

Определение антинуклеарных антител: рекомендации EFLM, EASI, ICAP и РАМЛД

А. А. Новиков¹, Е. Н. Александрова¹, Г. В. Лукина¹, С. П. Казаков²

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

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

Представлен обзор современных международных и российских рекомендаций исследования антинуклеарных антител (АНА) при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях (ИВРЗ) и аутоиммунных заболеваниях печени (АИЗП), включающий описание наиболее важных методических аспектов, отобранных на основе накопленной к настоящему моменту доказательной базы. Основная цель лабораторной диагностики ИВРЗ и АИЗП – получение объективной информации о наличии и характере иммунопатологических изменений у пациента, что является важным инструментом для ранней диагностики, оценки активности, тяжести течения, прогноза болезни и эффективности проводимой терапии. Положительные результаты определения АНА являются одним из основных лабораторных маркеров ИВРЗ и АИЗП, входя в число диагностических критериев этих заболеваний. «Золотым стандартом» и первичным скрининговым методом определения АНА в сыворотке крови служит непрямая реакция иммунофлюоресценции (НРИФ). В качестве подтверждающих тестов используются антиген-специфичные методы твердофазного иммуноанализа. В отечественной литературе АНА, тестируемые методом НРИФ, традиционно обозначают как антинуклеарный фактор (АНФ). Стандартизация исследования АНА создает предпосылки для снижения внутри- и межлабораторной вариабельности полученных результатов, способствует оптимизации взаимодействия между специалистами лаборатории и врачами-клиницистами в вопросах назначения и клинической интерпретации лабораторных тестов. Решение проблемы стандартизации определения АНА становится особенно важным в связи с ростом числа лабораторий, выполняющих данный тест, и увеличением количества его определений, назначаемых не только ревматологами, но и врачами других специальностей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: обзор, антинуклеарные антитела, иммуновоспалительные ревматические заболевания, аутоиммунные заболевания печени.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело финансирования.

Methodological aspects of antinuclear antibodies detection: EFLM, EASI, ICAP AND RAMLD recommendations

A. A. Novikov¹, E. N. Aleksandrova¹, G. V. Lukina¹, S. P. Kazakov²

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

²Academic Educational Centre for Translational and Fundamental Medicine of Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

SUMMARY

This is a review of international and Russian recommendation for the study of antinuclear antibodies (ANA) in autoimmune inflammatory rheumatic diseases (AIRD) and autoimmune liver diseases (ALD), including a description of the most important methodological aspects. The main purpose of laboratory diagnostics of AIRD and ALD is to obtain objective information about the presence and immunopathological changes, which is an important tool for early diagnosis, assessment of activity, severity, prognosis of the disease and the effectiveness of therapy. The positive results of ANA determination are the main laboratory markers of AIRD and ALD, being among the diagnostic criteria for diseases. The 'gold standard' and primary screening method for determining ANA in serum is the indirect immunofluorescence assay (IFA). Antigen-specific solid phase assays methods are used as confirmatory tests. Standardization of the ANA determination contributes for reducing the intra- and inter-laboratory variability of the results, helps to optimize the interaction between laboratory specialists and clinicians in matters of prescribing and clinical interpretation of ANA tests. Solving the problem of ANA detection standardization is important because of the growing number of laboratories performing these tests and an increased referring for this investigation from rheumatologists and another medical specialist.

KEYWORDS: antinuclear antibodies, autoimmune inflammatory rheumatic diseases, autoimmune liver diseases, literature review.

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

Funding. The authors declare no funding for the study.

Методология

При создании международных рекомендаций использовался метод Delphi, целью которого является получение достоверной информации в процессе обмена экспертными мнениями. На первом этапе положениям, сформированным рабочей группой по диагностике аутоиммунных заболеваний Европейской организации клинической химии и лабораторной медицины (EFLM), были присвоены сте-

пени доказательности: А – согласно экспериментальным данным или литературным источникам, В – мнение эксперта. Вторым этапом являлась открытая оценка этих положений участниками Европейской инициативной группы по стандартизации лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний (EASI) и Международного консенсуса по паттернам антинуклеарных антител (АНА) (ICAP) с присвоением баллов от 1 до 5, где 1 – полное

несогласие, а 5 – абсолютное одобрение. На финальной стадии 149 анонимных экспертов, привлеченных EASI из разных стран, оценивали положения рекомендаций по шкале от 0 (абсолютное согласие) до 9 (максимальная поддержка). Для каждого положения были рассчитаны медиана и процент высоких баллов при двух различных пороговых значениях (оценка ≥ 8 или ≥ 7 по 9-балльной шкале) (см. табл.) [1].

