

Titel: Antinukleære antistoffer (ANA)

Indeksering/søgeord:

Forfattergruppe: Trine Korsholm, Frank Hinnerfeldt, Anna Christine Nilsson, Karen Buch Lauridsen, Hans Jakob Hartling, Jakob T. Bay, Søren T. Lillevang.

Godkendt af: Trine Korsholm, Frank Hinnerfeldt, Anna Christine Nilsson, Karen Buch Lauridsen, Hans Jakob Hartling, Jakob T. Bay, Søren T. Lillevang.

Godkendt dato: 18.11.2023

Revisions dato: 18.11.2025

Standarden har været i høring ved følgende selskaber:

Dansk Reumatologisk Selskab, Dansk Selskab for Gastroenterologi og Hepatologi, Dansk Dermatologisk Selskab og Dansk Nefrologisk Selskab

Målgruppe

Standarden henvender sig til klinikere, der rekvirerer analyse for antinukleære antistoffer (ANA) samt laboratorier, der udfører analyse for ANA .

Baggrund

Undersøgelse for antinukleære antistoffer (ANA) anvendes som led i diagnostik og klassificering af ANA-associerede sygdomme, herunder autoimmun bindevævssygdom (systemisk lupus erythematosus, Sjögrens syndrom, systemisk sklerodermi, mixed connective tissue disease, polymyositis og dermatomyositis samt overlapssyndromer) og autoimmun leversygdom.

En positiv undersøgelse for ANA kan tillige ses hos patienter med anden autoimmun sygdom, infektion eller ondartet sygdom. En positiv undersøgelse for ANA kan også ses hos raske; forekomsten stiger med alder og er højere hos kvinder end hos mænd. I de her nævnte situationer, har resultatet af undersøgelse for ANA ingen informationsværdi.

ANA er rettet mod antigener tilstede i cellekernen (kromatin, nukleoli, nukleoplasma, kernemembran). Da antistoffer rettet mod antigener i cytoplasmaet tillige detekteres ved analyse for ANA, og disse kan være klinisk relevante ved ANA-associerede sygdomme, er det almindeligt accepteret, at disse også rapporteres, hvis de påvises ved ANA-analyse. Ændring i nomenklatur er foreslået til anticelle antistoffer(1), men der er endnu ikke opnået konsensus herom.

ANA kan detekteres med henholdsvis indirekte immunfluorescens med fikserede HEp-2 celler som substrat (IIF ANA) og i stigende grad også med så kaldte *solid phase assays*, som anvender et klinisk relevant, men begrænset antigenrepertoire af oprensede native eller rekombinante autoantigener, immobiliseret til en fast overflade (mikrotiterplade, fluorescerende mikrokugler, membraner mv.) IIF ANA betragtes som referencemetoden til påvisning af ANA. Ved positiv ANA rapporteres fluorescensmønster og titer. Fluorescensmønstret kan indikere antistofspecificitet, men de enkelte antistofspecificiteter påvises med specifikke *solid phase assays*.

Både IIF ANA og solid phase ANA har tekniske begrænsninger, som nedsætter sensitiviteten over for nogle antistoffer. Viden om metoder til detektion af ANA, herunder deres respektive performance i forhold til indikation samt metodernes faldgruber, bidrager til at optimere den serologiske udredning ved ANA-associerede sygdomme.

Definition af patientgruppe

Patienter mistænkt for ANA-associerede immuninflammatorisk bindevævssygdomme, herunder systemisk lupus erythematosus (SLE), Sjögrens syndrom (SS), systemisk sklerodermi (SSc), mixed connective tissue disease (MCTD), polymyositis (PM) og dermatomyositis (DM) samt overlapssyndromer. Derudover patienter mistænkt for juvenil idiopatisk arthritis (JIA) og patienter mistænkt for autoimmun lever-galdevejssygdom.

Forkortelser og definitioner

AIH: Autoimmun hepatitis

ANA: Anti-nukleære antistoffer. Vævs- og artsuspecifikke antistoffer rettet mod kerne- (og cytoplasmatiske samt mitotiske) antigener. Diagnostisk værdi ved immuninflammatoriske sygdomme, herunder ANA-associerede bindevævssygdomme og autoimmun leversygdom.

