



Life and Medical Sciences

İmmünoloji Laboratuvarında Akılcı Test Seçimi: Antinükleer Antikor (ANA) İstemlerinin ve Sonuçlarının Diğer Testler ile Birlikte İncelenmesi

Choosing Wisely in Immunology Laboratory: Reviewing of Antinuclear Antibody (ANA) Test Requests and Results Together with Other Tests

Kemal TEKİN¹ [ID], Hasan KARAKUŞ¹ [ID], Sevinç KARABULUT¹ [ID], Fatih ŞAHİNER² [ID],
Ramazan GÜMRAL² [ID]

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye [Medical Microbiology Laboratory, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye].

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye [Department of Medical Microbiology, Gulhane Medical Faculty, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye].

Article Info: Received; 10.06.2023. Accepted; 14.07.2023. Published; 16.07.2023.

Correspondence: Kemal Tekin, MD., Medical Microbiology Laboratory, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye. E-mail: ktekin1978@gmail.com

Cite as: Tekin K, Karakuş H, Karabulut S, Şahiner F, Gümräl R. Choosing Wisely in Immunology Laboratory: Reviewing of Antinuclear Antibody (ANA) Test Requests and Results Together with Other Tests. Life Med Sci 2023; 2(3): 125-136.

Özet

Bu çalışmada bir üçüncü basamak eğitim ve araştırma hastanesinin tıbbi immünoloji laboratuvarında çalışılan testlerin dağılımını ve pozitiflik oranlarını incelemek ve iş yükünün önemli bir bölümünü oluşturan antinükleer antikor (ANA) testi istemlerinin hastalık tanı/ön tanılarına ve klinik birimlere göre dağılımını belirlemek, hatalı-uygunsuz test istemlerinin olası nedenlerini ve maliyetini incelemek ve etkin ve uygulanabilir çözüm önerilerini ele almak amaçlanmıştır. Çalışmada, Eylül 2016 tarihinden itibaren yaklaşık üç yıllık bir dönemde çalışılan tüm immüno seroloji testlerine (n=94.954 ayrı parametre) ait verilerin retrospektif bir incelemesi sunulmuştur. Testler üç ana gruba ayrılarak ele alındığında; tüm test parametreleri arasında %20.3'lük (n=19.248) bir oran ile ilk sırada ANA testleri yer almaktadır. Çalışmamızda indirekt immünofloresan antikor (IFA) yöntemi ile değerlendirilen ANA testlerinin pozitiflik oranı %23.1 (n=4446) olarak bulundu. Çok sayıda farklı testi içeren (IFA, ELISA ve immunoblot temelli) spesifik otoantikor testlerinin raporlanan parametre sayısı ise 67.976 olup ikinci grupta yer alan bu testlerin genel pozitiflik oranı %2.96 idi ve antikor tipine göre %0.8 ve %12.7 arasında değişmekte idi. Üçüncü grupta yer alan ELISA temelli brusella ve antiviral (herpes simplex virus 1 ve 2, varicella virus, measles virus, mumps virus, parvovirus B19) IgM ve IgG antikor testlerinde ise istenilen test sayısına göre en yüksek pozitiflik oranı (%30.1, 2324/7730) gözlemlendi. ANA pozitif hastalarda ANA ile ilişkili otoantikorlardan en sık saptananlar anti-dsDNA (%9.2) ve anti-SS-A (%8.2) olarak bulundu. Eş zamanlı test istemi yapılan ANA ilişkili otoantikorlar için, ANA negatif hastalarda anti-dsDNA pozitifliği %3.3 olarak bulunurken, ANA ilişkili diğer spesifik otoantikorlar için pozitiflik oranları %0.0-0.31 aralığında değişmekte idi. ANA testleri için en çok istem yapılan (%34.2) ve en yüksek ANA pozitiflik oranının (%28) görüldüğü birim romatoloji idi. Gereksiz test istemi nedenleri arasında en dikkat çeken, aynı hasta için farklı hekimlerin yaptıkları test istemleri idi. ANA testlerinin 1:100 dilüsyonda çalışılmasının düşük pozitif sonuçlar nedeni ile gereksiz ikinci basamak test (spesifik otoantikor) çalışılmasına neden olabileceğini ve dar kapsamlı ikinci basamak otoantikor test panellerinin laboratuvar verimliliği üzerine olumsuz etkileri olacağını değerlendirmekteyiz.

Anhtar Kelimeler: Antinükleer antikor, ANA, İmmünoloji, Maliyet etkinlik.

Abstract

In this study, it was aimed to examine the distribution and positivity rates of the tests reported in the medical immunology laboratory of a tertiary education and research hospital, and to determine the distribution of antinuclear antibody (ANA) test requests, which constitute a significant part of the workload, according to disease diagnosis/preliminary diagnoses and clinical departments, and to examine the possible causes and costs of incorrect-inappropriate test orders, and to consider effective and applicable solution suggestions. In the study, a retrospective review of data on all immunoserology tests (n=94,954 individual parameters) reported approximately over a three-year period starting from September 2016 was presented. When the tests are divided into three main groups; among all test parameters, ANA tests ranked first with a rate of 20.3% (n=19,248). In our study, the positivity rate of ANA tests evaluated by the indirect immunofluorescence antibody (IFA) method was found as 23.1% (n=4,446). The number of reported parameters of specific autoantibody tests (second group), which include many different tests (IFA, ELISA, and immunoblot based), was 67,976, and the overall positivity was 2.96%, varies between 0.8% and 12.7%, depending on the antibody type. In the ELISA-based brucella and antiviral (herpes simplex virus 1 and 2, varicella virus, measles virus, mumps virus, parvovirus B19) IgM and IgG antibody tests in the third group, the highest positivity rate was observed according to the number of tests requested (30.1%, 2,324/7,730). In ANA-positive patients, the most frequently detected ANA-related autoantibodies were anti-dsDNA (9.2%) and anti-SS-A (8.2%). In ANA-negative patients, in simultaneously ordered tests, anti-dsDNA positivity was found to be 3.3%, while positivity rates for other ANA-related specific autoantibodies were in the range of 0.0-0.31%. ANA tests were most frequently ordered from the rheumatology department (34.2%), and also the highest ANA positivity rate (28%) was observed in this unit. The most notable reason for unnecessary test ordering was the test requests by different physicians for the same patient. We consider that evaluation of ANA tests at a dilution of 1:100 may lead to unnecessary second-step testing (specific autoantibodies) due to the low positive results, and that narrow-scope second-step autoantibody test panels will have negative effects on laboratory efficiency.

Keywords: Antinuclear antibody, ANA, Immunology, Cost effectiveness.

Giriş

Antinükleer antikorlar ilk olarak 1957 yılında sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarının serumlarında indirekt immünfloresan yöntemi kullanılarak tanımlanmış ve hücre çekirdeğindeki antijenlerle reaksiyona giren immünglobulinler olarak tanımlanmışlardır [1,2]. Günümüzde bu antikorların insan hücrelerinin çekirdeklerinde bulunan çift sarmallı DNA, Smith, SS-A ve SS-B antijenleri de dahil olmak üzere birçok antijenik yapı ile reaksiyona girdiği bilinmektedir [3-5]. Bu antikorlar ilk olarak SLE hastalarında keşfedilmiş olsa da, sonraki yıllarda antinükleer antikor (ANA) pozitifliğinin sistemik skleroz (skleroderma), Sjögren sendromu, romatoid artrit, inflamatuvar miyozitler ve çeşitli bağ dokusu hastalıklarını da kapsayan bir dizi otoimmün romatolojik hastalıkla da ilişkili olduğu gösterilmiştir [6]. ANA ilişkili romatolojik hastalıklar olarak adlandırılan bu hastalık grubu dışında, otoimmün hepatitler, otoimmün tiroiditler, multipl skleroz ve idiyopatik trombositopenik purpura gibi çeşitli non-romatolojik otoimmün hastalıklarda da ANA

pozitifliği görülebilmektedir [7-9]. Tüm bunların dışında, genellikle düşük pozitiflik düzeylerinde olmak üzere sağlıklı kişilerin %7-50'sinde de ANA pozitifliği görülebildiği bildirilmiştir [9-11].

