



Life and Medical Sciences

Anti Nükleer Antikor (ANA) ve Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antijen Antikor (anti-ENA) İmmünoblot Test Sonuçlarının Beş Yıllık Analizi

Five-Year Analysis of Anti-Nuclear Antibody (ANA) and Extractable Nuclear Antigen Antibody (anti-ENA) Immunoblot Test Results

İsmail Selçuk AYGAR¹ [ID], İlhan CEBECİ² [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 Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye [Department of Internal Medicine, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye].

Article Info: Received; 21.08.2023. Accepted; 29.09.2023. Published; 02.10.2023.

Correspondence: İsmail Selçuk Aygar; MD., Department of Medical Microbiology (*Laboratory*), Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye. E-mail: drisa1986@hotmail.com

Cite as: Aygar İS, Cebeci İ. Five-Year Analysis of Anti-Nuclear Antibody (ANA) and Extractable Nuclear Antigen Antibody (anti-ENA) Immunoblot Test Results. Life Med Sci 2023; 2(4): 143-149.

Özet

Otoimmün bozukluklar birden fazla organın etkilendiği sistemik hastalık tablolarına neden olabilecekleri gibi tek organa özgü tutulum şeklinde de seyredebilirler. Sistemik tutulum görülen ve ayırıcı tanının zorlaştığı veya non-spesifik semptomların görüldüğü durumlarda tanıya yardımcı çeşitli immünolojik testler kullanılır. Bu amaçla hasta serumlarında çeşitli yöntemlerle antinükleer antikorların (ANA) ve ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) karşı oluşan antikorların araştırılması klinisyenler için yol göstericidir. Bu çalışmada testlerin sonuçlarını, hastaların demografik verilerini ve test istemi yapan klinikleri inceleyerek ANA ve ENA antikor testlerinin etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmada Ocak 2018-Aralık 2022 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden hastanemiz tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen serum örneklerinde çalışılan 37.791 ANA testine ait sonuçların retrospektif bir incelemesi sunulmuştur. ANA testleri, serum örneklerinin 1:100 oranında dilüe edilmesi sonrasında HEp-2 hücreleri ve maymun karaciğer dokusu kullanılarak hazırlanan slaytların indirekt immünfloresan (IIF) antikor metodu ile floresan mikroskop altında incelenmesi ile yarı kantitatif olarak sonuçlandırıldı. ANA test istemi yapılan hastaların 11.604'ü (%30.7) erkek, 26.187'si (%69.3) kadındı. Yaş ortalamaları sırasıyla 43.46 (0-94) ve 46.94 (0-96) olarak tespit edildi. Test edilen numunelerin %18.8'i (7.107/37.791) ANA pozitif olarak değerlendirildi. ANA pozitiflik oranı kadınlarda (%24.8) erkeklere (%19.7) göre anlamlı derece daha yüksekti ($p<0.001$). ANA pozitifliği saptanan numuneler anti-ENA immünoblot yöntemi ile tekrar çalışıldı. ANA pozitif 7.107 hastanın 3.809'unda (%53.6) en az bir spesifik antikor için anti-ENA pozitifliği saptanırken, 3.298'i (%46.4) negatif idi. Anti-ENA profilinde 11 farklı antijen tipine karşı oluşan antikorlar tarandı ve en sık saptanan antikor anti-SS-A (%22.7) olarak bulundu, bunu anti-sentromer (%12.8), anti-RNP (%10.2) ve anti-dsDNA (%9.7) antikorları takip ediyordu. İmmünoblot temelli anti-ENA testleri otoimmün hastalıkların tanısı için spesifik bilgiler sunmaktadır. Çalışmamızda ANA pozitif hastaların önemli bir bölümünde anti-ENA testlerinin negatif olması, immünoblot test panelinin yetersizliğine işaret etmekte ve antikor çeşitliliği daha geniş immünoblot testlerine veya alternatif yöntemlere olan gereksinimi ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: ANA, ENA, İmmünoblot, Otoimmün hastalık.