АНА при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях (ИВРЗ)

Уже более 60 лет определение АНА занимает центральное место в лабораторной диагностике ИВРЗ. АНА являются ключевым иммунологическим маркером системной красной волчанки (СКВ), синдрома Шегрена (СШ), системной склеродермии (ССД), смешанного заболевания соединительной ткани (СЗСД), идиопатических воспалительных миопатий (ИВМ) [2]. АНА могут выявляться методом непрямой иммунофлюоресценции (так называемый анти-нуклеарный фактор – АНФ) с использованием клеток линии HEp-2 (НРИФ-HEp-2) или SSA/Ro60-трансфицированных клеток HEp-2000 (НРИФ-HEp-2000). Методы твердофазного иммуноанализа (МТИ) – иммуноферментный анализ (ИФА), иммуноблот (ИБ), мультиплексный иммунный анализ позволяют определить множество АНА, включая классификационные маркеры СКВ (антитела к dsDNA, Sm-антигену), СШ (антитела к SSA/Ro), ССД (антитела к топоизомеразе-I/Sc170, CENP-B, PPK-полимеразе III), СЗСД (антитела к U1-RNP) и ИВМ (антитела к Jo1), как одиночно, так и группами [2].

НРИФ-HEp-2 обладает высокой диагностической чувствительностью (ДЧ), но низкой диагностической специфичностью (ДС). Высокая ДЧ позволяет считать данный метод «золотым стандартом» первичного, скринингового определения АНА [3, 4].

Диагностическая точность МТИ варьирует в зависимости от фирмы-производителя тест-систем, при этом данные методы показывают высокую ДС и низкую ДС по сравнению с НРИФ-HEp-2. Диагностические характеристики определения АНА зависят и от диагностируемого заболевания, например определение АНФ обладает более высокой ДЧ по сравнению с МТИ при ССД, чем при СШ [5–7]. Важно отметить, что вероятность наличия ИВРЗ возрастает вместе со степенью позитивности результатов выявления АНА любым из методов [8–11]. Поскольку ни один из методов не обладает идеальными диагностическими характеристиками, наиболее эффективным подходом к определению АНА становится сочетание НРИФ-HEp-2 и МТИ, так как при этом достигается практически идеальный баланс ДЧ и ДС [2].

В новые классификационные критерии раннего АНА-позитивного ювенильного идиопатического артрита (ЮИА), принятые Международной организацией клинических исследований в детской ревматологии (PRINTO), вошла позитивность по АНФ в титре $\geq 1:160$, выявленная дважды с интервалом 3 месяца [12]. Ранний возраст и наличие АНФ в титрах $1:80$ – $1:320$ может являться предиктором развития офтальмологических осложнений у пациентов с этим заболеванием [13–15].

АНА при аутоиммунных заболеваниях печени (АИЗП)

