

## Oddělení laboratorní imunologie (OLI) rozšiřuje nabídku:

### Diagnostika nespecifických střevních zánětů (IBD)

Idiopatické střevní záněty (inflammatory bowel diseases, IBD) představují chronická zánětlivá imunitně zprostředkovaná onemocnění postihující trávicí trubici. Etiologie idiopatických střevních zánětů je stále neznámá, patogenese je známa pouze částečně. V klinické praxi rozlišujeme dvě hlavní formy IBD – Crohnovu nemoc (CD) a ulcerózní kolitidu (UC). V současnosti neexistuje specifický marker pro diagnostiku IBD, diagnóza je založena na kombinaci klinického, laboratorního, endoskopického, radiologického a histologického vyšetření.

Součástí laboratorní diagnostiky IBD je nejčastěji stanovení protilátky typu ASCA (protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae*) a p-ANCA (perinukleární protilátky proti cytoplasmě neutrofilů). Obraz ASCA+/pANCA- se častěji objevuje u Crohnovy choroby (lokalizace nemoci v tenkém střevě), obraz ASCA-/pANCA+ je typičtější pro ulcerózní kolitidu (lokalizace nemoci v tlustém střevě)

IBD – autoprotilátky v séru

Antigen/protilátka	Specifita	Diagnostická metoda
Neutrofily (p-ANCA) - atypické	UC	IF
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA)	CD	imunoanalytické testy, IF
Pohárkové buňky („goblet cells“)	UC	IF
Exokrinní pankreas	CD	IF

Zkratky: UC ... ulcerózní kolitida, CD ... Crohnova nemoc, IF ... nepřímá imunofluorescence

Dlouhodobě užívaným sérologickým pomocným testem je stanovení protilátek proti pivovarským kvasnicím (*Saccharomyces cerevisiae*) – ASCA – u pacientů s CN pozitivní až v 60 %. Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů lokalizované perinukleárně (pANCA) nacházíme u pacientů s UC, ale někdy také u nemocných s CN.

### 1) Atypické ANCA IgG, IgA – screen (nepřímá imunofluorescence)

**ANCA** (anti-neutrophil cytoplasmic antibody) je skupina autoprotilátek proti řadě antigenů v cytoplasmě. Ve stanovení metodou nepřímé imunofluorescence rozeznáváme dva základní obrazy ANCA: **c-ANCA** (cytoplazmatická fluorescence granulocytů, protilátky reagující nejčastěji s enzymem proteináza 3, PR3) a **p-ANCA** (perinukleární fluorescence granulocytů, protilátky reagující nejčastěji s enzymem myeloperoxidáza, MPO). Pod obrazem p-ANCA se však mohou objevit i protilátky proti dalším antigenům v cytoplasmě neutrofilů (laktóferin, katepsin, lysozym, elastáza, BPI, apod.), jejichž přítomnost je charakteristická zejména pro IBD.

**Stanovení atypických ANCA metodou nepřímé imunofluorescence je screeningovým testem, v případě hraničního nebo pozitivního nálezu je provedena typizace ANCA.**

#### Hodnocení:

ANCA IgA, IgG IF
Pozitivní
Negativní

**Materiál:** sérum (zlatá zkumavka s gelem)

**Metoda stanovení:** nepřímá imunofluorescence

**Substrát:** lidské granulocyty

**Dostupnost (výsledek do):** 7 dnů

## 2) Atypické ANCA IgG – typizace (ELISA, CLIA)

Cílovým antigenem atypických ANCA jsou nejspíše složky chromatinu neutrofilů, které jsou uvolňovány při apoptóze neutrofilů nebo po jejich aktivaci zánětem. Dostupné diagnostické soupravy umožňují stanovení atypických ANCA pouze v izotypu IgG proti následujícím molekulám: laktoferin, katepsin, elastáza, BPI (bactericidal/permeability-increasing protein). Ve výjimečných případech může dojít u IBD k produkci ANCA asociovaných s vaskulitidami malých cév (PR3, MPO).

