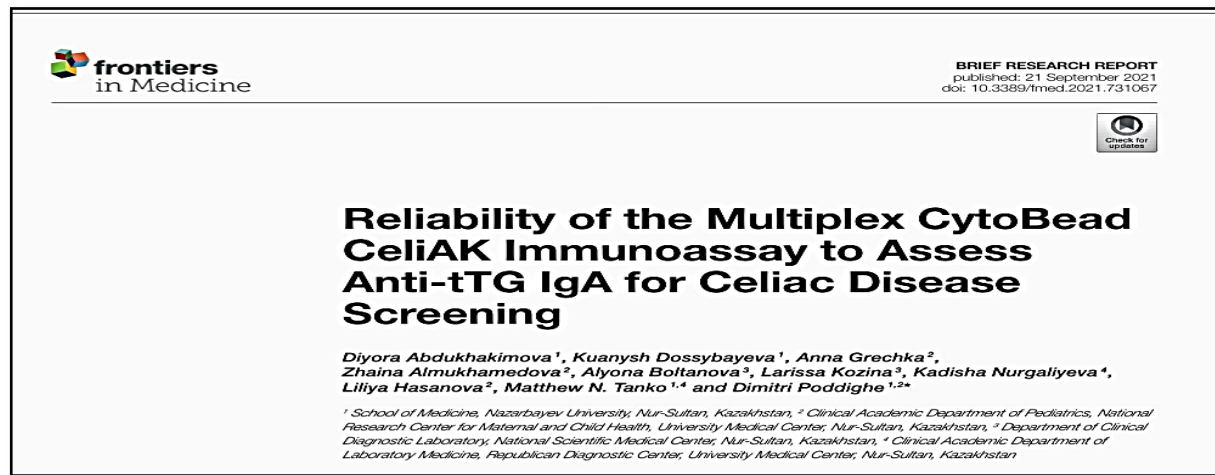
Требуется наблюдение и  
контроль анализов через 1-3  
месяца



CytoBead<sup>®</sup> CeliAK



# Совместное исследование ННМЦ и Школы медицины Назарбаев университета о надежности комплексного иммунофлюоресцентного метода диагностики целиакии у детей



Целью данного исследования являлась оценка надежности мультиплексного анализа **CytoBead CeliAK** для выявления пациентов с положительной реакцией на анти- tTG IgA по сравнению с обычным однопараметрическим иммуноферментным тестом (ИФА).

Иммуноанализ **CytoBead CeliAK** одновременно измеряет антитела (IgA и IgG), направленные к тканевой трансглутаминазе (tTG), эндомизию (EmA) и дезаминированным пептидам глиадина (DG), в дополнение к обеспечению контроля уровня общего IgA.

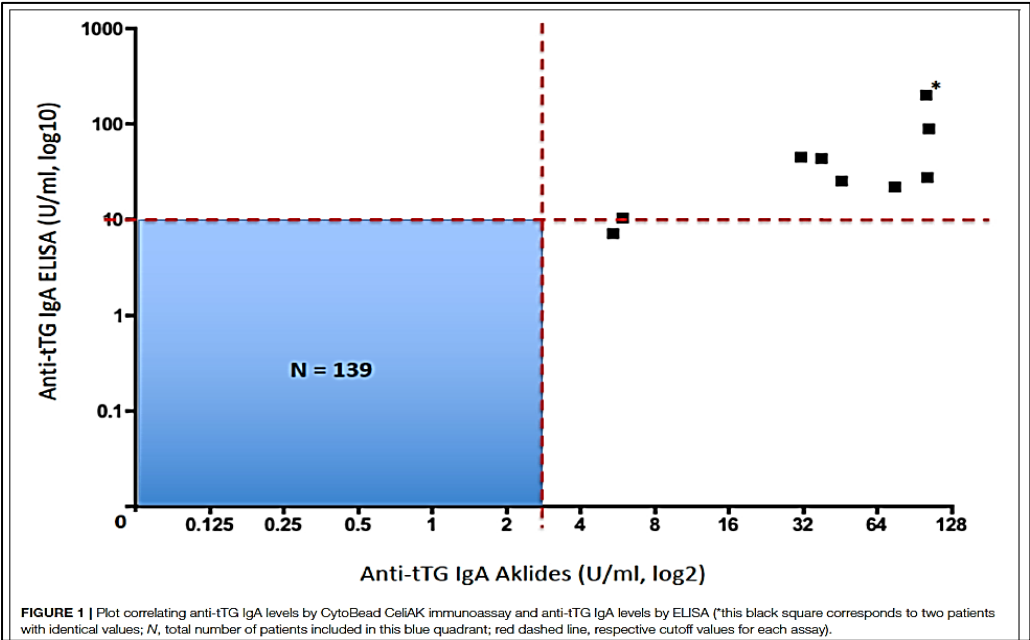
Dimitri Poddighe, [dimitri.poddighe@nu.edu.kz](mailto:dimitri.poddighe@nu.edu.kz)



