

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.5-002.525.2-031.81-078.33:681.3

Верижникова Ж.Г.¹, Александрова Е.Н.¹, Новиков А.А.¹, Панафилина Т.А.¹, Середавкина Н.В.¹, Попкова Т.В.¹, Айзина Н.Л.², Насонов Е.Л.¹

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

¹ФГБНУ «НИИР им В.А. Насоновой», 115522, Москва;

²ГУЗ 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.

Цель работы – сравнить диагностическое значение автоматизированных методов скринингового определения АНА (непрямой реакции иммунофлюоресценции на клетках HEp-2 (НРИФ-HEp-2), иммуноферментного анализа (ИФА) и мультиплексного иммунного анализа (МИА) с использованием суспензионной технологии xMAP) в сыворотках больных СКВ. Исследованы сыворотки 94 пациентов с СКВ. Группу сравнения составили 70 больных другими ревматическими заболеваниями; контрольная группа состояла из 30 здоровых доноров. Скрининговое определение АНА методом НРИФ-HEp-2 проводили на автоматической платформе AKLIDES, ИФА – на автоматическом анализаторе ALEGRIA, МИА – при помощи BioPlex 2200.

Метод НРИФ-HEp-2 показал наиболее высокую диагностическую чувствительность (ДЧ) по сравнению с ИФА и МИА-BioPlex 2200 (96,8; 79,8 и 82,9% соответственно). Общая диагностическая специфичность (ДС) определения АНА методом НРИФ-HEp-2 была ниже таковой у ИФА и МИА-BioPlex 2200 (40, 70 и 57% соответственно). В группе здоровых доноров наиболее низкую ДС имел скрининговый анализ АНА с помощью МИА-BioPlex 2200 (80%), в то время как при использовании НРИФ-HEp-2 и ИФА показатели ДС составляли 93,3 и 96,7% соответственно. Исследование АНА к смеси из 26 ядерных антигенов методом ИФА было целесообразным лабораторным тестом для диагностики СКВ (отношение правдоподобия положительного результата – 2,66). По уровню отношения правдоподобия отрицательного результата НРИФ-HEp-2 – более информативный тест для исключения диагноза СКВ, чем методы ИФА и МИА-BioPlex 2200 (0,08; 0,29 и 0,3 соответственно).

Таким образом, определение АНА методом НРИФ-HEp-2 служит наиболее предпочтительным первичным скрининговым тестом для диагностики СКВ. ИФА антител к смеси ядерных антигенов и МИА на основе технологии xMAP – менее предпочтительные скрининговые тесты для диагностики СКВ по сравнению с НРИФ-HEp-2 из-за наличия ложноотрицательных результатов в 20 и 17% случаев соответственно. ИФА и МИА более целесообразно использовать как подтверждающие тесты, позволяющие определять антиген-специфические АНА у больных СКВ с положительными результатами НРИФ-HEp-2.

Ключевые слова: антинуклеарные антитела; скрининговое определение; клиническая информативность; непрямая реакция иммунофлюоресценции; иммуноферментный анализ; мультиплексный иммунный анализ; системная красная волчанка.

Для цитирования: Вержникова Ж.Г., Александрова Е.Н., Новиков А.А., Панафилина Т.А., Середавкина Н.В., Попкова Т.В., Айзина Н.Л., Насонов Е.Л. Клиническая информативность автоматизированных методов скринингового определения антинуклеарных антител с использованием непрямой реакции иммунофлюоресценции, иммуноферментного анализа и мультиплексной технологии ХМАР при системной красной волчанке. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (3): 173-177. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-173-177>

Verzhnikova Zh.G.¹, Aleksandrova E.N.¹, Novikov A.A.¹, Panafidina T.A.¹, Seredavkina N.V.¹, Popkova T.V.¹, Aizina N.L.², Nasonov E.L.¹

THE CLINICAL INFORMATIVENESS OF AUTOMATED METHODS OF SCREENING DETECTION OF ANTI-NUCLEAR ANTIBODIES USING INDIRECT REACTION OF IMMUNE FLUORESCENCE, ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY AND MULTIPLEX XMAP TECHNOLOGY UNDER SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

¹The V.A. Nasonova research institute of rheumatology, 115522 Moscow, Russia

²The children municipal polyclinic №121 of the health department of the southern administrative okrug, 115580 Moscow, Russia

The antinuclear antibodies (ANA) consist heterogeneous group of auto antibodies reacting with various components of nucleus and cytoplasm. The ANA is a main serological marker of systemic lupus erythematosus (SLE). The implementation in clinical practice of new highly productive techniques of immune analysis using automated systems sets up prerequisites for standardization and amelioration of reproducibility of detection of ANA.

