

# НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ВЫЯВЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Роггенбук Д.<sup>1</sup>, Ширак П.<sup>1</sup>, Сак У.<sup>2</sup>, Лапин С.В.<sup>3</sup>,  
Мазинг А.В.<sup>3</sup>, Тотолян Арег А.<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Бранденбургский технический университет Коттбус-Зенфтенберг, Германия

<sup>2</sup> Институт трансляционной и регенеративной медицины, Университет Лейпцига, Германия

<sup>3</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Основой объективизации диагноза аутоиммунных ревматических заболеваний (АРЗ) является определение аутоантител. Аутоантитела являются важными биомаркерами, выявление которых позволяет проводить раннюю диагностику и дифференциальную диагностику АРЗ.

Для серологической диагностики АРЗ применяется традиционный поэтапный подход, использующий для скрининга высокочувствительные тесты, при положительном результате которых применяются высокоспецифические подтверждающие тесты.

В связи с разнообразием тестов для выявления аутоантител, а также различных методических подходов для скрининга и подтверждения серологических реакций, результаты клинико-диагностических лабораторий могут отличаться между собой. Новейшие технические разработки в области цифровой иммунофлюоресценции дают возможность лучше согласовывать методы и обеспечивать более высокую сопоставимость данных от разных лабораторий. Кроме того, появляется возможность комбинации скрининговых и подтверждающих тестов в одной реактивной среде для эффективного мультипараметрического выявления аутоантител.

*Ключевые слова:* аутоантитела, ревматические заболевания, стандартизация, лабораторная диагностика

## Адрес для переписки:

Роггенбук Дирк  
д.м.н., профессор, факультет  
биотехнологии, Бранденбургский  
технический университет Коттбус-  
Зенфтенберг  
01968, Германия, Зенфтенберг,  
Grovenhainer Str., 57.  
Тел.: +49 (33708) 44-17-16.  
Факс: +49 (33708) 44-17-25.  
E-mail: dirk.roggenbuck@hs-lausitz.de

## Авторы:

Роггенбук Д. — д.м.н., профессор, факультет биотехнологии,  
Бранденбургский технический университет Коттбус-Зенфтенберг,  
Германия

Ширак П. — д.м.н., профессор, Факультет биотехнологии,  
Бранденбургский технический университет Коттбус-Зенфтенберг,  
Германия

Сак У. — д.м.н., профессор, Институт трансляционной  
и регенеративной медицины, Университет Лейпцига, Германия

Лапин С.В. — к.м.н., заведующий лабораторией диагностики  
аутоиммунных заболеваний, Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
Санкт-Петербург, Россия

Мазинг А.В. — к.м.н, старший научный сотрудник лаборатории  
диагностики аутоиммунных заболеваний, Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
Санкт-Петербург, Россия

Тотолян Арег А. — д.м.н., член-корр. РАМН, заместитель директора  
по научной работе, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии  
и микробиологии имени Пастера; заведующий НИЛ иммунологии,  
Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова  
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Поступила 01.02.2014

Отправлена на доработку 15.02.2014

Принята к печати 02.03.2014

# NOVEL METHODS FOR AUTOANTIBODY DETECTION IN LABORATORY DIAGNOSTICS OF AUTOIMMUNE RHEUMATIC DISEASES

Roggenbuck D.<sup>a</sup>, Schierac P.<sup>a</sup>, Sack U.<sup>b</sup>, Lapin S.V.<sup>c</sup>,  
Mazing A.V.<sup>c</sup>, Totolian Areg A.<sup>d, e</sup>

<sup>a</sup> Brandenburg Technical University Cottbus-Senftenberg, Senftenberg, Germany

<sup>b</sup> Institute of Translational and Regenerative Medicine, University of Leipzig, Germany

<sup>c</sup> St. Petersburg Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>d</sup> St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>e</sup> Almazov Federal Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Autoantibodies are well-established biomarkers of autoimmune rheumatic diseases. Their detection in the routine clinical laboratory provides key information for early and differential diagnosis, prognosis, and monitoring of disease-activity. However, the currently existing variety of laboratory tests and methods as well as different diagnostic and clinical algorithms of autoimmune testing is the reason for lack of reproducibility and harmonization across immunological laboratories. Novel technical developments in the area of digital analysis of immunofluorescent images paved the way for the improvement of intra- and interlaboratory standardization of test results. Additionally, digital immunofluorescence analysis enables the simultaneous multiparametric combination of cell- or tissue-based indirect immunofluorescence screening tests with confirmatory testing employing microparticles covered with purified autoantigens in one reaction environment. (*Med. Immunol.*, 2014, vol. 16, N 3, pp 221-226)