İndirekt immünfloresan antikor (IFA) tekniği ANA varlığını saptamada kullanılan en yaygın yöntemdir [6,7]. IFA yöntemi ile ANA taraması yapılması ve test sonucu pozitif bulunduğu sonrakı aşamada ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) yönelik spesifik otoantikorların araştırıldığı subserolojik testlere başvurulması şeklindeki iki basamaklı tanı yaklaşımı SLE ve diğer otoimmün hastalıklar için kullanılan altın standart tanı algoritmasıdır [8]. Nadiren de olsa ANA-IFA test sonucu negatif olan hastalarda da ENA pozitifliği görülebilmektedir [12,13], Bununla beraber, ANA test sonucu negatif olan hastalarda sadece ciddi klinik şüphe varlığında ENA test istemi yapılması önerilmektedir [14]. İmmünoloji laboratuvarlarında çalışılan en önemli test parametrelerinden biri olan ANA testleri ile ilgili bazı sorunlar ise halen güncelliğini korumakta ve çözümlerine yönelik arayışlar devam etmektedir.

Bu sorunlar arasında uygun olmayan test istemleri ile ilişkili ek maliyetler ve iş gücü kaybı, pozitif bir ANA test sonucunun prediktif değerinin ve klinik anlamlılığının düşük olması, testlerin düşük tanısal duyarlılığı ve standardizasyon eksikliği nedeniyle test sonuçlarında yanlışlıklar (yanlış pozitif ve negatif sonuçlar dahil olmak üzere) ve başlıca subjektif değerlendirmeler ile ilgili olarak testlerin düşük tekrarlanabilirlik ve karşılaştırılabilirliği gibi bazı olumsuz durumlar yer alır [3,8,15]. ANA testlerini tekrarlayan hastalık aktivitesinin izlenmesinde veya olası bir atak durumunun öngörülmesinde birkaç olası istisna dışında çok az klinik değere sahip olduğu bildirilmiştir [8]. Amerikan Romatoloji Akademisi (*American College of Rheumatology, ACR*) ANA test istemlerinde akılcı test seçimi (*choosing wisely*) için bazı öneriler yayımlamıştır [7,8,16]. ACR'nin akılcı test seçimi için yaptığı beş temel öneriden biri "otoimmün hastalık şüphesi veya ANA pozitifliği yoksa subserolojik ANA testleri istenmemelidir" şeklindedir [16]. Aynı öneri Türk İç Hastalıkları Uzmanlık Derneği tarafından 2017 yılında yayımlanan "İç Hastalıkları Uzmanları İçin Akıllı Seçimler" önerileri içerisinde "ANA pozitifliği saptanmadan veya immün kökenli hastalık şüphesi olmadan ANA alt grupları çalışılmamalıdır" şeklinde yer almıştır [7]. ANA ilişkili romatolojik hastalıkların yönetiminde ANA ve subserolojik testlerin maliyet-etkin bir şekilde kullanımı ve test sonuçlarının yorumlanmasında değerlendiriciler arası farklılıkların azaltılması (*standardizasyon*) hedefiyle Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) tarafından "Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi" başlıklı bir rehber hazırlanmış ve 2020 yılında 3. baskısı yayımlanmıştır [17].

ANA test istemleri de dahil olmak üzere immüno seroloji laboratuvarında çalışılan testler ve sonuçlarının analizi üzerine ülkemizde yapılan kapsamlı araştırmalardan biri olan bu çalışmada ANA testi istemlerinde akılcı test seçimi kriterlerine uygun olan ve olmayan durumların olası nedenlerinin ortaya konulması ve güncel literatürde yer alan çözüm önerilerine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan

onay alındı (Karar sayısı: 2019/13 (19/292)). Bu retrospektif kesitsel çalışma, 1 Eylül 2016 ve 31 Temmuz 2019 tarihleri arasındaki yaklaşık üç yıllık bir dönemde immüno seroloji laboratuvarımızda çalışılan ve raporlanan tüm test sonuçlarına ait verilerin analizini içermektedir.

Çalışmada ANA-IFA test istemlerinin ve pozitiflik oranlarının; klinik birimlere ve hastaların demografik özelliklerine (yaş ve cinsiyet) göre dağılımları hastane elektronik kayıt sistemindeki veriler üzerinden incelendi. ANA test istemlerinin ve pozitiflik oranlarının test isteminde tanı/ön tanı olarak belirtilen ICD (*Uluslararası İstatistiksel Hastalık Sınıflandırması ve İlgili Sağlık Sorunları*) tanı kodlarına göre dağılımı ayrıca incelendi. ANA dışındaki diğer testlerin ise sadece kliniklere göre dağılımı ve pozitiflik oranları incelendi.

ANA testleri ve alt-grup testler

ANA testleri hasta serum örneklerinde HEp-2 (*human epithelial type 2*) hücreleri ve maymun karaciğer dokusu ile hazırlanan preparatlarda IFA yöntemi ile (Euroimmun AG, Lübeck, Germany) çalışıldı. Standart 1:100'lük serum dilüsyonları ile hazırlanan preparatlar 200x ve 400x büyütmede EUROStar I (Euroimmun AG, Lübeck, Germany) floresan mikroskopunda incelendi. Çalışmada ANA testleri de dahil olmak üzere tüm immüno seroloji testlerinin genel bir değerlendirmesini yapmak hedeflendiğinden, ANA sonuçları pozitiflik derecesi (+, ++, +++, +++) dikkate alınmaksızın pozitif veya negatif olarak ele alındı.

ANA dışındaki diğer otoimmün antikorların tespiti için klinik örnekler IFA (Euroimmun AG, Lübeck, Germany), immunoblot (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) veya ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) temelli antikor testleri (Alegria, Organtec, Almanya) ile üretici önerileri doğrultusunda test edildi. Brusella ve antiviral (herpes simplex virus 1 ve 2, varicella virus, measles virus, mumps virus, parvovirus B19) IgM ve IgG antikor testleri ise ELISA temelli testler ile (VIRCELL, Santa Fe, Granada, İspanya) üretici önerileri doğrultusunda çalışıldı.

İstatistiksel analizler

Gruplar için frekans (*yüzdesele*), ortalama ve standart sapma değerleri gibi temel istatistiksel ölçütler hesaplandı. Gruplar arasındaki kategorik

özelliklerdeki farklılıkları incelemek için ki-kare testi ve Fisher's Exact test kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığı (*confidence interval*, CI) ile $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler SPSS versiyon 22.0 (IBM Corp, Armonk, NY) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

