

Актуальные вопросы стандартизации исследования антинуклеарных антител методом непрямой иммунофлюоресценции на HEp-2 – клетках

Е. Н. Александрова¹, А. А. Новиков¹, С. П. Казаков^{2,3}, Н. Г. Клюквина⁴, В. И. Васильев⁴, Г. В. Лукина^{1,5}

¹ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

²ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

⁴ООО «Ревмоцентр», Москва

⁵ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В. А. Насоновой», Москва

РЕЗЮМЕ

Введение. Антинуклеарные антитела (АНА) – гетерогенная группа органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы. Исследование АНА в сыворотке крови с помощью непрямой реакции иммунофлюоресценции на HEp-2 клетках (ИРИФ-HEp-2) служит эталонным скрининговым тестом для диагностики системных аутоиммунных ревматических заболеваний, лекарственной волчанки, аутоиммунных заболеваний печени, ювенильного хронического артрита. В повседневной клинико-лабораторной практике остаются нерешенными вопросы стандартизации ИРИФ-HEp-2, связанные с разработкой унифицированной формы отчета о результатах определения АНА данным методом, в том числе касающиеся оценки скрининговых и конечных титров АНА, кодировки типов свечения, порядка выполнения подтверждающих тестов.

Цель исследования. Разработать стандартную форму отчета о результатах исследования АНА методом ИРИФ-HEp-2.

Материал и методы. Анкетирование 10 иммунологических и клинико-диагностических лабораторий с использованием опросника ICAP, адаптированного рабочей группой по стандартизации определения АНА методом ИРИФ-HEp-2 комитета по иммунологии ассоциации специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины».

Результаты. Согласно результатам анкетирования 10 отечественных иммунологических и клинико-диагностических лабораторий по девяти актуальным вопросам, касающимся стандартизации отчета о результатах исследования АНА методом ИРИФ-HEp-2, большинство участников опроса: используют скрининговое разведение сыворотки 1:160; указывают максимальный конечный титр АНФ; учитывают цитоплазматические типы свечения в качестве положительных или отрицательных результатов определения АНА в ИРИФ-HEp-2; идентифицируют типы свечения, включая использование АС-кодировки; считают обязательным проведение подтверждающих тестов для выявления АНА к отдельным ядерным антигенам у АНФ-положительных пациентов, но не представляют перечень данных исследований в бланке выдачи результатов; регистрируют титры АНФ для каждого из обнаруженных типов свечения отдельно; обозначают титры АНФ с помощью двоеточия; не дают клинической интерпретации полученных данных. На основе межлабораторного консенсуса с учетом рекомендаций ICAP и требований ГОСТ Р ИСО 15189–2015 разработана модель унифицированного отчета о результатах исследования АНА методом ИРИФ-HEp-2.

Выводы. Для обеспечения качества взаимодействия клинико-диагностических и иммунологических лабораторий с клиническими подразделениями ЛПУ необходимо внедрение в практику унифицированного отчета о результатах исследования АНА методом ИРИФ-HEp-2, разработанного на основе современных клинических рекомендаций и межлабораторного консенсуса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антинуклеарные антитела, непрямая реакция иммунофлюоресценции, HEp-2 – клетки, титры, типы свечения, номенклатура, подтверждающие тесты, отчет о результатах исследования, стандартизация.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы подтверждают, что статья или ее части ранее не были опубликованы.

Current issues of standardization of antinuclear antibodies' detection by indirect immunofluorescence on HEp-2 cells

E. N. Aleksandrova¹, A. A. Novikov¹, S. P. Kazakov^{2,3}, N. G. Klyukvina⁴, V. I. Vasiliev⁴, G. V. Lukina^{1,5}

¹A. S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia

²Main Military Clinical Hospital n.a. academician N. N. Burdenko of the Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia

³Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

⁴Revmocentre Co., Moscow, Russia

⁵V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia

SUMMARY

Background. Antinuclear antibodies (ANA) are a group of antibodies that target nuclear and cytoplasmic antigens. Testing for ANA using an immunofluorescence assay (IFA) on HEp-2 cell (IFA-HEp-2) is a screening test for the diagnosis of systemic autoimmune rheumatic diseases, drug-induced lupus erythematosus, autoimmune liver diseases, juvenile idiopathic arthritis. In routine ANA testing final report forms bears important, but unstandardized variables (e.g., screening and final titers of ANA, coding of glow types, the procedure for performing confirmatory tests).