*Keywords:* autoantibody, rheumatic diseases, standardization, laboratory diagnostics

---

## Address for correspondence:

Roggenbuck Dirk  
PhD, MD, Professor, Faculty of Science,  
Brandenburg Technical University  
Cottbus-Senftenberg  
01968, Germany, Senftenberg,  
Großenhainer Str., 57.  
Phone: +49 (33708) 44-17-16.  
Fax: +49 (33708) 44-17-25.  
E-mail: dirk.roggenbuck@hs-lausitz.de

---

## Authors:

Roggenbuck D., PhD, MD (Medicine), Professor, Faculty of Science,  
Brandenburg Technical University Cottbus-Senftenberg, Senftenberg,  
Germany

Schierac P., PhD, MD (Medicine), Professor, Faculty of Science,  
Brandenburg Technical University Cottbus-Senftenberg, Senftenberg,  
Germany

Sack U., PhD, MD (Medicine), Professor, Institute of Translational  
and Regenerative Medicine, University of Leipzig, Germany

Lapin S.V., PhD (Medicine), Chief, Laboratory of Autoimmune  
Diagnostics, St. Petersburg Pavlov State Medical University,  
St. Petersburg, Russian Federation

Mazing A.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate,  
Laboratory of Autoimmune Diagnostics, St. Petersburg Pavlov State  
Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Totolian Areg A., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding  
Member of RAMS, Deputy Director, St. Petersburg Pasteur Institute of  
Epidemiology and Microbiology; Head, Laboratory of Immunology,  
Almazov Federal Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian  
Federation

Received 01.02.2014

Revision received 15.02.2014

Accepted 02.03.2014

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) представляют собой третью ведущую причину хронических заболеваний в развитых странах после сердечно-сосудистых и онкологических состояний [13].

В развитии АИЗ большое значение играют как клеточные, так и гуморальные механизмы иммунной системы. В основе патогенеза большинства АИЗ, вероятно, лежат клеточные аутоиммунные реакции. Однако их оценка, а именно подсчет аутореактивных Т-клеток, на сегодняшний день возможна только в условиях эксперимента и самостоятельного клинического значения не имеет. В то же время определение аутоантител широко используется для ранней и дифференциальной диагностики АИЗ, а в отдельных случаях может применяться для прогнозирования течения и мониторинга эффективности терапии [8].

Лабораторное исследование является одним из основных методов объективизации многих АИЗ, прежде всего аутоиммунных ревматических заболеваний (АРЗ), которые характеризуются многообразием клинических проявлений [5, 13, 28]. При ранней диагностике АРЗ ведущее значение имеет вдумчивое клиническое обследование пациента, которое позволяет исключить другие причины симптоматики и заподозрить диагноз АИЗ.

При клиническом подозрении на системную красную волчанку (СКВ), синдром Шегрена, склеродермию, смешанное заболевание соединительной ткани, аутоиммунный гепатит, ювенильный хронический артрит и ряд других АРЗ, рекомендуется определение антиядерных антител (АНА) [2, 20, 30]. Высокая диагностическая ценность их выявления позволяет включить выявление АНА в классификационные критерии СКВ и аутоиммунного гепатита [10]. Диагностика ревматоидного артрита основана на исследовании антител против циклических цитруллиновых полипептидов и ревматоидного фактора (РФ). Повторные венозные или артериальные тромбозы, а также осложнения беременности обусловлены появлением антифосфолипидных антител (АФА). При системных васкулитах основным лабораторным маркером являются антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) [18, 23, 26]. Выявление АНЦА при подозрении на быстропрогрессирующий гломерулонефрит является единственным экстренным тестом в диагностике АРЗ [4, 27]. Содержание большинства аутоантител максимально в дебюте

или рецидиве АИЗ на фоне высокой клинической активности.