### Normální rozmezí:

Antigen	Jednotka	Negativní	Slabě pozitivní	Pozitivní	Silně pozitivní
Katepsin G	index	< 1,0	1,0 – 2,0	2,0 – 5,0	> 5,0
Elastáza	index				
Laktoferin	index				
BPI	index				

Antigen	Jednotka	Negativní	Hraniční	Pozitivní
MPO	kU/l	< 10	10 – 20	> 20
PR3	kU/l	< 20	20 – 25	> 25

**Materiál:** sérum (zlatá zkumavka s gelem)

**Metoda stanovení:** ELISA

**Dostupnost (výsledek do):** 7 dnů

## 3) Protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae* – ASCA

Protilátky ASCA reagují s mananem, který je obsažen v buněčné stěně kvasinek. ASCA byly popsány u mnoha autoimunitních onemocnění, u kterých dochází ke zvýšené střevní propustnosti, mohou být produkovány po imunizaci kvasinkami ze stravy nebo kvasinkami, které kolonizovaly trávicí trakt jako důsledek zvýšené expozice kvasinkových antigenů imunitním buňkám při zvýšené intestinální permeabilitě.

Tyto protilátky mají vysokou specifitu pro Crohnovu chorobu (60 - 80 % pacientů), mohou být však přítomny i u pacientů s ulcerózní kolitidou (5 - 15 %) a u pacientů s celiakií.

Stanovení protilátek proti *Saccharomyces cerevisiae* spolu se stanovením protilátek proti ANCA slouží jako diagnostický a diferenciatní marker idiopatických střevních onemocnění (ulcerózní kolitida x Crohnova choroba).

### Hodnocení:

ASCA IgA, IgG IF
Pozitivní
Negativní

**Materiál:** sérum (zlatá zkumavka s gelem)

**Metoda stanovení:** nepřímá imunofluorescence

**Substrát:** buněčná suspenze *S. cerevisiae*

**Dostupnost (výsledek do):** 7 dnů

#### 4) Protilátky proti pohárkovým buňkám tenkého střeva – AGCA

Fyzickou bariéru proti vstupu bakterií a dalších antigenů z lumen tenkého střeva do krevního oběhu zajišťuje intestinální epitel. Pohárkové buňky (goblet cells, GC) jsou specializované buňky epitelu tenkého střeva produkující mucin a další faktory, které umožňují reparaci epitelu a regulují zánět. AGC byly poprvé detekovány u dospělých pacientů s UC v prevalenci 15 – 45 %, u pacientů s CD vykazovala prevalence větší rozpětí (1,5 – 30 %). Příčinou velké variability zjištěných prevalencí jsou s velkou pravděpodobností rozdíly v použité metodice detekce. Jednotlivé techniky se liší v použitém substrátu (lidská nebo opičí intestinální tkáň, vzácně jejunum nebo buněčná linie nádoru tlustého střeva, jejíž buňky diferencují do intestinálních pohárkových buněk).

##### Hodnocení:

AGC IgA, IgG IF
Pozitivní
Negativní

**Materiál:** sérum (zlatá zkumavka s gelem)

**Metoda stanovení:** nepřímá imunofluorescence

**Substrát:** opičí intestinum

**Dostupnost (výsledek do):** 7 dnů

#### 5) Protilátky proti exokrinnímu pankreatu – PAb

Protilátky proti exokrinnímu pankreatu jsou specifické pro CD. Senzitivita tohoto stanovení je však nízká, prevalence PAB u CD je cca 30%.

PAB se stanovují metodou nepřímé imunofluorescence na řezech lidské nebo opičí slinivky. Jako autoantigeny byly určeny membránové glykoproteiny zymogenních granulí (GP2) a glykosylfosfatidylinositol (GPI) kotvící protein pankreatických acinárních buněk. Fluorescenční obrazy PAB na řezech pankreatu odpovídají lokalizaci GP2. GP2 je však také exprimován M buňkami v Peyerových plátech, jejichž úlohou je transport antigenů z lumenu tenkého střeva k buňkám imunitního systému. Peyerovy pláty jsou lokalizované převážně v distální části tenkého střeva, která je také nejčastěji postiženou oblastí GIT při CD. V bioptických vzorcích tlustého střeva byla exprese GP2 na úrovni mRNA i proteinů významně vyšší u pacientů s CD v porovnání s pacienty s UC.

##### Hodnocení:

PAb IgA, IgG IF
Pozitivní
Negativní

**Materiál:** sérum (zlatá zkumavka s gelem)

**Metoda stanovení:** nepřímá imunofluorescence

**Substrát:** opičí pankreas

**Dostupnost (výsledek do):** 7 dnů

Ústí nad Labem listopad 2024

I. Stiborová