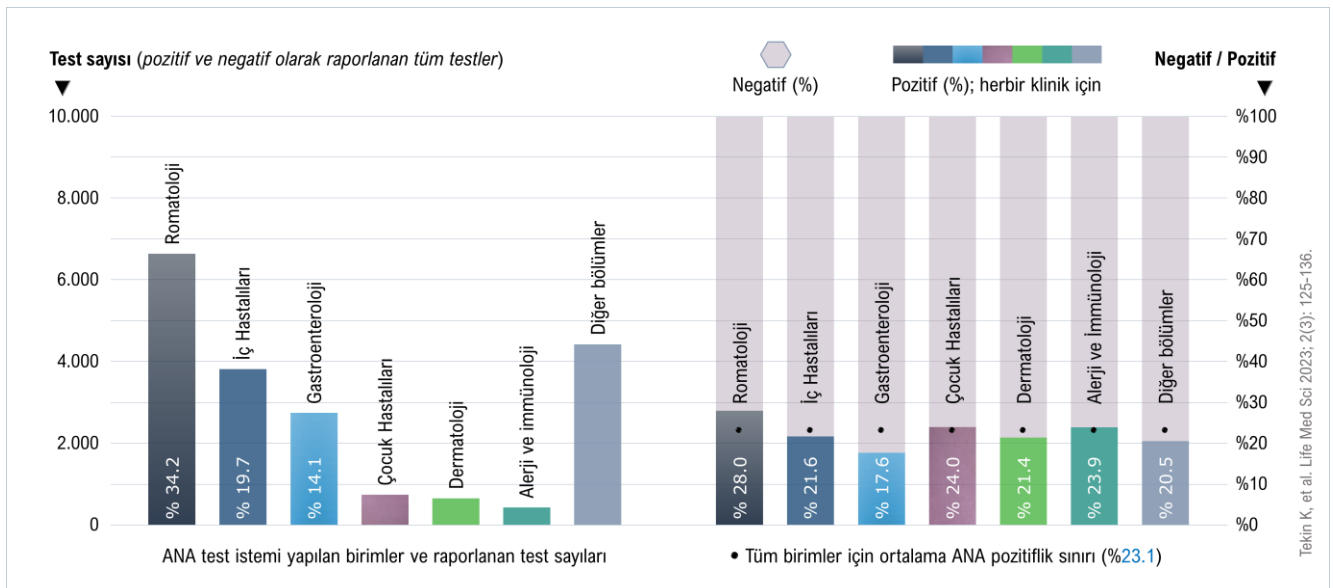
Bulgular

İmmüno seroloji laboratuvarımızda çalışılan toplam 94.954 test parametresi genel olarak üç ana grupta toplanmakta idi. ANA-IFA testleri (19.248 test; %20.3). IFA, immunoblot veya ELISA temelli spesifik otoantikor testleri (67.976 farklı parametre; %71.6). Enfeksiyon etkenlerin tanısında kullanılan ELISA temelli immünglobulin testleri (7730 test; %8.1). Bu üç grupta pozitiflik oranları sırasıyla %23.1 (n=4446), %2.96 (n=2014) ve %30.1 (n=2324) olarak bulundu.

ANA-IFA testlerinde, aynı hasta için tekrar eden testler çıkarıldığında toplam 16.187 farklı hasta için ANA test istemi yapıldığı belirlendi, bu hastaların 5127'si (%31.7) erkek, 11.060'ı (%68.3) kadın hastalardı. ANA test sonucu pozitif 3857 hastanın 829'u (%21.5) erkek, 3028'i kadın (%78.5) hastalar olup, ANA pozitif tüm hastaların yaş ortalaması 46.9 ± 17.7 (yaş aralığı 1-93) ve ortanca yaşı 48 idi. ANA test sonucu negatif 12.330 hastanın 4298'u (%34.9) erkek, 8032'i kadın (%65.1) hastalar olup, ANA negatif tüm hastaların yaş ortalaması 44.2 ± 17.4 (yaş aralığı

1-96) ve ortanca yaşı 44 idi. Erkeklerde ANA pozitiflik oranı %16.2 (829/5127), kadınlarda ise %27.4 (3028/11.060) olup, ANA pozitiflik oranı kadınlarda anlamlı derecede daha yüksekti ($p < 0.001$). Tüm ANA test istemleri (19.248 test) dahil edilerek yaş gruplarına göre ANA pozitiflik oranları incelendiğinde; ANA pozitiflik oranları <15 yaş grubunda %23.7 (151/637) olarak, 16-40 yaş grubunda %19.6 (1400/7151) olarak, 41-65 yaş grubunda %24.5 (2198/8966) ve >65 yaş grubunda %27.9 (697/2494) olarak bulundu.

ANA test istemi yapan uzman hekim sayısı 350'den fazla olup, test istemlerinin klinik birimlere göre dağılımına bakıldığında en çok ANA test istemi yapan branş 6.585 (%34.2) test istemi ile romatoloji birimi idi. Test istem sayısı en yüksek olan 6 klinik branş arasında istenilen test sayısına göre ANA pozitiflik oranı (yüzdesi) en yüksek olan branş yine romatoloji idi (Şekil 1). Romatoloji biriminden istenilen testlerdeki ANA pozitiflik oranı (%28, 1841/6585), ANA test istemi yapan diğer birimlerin tümü ile karşılaştırıldığında (%20.6, 2605/12663) anlamlı derecede daha yüksekti ($p < 0.001$). ANA test istemi sayısı bakımından romatoloji birimini sırasıyla %19.7 ve % 14.1'lik oranlar ile iç hastalıkları ve gastroenteroloji birimleri takip ediyordu. Romatoloji birimini ANA test istemlerindeki pozitiflik oranları bakımından ise çocuk hastalıkları birimi (%24) ve alerji ve immünoloji hastalıkları (%23.9) birimleri takip etmekteydi (Şekil 1).



Şekil 1. ANA test istemlerinin (raporlanan) kliniklere göre dağılımı ve pozitiflik oranları.

ANA test istemlerinin otoimmün hastalıklar için ICD tanı kodlarına göre dağılımı (tanı ve ön tanıları içermek üzere) incelendiğinde en yüksek pozitiflik oranları sistemik skleroz (%82.1), SLE (%74.3), primer biliyer siroz (%61.9), otoimmün

hepatit (%53.5) ve Sjögren sendromu (%50.5) olan hastalarda gözlemlendi. Buna karşın, kanser ve paraneoplastik sendromlar ile çeşitli enfeksiyon hastalıklarında ise ANA pozitiflik oranları en düşük düzeylere bulundu (sırasıyla %20.8 ve %19.1).

Tablo 1. Çeşitli hastalık tanı ve ön tanılarına göre ANA pozitiflik oranları.

Otoimmün hastalıklar (ICD tanı kodlarına göre tanı ve ön tanıları)		ANA pozitif hastalar		ANA test istemi yapılan tüm hastalar			
		%	n	erkek	kadın	toplam	ortalama yaş
1	Sistemik skleroz (skleroderma)	82.1	23	4	24	28	51.4±15.4
2	Sistemik lupus eritematozus	74.3	136	26	157	183	42.3±13.6
3	Primer biliyer siroz	61.9	13	17	4	21	54.3±8.7
4	Otoimmün hepatit	53.5	23	8	35	43	38±19
5	Sjögren sendromu	50.5	111	33	187	220	51.2±14.8
6	Polimiyozit / dermatomiyozit	50	6	9	3	12	46±15.6
7	İlaça bağlı lupus	50	3	2	4	6	31.8±7.4
8	Miks bağ dokusu hastalığı	43.8	39	11	78	89	47.3±13.6
9	Juvenil kronik artrit	41.7	5	6	6	12	18.3±9.7
10	Diskoid lupus eritematozus	37.3	19	10	41	51	42.3±13.5
11	İdiyopatik trombositopenik purpura	36.8	21	25	32	57	37.4±17.4
12	Raynaud fenomeni	34.3	23	26	41	67	28.3±14
13	Romatoid artrit	33.9	148	79	358	437	53.7±14.1
14	Fibromiyalji	27.4	79	10	278	288	46.9±11.5
15	Otoimmün tiroid hastalıkları	22.1	61	32	244	276	46.7±13.4
16	Multipl skleroz	21.7	26	36	84	120	37.8±11.5
17	Kanser ve paraneoplastik sendromlar	20.8	20	39	57	96	52±14.2
18	Enfeksiyon hastalıkları	19.1	58	153	150	303	44.9±20.5

*Bağ dokusunun diğer sistemik tutulumu dahil. ANA; antinükleer antikor.