Серопозитивность по АНФ включена в классификационные критерии аутоиммунного гепатита (АИГ), разработанные в 1999 году Международной группой по изучению аутоиммунного гепатита (IAIHG), наряду с необходимостью выявления антител к гладкой мускулатуре (ASMA), микросомам печени и почек (LKM-1). Аутоантитела рекомендуются определять методом НРИФ с использованием в качестве субстрата печени крысы или HEp-2 клеток в случае выявления АНФ. Диагностическим является титр $1:80$ [16]. В 2008 году IAIHG приняты упрощенные диагностические критерии АИГ, где позитивность по АНФ или ASMA в титре $1:40$ дает 1 балл, а обнаружение АНФ или ASMA $1:80$ или анти-LKM-1 $1:40$ или наличие антител к растворимому антигену печени (SLA/LP), выявленных МТИ, вносит 2 балла (проверить по тексту в первоисточнике). В связи с тем, что при НРИФ-HEp-2 интенсивность свечения АНА выше, чем при использовании в качестве субстрата печени крысы, рекомендуется результат, полученный данным методом, разделить на 2 [17]. Согласно мнению IAIHG, выявление АНА, ASMA, анти-LKM-1, антимитохондриальных антител (АМА) и антител к цитоплазматическому антигену печени первого типа (анти-LC1) методом НРИФ должно проводиться на тройном тканевом субстрате (ТТС), включающем криосрезы печени, почек и желудка грызунов. Клинически значимый титр в данном случае составляет $1:40$. Для пациентов до 18 лет диагностическими являются титры $1:20$ для АНА и ASMA, а также $1:10$ для анти-LKM-1. В случае обнаружения АНА, следует повторить исследование методом НРИФ-HEp-2 для конкретизации типов свечения [18]. В рекомендациях Европейской ассоциации по изучению печени (EASL) и Европейского общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов (ESPGHAN) подчеркивается важность использования ТТС, так как именно он позволяет надежно дифференцировать АИГ первого типа, характеризующийся наличием АНА и ASMA, от АИГ второго типа, при котором присутствуют анти-LKM-1 и анти-LC1. Подчеркивается, что для взрослых положительным результатом является титр $\geq 1:40$, а для детей – $\geq 1:20$ [19].

Для выявления первичного билиарного холангита (ПБХ) среди пациентов с хроническим внутрипеченочным холестазом EASL рекомендует определение АМА, выявляющихся у более чем 90% лиц, страдающих этим заболеванием. Стандартом определения АМА является НРИФ с использованием ТТС, несмотря на существование данных о неидеальной ДС данного метода. Еще одним способом обнаружения АМА служит НРИФ-HEp-2. Наличие этих аутоантител можно предположить при присутствии митохондриального свечения AC-21, согласно Международному консенсусу о классификации типов свечения антинуклеарных антител (ICAP). Однако окончательно об обнаружении АМА можно говорить только после подтверждения с помощью антиген-специфичных МТИ. Обнаружение АМА на ТТС и ИБ является высокоспецифичными методами, они хорошо коррелируют между собой, тогда как ДЧ НРИФ-HEp-2 составляет всего лишь около 25% [20, 21].

Антитела к Sp100, а также к gp210, о присутствии которых могут свидетельствовать такие типы свечения при НРИФ-HEp-2, как множественные точки в ядре (AC-6)

и ядерное мембранное точечное (АС-12), также часто выявляются при ПБХ. Антиген-специфичными методами для их определения служат ИФА и ИБ [22, 23].

АНА у здоровых лиц

Для верной интерпретации тестов по определению АНФ важно иметь представление о его распространенности среди здорового населения. По данным китайских и американских авторов, обследовавших 20 970 и 4754 человек соответственно, положительные результаты встречались у 14% при использовании верхней границы позитивности (cut-off) 1 : 100 / 1 : 80 или у 6% (cut-off 1 : 320). С примерно такой же частотой – 12,9% (cut-off 1 : 80) – выявляли АНФ и бразильские исследователи [24]. При изучении немецкой ($n = 1199$) и бельгийской ($n = 279$) групп здоровых лиц показано больше случаев обнаружения слабоположительных результатов определения АНФ ($\approx 33,5\%$). Встречаемость АНФ была более частой у женщин и в целом возрастала с возрастом. В целом, по данным метаанализа, опубликованном к настоящему моменту, ДС при cut-off 1 : 80 составляет 91,3%, при 1 : 40 – 79,2% [25].

Исследования ряда авторов посвящены частоте обнаружения АНФ у здоровых детей, которая варьирует от 12 до 15%. Наиболее часто он выявляется у девочек в пубертатном периоде [26–28].

Интересно отметить, что у 33,1% здоровых лиц с положительным АНФ присутствует ядерный плотный мелкокрапчатый тип (или паттерн) свечения DFS-70 (АС-2), обычно (за исключением нескольких случаев у больных с СКВ) не встречающийся у пациентов с ИВРЗ, у которых наиболее часто выявляются такие характерные ядерные типы свечения, как крупнокрапчатое (АС-5), гомогенное (АС-1), центромерное (АС-3) [25, 29].