Aim of the study. Develop a standard report form for IFA-HEp-2 testing results.

Material and methods. Survey of 10 immunological and clinical diagnostic laboratories using the ICAP questionnaire adapted by the Working Group on Standardization of the definition of ANA by the IFA-HEp-2 method (Committee on Immunology of the Association 'Federation of Laboratory Medicine').

Results. According to the results of a survey: most of the participants use a screening dilution of serum 1:160; indicates the maximum end titer of antinuclear factor (ANF), cytoplasmic staining; identifies staining types (including AC encoding); considers it mandatory to make confirmatory tests to detect ANA to individual nuclear antigens in ANF-positive patients, but does not provide a list of these tests in the results form; describes ANF titer for each of the detected glows separately; designates ANF titers using a colon and does not give a clinical interpretation of the results. Based on interlaboratory consensus, ICAP recommendations and the requirements of ISO 15189, the standard report form for IFA-HEp-2 testing results was developed.

Conclusions. To achieve high quality of interaction between clinical diagnostic/immunological laboratories and clinical departments of health care facilities, it's necessary to introduce into practice a standard form for IFA-HEp-2 testing results, developed relying on modern clinical recommendations and interlaboratory consensus.

KEYWORDS: antinuclear antibodies, indirect immunofluorescence assay, HEp-2 cells, titers, immunofluorescence patterns, nomenclature, confirmatory tests, test results report, standardization.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

The authors confirm that the article or parts of it have not been previously published.

Введение

Антиядерные антитела (АНА) – гетерогенная группа органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы (антитела к двуспиральной-дс-ДНК, гистонам, нуклеосомам, экстрагируемым ядерным антигенам – Sm, U1 рибонуклеопротеину, Ro/SSA, La/SSB, Scl-70, Jo-1, рибосомальному белку Р, ядрышковым антигенам и другим клеточным структурам) [1, 2]. Рекомендуется двухэтапная стратегия определения АНА в сыворотке крови: на первом этапе осуществляется скрининг АНА в непрямой реакции иммунофлюоресценции (НРИФ) при использовании в качестве субстрата HEp-2 клеток (эпителиальных клеток рака гортани человека) (НРИФ-HEp-2); на втором этапе пациентам с положительными результатами НРИФ-HEp-2 выполняются подтверждающие («рефлекс», каскадные) тесты, которые идентифицируют специфические антитела к отдельным ядерным антигенам с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), иммуноблота (ИБ), флюоресцентного, хемилюминесцентного и мультиплексного иммунного анализа (ФИА, ХЛИА, МИА) [2, 3–6]. Исследование АНА методом НРИФ-HEp-2 служит эталонным скрининговым тестом для диагностики системных аутоиммунных ревматических заболеваний (САРЗ), лекарственной волчанки, аутоиммунных заболеваний печени, ювенильного хронического артрита [1, 7]. При определении АНА в НРИФ на HEp-2 клетках либо на криостатных срезах печени / почек крыс (мышей), их традиционно обозначают как антиядерный фактор (АНФ). Применение стандартизованных HEp-2-клеток в качестве субстрата предпочтительнее, так как позволяет существенно повысить чувствительность метода и описать различные типы свечения ядра и цитоплазмы [2]. НРИФ-HEp-2 имеет ряд известных ограничений, включая субъективную оценку результатов теста, длительное обучение персонала для дифференцировки типов свечения, отсутствие квалифицированной экспертной оценки, полуколичественный учет результатов теста в титрах, недостаточную стандартизацию субстратов, реагентов и микроскопической техники, фотообесцвечивание препаратов, методические различия, что приводит к внутри- и межлабораторной вариабельности полученных данных [8]. Перспективным направлением стандартизации и улучшения воспроизводимости исследования АНА методом НРИФ-HEp-2 является применение автоматизированных систем визуализации и интерпре-

тации клеточных иммунофлюоресцентных тестов [9]. Важную роль в стандартизации НРИФ-HEp-2 играет разработанная Международным консенсусом по паттернам АНА (International consensus on ANA patterns, ICAP) новая номенклатура типов ядерного, цитоплазматического и митотического свечения, включающая 30 вариантов «антиклеточных» (anti-cell, AC) паттернов с AC-0 по AC-29 [6, 10, 11]. В условиях повседневной клинической практики остаются нерешенными вопросы стандартизации НРИФ-HEp-2, связанные с разработкой унифицированной формы отчета о результатах определения АНА данным методом, в том числе касающиеся скрининговых и конечных титров обнаружения АНА, «АС»-кодировки типов свечения, порядка выполнения подтверждающих тестов [12].