İmmüno seroloji laboratuvarımızda ANA-dışı otoantikordardan en çok çalışılan testin anti-dsDNA olduğu bulundu (n=6855), bu testi anti-sentromer (5904 test) ve anti-ribozomal P (5888 test) testleri izlemekte idi. Pozitiflik oranlarına bakıldığında ise anti-CCP (%12.7), anti-dsDNA (%8.1) ve anti-SS-A (%5.1) testleri en yüksek pozitiflik oranı saptanan testler idi (Tablo 2).

ANA pozitifliği olan hastalarda en sık saptanan ikinci basamak otoantikor testleri anti-dsDNA (%9.2) ve anti-SS-A (%8.2) olarak bulundu. ANA negatif hastalarda ise (tekrar testleri hariç olmak üzere), ANA testleri ile eş zamanlı istem yapılan ikinci basamak otoantikordardan anti-dsDNA için %3.3 pozitiflik oranı bulunurken, ANA ilişkili diğer spesifik otoantikorlar için pozitiflik oranları %0.0 ile %0.31 aralığında değişmekte idi.

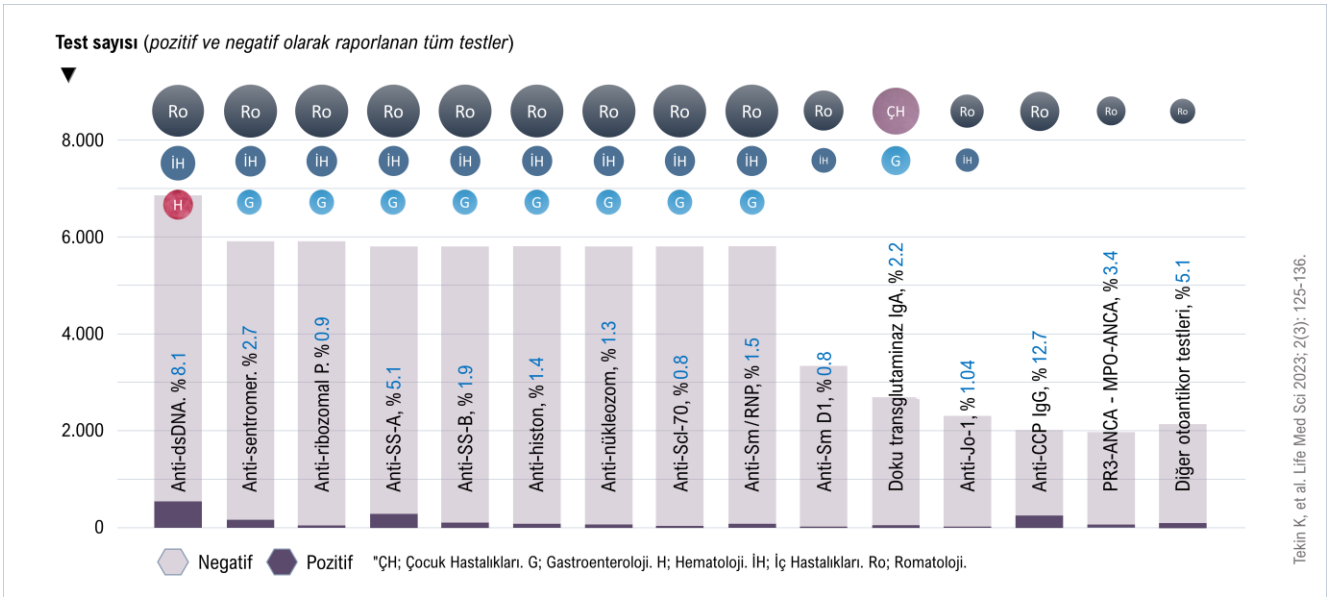
Spesifik otoantikor testlerinin istem yapılan kliniklere göre dağılımlarına bakıldığında; çocuk hastalıkları birimi tarafından yüksek oranda istem yapılan doku transglutaminaz IgA testi hariç olmak üzere, diğer tüm ikinci basamak otoantikor testleri için en yüksek sayıda istem yapılan branş romatoloji idi. İç hastalıkları ve gastroenteroloji ise diğer sık istem yapan branşlardı (Şekil 2).

Bu çalışmada başlıca otoantikor testlerine odaklanıldığı için enfeksiyon hastalıkları ile ilgili testler detayları ile incelenmedi. Genel olarak ele alındığında ise ELISA temelli brusella ve antiviral (herpes simplex virus 1 ve 2, varicella virus, measles virus, mumps virus, parvovirus B19) IgM ve IgG antikor testlerinde pozitiflik oranı %30.1 (2324/7730) olarak bulundu. Bu grup testler için laboratuvarımıza en sık istem yapılan birimler enfeksiyon hastalıkları, hematoloji ve nöroloji idi.

Tablo 2. İmmüno seroloji laboratuvarında çalışılan ANA dışı otoantikor testleri (67.976 parametre) ve pozitiflik oranları.

Testler	Tüm test istemleri				Tekrar testleri çıkarıldığında (%)	
	negatif (n)	pozitif (n)	toplam (n)	pozitif %	ANA (-) hastalarda	ANA (+) hastalarda
Anti-dsDNA	6302	553	6855	8.1	3.3	9.2
Anti-sentromer	5742	162	5904	2.7	0.08	4.4
Anti-ribozomal P	5836	52	5888	0.9	0.08	1.4
Anti-SS-A	5510	298	5808	5.1	0.24	8.2
Anti-SS-B	5696	112	5808	1.9	0.12	3.1
Anti-histon	5724	84	5808	1.4	0.04	2.2
Anti-nükleozom	5734	74	5808	1.3	0.04	1.9
Anti-Scl	5761	47	5808	0.8	0.0	1.3
Anti-Sm/RNP	5719	89	5808	1.5	0.12	2.4
Anti-Sm D1	3311	28	3339	0.8	0.0	1.1
Doku transglutaminaz IgA	2635	59	2694	2.2	0.67	2.4
Anti-Jo-1	2277	24	2301	1.04	0.31	1.2
Anti-CCP	1764	256	2020	12.7	9.5	16.7
PR3 ANCA / MPO ANCA	1903	67	1970	3.4	1.17	9.1
Diğer otoantikor testleri*	2048	109	2157	5.1	2.49	8.4

*Anti-gliadin IgA ve IgG, anti-kardiyolipin IgA ve IgG, anti-LKM (*anti-liver-kidney microsomal antibody*), AMA-M2 (anti mitokondriyal antikor m-2).



Tekin K, et al. Life Med Sci 2023; 2(3): 125-136.

Şekil 2. İmmüno seroloji laboratuvarında çalışılan ANA dışındaki diğer otoantikor testleri ve pozitiflik oranları (%). Sütunların koyu renkli bölümleri pozitif, açık renkli bölümleri ise negatif test sayılarını temsil etmektedir. Dairesel şekiller üzerinde bulunduğu sütunda yer alan testlerin en çok istem yapıldığı birimleri temsil etmektedir. Dairesel grafik öğeleri ilgili birim tarafından istenilen test sayısının büyüklüğünü temsil edecek şekilde oluşturulmuştur.

ANA test istemleri incelendiğinde 3061 ANA testinin hastalar için istem yapılan mükerrer testler olduğu belirlendi. Bu testlerin 1000'den fazlası aynı hasta için yapılan iki test istemi şeklinde idi. Hastaların beşi için farklı zamanlarda

5 kez ANA test istemi yapıldığı, 20 hasta için ise çalışma dönemi içerisinde 4 defa tekrar testi istenildiği belirlendi. Tekrar testi istemlerinin olası nedenleri anlamak ve sonuçlarını incelemek adına bu hastaların detay bilgilerine bakıldığında bu 25

hastanın sadece 2'sinde (%8) sonucun değiştiği diğer hastalarda sonucun değişmediği belirlendi. Bu hastalar için 12 ayrı birimden istek yapıldığı ve en sık tekrar istemi yapan birimlerin romatoloji, iç hastalıkları ve gastroenteroloji olduğu belirlendi. Nefroloji birimi tarafından takip edilen ve 5 ANA

istemi bulunan bir hastaya istemlerin 4'ünün ikişer gün ara ile yapıldığı ve sonucun değişmediği bulundu. Genel olarak bakıldığında aynı hasta için farklı kliniklerde yapılan muayenelerde önceki test sonuçları dikkate alınmadan yeniden test istemi yapıldığı gözlemlendi.