Abstract

Autoimmune disorders may cause systemic disease in which multiple organs are affected or may also be localized as single-organ involvement. Various ancillary immunological tests used in cases where systemic involvement is observed, and differential diagnosis becomes difficult or non-specific symptoms are observed. For this purpose, investigation of antinuclear antibodies (ANA) and antibodies against extractable nuclear antigens (ENA) in patient serums using various methods is a guide for clinicians. In this study, we aimed to evaluate the effectiveness of ANA and ENA antibody tests by examining the test results, the patients' demographic data, and the clinics that ordered the tests. In the study, a retrospective review of the results of 37,791 ANA tests studied on serum samples sent to the medical microbiology laboratory of our hospital from various clinics between January 2018 and December 2022 is presented. ANA tests were resulted semi-quantitatively by evaluating the slides prepared using diluted serum samples at a ratio of 1:100 and HEp-2 cells and monkey liver tissue under a fluorescent microscope with the indirect immunofluorescence (IIF) antibody method. Of the patients who requested ANA test, 11,604 (30.7%) were male and 26,187 (69.3%) were female. The mean ages were 43.46 (0-94) and 46.94 (0-96), respectively. Of the samples tested, 18.8% (7,107/37,791) were evaluated as ANA positive. The ANA positivity rate was significantly higher in women (24.8%) than in men (19.7%) ($p < 0.001$). ANA positive samples were re-tested using the anti-ENA immunoblot method. Of the 7,107 ANA-positive patients, 3,809 (53.6%) were found to be anti-ENA positive for at least one specific antibody, while 3,298 (46.4%) were negative. In the anti-ENA profile, antibodies against 11 different antigen types were screened and the most frequently detected antibody was anti-SS-A (22.7%), and this was followed by anti-centromere (12.8%), anti-RNP (10.2%), and anti-dsDNA (9.7%) antibodies. Immunoblot-based anti-ENA tests provide specific information for the diagnosis of autoimmune diseases. In our study, the fact that anti-ENA tests were negative in a significant part of ANA positive patients indicates the inadequacy of the immunoblot test panel and reveals the need for immunoblot tests with wider antibody diversity or any alternative methods.

Keywords: ANA, ENA, Immunoblot, Autoimmune disease.

Giriş

Otoimmün bozukluklar birden fazla organın etkilendiği sistemik hastalık tablolarından, sadece tek organa özgü tutulum gözlenen hastalıklara kadar değişen farklı klinik seyirler gösterebilirler [1]. Sistemik otoimmün romatizmal hastalıklar başlığı altında incelenen bu hastalıklardan bazıları nadir görülürler, ancak neden oldukları heterojen bozukluklar ile önemli morbidite ve mortalite nedenidirler [2,3]. Bu grup hastalıklar arasında, sistemik lupus eritematozus (SLE), Sjögren sendromu (SS), ankilozan spondilit, romatoid artrit (RA), skleroz-skleroderma ve sistemik vaskülit gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklar yer alır [2,4]. Sistemik otoimmün hastalıklarda, hastalığa özgü semptomlar klinik tanıyı kolaylaştırırken, sistemik tutulum varlığında diğer hastalıklar ile karışan semptomlar nedeniyle tanı zorlaşmaktadır [3]. Bu aşamada klinisyenlere ilgili hastalıkların ayırıcı tanısında yardımcı olabilecek otoantikör testleri geliştirilmiştir [5]. İndirekt immünfloresan (IIF) antikör tekniği ile Hep-2 hücrelerindeki tutulumun değerlendirilerek hasta serumunda antinükleer antikör (ANA) varlığının araştırılması

sistemik otoimmün romatizmal hastalıkların tanısında kullanılan maliyet etkin bir tarama yöntemidir [6,7].