Для корреспонденции: Вержникова Жанна Григорьевна, врач КЛД лаб. клин. иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний; e-mail: verzhnikovs@gmail.com

The study was carried out to compare diagnostic significance of automated techniques of screening detection of ANA (indirect immunofluorescence test on cells HEp-2 (IIFT-HEp-2)), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and multi-complex immune analysis (MIA, using suspension technology xMAP) in serum of patients with SLE.

The serums from 94 patients with SLE were analyzed. The comparison group included 70 patients with other rheumatic diseases. The control group consisted of 30 healthy donors. The screening detection of ANA using technique IIFT-HEp-2 was implemented on automated platform AKLIDES, ELISA - on automated analyzer ALEGRIA and MIA on automated analyzer BioPlex 2200.

The technique IIFT-HEp-2 demonstrated the most high diagnostic sensitivity as compared with ELISA and MIA- BioPlex 2200 (96.8%; 79.8% and 82.9% correspondingly). The general diagnostic specificity of detection of ANA using technique IIFT-HEp-2 was lower than in case of ELISA and MIA-BioPlex 2200 (40%, 70% and 57% correspondingly). In the group of healthy donors the lowest diagnostic specificity was observed in ANA screening analysis using MIA-BioPlex 2200 (80%) while in case of applying IIFT-HEp-2 and ELISA indices of diagnostic specificity made up 93.3% and 96.7% correspondingly. The ANA analysis of mix of 26 nuclear antigens using ELISA technique was a reliable laboratory test for diagnostic of SLE (likelihood ratio of positive result - 2.66). By the level of likelihood ratio of negative result of the IIFT-HEp-2 technique was more informative test for exclusion of diagnosis of SLE than techniques of ELISA and MIA-BioPlex 2200 (0.08; 0.29 and 0.3 correspondingly).

The detection of ANA using technique of is the most preferable primary screening test for diagnostic of SLE. The ELISA of antibodies to mix of nuclear antigens and MIA on the basis of xMAP technology are less preferable screening tests for diagnostic of SLE as compared with IIFT-HEp-2 because of false-negative results in 20% and 17% of cases correspondingly. ELISA and MIA are to applied as confirmatory screening tests permitting to detect antigen-specific ANA in patients with SLE with positive results of IIFT-HEp-2.

Key words: *antinuclear antibodies; screening detection; clinical informativeness; indirect immunofluorescence test; immunoenzyme analysis; multiplex immune analysis; systemic lupus erythematosus*

For citation: *Verizhnikova Zh.G., Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Panafidina T.A., Seredavkina N.V., Popkova T.V., Aizina N.L., Nasonov E.L. The clinical informativeness of automated methods of screening detection of anti-nuclear antibodies using indirect reaction of immune fluorescence, enzyme-linked immunosorbent assay and multiplex XMAP technology under systemic lupus erythematosus. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (3): 173-177. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-173-177>*

For correspondence: *Verizhnikova Zh.G., physician of of laboratory of clinical immunology and molecular biology of rheumatic diseases. e-mail: verizhnikovs@gmail.com*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 13.07.2016
Accepted 01.08.2016

Системная красная волчанка (СКВ) – аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся поликлональной активацией В-клеток и гиперпродукцией широкого спектра органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы, вызывающих иммуновоспалительное повреждение тканей и внутренних органов [1]. Антиядерные антитела (АНА) – основной серологический маркер СКВ. В сыворотках пациентов с СКВ обнаруживают антитела к ДНК, гистонам, нуклеосомам, экстрагируемым ядерным антигенам (ЭЯА) (Sm, U1RNP, Ro/SSA, La/SSB, рибосомальному белку Р – RibP), ядрышковым антигенам и другим клеточным структурам [2–4]. Положительные результаты определения АНА входят в число диагностических критериев СКВ [4–6]; их применяют для оценки активности, прогноза и характеристики отдельных клинико-лабораторных субтипов заболевания [2–4, 6–8]; они служат предикторами развития СКВ у бессимптомных пациентов [9].