Tablo 3. İmmüno seroloji laboratuvarında çalışılan ANA test tekrarları.

No	Cinsiyet	negatif	pozitif	istem yapan birim	tanı / ön tanı	hekim sayısı	yaş
1	Kadın	5		Romatoloji	Eklem ağrısı	3 hekim	24 yaş
2	Kadın		5	Nefroloji	SLE	2 hekim	33 yaş
3	Erkek		5	Dermatoloji, Hematoloji	Behçet hastalığı	3 hekim	72 yaş
4	Kadın		5*	Nefroloji	Tanımlanmamış ağrı	1 hekim	18 yaş
5	Erkek	5		Enfeksiyon H, İç hastalıkları, Gastroenteroloji, Alerji ve İmmünoloji	Ateş, immün yetmezlik, LDH ve transaminaz yüksekliği	5 hekim	19 yaş
6	Kadın		4	Aile hekimliği, Romatoloji, Üroloji	Boyun ağrısı, SLE	3 hekim	39 yaş
7	Kadın		4	Gastroenteroloji	Otoimmün hepatit	3 hekim	17 yaş
8	Kadın	4		Nöroloji	Multiple skleroz	1 hekim	29 yaş
9	Kadın	4		Romatoloji, Göğüs hastalıkları	Tiroid bozukluğu, akciğer hastalığı, eklem ağrısı	2 hekim	63 yaş
10	Kadın		4	İç hastalıkları	Vaskülit, anemi, Sjögren sendromu, tiroidit	3 hekim	41 yaş
11	Kadın		4	Gastroenteroloji, Romatoloji	SLE	3 hekim	27 yaş
12	Kadın		4	Alerji ve İmmünoloji	Primer biliyer siroz, diğer	1 hekim	58 yaş
13	Kadın		4	Romatoloji	SLE	1 hekim	40 yaş
14	Kadın	4		Romatoloji, İç hastalıkları	Eklem ağrısı, Hipotiroidi	4 hekim	67 yaş
15	Erkek	4		Gastroenteroloji	Demir eksikliği anemisi, dispepsi	3 hekim	46 yaş
16	Kadın		4	Romatoloji	SLE	2 hekim	31 yaş
17	Kadın	2	2**	İç hastalıkları	Romatoid artrit	1 hekim	56 yaş
18	Erkek		4	Romatoloji	SLE	2 hekim	30 yaş
19	Kadın	2	2***	Gastroenteroloji	Dispepsi	2 hekim	50 yaş
20	Kadın		4	Alerji ve İmmünoloji, Gastroenteroloji	Pruritus, Safra yolu hastalığı, transaminaz ve LDH yüksekliği	4 hekim	58 yaş
21	Erkek	4		Gastroenteroloji	Dispepsi, transaminaz ve LDH yüksekliği	3 hekim	25 yaş
22	Kadın	4		İç hastalıkları	Deri malign neoplazmi, hipertansiyon, Diyabetes mellitus	4 hekim	59 yaş
23	Erkek	4		İç hastalıkları	Artrit, Diyabetes mellitus	2 hekim	57 yaş
24	Kadın	4		İç hastalıkları, Gastroenteroloji	Fibromiyalji, hipertansiyon	3 hekim	42 yaş
25	Kadın	4		Göğüs hastalıkları, Romatoloji İç hastalıkları	Plevral effüzyon, baş ağrısı	4 hekim	20 yaş

*İstemlerin 4'ü 2'şer gün ara ile yapılmış. **Dilüsyon oranı 1/100 zayıf granüler patern. ***Pozitif > Negatif×2 > Pozitif. LDH; laktik asit dehidrogenaz. SLE; sistemik lupus eritematozus.

Tartışma

Otoimmün hastalıklar dünya nüfusunun yaklaşık %5'ini etkilemektedir [18]. Avrupa ve Kuzey Amerika gibi endüstrileşmiş bölgelerde ise

nüfusun yaklaşık %5-10'unun etkilendiği tahmin edilmektedir [19]. Otoimmün hastalıkların klinik önemi daha iyi anlaşıldıkça, erken tanı ve hızlı tedavi için güvenilir laboratuvar testlerine olan

gereksinim ayrıca önem kazanmıştır [15]. Mevcut yöntemlerin artan parametre sayısı ve çeşitliliği laboratuvarlar arasındaki değişkenliğe neden olurken, tanısal testlerin standardizasyonu ve tekrarlanabilirliği kritik bir sorun haline gelmiştir [15,20]. Bir diğer önemli konu ise tekrarlanan testlerin ve gereksiz ileri tetkiklerin iş yükünün artmasına ve ek maliyetlere neden olmasıdır [15]. Son yıllarda dünya genelinde üzerinde önemle durulan ve tüm tetkik ve tedavi seçeneklerinin gereksiz-uygunsuz kullanımını maliyet ve diğer olumsuz sonuçlarıyla beraber en aza indirmeye odaklanan akılcı test seçimi (*choosing wisely*) uygulamalarına yönelik uluslararası çabalar ülkemizde de yakından takip edilmektedir [7,8,16]. Kırktan fazla araştırmmanın dahil edildiği bir meta-analiz çalışmasında genel olarak tüm laboratuvar testlerinin %20.6'sının uygun olmayan-gereksiz istemler (*overutilization*) olduğu ve bu oranın başlangıç istemlerinde daha yüksek (%43.9) düzeyde gerçekleştiği bildirilmiştir [21]. Otoimmün romatolojik hastalıkların tanı ve taramasında kullanılan ANA-IFA testleri bu grupta ele alınacak testlerin en önemlilerinden biridir. Asemptomatik kişilerde ANA testleri ile erken tanının otoimmün hastalıkları önceden tahmin etmede faydalı olabileceği değerlendirilmekle beraber [20], mevcut rehberlerde otoantikörleri tespit etmeye yönelik tarama testlerinin yalnızca otoimmün romatizmal hastalığa ilişkin tutarlı bir klinik şüphe olduğunda yapılması önerilmektedir [14,17]. Romatizmal bir hastalığa sahip olmayan birçok hastada ve hatta "sağlıklı" kontrol deneklerinde bile zayıf ANA reaktivitesi mevcut olduğundan ANA testlerinin, spesifik semptomları olmayan kişilerin taranması için kullanılmaması gerektiği vurgulanmaktadır [14].

Türkiye'nin farklı bölgelerinde yürütülen ve 3000 ile 11.407 arasında ANA test isteminin dahil edildiği çalışmalarda pozitiflik oranları Van'da (2020) [22] %15.4, Diyarbakır'da (2017) [23] %20, Samsun'da (2021) [24] %21.3, Eskişehir'de (2019) [7] %20.4 olarak bildirilmiştir. Ankara'da yürütülen ve 19.248 ANA-IFA test isteminin dahil edildiği çalışmamızda ANA pozitiflik oranı %23.1 olarak diğer çalışmalara göre daha yüksek oranda bulundu. İlgili çalışmalarda ve laboratuvarımızda serum örnekleri 1:100 dilüsyonda çalışılmıştır. Diğer çalışmalara yakın, ancak daha yüksek

oranda bulunduğumuz pozitiflik yüzdesi; çalışma grubumuzun özelliklerine bağlı olabileceği gibi, test istemi yapan hekimlerin tutumları veya mikroskopik inceleme ve değerlendirmeyi yapan uzmanların yorumları ile ilgili olabilir.