Таким образом, при подозрении на АРЗ, параллельно с общелабораторными тестами, например, маркерами воспаления, должно выполняться выявление аутоантител [8, 13]. Для ранней серологической диагностики АРЗ рекомендуется использовать высокочувствительные скрининговые тесты для выявления аутоантител, выбор которых зависит от предполагаемого диагноза [1, 19, 24]. Выявление аутоантител на раннем этапе обследования исключает или подтверждает клинический диагноз АРЗ. Кроме того, обнаружение аутоантител к известным аутоантигенам позволяет уточнить течение и прогноз заболеваний, определить вероятные осложнения, сформулировать тактику терапии. В то же время актуальной проблемой является выбор лабораторного теста для выявления аутоантител, который затруднен разнообразием лабораторных методов, сложностью их сопоставления между собой, недостатками стандартизации выявления аутоантител, а также использованием методов с субъективной оценкой [3, 29].

Ряд особенностей отличает тесты для выявления аутоантител от других лабораторных показателей. Аутоантитела представлены иммуноглобулинами различных классов с разными физико-химическими свойствами, кроме того, существует значительное разнообразие мишеней аутоантител даже при одном АИЗ. Определение клинической специфичности выявления аутоантител нередко дает неоднозначные результаты, поскольку аутоантитела отмечаются до развития клинической симптоматики заболевания, а также указывают на предрасположенность к развитию АИЗ, а в ряде случаев их синтез может провоцироваться внешними факторами, например, инфекциями.

При большинстве АИЗ высокая информативность выявления аутоантител не вызывает сомнений, однако существует ряд нерешенных вопросов в области их клинического использования. Несмотря на многолетний опыт диагностического выявления аутоантител при АРЗ, согласовать и стандартизировать методы их обнаружения, а также разработать необходимую автоматизацию для обеспечения удовлетворительной воспроизводимости методов удалось лишь недавно [14].

На сегодняшний день в аутоиммунной диагностике широко используются два основных подхода к лабораторному тестированию: непрямая реакция иммунофлюоресценции (ИРИФ)

на клетках или срезах тканей и твердофазные иммунометрические методы, к которым относятся иммуноферментный, радиоиммунный, хемилюминесцентный и флюоресцентный анализ, а также лайн/дотблоттинг и различные варианты анализа на иммунореактивных микрочастицах, которые позволяют поводить селективное тестирование с отдельными аутоантигенами [11]. Хотя твердофазный иммунометрический метод легче поддается автоматизации, использование его результатов для скрининговых исследований ограничено. Это связано с тем, что метод НРИФ с фиксированными клетками позволяет проводить выявление АНА на «биологическом мультипараметрическом чипе», который позволяет выявить намного больше потенциальных аутоантигенов, чем все доступные тесты с очищенными или рекомбинантными одиночными антигенами [14, 25]. Поэтому в соответствии с международными рекомендациями для первоначального скрининга АНА следует применять НРИФ, в случае тестирования с помощью других методов клиническая лаборатория обязана предоставить информацию о том, использованием каких одиночных аутоантигенов ограничивался скрининг. Новым перспективным направлением является объединение НРИФ и иммунометрических методов для совмещения скринингового и подтверждающего теста в одном реакционном поле (рис. 1, см. 3-ю обложку).

Если для определения АФА, РФ и анти-ССР в основном используются иммунометрические методы, то для выявления ряда семейств аутоантител, таких как АНА и АНЦА, основным методом скрининга является НРИФ. За счет выявления максимального спектра аутоантител, НРИФ является «золотым стандартом» выявления АНА при подозрении на АРЗ в соответствии с рекомендациями экспертов Европейской Лиги против Ревматизма (EULAR) и Американского Колледжа Ревматологов (ACR) [6, 19].

Несмотря на сравнительную простоту, быстроту и дешевизну, основным недостатком метода НРИФ является его субъективность, поскольку до недавнего времени результат теста оценивался врачом клинической лабораторной диагностики. Это затрудняло сопоставление результатов различных лабораторий, интерпретацию титров и типов свечения НРИФ. В то же время инструментальное количественное измерение содержания аутоантител может быть чрезвычайно важным для оценки динамики заболевания на фоне проводимой терапии.