В последние годы особое внимание уделяют методическим аспектам определения АНА [3, 4, 10, 11]. Современные методы исследования АНА основаны на применении высокотехнологичных автоматизированных систем с использованием как униплексных технологий (непрямая реакция иммунофлуоресценции (НРИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), иммуноблот, хемилюминесцентный иммунный анализ), так и мультиплексных диагностических платформ. Актуальная проблема диагностики СКВ – стандартизация и клиническая валидация новых методов выявления АНА, включающая оценку их диагностической значимости и разработку алгоритмов тестирования аутоантител [10, 12].

Международными экспертами рекомендована двухэтапная стратегия определения АНА в сыворотке крови: на 1-м этапе проводят скрининг АНА методом НРИФ с использованием в качестве субстрата HEp-2 клеток (эпителиальные клетки рака горлани человека) (НРИФ-HEp-2); на 2-м этапе пациентам с положительными результатами НРИФ-HEp-2 проводят подтвержда-

ющие («рефлекс») тесты для выявления специфических антигенов к отдельным ядерным антигенам (двухспиральной-дсДНК, ЭЯА) с помощью ИФА, иммуноблота (ИБ), хемилюминесцентного иммунного анализа (ХЛИА), мультиплексного иммунного анализа (МИА) [3, 4, 13]. Особо отмечают необходимость внедрения в лабораторную практику автоматизированных систем интерпретации клеточных флуоресцентных тестов с целью стандартизации и улучшения воспроизводимости НРИФ-HEp-2 при первичном скрининговом исследовании АНА [10, 14]. В то же время активно обсуждают возможность скринингового исследования АНА с помощью ИФА, МИА и других методов твердофазного анализа [3, 10, 12, 15].

Цель данного исследования – сравнить диагностическое значение трех автоматизированных методов скринингового определения АНА (НРИФ-HEp-2, ИФА и МИА) в сыворотках пациентов с СКВ.

Материал и методы. Исследованы сыворотки 94 пациентов с верифицированным диагнозом СКВ согласно критериям SLICC 2012 г. (80 женщин и 14 мужчин) в возрасте 35,9 (16,0–65,0) лет с длительностью заболевания 113,5 (2,0–576,0) мес, наблюдавшихся в НИИР им. В.А. Насоновой в 2016 г. У большинства пациентов отмечали хронический вариант течения СКВ. Активность заболевания по шкале SLEDAI-2K составляла 9,7 (0–40) балла, индекс повреждения SLICC/ACR Damage Index (ИП) соответствовал 1,6 (0–18) балла.

В группу сравнения вошли 70 больных: 10 – синдромом Шегрена (СШ), 16 – системной склеродермией (ССД), 10 – ревматоидным артритом (РА), 14 – полимиозитом/дерматомиозитом (ПМ/ДМ), 10 – анкилозирующим спондилитом (АС), 10 – остеоартрозом (ОА). Контрольную группу составили 30 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными. Образцы сывороток крови хранили при -70°C.

Скрининговое исследование АНА в сыворотках крови

Таблица 1

Клиническая информативность трех автоматизированных методов скринингового определения АНА в сыворотках пациентов с СКВ (НРИФ-HEp-2, ИФА и МИА-BioPlex 2200) (n = 94)

Метод	Диагностическая чувствительность, %	Диагностическая специфичность, %				ОП общая	
		системные аутоиммунные ревматические заболевания (n = 50)	другие ревматические заболевания (n = 20)	здоровые доноры (n = 30)	общая группа (n = 100)	ПР	ОР
НРИФ-HEp-2	96,8*‡	10,0	35,0	93,3	40,0*‡	1,61	0,08
ИФА	79,8	42,0	100,0	96,7	70,0	2,66	0,29
МИА-BioPlex 2200	82,9	34,0	80,0	80,0	57,0	1,93	0,3

Примечание. ОП – отношение правдоподобия; ПР – положительный результат, ОР – отрицательный результат. * – $p < 0,05$ по отношению к ИФА; ‡ – $p < 0,05$ по отношению к МИА-BioPlex 2200.