Amerikan Romatoloji Akademisi (*American College of Rheumatology, ACR*) otoimmün hastalıklarda tarama testi olarak IIF yöntemiyle ANA varlığının araştırılmasını altın standart yöntem olarak belirlemiştir [8]. Bu strateji maliyet-etkin bir yaklaşım olmasına karşın, emek-yoğun olup, değerlendirme sonuçlarının teknik yorumunun subjektif olması gibi dezavantajlara sahiptir [9]. Bu nedenle, daha objektif bir metot olarak salin vasıtasıyla hücre çekirdeğindeki bazı yapıları ekstrakte ederek, serum örneğinde bu antijenlere karşı oluşan antikör varlığını ölçülebilir kılan immunoblot temelli testler geliştirilmiştir [10]. Bu hücresel yapılar ekstrakte edilebilir nükleer antijen (ENA) olarak adlandırılırlar [11]. ENA'lar arasında asidik bir ribonükleoprotein olan Smith (Sm) antijeni, mRNA işlenmesinde rol oynayan SS-A/Ro, RNA polimeraz 3 için bir kofaktör olan SS-B/La, bir topoizomeraz olan Scl-70, U1-ribonükleoproteini (RNP veya U1RNP) ve histidil tRNA sentetaz enzimi olan Jo-1 gibi

antijenler yer alır [10-14]. Anti-ENA antikoru bazı otoimmün hastalıklar arasındaki ayırıcı tanıyı kolaylaştırır ve bazı durumlarda teşhisin yanında ayrıca hastalığın seyri hakkında klinisyenlere bilgi verir [10,13-17].

Bu çalışmada IIF antikor yöntemi ile ANA pozitifliği saptanan hastalarda çalışılan anti-ENA test (immünoblot) sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirerek otoimmün hastalıkların tanısında bu testlerin yeri ve uygun kullanımı konusunda farkındalık oluşturmayı ve literatüre katkı sunmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 20.06.2023 tarih ve 2023-258 no'lu karar ile onaylanmıştır. Çalışma Helsinki Deklarasyonuna uyumlu şekilde yürütüldü. Hastaların demografik verileri, test sonuçları ve istem yapan klinikler hastane elektronik bilgi sistemi üzerinden elde edildi ve retrospektif olarak incelendi.

Bu çalışmaya Ocak 2018-Aralık 2022 tarihleri arasında hastanemizdeki çeşitli klinik birimler ve polikliniklerden tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gelen ve ANA test istemi olan 37.791 serum örneği dahil edildi. ANA testleri, serum örneklerinin 1:100 oranında dilüe edilmesi sonrasında substrat olarak HEp-2 hücreleri ve maymun karaciğer dokusu içeren slaytlar (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) kullanılarak üretici önerileri doğrultusunda hazırlanan preparatların IIF antikor metodu ile 200x ve 400x büyütmelemlerde floresan mikroskop (EUROStar I, Euroimmun AG, Almanya) altında incelenmesi ve değerlendirilmesi ile yarı kantitatif (+, ++, +++, +++) olarak sonuçlandırıldı.

ANA pozitifliği saptanan tüm numuneler EUROLINE Anti-ENA (IgG) immünoblot yöntemi ile (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) tekrar test edildi ve spesifik otoantikorların varlığı araştırıldı. İmmünoblot test sonuçları EUROlineScan tarayıcı sistemi (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) kullanılarak değerlendirildi ve üretici firmanın tavsiyelerine uygun olarak sinyal yoğunluğu 0-5 aralığında negatif, 6-10 aralığında (+) sınır değer, 11-25 veya 26-50 aralığında pozitif (+,++) ve >50 olan değerler için güçlü pozitif (+++) test sonucu olarak raporlandı.

İstatistiksel analizler

Veriler SPSS v. 22.0 (IBM Corp, Armonk, NY) paket programına aktarıldı ve veri kontrolü ve analizler bilgisayar ortamında yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede tanımlayıcı değerler, ortalama ve (%) yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalar ki-kare testi ve düşük beklenen hücre frekansı varlığında Fisher's Exact testi kullanılarak yapıldı. Karşılaştırma sonuçları %95 güven aralığında $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

ANA test istemi olan 37.791 serum örneğinde 7.107 (%18.8) numunede ANA testi pozitif olarak saptandı. Hastaların 11.604'ü (%30.7) erkek, 26.187'si (%69.3) kadındı. Yaş ortalamaları sırasıyla 43.46 (0-94) ve 46.94 (0-96) olarak tespit edildi.