Цель исследования: разработать стандартную форму отчета о результатах исследования АНА методом НРИФ-HEp-2 на основе межлабораторного консенсуса с учетом отечественных и международных рекомендаций.

Материал и методы

С января по июнь 2022 года было проведено анкетирование с использованием опросника ICAP [12], адаптированного рабочей группой по стандартизации определения АНА методом НРИФ-HEp-2 комитета по иммунологии ассоциации специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины». Опросник включал следующие пункты.

1. Какое скрининговое разведение сыворотки следует использовать при определении АНА в НРИФ-HEp-2?
2. До какого разведения необходимо титровать сыворотку?
3. Учитывать ли цитоплазматические типы свечения?
4. Имеет ли значение для клиницистов указание типа свечения?
5. Нужно ли применять кодировку типов свечения по ICAP при выдаче результатов?
6. Обязательно ли представлять в отчете необходимость выполнения и перечень подтверждающих (каскадных, рефлекс-тестов) исследований при положительных результатах определения АНА?
7. Как указывать титр АНФ при различной интенсивности свечения нескольких паттернов?
8. Как лучше указывать титр АНФ (используя двоеточие [1:160] или косую разделительную [1/160])?

9. Нужно ли в комментариях на бланке выдачи результатов анализа описывать клинические состояния, которым соответствуют обнаруженные паттерны АНФ?

В анкетировании приняли участие специалисты 10 иммунологических и клиничко-диагностических лабораторий – Московского клинического научно-практического центра имени А. С. Логинова (Москва); Научно-исследовательского института ревматологии имени В. А. Насоновой» (Москва); Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова (Санкт-Петербург); Главного военного клинического госпиталя имени академика Н. Н. Бурденко (Москва); Центрального НИИ эпидемиологии (Москва); ГКБ имени В. М. Буянова (Москва); Пензенской областной клинической больницы имени Н. Н. Бурденко (г. Пенза); ООО «ИНВИТРО СПб» (Санкт-Петербург); ООО «Лаборатория Гемотест» (Москва); ООО «Ревмоцентр» (Москва).

Результаты

Основные результаты анкетирования 10 лабораторий с использованием опросника, касающегося стандартизации отчета о результатах определения АНА методом НРИФ-НЕР-2, представлены в таблице. Как из нее следует, 9 (90%) лабораторий используют в качестве скринингового титр 1:160, 1 (10%) лаборатория – 1:80. 8 (80%) лабораторий указывают в бланке выдачи результатов максимальный конечный титр АНФ, проводя разведение сыворотки до прекращения флюоресценции, причем одна из них – до 1:20480. 1 (10%) лаборатория осуществляет конечное разведение сыворотки до 1:1280, 1 (10%) – до 1:2560. 9 (90%) респондентов учитывают цитоплазматические типы свечения как положительные/отрицательные результаты определения АНА в НРИФ-НЕР-2.

Все (100%) участники опроса обязательно идентифицируют типы свечения при исследовании АНА методом НРИФ-НЕР-2, считая оценку паттернов АНФ клинически значимой. 8 (80%) лабораторий применяют АС-кодировку типов свечения; 2 (20%) – не используют. 8 (80%) анкетированных лабораторий полагают необходимым выполнение

подтверждающих тестов (ИФА, ИБ и др.) для выявления антиген-специфических АНА у АНФ-положительных пациентов, однако лишь 3 (37,5%) из 8 лабораторий представляют перечень данных исследований в бланке выдачи результатов определения АНА методом НРИФ-НЕР-2. Следует подчеркнуть, что 2 (20%) из 10 участников опроса не считают обязательным проведение подтверждающих тестов. При разной интенсивности нескольких типов свечения АНФ, одновременно присутствующих у ряда пациентов, 6 (60%) лабораторий указывают титры для каждого паттерна отдельно, в то время как 4 (40%) лаборатории отмечают титр только основного, наиболее выраженного типа свечения. 7 (70%) лабораторий представляют титр АНФ, используя двоеточие (1:160), 2 (20%) – косую разделительную (1/160), 1 (10%) – оба данных варианта. В комментариях к исследованию АНА методом НРИФ-НЕР-2 на бланке выдачи результатов анализа 3 (30%) лаборатории самостоятельно описывают клинические состояния, которым соответствуют обнаруженные паттерны АНФ; 4 (40%) лаборатории не интерпретируют клиническое значение данного теста, 3 (30%) лаборатории затруднились ответить на указанный пункт опросника.