Otoimmün hastalıklar kadınları daha çok etkilemekte ve ANA pozitifliği kadınlarda daha sık görülmektedir [25,26]. Hedef organ fonksiyon bozukluğuna yol açan sistemik inflamasyonla karakterize olan SLE, romatoid artrit (RA) ve sistemik skleroz (skleroderma) gibi otoimmün hastalıklar yetişkin dönemdeki kadınlar üzerinde ciddi bir hastalık yükü oluşturur [27]. Bu veriler ile uyumlu olarak çalışmamızda ANA test istemi yapılan hastaların büyük çoğunluğu (%68.3) kadın hastalardı ve kadın hastalarda ANA pozitiflik oranı (%27.4) erkek hastalara göre (%16.2) anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0.001$). Çalışmamızda ayrıca, ANA pozitif hastaların yaş ortalaması 46.9 ± 17.7 (yaş aralığı 1-93) olarak bulunurken, tüm ANA test istemleri (19.248 test) dahil edilerek yaş gruplarına göre pozitiflik oranları incelendiğinde; 41-65 yaş ve >65 yaş gruplarında yüksek pozitiflik oranları bulundu. Türkiye'de yürütülen bir çalışmada da benzer şekilde en yüksek pozitiflik oranı 61-70 yaş aralığında bildirilmiştir [22]. Bununla beraber, yüksek pozitiflik saptanan yaş gruplarının farklı çalışmalarda değişebileceği akılda tutulmalıdır.

ANA testi günümüzde bazı non-romatolojik otoimmün hastalıkların tanısı için de kullanılmakta ve klinik pratikte hemen hemen her klinik birim ANA testi istemi yapmaktadır [7]. Türkiye'de yapılan çalışmalar incelendiğinde çoğu çalışmada ANA test istemi yapılan kliniklerin ön sırasında romatolojinin yer aldığı görülmektedir [24,26,28]. Bununla beraber nöroloji [7], iç hastalıkları [22], gibi farklı branşların ön sıralarda olduğu çalışmalar da bulunmaktadır. Çalışmamızda, en çok ANA test istemi yapan (%34.2) ve ANA testlerinde en yüksek (%28) pozitiflik oranı gözlenen klinik branş romatoloji birimi idi. Romatoloji birimindeki pozitiflik oranı diğer bölümlerin tümü (%20.6) ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0.001$). Bu verinin, bir çözüm önerisi olarak sunulan "ANA test istemlerinin, yüksek pozitiflik oranlarına sahip klinik branşlarla sınırlandırılacak şekilde yeniden düzenlenmesi veya test istem endikasyonlarının daraltılması ile gereksiz sağlık

harcamalarının önlenebileceği" [22] düşüncesini desteklediğini ve her bir hastanenin buna benzer bir kararı alırken kendi güncel verilerini düzenli olarak izlemesi gerektiğini değerlendirmekteyiz.

Çalışmamızda spesifik otoantikör testlerinin istem yapılan kliniklere göre dağılımlarına bakıldığında, başta çölyak hastalığı olmak üzere çeşitli otoimmün hastalıkların tanısı için kullanılan [29] doku transglutaminaz IgA testinin en çok çocuk hastalıkları ve gastroenteroloji birimleri tarafından istenildiği belirlendi. Diğer spesifik otoantikör testlerine bakıldığında ise tümü için ilk sırada yine romatoloji birimi yer almakta idi (Şekil 2). Laboratuvarımızda ANA-IFA pozitif hastalarda ikinci basamak otoantikör testlerinin çalışılması şeklindeki standart [14,20] tanı algoritmasının bir sonucu olarak "en yüksek ANA pozitiflik oranına sahip olan romatoloji birimi" yine en çok ikinci basamak test sonucu raporlanan branş olmuştur. Bununla beraber, çalışma verilerimiz eş zamanlı ikinci basamak test istemlerinin bu altın standart tanı algoritmasının uygulanmasını bozduğunu ve ANA negatif hastalardaki düşük ENA pozitiflik oranları bu yaklaşımın iş gücü kaybı ve maliyet artışına yol açtığını göstermektedir [14,30]. ENA profilinin ANA negatif hastalar için sadece ciddi klinik şüphe varlığında çalışılması gerektiği önerisinin, kurum içi periyodik eğitim faaliyetleri ile klinisyenlere hatırlatılabileceğini düşünüyoruz [14,17].

SLE hastalarının %98'inde ANA testi pozitif olduğundan ANA, hastalığın tanısını doğrulamak için en duyarlı tanı testidir [31]. Bununla beraber pozitif bir ANA test sonucunun prediktif değeri ve klinik anlamlılığı otoimmün hastalık tipine ve popülasyonun özelliklerine göre önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. Örneğin, bir kohort çalışmasında pozitif bir ANA test sonucunun pozitif prediktif değeri SLE için %2.1 ve diğer otoimmün romatolojik hastalıklar için ise %9.1 olarak bulunmuştur [3]. Bahsedilen çalışmada bulunan bu zayıf öngörü değeri, büyük ölçüde, ANA ile ilişkili romatizmal hastalıklar için test öncesi olasılığı düşük olan hastalarda yapılan gereksiz testlere atfedilmiştir. ANA testi için pozitif sonucun çeşitli hastalıklarda tanı koydurucu etkisi ve pozitiflik oranlarının bir tablo içerisinde özetlendiği KLİMUD rehberinde [17] sunulan veriler ile bizim çalışmamızda test istemi yapılırken belirtilen tanı-

ön tanı bilgilerine genel olarak baktığımızda (Tablo 1), spesifik hastalıklar için bulduğumuz pozitiflik oranlarının rehberde sunulanlara benzer, ancak birkaçı dışında daha düşük oranlarda olduğunu görmekteyiz. Bu veri hastane genelinde tüm ANA testleri için yapılan istemlerin bir tarama testi olarak belirli bir eşik standardı sağladığını, ancak bazı hastalıklar için %20'lere varan (örneğin SLE için öngörülen %90-95 pozitiflik oranının %74.3 bulunması gibi) düşük pozitiflik oranlarının çalışma verilerimizin ön tanıları da içermesi ile ilişkili olduğunu değerlendirmekteyiz.

Rehberlerde tekrarlayan ANA test isteminin tanı veya hastalık izlemi açısından bir rolü olmadığı ve ANA titresinin hastalık izleminde ve tedavi takibinde kullanılmaması gerektiği özellikle belirtilmektedir [14,17]. Çalışmamızda farklı zamanlarda dört ve beş ANA test istemi olan hastalar detaylı olarak incelendiğinde; ardışık ve anlamsız test istemi tekrarlarının yapıldığı, ayrıca farklı kliniklerde görev yapan veya aynı klinikte görevli hekimlerin önceki test sonuçlarını dikkate almaksızın yeniden test istemi yaptıkları belirlendi (Tablo 3). Benzer sorunların saptanabilmesi ve çözümü için laboratuvarların kliniklerden gelen istemler ve test sonuçlarını düzenli aralıklarla izlemesi ve analiz etmesi önem arz etmektedir.