АНА при неаутоиммунных заболеваниях

АНФ может выявляться и при таких неаутоиммунных заболеваниях, как гипертония, дислипидемия, подагра с частотой около 12% (cut-off 1 : 80), солидные опухоли и онкогематологические заболевания – у 20% пациентов с преобладанием ядерного мелкокрапчатого (АС-4) и АС-2 – типов свечения [30–32].

Выбор оптимальной границы нормы при определении АНФ

Одним из важных вопросов стандартизации определения АНА НРИФ-НЕР-2 является выбор оптимального cut-off. Согласно совместному предложению Института клинической и лабораторной стандартизации (CLSI), EASI и Международного союза иммунологических сообществ (IUIS) аномальным следует считать титр АНФ выше значения 95-го перцентиля в здоровой местной популяции. EASI/IUIS и методические рекомендации Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики (РАМЛД) предлагают считать базовым скрининговым разведением сыворотки для взрослых пациентов 1 : 160, как оптимально отражающее соотношение ДЧ и ДС метода определения АНФ с помощью НРИФ-НЕР2 [33–36]. Полагают, что данный исходный титр также приемлем и при иммунологическом обследовании детей с ревматологическими заболеваниями [9].

Дифференциация типов (паттернов) свечения АНА

Важную роль в стандартизации тестирования АНФ на НЕР2 клетках при САРЗ играет разработанная ICAP номенклатура типов ядерного, цитоплазматического и митотического свечения, включающая 30 вариантов «антиклеточных» (anti-cell, AC) паттернов с описанием их клинического значения (Россия, Нидерланды и Бразилия выпустили собственные адаптации номенклатуры ICAP) [36–41]. Выделены типы свечений, которые могут быть правильно определены только экспертами, специализирующимися на диагностике аутоиммунных заболеваний, так как в рутинных лабораториях в связи с отсутствием должного опыта зачастую неверно интерпретируют результаты определения АНФ, в особенности цитоплазматические и митотические паттерны.

Среди ядерных свечений наибольшим диагностическим значением обладают паттерны АС-3 и ядерное гомогенное (АС-1), наименьшим – АС-2 (DFS-70). Из редких ядерных свечений стоит выделить АС-6 – множественные точки в ядре, АС-11 – ядерное мембранное гладкое и ядерное мембранное точечное – АС-12, высокая ассоциация которых с АИЗП подтверждена в широкомасштабных ретроспективных исследованиях [42–44]. Часто встречаются и комбинации нескольких паттернов. Например, совместное определение двух и более таких типов свечения, как АС-3, -12, -6 и -21, позволяет заподозрить наличие у пациента ПБХ [45].

Наибольшим диагностическим значением при ИВРЗ обладают такие типы свечения ядра, как центромерный (АС-3), гомогенный (АС-1), мелкокрапчатый (АС-4), крупнокрапчатый (АС-5), нуклеолярный гомогенный, нуклеолярный глыбчатый, нуклеолярный точечный (АС-8, -9, -10), множественные точки в ядре (АС-6), а из цитоплазматических паттернов – это плотный мелкокрапчатый (АС-19) и мелкокрапчатый (АС-20). При диагностике ПБХ важно обращать внимание на присутствие АС-6, -11, -12 ядерных паттернов и цитоплазматического митохондриального АС-21. При АИГ в ядре часто обнаруживаются АС-1, -4, -5 типы свечения, в цитоплазме – АС-15 (фибрилярное линейное). Все типы свечения, кроме центромерного (АС-3), нуждаются в подтверждении антиген-специфичными МТИ [1]. Отдельное внимание следует уделять паттерну АС-2 плотное мелкокрапчатое (DFS-70) свечение в связи с крайней сложностью его визуальной верификации при НРИФ-НЕР-2. Определение антител к DFS-70 должно в обязательном порядке включать в себя подтверждающий антиген-специфичный тест [29, 46].

Автоматизация определения АНФ

В последнее время в лабораторную практику все больше входят автоматизированные диагностические платформы (АДП) для определения АНА методом НРИФ. АДП показывают хорошую согласованность ($\approx 94\%$) с визуальной интерпретацией результатов НРИФ-НЕР-2. Эти системы достаточно стабильно определяют простые паттерны при высокой интенсивности свечения препарата, но низкая флюоресценция АНФ заметно ухудшает качество их работы. Также АДП плохо распознают некоторые ядерные паттерны, например АС-6, -7, митотические типы свечения

АС-24, -25, практически все цитоплазматические и смешанные типы свечения. В связи с этим на данном этапе технологического развития АДП целесообразно использовать на первичном этапе сортировки результатов определения АНФ на отрицательные и положительные [47].