Поскольку НРИФ является обязательным методом скрининга, предпринимаются попытки

стандартизации этого исследования с помощью автоматизации микроскопии и использования компьютерных программ распознавания изображений. За последние годы удалось разработать объективную и частично автоматизированную систему для учета результатов выявления аутоантител с помощью НРИФ [25]. Переход на инструментальную оценку результатов НРИФ может рассматриваться как компонент мероприятий по обеспечению качества в рамках международных требований по аккредитации (ISO/EN/ГОСТ Р ИСО 15189). Соответствующие помещения, аналитическое оборудование, квалифицированный персонал с регулярным специализированным повышением квалификации, внутренние и внешние мероприятия по обеспечению качества — вот лишь некоторые центральные пункты из списка требований к оптимальной аутоиммунной диагностике.

Основными предпосылками для стандартизации НРИФ были методы полуавтоматического анализа иммунофлюоресцентных изображений, которые легли в основу ряда коммерчески доступных аналитических систем интерпретации результатов НРИФ [25]. Важной особенностью таких систем является то, что, хотя оценка сигнала проводится на уровнях флюоресценции, недостаточных для субъективной оценки лабораторного специалиста, полученные изображения позволяют избежать информационных потерь и обеспечить наилучший динамический анализ сигнала (рис. 2, см. 3-ю обложку) [15]. С помощью систем анализа изображений можно автоматически определять и классифицировать различные типы АНА, АНЦА и выявлять антитела к дсДНК [7, 16, 25, 30]. Цифровая оценка уровня иммунофлюоресценции, за счет калибровки с помощью тестовых микрочастиц, позволяет стандартизовать метод НРИФ (рис. 3, см. 3-ю обложку) [21, 22]. Новые разработки в области автоматического анализа иммунофлюоресцентных изображений позволяют достичь недостижимых прежде аналитических параметров НРИФ, обеспечив его сопоставление с другими аналитическими методами, в том числе твердофазным иммунометрическим анализом. Важно подчеркнуть, что предлагаемые программно-аппаратные решения обеспечивают достаточную степень стандартизации только при соблюдении точного протокола, включающего правильность разведения сыворотки и применяемых иммунофлюоресцентных антисывороток, высокого качества используемых в НРИФ биологи-

ческих субстратов, а также времени и условий инкубации реактивов.

В настоящее время полуавтоматические системы анализа иммунофлюоресцентных изображений находятся на начальном этапе внедрения в стандартную диагностическую практику. Хотя использование программно-аппаратных комплексов еще сравнительно дорого и, кроме того, требует от лабораторного персонала их детального освоения, их использование ведет к быстрому развитию диагностики АРЗ за счет получения точных стандартизованных результатов, качество

которых может конкурировать с качеством экспертных лабораторий [9, 12, 17].

Обобщая сказанное, следует констатировать, что лабораторная аутоиммунная диагностика из чисто научного метода исследования превращается в самостоятельный раздел клинической лабораторной диагностики. Существующий уровень знаний и новейшие технические разработки, прежде всего в области цифрового анализа иммунофлюоресцентных изображений, позволяют обеспечить необходимую стандартизацию и гармонизацию результатов выявления аутоантител.

## Список литературы

1. Лазарева Н.М., Лапин С.В., Мазинг А.В., Булгакова Т.В., Иливанова Е.П., Маслянский А.Л., Тотолян А.А. Оптимизация комплекса серологических методов диагностики системных заболеваний соединительной ткани // Клиническая лабораторная диагностика. — 2011. — Т. 12. — С. 12-17.
2. Лапин С.В., Тотолян А.А. Антинуклеарные антитела: лабораторные тесты и диагностическое значение // Медицинская иммунология. — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 35-50.
3. Лапин С.В., Тотолян А.А. Диагностика аутоиммунных заболеваний с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции // Медицинская иммунология. — 2000. — Т. 2, № 2. — С. 174.
4. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая диагностика заболеваний почек при васкулитах // Нефрология. — 2003. — Т. 16, № 4. — С. 39-44.
5. Созина А.В., Неустроева Ю.А., Тихомирова Т.А., Лапин С.В. Сочетанная встречаемость аутоантител у больных с диффузными болезнями соединительной ткани // Медицинская иммунология. — 2007. — Т. 9, № 1. — С. 69-76.

Ссылки 6-30 см. в References (сmp. 225-226). See References for numbers 6-30 at pp. 225-226.