ENA testleri ve diğer spesifik otoantikör testleri otoimmün hastalıkların tanısında yaygın kullanılan diğer önemli tanısal araçlardır [32]. Avustralya'da yürütülen bir çalışmada 19.603 hastaya ait toplam 23.438 ENA testi incelenmiş ve 2305 (%9.8) pozitif test arasında tespit edilen en yaygın spesifik ENA antikorunun anti-Ro52 (SS-A) olduğu bulunmuştur (1185, %51.4). Çalışma süresince 19.603 hastanın 2636'sına (%13.4) birden fazla ENA testi yapıldığı ve bunların çoğunda (2523, %95.7) test sonucunun ilk test ile karşılaştırıldığında değişmediği gözlemlenmiştir. Sadece 53 hastada (%2.2) negatiften pozitive değişen bir ENA sonucu bulunmuştur [33]. Araştırmacılar bu verilere dayanarak tekrarlanan ENA testi sonuçlarının genellikle değişmediğini ve nadiren yeni bir otoimmün hastalık tanısıyla sonuçlandığını, bu nedenle; test tekrarlarının yalnızca klinik belirtilerde bir değişiklik olması durumunda yapılması gerektiğini vurgulamışlardır [33]. Çalışmamızda ANA pozitifliği saptanan hastalarda ANA ile ilişkili otoantikörlerden en sık

saptananlar anti-dsDNA (%9.2) ve anti-SS-A (%8.2) olarak bulundu. Aydın'da yürütülen bir çalışmada (2017) ANA pozitif hastalarda (n=215) en sık saptanan spesifik otoantikolar anti-Ro-52 (%28.8), anti-SS-A (%24.1) ve anti-dsDNA (%19) olarak bildirilmiştir [34]. Türkiye'de yürütülen başka bir çalışmada ise ENA profilinde yer alan antikorlardan en sık anti-SS-A (%34.4) saptanırken, diğer otoantikoların pozitiflik oranı %0.8-%16.8 arasında değişmekte idi [26]. Aynı çalışmada ANA pozitif 759 hastada ELISA ile anti-dsDNA testi çalışılmış ve hastaların %8.7'si pozitif olarak bulunmuştur, bu oran hem ELISA hem de immünoblot test sonuçlarını içeren bizim çalışmamızda %9.2 gibi yakın bir oranda bulundu. Bununla beraber bizim verilerimizde pozitiflik oranları diğer çalışmalar ile kıyaslandığında genel olarak daha düşük olarak bulundu. Spesifik otoantikolar için çalışmamızda saptanan düşük pozitiflik oranları, mikroskopik değerlendirmeleri yapan laboratuvar uzmanının düşük pozitif örnekleri ikinci basamak testlere yüksek oranda yönlendirmesi ile ilgili olabileceği gibi, farklı dönemlerde laboratuvarımızda çalışılan ikinci basamak test panellerinde yer alan otoantikör çeşitliliğinin yetersiz kalması ile de ilişkili olabilir.

Ülkemizde ANA tarama testleri genel olarak 1:100 serum dilüsyonu ile yapılmaktadır [35], bununla beraber düşük titrelerde ANA pozitifliğinin yaygın görülen bir durum olması ve düşük pozitif testlerin gereksiz refleks testlerin yapılmasını artırmasının önüne geçmek adına ANA testlerinin 1:160 dilüsyonda çalışılması önerilmektedir [14,35]. Çalışmamızda, ANA testleri ile eş zamanlı istem yapılan ve ANA test sonucu negatif bulunan hastalarda, anti-dsDNA pozitifliği %3.3 olarak bulundu. ANA negatif hastalarda, ANA ilişkili diğer otoantikolar için ise pozitiflik oranları %0.0-0.31 aralığında idi. Literatürde ANA negatif hastalarda anti-dsDNA pozitifliği bildirilen çok sayıda olgu sunumu ve araştırma makalesi bulunmaktadır. Bununla beraber, bu durumun nadir görüldüğü, her zaman klinik hastalıkla ilişkili olmayabileceği [36], bu nedenle eş zamanlı test isteminin sadece spesifik hastalıklar için güçlü bir klinik şüphe olması durumunda yapılması gerektiği [14] ve tekrarlayan ANA ve ENA test istemlerinde sonucun genel olarak değişmeyeceğinin dikkate alınması

gerekmektedir. Hastalık spesifik tanısalla yaklaşıma "anti-dsDNA testinin sadece SLE şüphesi olan hastalarda araştırılması gerektiği ve SLE hastalarında anti-dsDNA titresinin hasta izleminde kullanılabileceği" durumu örnek verilebilir [14].

Klasik olarak, HEp-2 hücreleri üzerinde IFA ile mikroskopik değerlendirme ANA taraması için altın standart yöntem olarak kabul görmüştür [20]. IFA testi çok sayıda nükleer ve sitoplazmik antijenin saptanmasına izin verir, ancak indirekt immün floresan testinin bazı dezavantajları vardır [20]. Çok sayıda seri seyreltme yapılması ve boyama paternlerinin görsel olarak belirlenmesi nedeniyle zahmetli ve zaman alıcıdır, test ağırlıklı olarak yoruma dayandığından değerlendirme sonuçları temelde subjektiftir ve mikroskoplardaki heterojenlik, ışık gücü, mercek büyütme özelliği ve testte kullanılan HEp-2 hücreleri yöntemin değişkenliğine önemli ölçüde katkıda bulunur [20]. Otoantikör varlığını saptamada IFA temelli tekniklere göre daha duyarlı yöntemler geliştirilmiştir [20]. Laboratuvar uygulamalarına son on yılda, çok sayıda numunenin işlenmesini kolaylaştıran ve aynı anda çok sayıda antikörün varlığını saptayabilen yeni yöntemler dahil edilmiştir [5,20]. Özellikle ANA tespitine yönelik yeni metodolojiler, daha büyük hacimlerdeki klinik örneklerin geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve daha az maliyetle taranması ve işlenmesi amacıyla otoantikör tespitine uyarlanmıştır [15]. Bu hızlı değişim, talepte bulunan klinisyenlerin laboratuvar testlerinin performans özelliklerinden habersiz olması nedeniyle ortaya çıkan sorunları daha da artırmıştır [5]. Bu nedenle bu eski testler için yeni öneriler ve güncellemelerin takip edilmesi ayrıca önemlidir.

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılıklarından biri ANA ve spesifik otoantikolar için, tanısalla değere sahip ikincil parametreler olan pozitiflik titresini ve boyanma paternlerini [37] içeren karşılaştırmalı analizlerin yapılmamış olmasıdır. Bu çalışmada temelde laboratuvarımızdaki duruma genel bir bakış elde edilmesi hedeflenmiş olup, ANA pozitiflik titreleri ve ANA paternleri ile ilgili ileri analizlere ön veriler sağlanmıştır.

Sonuç

Çalışma sonuçlarımız genel bir perspektif ile incelendiğinde ANA-IFA testleri başta olmak üzere

otoantikör testleri için gereksiz test istemleri ve test tekrarlarının varlığı ve özellikle ikinci basamak testlerde elde edilen düşük pozitiflik oranları dikkat çekmektedir. Bu nedenle, hastanemiz özelinde, gereksiz test istemlerini ve ilişkili ek maliyetleri azaltmak adına spesifik antikörler için test istemlerinin seçilmiş klinikler veya belirli hastalıklar için kısıtlanmasına yönelik alınabilecek tedbirler için detaylı değerlendirmeler yapma kararı aldık. Bu çalışmada ANA test istemi yapan uzman hekim sayısının 350'den fazla olduğu ve sürece asistan hekimlerin de dahil olmasıyla bu

sayının daha da yükseleceği düşünüldüğünde ve bu hekimlerin dinamik bir döngü sürecinde sürekli olarak değiştiği de dikkate alınarak, otoimmün hastalıkların tanı sürecinde ANA ve subserolojik test sonuçlarının tanı koydurucu etkisi, otoantikör testlerinin endike olduğu ve istenmesinin anlamsız olduğu durumlar, eş zamanlı veya tekrar test istemlerinin hangi durumlarda yapılması gerektiği gibi konu başlıklarında özellikle istem hatalarının yoğun olduğu birimlere yönelik periyodik kurum içi eğitim faaliyetleri ile bu konuda farkındalık oluşturulması gerektiğini değerlendirmekteyiz.

Çıkar beyanı: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir. Makalenin içeriğinden ve yazılmasından tek başına yazarlar sorumludur. **Finansal destek:** Bu çalışmaya finansal destek verilmemiştir.