проводили тремя автоматизированными методами: НРИФ-HEp-2 с помощью автоматизированной системы AKLIDES (Medipan GmbH, ФРГ), ИФА на анализаторе Alegria (ANA-detect, Orgentec, ФРГ) и МИА на основе суспензионной технологии xMAP (BioPlex 2200 ANA Screen, Laboratories Inc. Hercules, CA, США). Позитивные результаты измерения АНА соответствовали следующим значениям: $\geq 1:160$ (НРИФ-HEp-2), $\geq 1,3$ у. е. (ИФА) и $\geq 1,0$ AI (Antibody Index) (МИА-BioPlex 2200).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Для измерения степени согласованности результатов определения АНА различными методами использовали коэффициент каппа (κ) Коэна [16]. Результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом 25–75 процентиля. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Оценивали клиническую информативность скрининговых методов исследования АНА путем расчета диагностической чувствительности и специфичности (ДЧ и ДС), отношение правдоподобия положительного и отрицательного результата теста (ОППР и ОПОР).

Результаты. При скрининговом исследовании АНА в сыворотке крови степень согласованности результатов (κ) между НРИФ-HEp-2 и ИФА (0,438), НРИФ-HEp-2 и МИА-BioPlex 2200 (0,426) была ниже, чем у ИФА и МИА-BioPlex 2200 (0,726). У больных СКВ скрининговое определение АНА методом НРИФ-HEp-2 показало наиболее высокую ДЧ по сравнению с ИФА и МИА-BioPlex 2200 (96,8; 79,8 и 82,9% соответственно, $p < 0,05$) (табл. 1).

При использовании НРИФ-HEp-2 ложноотрицательные результаты скринингового исследования АНА регистрировали у 3% больных СКВ, ИФА – у 20%, МИА-BioPlex 2200 – у 17%. Общая ДС определения АНА методом НРИФ-HEp-2 была ниже таковой у ИФА и МИА-BioPlex 2200 (40, 70 и 57% соответственно, $p < 0,05$). В группе здоровых доноров наиболее низкую ДС имел скрининговый анализ АНА с помощью МИА-BioPlex 2200 (80%), в то время как при использовании НРИФ-HEp-2 и ИФА показатели ДС составляли 93,3 и 96,7% соответственно. Исследование АНА к смеси из 26 ядерных антигенов методом ИФА являлось целесообразным лабораторным тестом для диагностики СКВ (ОППР – 2,66). По уровню ОПОР НРИФ-HEp-2 – более информативный тест для исключения диагноза СКВ, чем методы ИФА и МИА-BioPlex 2200 (0,08; 0,29 и 0,3 соответственно).

Обсуждение. Согласно международным рекомендациям золотым стандартом и первичным скрининговым методом определения совокупности АНА в сыворотке крови служит НРИФ-HEp-2, позволяющая выявлять антитела к 100–150 ядерным антигенам [3–5, 13, 17, 18]. Вместе с тем в практике клинко-диагностических лабораторий широкое распространение получили скрининговые методы определения АНА на основе ИФА, ХЛИА, ИБ и мультиплексных биоаналитических технологий. По мнению экспертов Европейской

Таблица 2

Диагностическое значение различных методов скринингового определения АНА в сыворотках больных СКВ

Автор, год	n	Метод	Диагностическая чувствительность, %	Диагностическая специфичность, %				ОП	
				САРЗ	РЗ	ЗД	общая группа	положительный результат	отрицательный результат
Shovman O., 2005 [20]	113	ИФА	93,0	18,3	71,0	93,0	60,8	2,37	0,12
		AthenaMultiLyte	91,0	17,0	73,0	94,0	61,3	2,35	0,15
Moder K.G., 2007 [21]	332	ИФА	81,4	20,6	–	–	–	1,03	0,89
		BioPlex 2200	66,3	37,1	–	–	–	1,05	0,91
Bonilla E., 2007 [23]	35	НРИФ-HEp-2 (>1:50)	90,6	–	–	–	76,0	3,78	0,12
		AthenaMultiLyte	49,1	–	–	–	87,0	3,78	0,59
Hanly J.G., 2010 [22]	192	НРИФ-HEp-2 (>1:160)	81,3	–	–	–	–	–	–
		ИФА	46,6	–	–	–	–	–	–
		BioPlex 2200	75,5	–	–	–	–	–	–
Op de Beeck K., 2012 [24]	80	НРИФ-HEp-2000 (>1:80)	90,0	28,8	–	94,0	61,4	2,33	0,16
		BioPlex 2200	79,0	25,7	–	94,6	60,2	1,98	0,35
Bruner B.F., 2012 [25]	1540	НРИФ-HEp-2 (>1:120)	85,6	–	–	81,7	–	4,67	0,18
		BioPlex 2200	67,4	–	–	90,5	–	7,10	0,36
Tozzoli R., 2013 [10]	95	НРИФ-HEp-2 (>1:80)	89,5	38,4	–	95,0	66,7	2,69	0,16
		BioPlex 2200	81,1	29,5	–	94,2	61,9	2,13	0,31
Scholz J., 2015 [26]	174	НРИФ-HEp-2 AKLIDES (>1:80)	98,9	8,4	–	83,2	45,8	1,82	0,02
		CytoBeadANA	100	2,5	–	80,2	41,4	1,71	∞