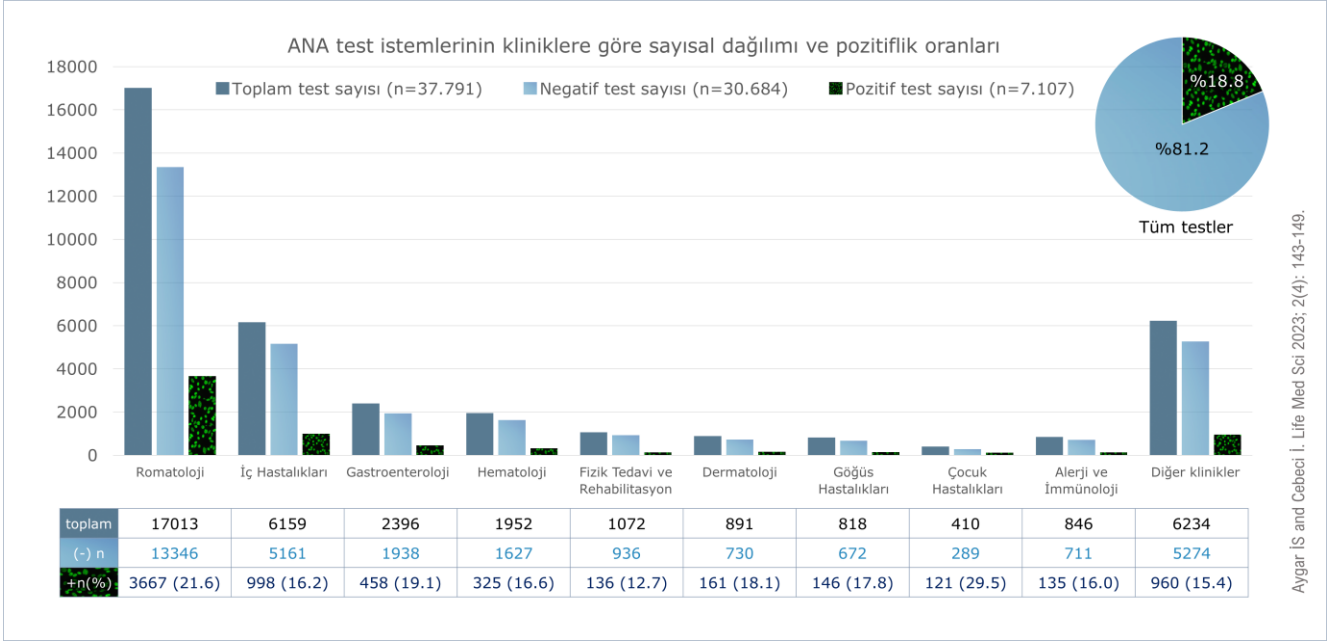
ANA negatif tespit edilen 30.684 hastanın 9.696'sı (%31.6) erkek iken, 20.988 (%68.4)'i kadın idi. Bu hastaların yaş ortalamaları sırasıyla 42.82 (0-94) ve 46.51 (0-96) olarak hesaplandı. ANA testi pozitif olarak saptanan 7.107 hastanın ise 1.462'si (%20.6) erkek, 5.645'i (%79.4) kadındı. Bu hastaların yaş ortalamaları da sırasıyla 47.76 (1-91) ve 48.59 (0-95) olarak hesaplandı. ANA testinin pozitiflik oranı kadınlarda (%24.8) erkeklere (%19.7) göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p < 0.001$).

ANA test istemiyle gelen numunelerin kliniklere göre dağılımı ve pozitiflik oranları incelendiğinde testlerin %45'inin ($n=17.013$) romatoloji kliniğinden, %16.3'ünün ($n=6.159$) ise iç hastalıkları kliniğinden istendiği belirlendi. Toplam 410 test istemi yapılan çocuk hastalıkları kliniği (çocuk alerjisi birimi hariç olmak üzere) %29.5'lik oran ile en yüksek pozitiflik oranına sahipti ve bu kliniği %21.6'lık pozitiflik oranı ile en yüksek sayıda (17.013 test) test istemi yapılan romatoloji kliniği izlemekte idi. Romatoloji biriminden gelen örneklerde ANA testi pozitiflik oranı (%21.6, 3.667/17.013), diğer birimlerin tümü (%16.6, 3.440/20.778) ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). Diğer klinikler ve pozitiflik oranları Şekil 1'de özetlenmiştir.