## References

1. Lasareva N.M., Lapin S.V., Mazing A.V., Bulgakova T.V., Iivanova E.P., Maslyanskiy A.L. Optimizatsiya kompleksa serologicheskikh metodov diagnostiki sistemnykh zabolevaniy soedinitel'noy tkani [Optimization of complex of serological methods for diagnosis of systemic connective tissue diseases]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika – Clinical Laboratory Diagnostics*, 2011, vol. 12, pp. 12-17.
2. Lapin S.V., Totolian A.A. Antinuklearnye antitela: laboratornye testy i diagnosticheskoe znachenie [Antinuclear antibody: laboratory tests and clinical significance]. *Meditsinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 2001, vol. 3, no. 1, pp. 35-50.
3. Lapin S.V., Totolian A.A. Diagnostika autoimmunnykh zabolevaniy s pomoshch'yu metoda nepryamoy immunoflyuorestsentsii [DIagnostics of autoimmune diseases with indirect immunofluorescence]. *Meditsinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 2000, vol. 2, no. 2, pp. 174.
4. Lapin S.V., Totolian A.A. Immunologicheskaya diagnostika zabolevaniy pochek pri vaskulitakh [Immunological diagnostics of kidney involvement in vasculitis]. *Nephrologia – Nephrology*, 2003, vol. 16, no. 4, pp. 39-44.
5. Sozina A.V., Neustroeva Yu.A., Tikhomirova T.A., Lapin S.V. Sochetannaya vstrechaemost' autoantitel u bol'nykh s diffuznymi boleznyami soedinitel'noy tkani [Coincidence of autoantibodies among patients with diffuse connective tissue disorders]. *Meditsinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 2007, vol. 9, no. 1, pp. 69-76.
6. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., Herold M., Bossuyt X., Musset L., Cervera R., Plaza-Lopez A., Dias C., Sousa M. J., Radice A., Eriksson C., Hultgren O., Viander M., Khamashta M., Regenass S., Andrade L.E., Wiik A., Tincani A., Ronnelid J., Bloch D.B., Fritzler M.J., Chan E.K., Garcia-De La Torre I., Konstantinov K.N., Lahita R., Wilson M., Vainio O., Fabien N., Sinico R.A., Meroni P., Shoenfeld Y. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann. Rheum. Dis.*, 2014, vol. 73, no. 1, pp. 17-23.
7. Bossuyt X., Cooreman S., De Baere H., Verschuere P., Westhovens R., Blockmans D., Marien G. Detection of antinuclear antibodies by automated indirect immunofluorescence analysis. *Clin. Chim. Acta*, 2013, vol. 415, pp. 101-106.