антиревматической лиги (EULAR) и Американской коллегии ревматологов (ACR), данные методы твердофазного анализа не могут заменить первичный скрининг АНА с помощью НРИФ-HEp-2, так как идентифицируют антитела к ограниченному количеству (8–10) очищенных/рекомбинантных антигенов или смеси антигенов (ядерному гомогенату) с измененными либо утраченными эпитопами, что приводит к увеличению числа ложноотрицательных результатов до 35% [19]. Мы также обнаружили более высокую частоту ложноотрицательных результатов скринингового исследования АНА в сыворотках больных СКВ методами ИФА (20%) и МИА-BioPlex 2200 (17%) по сравнению с НРИФ-HEp-2 (3%). При этом показали, что определение АНА методом НРИФ-HEp-2 с использованием автоматизированной платформы AKLIDES обладает большей ДЧ, чем ИФА и МИА-BioPlex 2200, а по уровню ОПОР скрининг АНА в НРИФ-HEp-2 оказывается самым результативным тестом ($< 0,2$) для исключения диагноза СКВ. В нашей работе общая ДС всех трех скрининговых методов измерения АНА в сыворотках пациентов с СКВ имела низкие значения (от 40 до 70%). Уровень ОППР (> 2 и ≤ 5) позволял отнести ИФА АНА к числу предпочтительных скрининговых тестов для диагностики СКВ. Данные литературы, касающиеся изучения клинической информативности различных скрининговых методов выявления АНА при СКВ, немногочисленны и весьма противоречивы, что может быть обусловлено различиями в тест-системах, значениях «cut off» и подборе групп больных (табл. 2) [10, 20–26].

При скрининговом выявлении АНА суспензионные мультиплексные технологии и ИФА в большинстве случаев демонстрируют меньшую ДЧ по сравнению с НРИФ-HEp-2, что согласуется с данными нашего исследования [10, 22–25]. Общая ДС различных скрининговых методов определения АНА при СКВ, как и в нашей работе, была невысокой и составляла в среднем 62%. Зарубежными авторами получены сходные с нашими данные о наибольшей информативности НРИФ-HEp-2 для исключения диагноза СКВ по уровню ОПОР ($< 0,2$) [10, 23–26]. Вместе с тем в ряде исследований скрининговое определение АНА с помощью НРИФ-HEp-2 обладало более высокими показателями ОППР (2,3–4,7) для диагностики СКВ, чем в нашей работе [10, 23–25]. Результаты сравнительной оценки ОППР скрининговых тестов для измерения АНА в сыворотках больных СКВ на основе ИФА и МИА имеют неоднозначный характер [10, 20–26]. Таким образом, преимущества и ограничения ИФА и МИА по сравнению с классическим скрининговым методом определения АНА при СКВ на основе НРИФ-HEp-2 нуждаются в дальнейшем изучении. В связи с этим в рекомендациях EULAR и ACR подчеркивают, что лаборатории, проводящие скрининговое определение АНА с помощью ИФА, ИБ, МИА и других твердофазных методов иммунного анализа, должны предоставить данные о такой же или более высокой чувствительности и специфичности этих техник по сравнению с НРИФ-HEp-2 [3, 4, 13]. Международные рекомендации (2013) допускают применение новых иммунометрических методов для одноэтапного скрининга и тестирования АНА при условии обязательного проведения повторного исследования АНА с помощью НРИФ-HEp-2 в случае расхождения результатов измерения АНА с клиническими данными [3].