Anti-ENA antikor varlığının araştırılması için ANA testi pozitif çıkan 7.107 serum örneği tekrar

çalışıldı ve örneklerin 3.809'unda (%53.6) en az bir spesifik antikor için anti-ENA pozitifliği varken, 3.298'inde (%46.4) antikor saptanmadı. ENA profilinde 11 farklı antijen tipine karşı oluşan antikorlar tarandı ve en sık (%22.7) anti-SS-A

antikoru saptanırken, bunu anti-sentromer (%12.8), anti-RNP (%10.2) ve anti-dsDNA (%9.7) antikorları takip etmekte idi. İmmunoblot testi ile taranan tüm anti-ENA antikor tiplerinin değerlendirme sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir.



Şekil 1. ANA test istemiyle gelen numunelerin kliniklere göre sayısal dağılımı ve pozitiflik oranları.

Tablo 1. Anti-ENA immunoblot testi değerlendirme sonuçları.

Titre	anti-SS-A	anti-sentromer	anti-RNP	anti-dsDNA	anti-SS-B	anti-histon	anti-Scl	anti-nükleozom	anti-Sm D1	anti-Jo-1	anti-ribozomal-P
+	169	90	165	209	123	167	125	115	102	86	67
++	122	59	30	41	55	53	27	42	17	22	22
+++	323	199	80	14	78	14	51	18	2	11	11
Toplam (+)	614	348	275	264	256	234	203	175	121	119	100
% (+)	22.7	12.8	10.2	9.7	9.4	8.6	7.5	6.5	4.5	4.4	3.7

Tartışma

Otoimmün romatizmal hastalıklar pek çok ortak özellik ve klinik tabloyu paylaşırsa da, klinik seyir, uygun ilaç ve prognozlarındaki önemli farklılıklar nedeniyle hastalıklar arasında ayırım yapılması önemlidir [3]. Neden oldukları morbidite ve mortalite riski nedeniyle sistemik otoimmün romatizmal hastalıkların erken tanısı önem taşır ve remisyon oranları ve prognozda iyileşme ile ilişkilidir [18,19]. ANA testi, özellikle sistemik tutulum görülen otoimmün hastalığı olan bireyler için ayırıcı tanıda, klinik prezantasyonla korele bir şekilde değerlendirildiğinde kritik öneme sahiptir

[20], ancak ANA varlığının IIF aracılığıyla tespit edilmesi otoimmün hastalıklar açısından kesin tanı koydurucu değildir [21,22].

Bu çalışmada test edilen klinik numunelerde ANA pozitiflik oranını %18.8 (7.107/37.791) olarak bulundu. Ülkemizde yapılan çalışmalarda bu oran %15.4 - %33.3 aralığında bulunmuştur [10,23-26]. Ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çalışmalar incelendiğinde, otoimmün hastalık şüphesi ile en sık ANA test istemi yapan birimin çoğu çalışmada romatoloji olduğu görülmektedir [10,23,27]. Bu çalışmaların birinde en yüksek pozitiflik oranı da yine romatoloji kliniğinde tespit

edilmiştir [27]. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde klinik numuneler en çok romatoloji bölümünden (%45) gönderilirken, az sayıda test istemi yapılan çocuk hastalıkları birimini göz ardı edersek, yine en yüksek pozitiflik oranı (%21.6) da bu klinikte tespit edilmiştir. Bunun yanında, çalışmamızda romatoloji biriminden gelen örneklerde ANA pozitiflik oranı, diğer birimlerin tümü ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). Bu durum romatoloji birimine başvuran hasta popülasyonunun profili (septom ve hastalık) ile ilgili olabileceği gibi, romatoloji uzmanlarının test istemi yaparken daha yüksek farkındalığa sahip olmaları ile de ilişkili olabilir.