8. Conrad K., Roggenbuck D., Reinhold D., Sack U. Autoantibody diagnostics in clinical practice. *Autoimmun. Rev.*, 2012, vol. 11, no. 3, pp. 207-211.
9. Conrad K., Sack U. Multiparametric analyses in diagnostics and monitoring of autoimmune diseases: current state and perspectives. *Laboratoriumsmedizin – Journal of Laboratory Medicine*, 2011, vol. 35, pp. 375-382.
10. Czaja A.J., Freese D.K. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 2002, vol. 36, no. 2, pp. 479-497.
11. Damoiseaux J. Autoantibodies in the grocery shop: does quantity matter? *Immunol. Res.*, 2013, vol. 56, no. 2-3, pp. 413-419.
12. Egerer K., Roggenbuck D., Hiemann R., Weyer M.G., Buttner T., Radau B., Krause R., Lehmann B., Feist E., Burmester G.R. Automated evaluation of autoantibodies on human epithelial-2 cells as an approach to standardize cell-based immunofluorescence tests. *Arthritis Res. Ther.*, 2010, vol. 12, no. 2, p. R40.
13. Fritzler M.J. Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes. *Autoimmun. Rev.*, 2008, vol. 7, no. 8, pp. 616-620.
14. Hiemann R., Buttner T., Krieger T., Roggenbuck D., Sack U., Conrad K. Challenges of automated screening and differentiation of non-organ specific autoantibodies on HEp-2 cells. *Autoimmun. Rev.*, 2009, vol. 9, no. 1, pp. 17-22.
15. Hiemann R., Hilger N., Michel J., Nitschke J., Bohm A., Anderer U., Weigert M., Sack U. Automatic analysis of immunofluorescence patterns of HEp-2 cells. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 2007, vol. 1109, pp. 358-371.
16. Kivity S., Gilburd B., Agmon-Levin N., Carrasco M.G., Tzafrir Y., Sofer Y., Mandel M., Buttner T., Roggenbuck D., Matucci-Cerinic M., Danko K., Hoyos M.L., Shoenfeld Y. A novel automated indirect immunofluorescence autoantibody evaluation. *Clin. Rheumatol.*, 2012, vol. 31, no. 3, pp. 503-509.
17. Knutter I., Hiemann R., Brumma T., Buttner T., Grossmann K., Cusini M., Pregolato F., Borghi M.O., Anderer U., Conrad K., Reinhold D., Roggenbuck D., Csernok E. Automated interpretation of ANCA patterns – a new approach in the serology of ANCA-associated vasculitis. *Arthritis Res. Ther.*, 2012, vol. 14, no. 6, p. R271.
18. Meroni P.L., Borghi M.O., Raschi E., Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2011, vol. 7, no. 6, pp. 330-339.
19. Meroni P.L., Schur P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, vol. 69, no. 8, pp. 1420-1422.
20. Pakozdi A., Nihtyanova S., Moizadeh P., Ong V.H., Black C.M., Denton C.P. Clinical and serological hallmarks of systemic sclerosis overlap syndromes. *J. Rheumatol.*, 2011, vol. 38, no. 11, pp. 2406-2409.
21. Roggenbuck D., Hiemann R., Bogdanos D., Reinhold D., Conrad K. Standardization of automated interpretation of immunofluorescence tests. *Clin. Chim. Acta*, 2013, vol. 421, pp. 168-169.
22. Roggenbuck D., Reinhold D., Hiemann R., Anderer U., Conrad K. Standardized detection of anti-ds DNA antibodies by indirect immunofluorescence – a new age for confirmatory tests in SLE diagnostics. *Clin. Chim. Acta*, 2011, vol. 412, no. 21-22, pp. 2011-2012.
23. Savige J., Davies D., Falk R.J., Jennette J.C., Wiik A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and associated diseases: a review of the clinical and laboratory features. *Kidney Int.*, 2000, vol. 57, no. 3, pp. 846-862.
24. Savige J., Dimech W., Fritzler M., Goeken J., Hagen E.C., Jennette J.C., McEvoy R., Pusey C., Pollock W., Trevisin M., Wiik A., Wong R. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2003, vol. 120, no. 3, pp. 312-318.
25. Tozzoli R., Antico A., Porcelli B., Bassetti D. Automation in indirect immunofluorescence testing: a new step in the evolution of the autoimmunology laboratory. *Autoimmun. Highlights*, 2012, vol. 3, pp. 59-65.
26. van Venrooij W.J., Zendman A.J., Pruijn G.J. Autoantibodies to citrullinated antigens in (early) rheumatoid arthritis. *Autoimmun. Rev.*, 2006, vol. 6, no. 1, pp. 37-41.
27. Wiik A. Autoantibodies in vasculitis. *Arthritis Res. Ther.*, 2003, vol. 5, no. 3, pp. 147-152.
28. Wiik A., Cervera R., Haass M., Kallenberg C., Khamashta M., Meroni P.L., Piette J.C., Schmitt R., Shoenfeld Y. European attempts to set guidelines for improving diagnostics of autoimmune rheumatic disorders. *Lupus*, 2006, vol. 15, no. 7, pp. 391-396.
29. Wiik A.S., Gordon T.P., Kavanaugh A.F., Lahita R.G., Reeves W., van Venrooij W.J., Wilson M.R., Fritzler M. Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Rheum.*, 2004, vol. 51, no. 2, pp. 291-298.
30. Willitzki A., Lorenz S., Hiemann R., Guttek K., Goihl A., Hartig R., Conrad K., Feist E., Sack U., Schierack P., Heiserich L., Eberle C., Peters V., Roggenbuck D., Reinhold D. Fully automated analysis of chemically induced gammaH2AX foci in human peripheral blood mononuclear cells by indirect immunofluorescence. *Cytometry A*, 2013, vol. 83, no. 11, pp. 1017-1026.