Выводы

1. Определение АНА методом НРИФ-HEp-2 служит наиболее результативным первичным скрининговым тестом для диагностики СКВ.

2. ИФА антител к смеси ядерных антигенов и МИА на основе технологии xMAP – менее предпочтительные скрининговые тесты для диагностики СКВ по сравнению с НРИФ-HEp-2 из-за наличия ложноотрицательных результатов в 20 и 17% случаев соответственно.

3. ИФА и МИА более целесообразно использовать как подтверждающие тесты, позволяющие определять антиген-специфические АНА у пациентов с СКВ с положительными результатами НРИФ-HEp-2.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3–13, 15–26 см. REFERENCES)

1. Системная красная волчанка. В кн.: Насонов Е.Л., ред. *Ревматология. Клинические рекомендации*. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 429–81.
2. Александрова Е.Н., Новиков А.А. Лабораторная диагностика ревматических заболеваний. В кн.: Насонов Е.Л., ред. *Ревматология. Клинические рекомендации*. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 19–76.
14. Александрова Е.Н., Верижникова Ж.Г., Новиков А.А., Баранов А.А., Абайтова Н.Е., Лапкина Н.А. и др. Автоматизированный анализ антиядерных антител методом непрямой реакции иммунофлюоресценции с использованием HEp-2 клеток. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60 (3): 30–5.

REFERENCES

1. Systemic lupus erythematosus. In: Nasonov E.L., ed. *Rheumatology. Clinical Guidelines [Revmatologiya. Klinicheskie rekomendatsii]*. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 429–81. (in Russian)
2. Aleksandrova E.N., Novikov A.A. Laboratory diagnosis of rheumatic diseases. In: Nasonov E.L., ed. *Rheumatology. Clinical Guidelines [Revmatologiya. Klinicheskie rekomendatsii]*. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 19–76. (in Russian)
3. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., Herold M. et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73 (1): 17–23.
4. Solomon D.H., Kavanaugh A.J., Schur P.H.; American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum.* 2002; 47 (4): 434–44.
5. Kavanaugh A.F., Solomon D.H.; American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. *Arthritis Rheum.* 2002; 47 (5): 546–55.
6. Petri M., Orbai A.M., Alarcón G.S., Gordon C., Merrill J.T., Fortin P.R. et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (8): 2677–86.
7. Hengstman G.J., van Engelen B.G., Venrooij W.J. Myositis specific autoantibodies: changing insights in pathophysiology and clinical associations. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2004; 16 (6): 692–9.
8. Kavanaugh A., Tomar R., Reveille J., Solomon D.H., Homburger H.A. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000; 124 (1): 71–81.
9. Bizzaro N., Tozzoli R., Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthritis Rheum.* 2007; 56 (6): 1736–44.
10. Tozzoli R., Bonaguri C., Melegari A., Antico A., Bassetti D., Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51 (1): 129–38.
11. Meroni P.L., Biggoggero M., Pierangeli S.S., Sheldon J., Zegers I., Borghi M.O. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10 (1): 35–43.
12. Mahler M., Meroni P.L., Bossuyt X., Fritzler M.J. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014: 315 179.
13. Meroni P.L., Schur P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69 (8): 1420–2.
14. Aleksandrova E.N., Verizhnikova Zh.G., Novikov A.A., Baranov