Östrojen gibi cinsiyet hormonlarının etkisiyle kadınlarda otoimmün hastalıklara karşı yatkınlık oluşmakta ve ANA düzeyleri kadınlarda yaşla birlikte artış eğiliminde olmak üzere daha yüksek bulunmaktadır [28]. Bizim çalışmamızda da hem otoimmün hastalık şüphesiyle ANA testi istenilen hastaların (%69.3), hem de ANA test sonucu pozitif bulunan hastaların (%79.4) çoğunluğu kadın hastalardı ve ANA pozitiflik oranı erkeklere göre anlamlı derecede ($p < 0.001$) daha yüksekti. Bu veriler otoimmün hastalıkların birkaç istisna dışında kadınlarda daha sık görüldüğü şeklindeki literatür bilgisi ile uyumlu gözükmektedir [16,28,29].

Otoimmün hastalıklar her yaş grubunda görülebilmektedir, bununla beraber genel olarak SLE doğurganlık çağındaki genç kadınlar olmak üzere 15-55 yaş aralığında, romatoid artrit 30-60 yaş aralığında, skleroderma ise 20-50 yaş aralığında bulgu vermeye başlar ve bu hastalıklar da SLE'de olduğu gibi çoğunlukla kadınları etkiler [30]. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde ANA pozitif çıkan hastaların %79.4'ü kadın olup, bu hastalarda yaş ortalaması literatürle uyumlu şekilde 48.59 olarak bulunmuştur.

ANA varlığının IIF yöntemi ile araştırılması, değerlendiren laboratuvar uzmanının deneyimi ve bilgi birikimine bağlı olduğu için bu subjektifliği ortadan kaldırmak adına ANA pozitifliği olan hastalarda hem antikor tipinin saptanması hem de IIF testinin doğrulanması için ikinci basamak testler olarak immunoblot veya ELİSA temelli yöntemler ile spesifik otoantikorların araştırılması

önerilmektedir [14,31]. Bunun dışında ayrıca, IIF incelemelerinde ANA boyanma paternleri çok çeşitlidir ve bazı paternler çok nadirdir, bu nedenle değerlendirmeyi yapan personelin tecrübesine bağlı olarak ANA pozitiflikleri gözden kaçabilmekte veya zayıf pozitif sonuçların yorumlanmasında farklı yaklaşımlar olabilmektedir [15]. Farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda, ANA pozitif örneklerde farklı anti-ENA pozitiflik oranları bildirilmektedir. Türkiye'de yapılan ve 640 ANA pozitif örneğin incelendiği bir çalışmada bu oran %83.7 olarak bulunmuştur [10]. Ülkemizde yapılan 2005 ve 2007 tarihli farklı iki çalışmada ise bu oranlar 208 ANA pozitif hastada %60.5 ve 215 ANA pozitif hastada %79.5 olarak tespit edilmiştir [5,32]. Bizim çalışmamızda, bu oran daha düşük (%53.6) düzeyde bulundu. Bununla beraber, son bahsedilen iki çalışma ile kıyaslandığında çalışılan immüno blot test sayımız yaklaşık 35 kat daha yüksekti. Günümüzde immünoloji laboratuvarları çok daha büyük hacimlerdeki klinik örneklerde ANA tespitine yönelik analizler yapmaktadır. Bu nedenle çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak birçok yönden eksik kalabilir.

ANA pozitif hastalarda tespit edilen anti-ENA antikor tipi de merkezler arasında farklılıklar göstermektedir. Yukarıda bahsedilen üç çalışmada da immüno blot yöntemiyle en sık tespit edilen spesifik antikor tipi anti-SS-A olarak bulunmuştur [5,10,32]. Bu çalışmalardan, Gür Vural ve ark.'nın [10] yaptığı araştırmada en sık rastlanılan üç tip sıklık sırasına göre anti-SS-A (%26.9), anti-SS-B (%17.8) ve anti-RNP (%17.7) olarak bildirilmiştir. Benzer olarak çalışmamızda da en sık anti-SS-A (%22.7) antikor tespit edilirken, takiben anti-sentromer (%12.8), anti-RNP (%10.2), anti-dsDNA (%9.7) ve anti-SS-B (%9.4) antikorları gelmekte idi. Bu farklılığın başlıca çalışmaların yapıldığı merkezlere başvuran hastaların profili ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Laboratuvarımızda yürütülen ve bizim çalışmamızdan önceki bir dönemi kapsayan bir çalışmada ise [6], ANA pozitif hastalarda ANA ile ilişkili otoantikorlardan en sık saptananlar anti-dsDNA ve anti-SS-A olarak bulunmuştur. İlgili çalışmada hem immüno blot hem de ELİSA ile çalışılan anti-dsDNA sonuçlarına yer verilmiş olup, tanı yönteminin antikor dağılımı üzerinde etkili olduğunun bir örneğidir.