Форма отчета о выявлении АНФ

Отчет о результатах исследования АНА-НРИФ-НЕР-2 в обязательном порядке должен включать информацию о титре и типе свечения АНФ в соответствии с номенклатурой ICAP. Отечественная модель подобного отчета

Таблица
Основные методические положения современных рекомендаций
по определению АНА-НРИФ-НЕР2

Определение АНА-НРИФ-НЕР-2	Уровень достоверности	Delphi (баллы)		
		Медиана	Процент высоких значений	
			≥ 8	≥ 7
Отчет о результатах исследования АНА-НРИФ-НЕР-2 должен включать информацию о титре и типе свечения АНФ	A	9	96	97
Значение титров АНФ				
Увеличение титра прямо пропорционально вероятности наличия ИВРЗ или АИЗП	A	8	83	92
Не существует титра, обладающего оптимальными ДЧ и ДС при ИВРЗ	A/B	8	89	92
Учет титра полезен при интерпретации результатов теста	B	8	82	95
АНА у здоровых лиц				
АНА обнаруживаются у довольно большого количества здоровых лиц, в частности частота их обнаружения возрастает с возрастом. Это следует принимать во внимание при интерпретации результатов теста	A/B	9	95	99
АНА при детских ревматологических заболеваниях				
Значение учета низких титров для скрининга ревматологических заболеваний у детей не доказано	A	8	78	91
Типы свечения (паттерны)				
Описание типов свечения может нести полезную клиническую информацию и служить основанием для назначения антиген-специфических подтверждающих тестов	A	9	93	97
Клиническая значимость теста зависит от правильности определения паттерна	A	8	82	93
Совпадение результатов АНА-НРИФ-НЕР-2 и МТИ антиген-зависимых подтверждающих тестов повышает клиническую информативность результатов, полученных обоими методами	A	9	94	99
Наибольшим клиническим значением обладают: ядерные типы свечения – АС-1, -2, -3, -4, -5, -6, -8, -9, -10, -11, -12; цитоплазматические паттерны – АС-15, -19, -20, -21	A/B	8	86	96
Автоматизированные диагностические платформы (АДП)				
Могут применяться для первичного разделения результатов на положительные и отрицательные, при этом окончательное решение должно оставаться за экспертом	A/B	9	81	93
Все результаты о титрах и типах свечения полученные с использованием АДП, должны быть подтверждены экспертом	A	9	93	99
МТИ для скринингового выявления АНА				
Диагностические характеристики МТИ для скрининга / диагностики ИВРЗ зависят от заболевания и качества тест-систем	A	9	91	100
Не существует МТИ для диагностики ИВРЗ, обладающих идеальными ДЧ и ДС	A	9	93	98
Сочетания МТИ и АНА-НРИФ-НЕР-2 значительно повышает диагностическую эффективность и клиническую значимость определения АНА при ИВРЗ	A	9	88	98

разработана на основе межлабораторного консенсуса с учетом рекомендаций ICAP и требований ГОСТ Р ИСО 15189:2015 и содержится в методических рекомендациях РАМЛД «Современные стандарты исследования антинуклеарного фактора при системных аутоиммунных ревматических заболеваниях» 2023 года [36, 37, 49].

Заключение

В настоящее время происходит значительный рост количества исследований АНА-НРИФ-НЕР2, назначаемых ревматологами и врачами других специальностей в качестве «золотого стандарта» при скрининге ИВРЗ, включая СКВ, ССД, БШ/СШ и ИВМ, а также АИЗП. Для обеспечения качественного взаимодействия клинко-диагностических и иммунологических лабораторий с клиническими подразделениями медицинских учреждений необходимо внедрение в рутинную практику современных стандартов определения АНФ, разработанных на основе клинических рекомендаций и межлабораторного консенсуса, по вопросам, касающимся скрининговых и конечных титров АНФ, АС-номенклатуры типов ядерного, цитоплазматического и митотического свечения, порядка выполнения и перечня подтверждающих антиген-специфических тестов, создания унифицированной формы отчета о результатах исследования АНФ.