# Совместное исследование ННМЦ и Школы медицины Назарбаев университета о надежности комплексного иммунофлюоресцентного метода диагностики целиакии у детей

| TABLE 2   CD serological panel of positive patients by CytoBead CeliAK immunoassay (columns 3-4-5) and comparison with the ELISA results (columns 6). |                   |                                       |                           |                                      |                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Pt.                                                                                                                                                   | Current diagnosis | Anti-tTG IgA [CeliAK]<br>(0-3.0 U/ml) | EMA [CeliAK]<br>(Pos/Neg) | Anti-DG IgA [CeliAK]<br>(0-6.0 U/ml) | Anti-tTG IgA [ELISA]<br>(0-10 U/ml) |
| 1                                                                                                                                                     | IBD?              | 0.6                                   | Positive                  | 34.9                                 | 0.3                                 |
| 2                                                                                                                                                     | IBD?              | 0.3                                   | Positive                  | 14.7                                 | 0.3                                 |
| 3                                                                                                                                                     | JIA               | 0.3                                   | Positive                  | 7.4                                  | 0.5                                 |
| 4                                                                                                                                                     | JIA               | 0                                     | Positive                  | 6.3                                  | 0.4                                 |
| 5                                                                                                                                                     | JIA               | 0                                     | Positive                  | 10.6                                 | 3.4                                 |
| 6                                                                                                                                                     | JIA               | 103                                   | Positive                  | 1.6                                  | 89.3                                |
| 7                                                                                                                                                     | JIA               | 31.2                                  | Positive                  | 0.06                                 | 45.4                                |
| 8                                                                                                                                                     | C. diarrhea       | 102.2                                 | Positive                  | 2.3                                  | 27.7                                |
| 9                                                                                                                                                     | C. diarrhea       | 100.6                                 | Positive                  | 102.6                                | 200                                 |
| 10                                                                                                                                                    | JS                | 5.9                                   | Positive                  | 0.9                                  | 10.4                                |
| 11                                                                                                                                                    | T1DM              | 45.9                                  | Positive                  | 0.1                                  | 25.4                                |
| 12                                                                                                                                                    | T1DM              | 75.3                                  | Positive                  | 2.7                                  | 21.9                                |
| 13                                                                                                                                                    | T1DM              | 5.4                                   | Positive                  | 3.1                                  | 7.2                                 |
| 14                                                                                                                                                    | T1DM              | 100.6                                 | Positive                  | 1.9                                  | 200                                 |
| 15                                                                                                                                                    | T1DM              | 38                                    | Positive                  | 0.9                                  | 44                                  |

IBD, inflammatory bowel disease; JIA, juvenile idiopathic arthritis; C., chronic; JS, juvenile scleroderma; T1DM, type 1 diabetes mellitus. Bold values mean "positive" values, higher than the reference values for the respective parameter.



Образцы сыворотки от 149 детей были оценены как с помощью иммуноанализ CytoBead CeliAK (непрямая реакция иммунофлюоресценции), так и с помощью ИФА, чтобы оценить их соответствие для измерения анти- tTG IgA.

**Выводы:** 1)Мультиплексный анализ **CytoBead CeliAK** и однопараметрический стандартный ИФА антител IgA к tTG демонстрируют значительное соответствие. 2) **CytoBead CeliAK** иметь преаналитические, аналитические и экономические преимущества при скрининге и диагностике целиакии.

В будущем мультиплексный серологический тест **CytoBead CeliAK** позволит отказаться от биопсии кишечника.

# В заключении хочу сказать,

✓ Клиницисты должны быть осведомлены о методе (о его преимуществах и недостатках), который используется в той или иной лаборатории для выявления аутоантител:

\* **метод нРИФ («золотой стандарт» для выявления аутоантител)**

\* ИФА (ELISA) метод — для таких тестов каждая лаборатория должна уточнять.

\* либо это **ANA screen** (антитела к смеси из 8 антигенов: SS-A/52, SS-A/60, SS-B, RNP-70, Sm, RNP/Sm, Scl-70, Centromere B, Jo-1),

\* либо это **ANA screen нового поколения с использованием перевиваемых клеток HeLa** (более чувствительный ИФА-тест)

✓ Использование международных и отечественных клинических протоколов позволяет правильно диагностировать аутоиммунные заболевания

✓ Взаимодействие клиницистов и специалистов лабораторной медицины (врачей-КДЛ, биологов, лаборантов) имеет большое значение для организации лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний





# Благодарю за внимание!

**Болтанова Алёна Андреевна**



+7 701 778 5491



[alyona.boltanova@gmail.com](mailto:alyona.boltanova@gmail.com)



[@biologist.lab.boltanova](https://www.instagram.com/biologist.lab.boltanova)