IIF yöntemiyle ANA araştırılan ve 1:100 oranında serum dilüsyonu yapılan araştırmalarda ANA negatif hastalarda %1'e yakın oranlarda anti-ENA pozitifliği bildirilmektedir [32,33]. Sadece ANA pozitif hastalara ait immüno blot testlerinin dahil edildiği çalışmamızda, ANA negatifliği olan hastalardaki nadir görülen bu durum incelenmedi. Bununla beraber, laboratuvarımızda yürütülen ve ANA pozitif ve ANA negatif hastalarda hem ELİSA hem de immüno blot testlerinin dahil edildiği önceki bir çalışmada bu oran anti-dsDNA için %3.3 olarak bulunurken, ANA ilişkili diğer spesifik otoantikörler için pozitiflik oranları %0.0-0.31 aralığında değişmekte idi [6].

Çalışmamızın en önemli kısıtlılıklarından biri ANA boyanma paternlerinin sunulmaması ve bu nedenle spesifik otoantikörler ve özgün paternler arasında karşılaştırmalı analizlerin yapılamamasıdır. Ayrıca kullandığımız immüno blot tanı kitinin panel kapsamı nedeni ile laboratuvarımızda sadece 11 farklı anti-ENA tipini araştırabilmemiz nedeni ile IIF yöntemiyle ANA pozitifliği saptanan hastaların önemli bir bölümü (%46.4) için spesifik antikör tiplerini belirleyemedik. Çalışmanın bir diğer önemli kısıtlılığı ise ANA testleri için 1:100

ve 1:160 serum dilüsyonları için karşılaştırmalı analizlerinin eksik olmasıdır.

Sonuç

IIF yöntemiyle ANA varlığının araştırılması yaygın kullanılan bir tarama yöntemi olarak kabul görmüştür. İmmüno blot temelli anti-ENA testleri ise hem IIF yöntemi ile tespit edilen ANA varlığını doğrulamak hem de otoimmün hastalıklar için ayırıcı tanı ve bazı durumlarda hasta takibinde kullanılabilen spesifik otoantikörlerin belirlenmesi için kullanılan önemli tanısal araçlardır. IIF testleri ile saptanan ANA pozitifliklerinin ve hatta bazı durumlarda spesifik antikör pozitifliklerinin her zaman klinik otoimmün hastalık tablosu ile ilişkili olmayabileceği akılda tutulmalıdır. IIF yöntemiyle ANA testlerinin değerlendirilmesinde subjektif faktörlerin varlığı, anti-ENA testlerinin ise farklı performans özelliklerine sahip kitler ve yöntemler ile çalışıldığı dikkate alınarak, otoantikör testleri klinik tanıyı destekleyici yardımcı testler olarak görülmeli ve spesifik otoimmün hastalık varlığını düşündürülen belirtilerin yokluğunda bu testlerin istenilmemesi ve gereksiz istemlerin ek maliyetler ve işgücü kaybına neden olacağı bilinmelidir.