На основе межлабораторного консенсуса с учетом требований ГОСТ Р ИСО 15189–2015 была разработана модель унифицированного отчета о результатах исследования АНА методом НРИФ-НЕР-2 (см. *рис.*).

Обсуждение

Таким образом, согласно результатам анкетирования 10 отечественных иммунологических и клиничко-диагностических лабораторий по 9 актуальным вопросам, касающимся стандартизации отчета о результатах исследования АНА методом НРИФ-НЕР-2, большинство участников опроса: используют скрининговое разведение сыворотки 1:160; указывают максимальный конечный титр АНФ; учитывают цитоплазматические типы свечения в качестве положительных или отрицательных результатов определения АНА в НРИФ-НЕР-2; идентифицируют типы свечения, включая использование АС-кодировки; считают обязательным проведение подтверждающих тестов для

Таблица
Результаты анкетирования с использованием опросника по стандартизации отчета о результатах определения АНА методом НРИФ-НЕР-2

Учреждение	Скрининговое разведение сыворотки	Конечное разведение сыворотки	Учет цитоплазматических типов свечения как АНФ+ или АНФ–	Указание типа свечения имеет значение	АС-кодировка типа свечения	Подтверждающие тесты
МКНЦ им. А. С. Логинова ДЗМ	1:160	1:2560	Да	Да	Да	Да
НИИР им. В. А. Насоновой	1:160	Пока не прекратится свечение	Да	Да	Да	Да
ПСПб ГМУ им. акад. И. П. Павлова	1:160	Пока не прекратится свечение	Да	Да	Да	Да
ГВКГ им. Н. Н. Бурденко МО РФ	1:160	Пока не прекратится свечение	Да	Да	Да	Да
ЦНИИ Роспотребнадзора	1:80	Пока не прекратится свечение	Да	Да	Нет	Нет
ГКБ им. В. М. Буянова	1:160	Пока не прекратится свечение	Нет	Да	Нет	Да
ПОКБ им. Н. Н. Бурденко	1:160	Пока не прекратится свечение	Да	Да	Да	Да
ИНВИТРО СПб	1:160	1:20480	Да	Да	Да	Нет
Лаборатория Гемотест	1:160	Пока не прекратится свечение	Да	Да	Да	Да
Ревмоцентр	1:160	1:1280	Да	Да	Да	Да

выявления АНА к отдельным ядерным антигенам у АНФ-положительных пациентов, но не представляют перечень данных исследований в бланке выдачи результатов; регистрируют титры АНФ для каждого из обнаруженных типов свечения отдельно; обозначают титры АНФ с помощью двоеточия; не дают клинической интерпретации полученных данных. Международной группой экспертов были проанализированы ответы на опросник ICAP, полученные из 118 лабораторий 68 стран [12]. Отмечено, что основная часть респондентов (79%) проводят скрининг АНА в НРИФ-НЕР-2 в титре 1:80 и лишь 26% лабораторий – с последующим скрининговым разведением сыворотки до 1:160. 15% участников опроса используют в качестве конечного титра АНФ разведение сыворотки 1:640, 38% – 1:1280, 17% – 1:2560, 16% – 1:5120, 9% – 1:10240. 55% лабораторий рассматривают результаты выявления изолированного цитоплазматического свечения в НРИФ-НЕР-2 как АНФ-положительные, 33% – как отрицательные. Большинство (82%) респондентов подчеркивают необходимость и клиническую информативность оценки типов свечения при исследовании АНА методом НРИФ-НЕР-2, однако, в отличие от наших данных, только 27% лабораторий применяют АС-кодировку ICAP для обозначения паттернов АНФ. Половина (51%) опрошенных лабораторий самостоятельно выполняют подтверждающие рефлекс-тесты (без нового врачебного направления на исследование) или последовательные каскадные тесты (после нового назначения лечащего врача) с помощью твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, ИБ и др.) для обнаружения антител к отдельным ядерным и цитоплазматическим антигенам у пациентов с положительными результатами определения АНА в НРИФ-НЕР-2.