Kaynaklar

1. Holborow EJ, Weir DM, Johnson GD. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Br Med J* 1957; 2(5047): 732-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
2. Robbins WC, Holman HR, Deicher H, Kunkel HG. Complement fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 96(3): 575-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
3. Abeles AM, Abeles M. The clinical utility of a positive antinuclear antibody test result. *Am J Med* 2013; 126(4): 342-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Emad Y, Gheita T, Darweesh H, Klooster P, Gamal R, Fathi H, et al. Antibodies to extractable nuclear antigens (ENAS) in systemic lupus erythematosus patients: correlations with clinical manifestations and disease activity. *Reumatismo* 2018; 70(2): 85-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
5. Phan TG, Wong RC, Adelstein S. Autoantibodies to extractable nuclear antigens: making detection and interpretation more meaningful. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9(1): 1-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
6. Lee AY, Hudspeth AR, Ray U. Evaluation of antinuclear antibody (ANA) in ANA-associated connective tissue diseases. *J Clin Pathol* 2015; 68(10): 853-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
7. Üsküdar Cansu D, Teke HÜ, Gündüz G, Korkmaz C. Günlük pratikte antinükleer antikör (ANA) istemleri ve pozitifliklerinin kliniklere göre dağılımı: ANA testi en çok hangi bölümlerden istenmektedir? *Ulus Romatol Derg* 2019; 11(1): 16-22.
8. Fritzler MJ. Choosing wisely: Review and commentary on anti-nuclear antibody (ANA) testing. *Autoimmun Rev* 2016; 15(3): 272-80. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
9. Grygiel-Górniak B, Rogacka N, Puszczewicz M. Antinuclear antibodies in healthy people and non-rheumatic diseases - diagnostic and clinical implications. *Reumatologia* 2018; 56(4): 243-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
10. Marin GG, Cardiel MH, Cornejo H, Viveros ME. Prevalence of antinuclear antibodies in 3 groups of healthy individuals: blood donors, hospital personnel, and relatives of patients with autoimmune diseases. *J Clin Rheumatol* 2009; 15(7): 325-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
11. Ge Q, Gu X, Yu W, Zhang G, Liang W, Li M, et al. Antinuclear antibodies in healthy population: Positive association with abnormal tissue metabolism, inflammation and immune dysfunction. *Int Immunopharmacol* 2022; 113(Pt A): 109292. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
12. Yumuk Z, Çalışkan S, Gündeş S, Willke A. Anti-Nükleer Antikörlerin (ANA) Araştırılması ve Saptanmasında Kullanılan Teknikler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35(1): 40-4.
13. Thomson KF, Murphy A, Goodfield MJ, Misbah SA. Is it useful to test for antibodies to extractable nuclear antigens in the presence of a negative antinuclear antibody on Hep-2 cells? *J Clin Pathol* 2001; 54(5): 413. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
14. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F, et al; Italian Society of Laboratory Medicine Study Group on the Diagnosis of Autoimmune Diseases. 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. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(8): 1420-2. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
16. Yazdany J, Schmajuk G, Robbins M, Daikh D, Beall A, Yelin E, et al; American College of Rheumatology Core Membership Group. Choosing wisely: the American College of Rheumatology's Top 5 list of things physicians and patients should question. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013; 65(3): 329-39. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD), Ankara, Türkiye. Otoantikörlerin Laboratuvar Tanısı Rehberi. KLİMUD Kaynak No: 9, Düzeltilmiş 3. Baskı (KLİMUD-OTO.REH.07/20.Ver03). 2020, Ankara.
18. Amador-Patarroyo MJ, Rodriguez-Rodriguez A, Montoya-Ortiz G. How does age at onset influence the outcome of autoimmune diseases? *Autoimmune Dis* 2012; 2012: 251730. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]

- 19.** Forabosco P, Bouzigon E, Ng MY, Hermanowski J, Fisher SA, Criswell LA, et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies across autoimmune diseases. *Eur J Hum Genet* 2009; 17(2): 236-43. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 20.** Pérez D, Gilburd B, Cabrera-Marante Ó, Martínez-Flores JA, Serrano M, Naranjo L, et al. Predictive autoimmunity using autoantibodies: screening for anti-nuclear antibodies. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56(10): 1771-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 21.** Zhi M, Ding EL, Theisen-Toupal J, Whelan J, Arnaout R. The landscape of inappropriate laboratory testing: a 15-year meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8(11): e78962. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 22.** Azeez HJ, Bayram Y, Parlak M, Akyüz S, Güdücüoğlu H. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Anti-nükleer Antikor (ANA) Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Med Res Rep* 2020; 3(2): 24-8.
- 23.** Samancı Aktar G, Ayaydın Z, Onur AR, Vural DG, Temiz H. Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İFA Yöntemiyle Çalışılan Otoantikor Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Turk J Immunol* 2017; 5(3): 77-81.
- 24.** Gür Vural D, Tanrıverdi Çaycı Y, Bıyık İ, Bilgin K, Birinci A. Evaluation of immunoblotting test results in patients with positive antinuclear antibodies. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2021; 78(4): 443-50.
- 25.** Invernizzi P, Pasini S, Selmi C, Gershwin ME, Podda M. Female predominance and X chromosome defects in autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2009; 33(1): 12-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 26.** Çelikkbilek N, Özdem B, Açıkgöz ZC. Evaluation of Anti-Nuclear antibody test results in clinical practice. *J Microbiol Infect Dis*, 2015; 5(2):63-8. [[Crossref](#)]
- 27.** Marder W, Vinet É, Somers EC. Rheumatic autoimmune diseases in women and midlife health. *Womens Midlife Health* 2015; 1: 11. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 28.** Karakeçe E, Atasoy AR, Çakmak G, Tekeoğlu İ, Harman H, Çiftci İH. Bir üniversite hastanesinde antinükleer antikor pozitiflikleri. *Turk J Immunol*, 2014; 2(1): 5-8.
- 29.** Ortiz G, Messere G, Toca MDC, Fiorucci M, Bigliardi R, Vidal J, et al. IgA anti-tissue transglutaminase antibodies and IgG antibodies against deamidated gliadin peptides as predictors of celiac disease. *Arch Argent Pediatr* 2019; 117(1): 52-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 30.** Damoiseaux JG, Tervaert JW. From ANA to ENA: how to proceed? *Autoimmun Rev* 2006; 5(1): 10-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 31.** Bakshi N, Munir T, Guma M, Chenitz KB. A Rare Case of Antinuclear Antibody (ANA)-Negative Lupus Nephritis. *Cureus* 2023; 15(7): e41480. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 32.** Alsubki R, Tabassum H, Alfawaz H, Alaqil R, Aljaser F, Ansar S, et al. Association between antinuclear antibodies (ANA) patterns and extractable nuclear antigens (ENA) in HEp-2 cells in patients with autoimmune diseases in Riyadh, Saudi Arabia. *Intractable Rare Dis Res* 2020; 9(2): 89-94. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 33.** Yeo AL, Leech M, Ojaimi S, Morand E. Utility of repeat extractable nuclear antigen antibody testing: a retrospective audit. *Rheumatology (Oxford)* 2023; 62(3): 1248-53. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 34.** Çildağ S, Korkmazgil B, Kara Y, Kale H, Akın N, Şentürk T. Antinuclear antibodies by IIF-ANA method in systemic rheumatic diseases. *Pamukkale Tıp Dergisi* 2017; 10(3): 234-41.
- 35.** Yurttutan Uyar N, Güngör Ö, Serteser M, Akyar I. Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2017; 74(1): 13-20.
- 36.** Yeo AL, Ojaimi S, Le S, Leech M, Morand E. Frequency and Clinical Utility of Antibodies to Extractable Nuclear Antigen in the Setting of a Negative Antinuclear Antibody Test. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2023; 75(7): 1595-601. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 37.** Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodrigues SH, Dellavance A, Andrade LE. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 2011; 63(1): 191-200. Erratum in: *Arthritis Rheum* 2011; 63(5): 1468. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]