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

Kaynaklar

1. Fridkis-Hareli M. Immunogenetic mechanisms for the coexistence of organ-specific and systemic autoimmune diseases. *J Autoimmune Dis* 2008; 5: 1. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
2. Yu KH, Kuo CF, Huang LH, Huang WK, See LC. Cancer Risk in Patients With Inflammatory Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases: A Nationwide Population-Based Dynamic Cohort Study in Taiwan. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(18): e3540. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
3. Goldblatt F, O'Neill SG. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *Lancet* 2013; 382(9894): 797-808. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Haag H, Liang T, Avina-Zubieta JA, De Vera MA. How do patients with systemic autoimmune rheumatic disease perceive the use of their medications: a systematic review and thematic synthesis of qualitative research. *BMC Rheumatol* 2018; 2: 9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
5. Afşar İ, Şener AG, Vural A, Hızlı N, Türker M. Anti nükleer antikörlerin pozitif saptandığı hastalarda immunoblotting test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 2007; 37(1): 39-42.
6. Tekin K, Karakuş H, Karabulut S, Şahiner F, Gümral 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): 125-36. [[Crossref](#)]
7. Mahler M, Fritzler MJ. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 494356. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
8. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(8): 1420-2. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
9. Au EY, Ip WK, Lau CS, Chan YT. Evaluation of a multiplex flow immunoassay versus conventional assays in detecting autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Hong Kong Med J* 2018; 24(3): 261-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
10. Gür Vural D, Tanrıverdi Çaycı Y, Bıyık İ, Bilgin K, Birinci A. Evaluation of immunoblotting test results in patients with positive antinuclear antibodies. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2021; 78(4): 443-50. [[Crossref](#)]
11. 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](#)]

- 12.** 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](#)]
- 13.** Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125 (2): S238-47. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 14.** Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, Kozmar A, Gugo K. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. *Biochem Med (Zagreb)* 2021; 31(2): 020502. Erratum in: *Biochem Med (Zagreb)* 2022; 32(1): 011201. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 15.** Damoiseaux JG, Tervaert JW. From ANA to ENA: how to proceed? *Autoimmun Rev* 2006; 5(1): 10-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 16.** 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](#)]
- 17.** Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al; European Study Group on Classification Criteria for Sjögren's Syndrome. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(6): 554-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 18.** Karaoğlu AS, Yılmaz T, Şencan İ. Awareness of Physicians on Celiac Disease and the Effect of Education. *J Mol Virol Immunol* 2023; 4(2): 83-92. [[Crossref](#)]
- 19.** Op De Beeck K, Vermeersch P, Verschueren P, Westhovens R, Mariën G, Blockmans D, et al. Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence and by solid phase assay. *Autoimmun Rev* 2011; 10(12): 801-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 20.** Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol* 2009; 4: 1. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 21.** Li QZ, Karp DR, Quan J, Branch VK, Zhou J, Lian Y, et al. Risk factors for ANA positivity in healthy persons. *Arthritis Res Ther* 2011; 13(2): R38. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 22.** Colglazier CL, Sutej PG. Laboratory testing in the rheumatic diseases: a practical review. *South Med J* 2005; 98(2): 185-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 23.** 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.
- 24.** Samancı Aktar G, Ayaydın Z, Onur AR, Gür Vural D, Temiz H. Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İFA Yöntemiyle Çalışılan Otoantikor Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Turk J Immunol* 2017; 5(3): 77-81.
- 25.** Üsküdar Cansu D, Üsküdar Teke H, Gündüz E, Korkmaz C. Günlük pratikte antinükleer antikor (ANA) istemleri ve pozitifliklerinin kliniklere göre dağılımı: ANA testi en çok hangi bölümlerden istenmektedir? *Ulus Romatol Derg* 2019; 11(1): 16-22.
- 26.** 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.
- 27.** 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](#)]
- 28.** 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](#)]
- 29.** Marder W, Vinet É, Somers EC. Rheumatic autoimmune diseases in women and midlife health. *Womens Midlife Health* 2015; 1: 11. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 30.** Angum F, Khan T, Kaler J, Siddiqui L, Hussain A. The Prevalence of Autoimmune Disorders in Women: A Narrative Review *Cureus* 2020; 12(5): e8094. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 31.** Alsaed OS, Alamlıh LI, Al-Radideh O, Chandra P, Alemadi S, Al-Allaf AW. Clinical utility of ANA-ELISA vs ANA-immunofluorescence in connective tissue diseases. *Sci Rep* 2021; 11(1): 8229. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- 32.** Yumuk Z, Çalışkan S, Gündeş S, Willke A. Anti-Nükleer Antikorların (ANA) Araştırılması ve Saptanmasında Kullanılan Teknikler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35(1): 40-4.
- 33.** 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](#)]