- A.A., Abaytova N.E., Lapkina N.A. et al. The automated analysis of anti-nuclear antibodies using technique of indirect reaction of immunofluorescence with application of HEP-2-cells. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 60 (3): 30–5. (in Russian)
15. Sohn K.Y., Khan W.I. ANA Testing. From Microscopy to Multiplexing. *Clinical Laboratory News*. 2014; 40 (6). Available at: <https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2014/june/ana-testing>.
16. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Measurement*. 1960; 20: 137–46.
17. Tozzoli R., Bizzaro N., Tonutti E., Villalta D., Bassetti D., Manoni F. et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002; 117 (2): 316–24.
18. Reveille J.D., Solomon D.H.; American College of Rheumatology Ad Hoc Committee of Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum.* 2003; 49 (3): 399–412.
19. Satoh M., Tanaka S., Chan E.K. The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmunehrheumatic diseases. *Front. Immunol.* 2015; 6: 181.
20. Showman O., Gilburd B., Zandman-Goddard G., Yehiely A., Langevitz P., Shoenfeld Y. Multiplexed AteNA multi-lyte immunoassay for ANA screening in autoimmune diseases. *Autoimmunity*. 2005; 38 (1): 105–9.
21. Moder K.G., Wener M.H., Weisman M.H., Ishimori M.L., Wallace D.J., Buckeridge D.L. et al. Measurement of antinuclear antibodies by multiplex immunoassay: a prospective, multicenter clinical evaluation. *J. Rheumatol.* 2007; 34 (5): 978–86.
22. Hanly J.G., Thompson K., McCurdy G., Fougere L., Theriault C., Wilton K. Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol. Methods*. 2010; 352 (1–2): 147–52.
23. Bonilla E., Francis L., Allam F., Ogrinc M., Neupane H., Phillips P.E. et al. Immunofluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients. *Clin. Immunol.* 2007; 124 (1): 18–21.
24. Op De Beeck K., Vermeersch P., Verschuerec P., Westhoven R., Marien G., Blockmans D. et al. Antinuclear antibody detection by automated multiplex immunoassay in untreated patients at the time of diagnosis. *Autoimmun. Rev.* 2012; 12 (2): 137–43.
25. Bruner B.F., Guthridge J.M., Lu R., Vidal G., Kelly J.A., Robertson J.M. et al. Comparison of autoantibody specificities between traditional and bead-based assays in a large, diverse collection of patients with systemic lupus erythematosus and family members. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (11): 3677–86.
26. Scholz J., Grossmann K., Knütter I., Hiemann R., Sowa M., Röber N. et al. Second generation analysis of antinuclear antibody (ANA) by combination of screening and confirmatory testing. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53 (12): 1991–2002.

Поступила 13.07.16

Принята к печати 01.08.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-056.257-092:612.124.017.11-07

Драпкина О.М.¹, Шойбонов Б.Б.^{1,2}, Елиашевич С.О.¹

СПОСОБ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ C3-КОНВЕРТАЗЫ КЛАССИЧЕСКОГО ПУТИ АКТИВАЦИИ КОМПЛЕМЕНТА

¹ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава РФ; 101990, Москва;

²ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», 125315, Москва

Разработан метод определения стабилизации C3-конвертазы классического пути активации системы комплемента в сыворотке крови человека. Метод включает в себя два этапа и основан на проведении реакции лизиса сенсibilизированных антителами эритроцитов барана 0,8% сывороткой крови человека. Предварительно проводят инкубацию двух проб (опытной и контрольной) в течение 10 мин, затем реакцию активации комплемента останавливают добавлением буфера, содержащего 10 мМ ЭДТА. В контрольной пробе определяют степень лизиса эритроцитов, а опытную пробу дополнительно инкубируют в течение 30 мин при 37°C, затем определяют степень лизиса. Активность C3-конвертазы рассчитывают как разность между степенью лизиса в опытной и контрольной пробах. При разнице более 10% расценивают как патологическое состояние, обусловленное стабилизацией C3-конвертазы классического пути активации системы комплемента. Проведены исследования стабилизации C3-конвертазы классического пути активации комплемента у 31 пациента с абдоминальным ожирением. Показано, что у 87% больных с абдоминальным ожирением выявлена стабилизация C3-конвертазы.

К л ю ч е в ы е с л о в а: система комплемента; ЭДТА; стабилизация C3-конвертазы; C3a-desArg; абдоминальное ожирение.

Для цитирования: Драпкина О.М., Шойбонов Б.Б., Елиашевич С.О. Способ оценки функциональной активности C3-конвертазы классического пути активации комплемента. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (3): 177–181. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-177-181>

Drapkina O.M.¹, Shoibonov B.B.^{1,2}, Eliashevich S.O.¹

THE MODE OF EVALUATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF C3-CONVERTASE OF CLASSIC PATH OF ACTIVATION OF COMPLEMENT

¹The state research center of preventive medicine of Minzdrav of Russia, 101990 Moscow, Russia

²The P.K. Anokhin research institute of normal physiology, 125315 Moscow, Russia

Для корреспонденции: Шойбонов Батожаб Батожаргалович, канд. хим. наук, вед. науч. сотр. отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения ФФГУ Научно-исследовательский центр профилактической медицины, e-mail: shoibonov@mail.ru