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

Список литературы/ References

- Bonroy C, Vercammen M, Fierz et. al. European Federation of Laboratory Medicine (EFLM) Working Group 'Autoimmunity Testing', the European Autoimmune Standardization Initiative (EASI) and International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns (ICAP). Detection of antinuclear antibodies: recommendations from EFLM, EASI and ICAP. Clin Chem Lab Med. 2023 Mar 29; 61 (7): 1167–1198. DOI: 10.1515/cclm-2023-0209.
- Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol 2020; 16: 715–26.
- Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69: 1420–2.
- 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: 17–23.
- Bossuyt X, Fieus S. Detection of antinuclear antibodies: Added value of solid phase assay? Ann Rheum Dis 2014; 73: e10.
- Orme ME, Andalucia C, Sjoglander S, Bossuyt X. A comparison of a fluorescence enzyme immunoassay vs. indirect immunofluorescence for initial screening of connective tissue diseases: Systematic literature review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. Best Pract Res Clin Rheumatol 2018; 32: 521–34.

7. Bizzaro N. Can solid-phase assays replace immunofluorescence for ANA screening? *Ann Rheum Dis* 2020; 79: e32.
8. Willems P, De Langhe E, Claessens J, Westhovens R, Van Hoeyveld E, Poesen K, et al. Screening for connective tissue disease-associated antibodies by automated immunoassay. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56: 909–18.
9. Op De Beeck K, Vermeersch P, Verschueren P, Westhovens R, Marien G, Blockmans D, et al. Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence and by solid phase assay. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 801–8.
10. Claessens J, Belmondo T, De Langhe E, Westhovens R, Poesen K, Hue S, et al. Solid phase assays vs. automated indirect immunofluorescence for detection of antinuclear antibodies. *Autoimmun Rev* 2018; 17: 533–40.
11. Bossuyt X, Claessens J, De Langhe E, Belmondo T, Westhovens R, Hue S, et al. Antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence and solid phase assays. *Ann Rheum Dis* 2020; 79: e65.
12. Martini A, Ravelli A, Avcin T, Beresford MW, Burgos-Vargas R, Cuttica R, et al. Toward new classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: First steps, pediatric Rheumatology international trials organization international consensus. *J Rheumatol* 2019; 46: 190–7.
13. Rypdal V, Glerup M, Songstad NT, et al. Incidence and predictors of Uveitis in juvenile idiopathic arthritis in a Nordic long-term cohort study. *Pediatr Rheumatol Online J* 2017; 15: 66.
14. Saurenmann RK, Levin AV, Feldman BM, Laxer RM, Schneider R, Silverman ED. Risk factors for development of uveitis differ between girls and boys with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 1824–8.
15. Nordal EB, Songstad NT, Bernstrom L, Moen T, Straume B, Rygg M. Biomarkers of chronic uveitis in juvenile idiopathic arthritis: Predictive value of antihistone antibodies and antinuclear antibodies. *J Rheumatol* 2009; 36: 1737–43.
16. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International autoimmune hepatitis group report: Review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929–38.
17. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Pares A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008; 48: 169–76.
18. Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cancado EL, Mackay IR, Manns MP, et al. Liver autoimmune serology: A consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 2004; 41: 677–83.
19. Miel-Vergani G, Vergani D, Baumann U, Czubkowski P, Debray D, Dezsofi A, et al. Diagnosis and management of pediatric autoimmune liver disease: ESPGHAN hepatology committee position statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 66: 345–60.
20. Porcelli B, Terzuoli L, Bacarelli MR, Cinci F, Bizzaro N. How reliable is the detection of anti-mitochondrial antibodies on murine triple tissue? *Clin Chem Lab Med* 2020; 58: e142–3.
21. Florin L, Rubben K, Vanhaecke A, Devreese K, De Keyser F, Smith V, et al. Evaluation of the primary biliary cholangitis-related serologic profile in a large cohort of Belgian systemic sclerosis patients. *Clin Chem Lab Med* 2020; 58: 416–23.
22. EASL clinical practice guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol* 2017; 67: 145–72.
23. Александрова Е.Н., Дорофеев А.С., Новиков А.А., Сандлер Ю.Г. Аутоантитела при аутоиммунных заболеваниях печени (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 202368 (8): 464–474.
24. Alexandrova E.N., Dorofeev A.S., Novikov A.A., Sandler Yu. G. Autoantibodies in autoimmune liver diseases (literature review). *Clinical Laboratory Diagnostics*. 202368 (8): 464–474.
25. 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: 191–200.
26. Wener MH, Fink SL, Morishima C, Chaudhary A, Hutchinson K. Antinuclear antibody quantitation: Calibration and harmonization adjustment via population interrogation. *J Appl Lab Med* 2022; 7: 46–56.
27. Sperotto F, Cuffaro G, Brachi S, Seguso M, Zulian F. Prevalence of antinuclear antibodies in schoolchildren during puberty and possible relationship with musculoskeletal pain: A longitudinal study. *J Rheumatol* 2014; 41: 1405–8.