Противоречивость ответов на вопросы анкеты ICAP, касающиеся скрининговых и конечных титров обнаружения АНА, применения «АС»-кодировки для оценки типов свечения, необходимости проведения подтверждающих тестов, зарубежные эксперты связывают с отсутствием национальных рекомендаций по тестированию АНА методом НРИФ-НЕР-2 в 81% стран,

Наименование организации
Наименование лаборатории

Ф.И.О. пациента: _____ Ф.И.О. врача: _____
 Возраст пациента: _____ Материал сыворотка
 Номер образца: _____ Дата поступления образца: _____
 Диагноз (МКБ): _____ Дата выполнения исследования: _____
 Метод: непрямая иммунофлюоресценция на клетках линии НЕР-2 Дата выдачи результата: _____

Наименование	Результат		Реф. интервал
Исследование АНФ	Титр	Тип свечения	< 1:160
	1:320	Ядерный мелкокрапчатый (АС5)	

Врач КДЛ: _____ М.П. _____

Рисунок. Модель унифицированного отчета о результатах исследования АНА методом НРИФ-НЕР-2.

участвовавших в данном опросе [12]. Согласно отечественным и зарубежным рекомендациям, скрининговое разведение сыворотки 1:160 отражает оптимальное соотношение диагностической чувствительности и диагностической специфичности метода определения АНА с помощью НРИФ-НЕР-2 и позволяет идентифицировать 95% больных САРЗ и 95% здоровых лиц [1, 6, 7, 12, 13]. В клинических рекомендациях представлена научно обоснованная точка зрения о необходимости указания в бланке выдачи результатов НРИФ-НЕР-2 максимального конечного титра АНФ, полученного при разведении сыворотки до прекращения флюоресценции [1, 5, 7, 13]. Однако в реальной клинической практике в связи с отсутствием корреляции большинства паттернов АНА, кроме гомогенного, с активностью САРЗ рекомендуется использовать конечный титр, не превышающий 1:640–1:1280 [12]. В рекомендациях по определению АНА методом НРИФ-НЕР-2 подчеркивается важность учета цитоплазматического типа свечения как положительного или отрицательного результата теста [6, 12]. В частности, особое значение имеет выявление антимитохондриальных антител (АС-21) при первичном билиарном холангите, антител к рибосомальному белку Р (АС-19) при системной красной волчанке, антисинтеазных антител (АС-19 и АС-20) при идиопатических воспалительных миопатиях. Большинство (80%) исследователей придерживаются современных рекомендаций, согласно которым указание паттернов иммунофлюоресценции важно для клиницистов, так как тип свечения в НРИФ-НЕР-2 отражает присутствие различных субтипов АНА, специфичных для ряда САРЗ, что позволяет обоснованно назначать спектр подтверждающих (каскадных, «рефлекс-») тестов с использованием твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, иммуноблот, ХЛИА, МИА) при наличии соответствующих клинических признаков [1, 6, 12]. По мнению небольшого числа (10%) клиницистов, идентификация типов свечения имеет ограниченное диагностическое значение, поскольку при положительных результатах скринингового определения антиядерных АНА в НРИФ-НЕР-2 врачи часто назначают подтверждающие исследования для определения антител к экстрагируемым ядерным антигенам и другим антиген-специфическим АНА, ориентируясь на клинические проявления заболевания и титры АНФ, а не на паттерны иммунофлюоресценции, оценку которых они считают субъективной [12]. В унифицированной форме отчета о результатах тестирования АНА в НРИФ-НЕР-2 настоятельно рекомендуется указывать типы ядерного, цитоплазматического и митотического свечения (АС1–АС29) по классификации ICAP, что необходимо для стандартизации определения АНФ, навигации по сайту ICAP (www.ANAPatterns.org), участия в программах внешней оценки качества результатов исследования [6, 12]. В случае обнаружения у пациента АНФ лаборатория должна предоставить перечень подтверждающих тестов, необходимых для исследования антиген-специфических АНА с применением твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, иммуноблот, ХЛИА, МИА), в зависимости от обнаруженного типа свечения [6, 12]. В бланке отчета о результатах определения АНА методом НРИФ-НЕР-2 рекомендуется указывать конечные титры для каждого из выявленных паттернов АНФ в отдельности при их различной интенсивности (например, ядерное гомогенное свечение – АС-1–1:1280, цитоплазматическое свечение Гольджи – АС-22–1:160) [12]. Допускается указывать титры АНФ, используя как двоеточие (предпочти-

тельное), так и косую разделительную [12]. В комментарии к результатам исследования АНА в НРИФ-НЕР-2 должна содержаться информация о том, что корректная интерпретация теста может проводиться только лечащим врачом с учетом клинической картины заболевания [12].