28. Hilario MO, Len CA, Roja SC, Terreri MT, Almeida G, Andrade LE. Frequency of antinuclear antibodies in healthy children and adolescents. *Clin Pediatr* 2004; 43: 637–42.
29. Somers EC, Monrad SJ, Warren JS, Solano M, Schnaas L, Hernandez-Avila M, et al. Antinuclear antibody prevalence in a general pediatric cohort from Mexico City: Discordance between immunofluorescence and multiplex assays. *Clin Epidemiol* 2017; 9: 1–8.
30. Bonroy C, Schouwers S, Berth M, Stubbe M, Piette Y, Hoffman I, et al. The importance of detecting anti-DFS70 in routine clinical practice: Comparison of different care settings. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56: 1090–9.
31. Wichainun R, Kasitanon N, Wangkaew S, Hongsongkiet S, Sukitawut W, Louthrenoo W. Sensitivity and specificity of ANA and anti-dsDNA in the diagnosis of systemic lupus erythematosus: A comparison using control sera obtained from healthy individuals and patients with multiple medical problems. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2013; 31: 292–8.
32. Mohammed ME, Abdelhazif K. Autoantibodies in the sera of breast cancer patients: Antinuclear and anti-double stranded DNA antibodies as example. *J Cancer Res Therapeut* 2015; 11: 341–4.
33. Agustinelli RA, Rodrigues SH, Mariz HA, Prado MS, Andrade LEC. Distinctive features of positive anti-cell antibody tests (indirect immunofluorescence on Hep-2 cells) in patients with nonautoimmune diseases. *Lupus* 2019; 28: 629–34.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI I/LA2-A. Quality assurance for the indirect immunofluorescence test for autoantibodies to nuclear antigen (IF-ANA). Approved guideline. USA: CLSI; 1996.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI I/LA02-A2. Quality assurance of laboratory tests for autoantibodies to nuclear antigens: (1) indirect fluorescence assay for microscopy and (2) microtiter enzyme immunoassay methods. Wayne, PA, USA: CLSI; 2006.
36. Damoiseaux J, Agmon-Levin N, Van Berk M, Chopyak V, Eriksson C, Heijnen I, et al. From ANA-screening to antigen-specificity: An EASI-survey on the daily practice in European countries. *Clin Exp Rheumatol* 2014; 32: 539–46.
37. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Лукина Г.В., Ключкина Н.Г., Васильев В.И., Казаков С.П. Современные стандарты исследования антинуклеарного фактора при системных аутоиммунных ревматических заболеваниях. Методические рекомендации. Москва, 2023.
38. Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Lukina G.V., Klyukvina N.G., Vasiliev V.I., Kazakov S.P. Modern standards for the study of antinuclear factor in systemic autoimmune rheumatic diseases. Guidelines. Moscow, 2023.
39. Chan EKL, von Mühlen CA, Fritzler MJ, Damoiseaux J, Infantino M, Klotz W, et al. ICAP Committee. The International Consensus on ANA Patterns (ICAP) in 2021 – the 6th workshop and current perspectives. *J Appl Lab Med* 2022; 7: 322–30.
40. Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PL, et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody Hep-2 cell patterns 2014–2015. *Front Immunol* 2015; 6: 412.
41. 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: 879–89.
42. Cruvinel WM, Andrade LEC, von Mühlen CA, Dellavance A, Ximenes AC, Bichara CD, et al. V Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on Hep-2 cells. *Adv Rheumatol* 2019; 59: 28.
43. van Beek AA, Schreurs MWJ, Offen HG, Bergkamp FJM, Damoiseaux JGMC. The updated Dutch guideline for laboratory diagnostics of ANA-associated autoimmune diseases. *Paper Nederland Van Beek et al. Nederlandsche Tijdschr Allerg Klin Immunol* 2021; 2: 58–64.
44. Van Hooves L, Broeders S, Chan EKL, Andrade L, de Melo Cruvinel W, Damoiseaux J, et al. Current laboratory and clinical practices in reporting and interpreting anti-nuclear antibody indirect immunofluorescence (ANA IIF) patterns: Results of an international survey. *Auto Immun Highlights* 2020; 11: 17.
45. Tebo AE, Schmidt RL, Kadkhoda K, Peterson LK, Chan EKL, Fritzler MJ, et al. The antinuclear antibody Hep-2 indirect immunofluorescence assay: A survey of laboratory performance, pattern recognition and interpretation. *Auto Immun Highlights* 2021; 12: 4.
46. Vermeersch P, Van den Bergh K, Blockmans D, Westhovens R, Bossuyt X. Anti-Golgi autoantibodies are not clinically associated with systemic autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 234–5.
47. Dellavance A, Cancado EL, Abrantes-Lemos CP, Hariz M, Marville V, Andrade LE. Humoral autoimmune response heterogeneity in the spectrum of primary biliary cirrhosis. *Hepatal Int* 2012; 7: 775–84.
48. Choi MY, Clarke E, St Pierre Y, Hanly JG, Urowitz MB, Romero-Diaz J, et al. The prevalence and determinants of anti-DFS70 autoantibodies in an international inception cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2017; 26: 1051–9.
49. Kim J, Lee W, Kim GT, Kim HS, Ock S, Kim IS, et al. Diagnostic utility of automated indirect immunofluorescence compared to manual indirect immunofluorescence for anti-nuclear antibodies in patients with systemic rheumatic diseases: A systematic review and metaanalysis. *Semin Arthritis Rheum* 2019; 48: 728–35.
50. von Mühlen CA, Garcia-De La Torre I, Infantino M, Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, et al. How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on Hep-2 cells: Guidelines from the ICAP initiative. *Immunol Res* 2021; 69: 594–608.