Модель унифицированного отчета о результатах определения АНА методом НРИФ-НЕР-2, разработанная нами на основе межлабораторного консенсуса с учетом требований ГОСТ Р ИСО 15189–2015, согласуется с рекомендациями ICAP, за исключением пункта о необходимости предоставления списка подтверждающих исследований для анализа антиген-специфических АНА у АНФ-позитивных пациентов (в большинстве отечественных лабораторий эти тесты выполняются после их назначения лечащим врачом в зависимости от типа свечения АНФ и клинических данных).

Заключение

Для обеспечения качества взаимодействия клинко-диагностических и иммунологических лабораторий с клиническими подразделениями ЛПУ необходимо внедрение в практику унифицированного отчета о результатах исследования АНА методом НРИФ-НЕР-2, разработанного на основе современных клинических рекомендаций и межлабораторного консенсуса по вопросам, касающимся скрининговых и конечных титров АНА, «АС» – номенклатуры типов свечения, необходимости проведения и перечня подтверждающих тестов.

Список литературы / References

1. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Лабораторная диагностика ревматических заболеваний. В кн.: Насонов Е.Л., ред. Российские клинические рекомендации. Ревматология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019: 302–320. Alexandrova EN, Novikov AA, Nasonov EL. Laboratory diagnosis of rheumatic diseases. In Nasonov E.L., ed. Russian Clinical Guidelines. Rheumatology. [Rossiyskie Klinicheskie Rekomendatsii. Revmatologiya]. Moscow: GEOTAR-Media; 2019: 302–320 (in Russian).
2. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M. et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis*. 2014; 73 (1): 17–23.

Сведения об авторах

Александрова Елена Николаевна, д.м.н., зав. лабораторией клинической иммунологии¹. ORCID: 0000-0003-4074-5907

Новиков Александр Александрович, д.б.н., в.н.с. лаборатории клинической иммунологии¹. ORCID: 0000-0002-2738-2956

Казakov Сергей Петрович, д.м.н., доцент, начальник центра клинической лабораторной диагностики – главный лаборант госпиталя², зав. кафедрой медицинской биохимии и иммунопатологии³. ORCID: 0000-0001-6528-105

Клюкина Наталия Геннадьевна, д.м.н., врач-ревматолог⁴. ORCID: 0000-0002-6471-9415

Васильев Владимир Иванович, д.м.н., проф., врач-ревматолог⁴. ORCID: 0000-0002-1425-8622

Лукина Галина Викторовна, д.м.н., проф., зав. отделом ревматологии¹, в.н.с. лаборатории эволюции ревматоидного артрита⁵. ORCID: 0000-0001-7958-5926

¹ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

²ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

⁴ООО «Ревмоцентр», Москва

⁵ФГБУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой», Москва

Автор для переписки: Александрова Елена Николаевна.
E-mail: alexandrovaen2015@yandex.ru

Для цитирования: Александрова Е.Н., Новиков А.А., Казakov С.П., Клюкина Н.Г., Васильев В.И., Лукина Г.В. Актуальные вопросы стандартизации исследования антинуклеарных антител методом непрямой иммунофлуоресценции на НЕР-2 – клетках. Медицинский алфавит. 2022; (29): 36–40. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-29-36-40>.