Статья поступила / Received 16.10.23

Получена после рецензирования / Revised 20.10.23

Принята к публикации / Accepted 21.10.23

Сведения об авторах

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

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

Лукина Галина Викторовна, д.м.н., проф., зав. отделом ревматологии¹. ORCID: 0000-0001-7958-5926

Казakov Сергей Петрович, д.м.н., доцент, зав. кафедрой медицинской биохимии и иммунопатологии Академического образовательного центра трансляционной и фундаментальной медицины². ORCID: 0000-0001-6528-1059

¹БУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логанова Департамента здравоохранения Москвы»

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Новиков Александр Александрович. E-mail: a.novikov@mknc.ru

Для цитирования: Новиков А.А., Александрова Е.Н., Лукина Г.В., Казakov С.П. Определение антинуклеарных антител: рекомендации EFLM, EASI, ICAP и RAMLД. Медицинский алфавит. 2023; (31): 21–25. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-31-21-25>.

About authors

Novikov Alexander A., DBio Sci (habil.), leading researcher at Clinical Immunology Laboratory¹. ORCID: 0000-0002-2738-2956

Aleksandrova Elena N., DM Sci (habil.), head of Clinical Immunology Laboratory¹. ORCID: 0000-0003-4074-5907

Lukina Galina V., DM Sci (habil.), professor, head of Rheumatology Dept¹. ORCID: 0000-0001-7958-5926

Kazakov Sergei P., DM Sci (habil.), associate professor, head of Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology of Academic Educational Centre for Translational and Fundamental Medicine². ORCID: 0000-0001-6528-1059

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

²Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

Corresponding author: Novikov Alexander A. E-mail: a.novikov@mknc.ru

For citation: Novikov A.A., Aleksandrova E.N., Lukina G.V., Kazakov S.P. Methodological aspects of antinuclear antibodies detection: EFLM, EASI, ICAP AND RAMLД recommendations. Medical alphabet. 2023; (31): 21–25. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-31-21-25>.