3. Mahler M, Meroni PL, Bossuyt X, Fritzler MJ. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J Immunol Res*. 2014; 2014: 315179.
4. Meroni PL, Biggoggero M, Pierangeli SS, Sheldon J, Zegers I, Borghi MO. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2014; 10 (1): 35–43.
5. Tozzoli R, Bonaguri C, Melegari A, Antico A, Bassetti D, Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51: 129–138.
6. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, et al. Clinical relevance of HEP-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis*. 2019; 78 (7): 879–889. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214436.
7. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum*. 2002; 47 (4): 434–44.
8. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Верижников Ж.Г., Лукина Г.В. Современный взгляд на проблемы исследования антинуклеарных антител при системной красной волчанке (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (6): 340–348. Alexandrova EN, Verizhnikova ZhG, Novikov AA, Lukina GV. Modern look at the problems of investigation of anti-nuclear antibodies in systemic lupus erythematosus (literature review). *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2018; 63 (6): 340–348. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-340-348>.
9. Willitzki A, Hiemann R, Peters V, Sack U, Schierack P, Rödigier S, et al. New platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012: 284740.
10. Chan EKL, von Mühlen CA, Fritzler MJ, Damoiseaux J, Infantino M, Klotz W, Satoh M, Musset L, Garcia-De La Torre I, Carballo OG, Herold M, de Melo Cruvinel W, Mimori T, Andrade LEC; ICAP Committee. The International Consensus on ANA Patterns (ICAP) in 2021-The 6th Workshop and Current Perspectives. *J Appl Lab Med*. 2022 Jan 5; 7 (1): 322–330. DOI: 10.1093/jalm/jfab140.
11. Ткаченко О.Ю., Лапин С.В., Мазинг А.В., Тотолян А.А. Русскоязычная адаптация международной номенклатуры типов свечения ядра и цитоплазмы клетки (ICAP) для стандартизации выявления антинуклеарного фактора. Медицинская иммунология. 2020; 22 (6): 1195–1214. DOI: 10.15789/1563-0625-RVO-2067. Tkachenko O. Yu., Lapin S. V., Mazing A. V., Totolian A. A. Russian-language version of the International Nomenclature of Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP). *medical Immunology*. 2020; 22 (6): 1195–1214. (In Russ.) DOI: 10.15789/1563-0625-RVO-2067.
12. von Mühlen CA, Garcia-De La Torre I, Infantino M, Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Carvalho Francescantonio PL, Fritzler MJ, Herold M, Klotz W, de Melo Cruvinel W, Mimori T, Satoh M, Musset L, Chan EKL. How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on HEP-2 cells: guidelines from the ICAP initiative. *Immunol Res*. 2021; 69 (6): 594–608. DOI: 10.1007/s12026-021-09233-0.
13. Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, Gordon T, Hardin JA, Kalden JR, Lahita RG, Maini RN, McDougall JS, Rothfield NF, Smeenk RJ, Takasaki Y, Wiik A, Wilson MR, Koziol JA. Range of antinuclear antibodies in «healthy» individuals. *Arthritis Rheum*. 1997; 40 (9): 1601–11. DOI: 10.1002/art.1780400909.

Статья поступила / Received 29.10.22

Получена после рецензирования / Revised 11.11.22

Принята к публикации / Accepted 13.11.22

About authors

Alexandrova Elena N., DM Sci (habil.), head of Laboratory of Clinical Immunology¹. ORCID: 0000-0003-4074-5907

Novikov Alexander A., DBio Sci (habil.), leading researcher at Laboratory of Clinical Immunology¹. ORCID: 0000-0002-2738-2956

Kazakov Sergey P., DM Sci (habil.), associate professor, head of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics – chief laboratory assistant², head of Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology³. ORCID: 0000-0001-6528-105

Klyukina Natalia G., DM Sci (habil.), rheumatologist⁴. ORCID: 0000-0002-6471-9415

Vasiliev Vladimir I., DM Sci (habil.), professor, rheumatologist⁴. ORCID: 0000-0002-1425-8622

Lukina Galina Viktorovna, DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Rheumatology¹, leading researcher at Laboratory of the Evolution of Rheumatoid Arthritis⁵. ORCID: 0000-0001-7958-5926

¹A. S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia

²Main Military Clinical Hospital n.a. academician N. N. Burdenko of the Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia

³Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

⁴Revmocentre Co., Moscow, Russia

⁵V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia

Corresponding author: Alexandrova Elena N.
E-mail: alexandrovaen2015@yandex.ru

For citation: Alexandrova E.N., Novikov A.A., Kazakov S.P., Klyukina N.G., Vasiliev V.I., Lukina G.V. Current issues of standardization of antinuclear antibodies' detection by indirect immunofluorescence on HEP-2 cells. *Medical alphabet*. 2022; (29): 36–40. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-29-36-40>.