ChliA: Chemiluminescens immunoassay

CLIFT: Crithidia luciliae immunfluorescens test

EliA: Enzyme-linked immunoassay

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

FITC: Fluorescein isothiocyanat (fluorokrom)

HEp-2: Humane epitheliale celler

ICAP: International Consensus on ANA Patterns

IIF: Indirekte immunfluorescens

MCTD: Mixed connective tissue disease

PM/DM: Polymyositis/dermatomyositis

RA: Reumatoid arthritis

SLE: Systemisk lupus erythematosus

SS: Sjögrens syndrom

SSc: Systemisk sklerodermi

Formål:

Formålet med retningslinjen er at medvirke til en ensretning af indikationer for bestilling af analysen og optimal ANA-diagnostik med ensartet, høj kvalitet på tværs af landet, hvilket vil medvirke til mere hensigtsmæssige patientforløb. Derudover vidensdeling på tværs af sektorer og faggrupper, samt prioritering i sundhedsvæsenet.

Anbefaling:

Indikationer	Anbefalet screeningsmetode
<p>Mistanke om immuninflammatorisk bindevævssygdom, herunder</p> <ul style="list-style-type: none"> • Systemisk lupus erythematosus (SLE) • Sjögrens syndrom (SS) • Sklerodermi (SSc) • Polymyositis/dermatomyositis (PM/DM) • Mixed connective tissue disease (MCTD) • Juvenil idiopatisk arthritis, juvenil SLE • Medikamentelt induceret lupus erythematosus <p>Analysen kan ikke stå alene og er kun indiceret ved ledsagende kliniske symptomer, f.eks hvis 1 (og helst flere) af følgende er tilstede (og som ikke er mere sandsynligt forklaret af anden årsag):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Polyarthritis • Alopeci • Puffy hands • Serositis (pleuritis, pericarditis) • Lysoverfølsomt hududslæt • Proteinuri, persisterende • Anæmi og/eller øvrige immunmedierede cytopenier • Hudforandringer forenelig med SLE, sklerodermi, dermatomyositis, vasculitis • Raynaud's fænomen • Orale ulcera • Øjen- og mundtørhed • Progredierende symmetrisk muskelsvækkelse og vedvarende forhøjede muskelenzymer • Interstitiel lungesygdom • Neurologiske/neuropsykiatriske symptomer <p>Undersøgelse for ANA har ingen værdi som screeningstest mht. at vurdere træthed, feber, rygsmerte, eller andre smerter i bevægeapparatet uden andre indikationer på systemisk autoimmun sygdom.</p>	<p><u>IIF ANA</u> Patienter, der udredes i reumatologisk regi (stærkere mistanke om ANA-associeret sygdom)</p> <p><u>ANA-screening, solid phase</u> Patienter, der udredes i primær sektor</p> <p>Patienter, hvor der er klinisk mistanke om Sjögrens syndrom</p> <p>Bemærkning: IIF ANA og ANA-screening med solid phase komplementerer hinanden. Ved negativt resultat med én metode <u>og</u> bestyrket klinisk mistanke om ANA-associeret sygdom, bør analyse for ANA suppleres med udførelse på den anden metode.</p>
<p>Mistanke om autoimmun lever-galdevejssygdom</p> <ul style="list-style-type: none"> • Autoimmun hepatitis • Primær biliær kolangitis 	<p>IIF ANA</p>

Tolkning - Autoimmun bindevævssygdom

Inflammatoriske bindevævssygdomme præsenterer sig heterogent og med stort overlap af symptomer og kliniske fund. De repræsenterer en vigtig differentialdiagnose for mange kliniske manifestationer.

Det er vigtigt at tolke et positivt ANA-resultat i lyset af det samlede sygdomsbillede:

- negativ ANA kan ikke anvendes til at udelukke autoimmun sygdom
- positiv ANA i kombination med relevante kliniske fund kan indikere autoimmun bindevævssygdom/leversygdom
- Tilfældigt fund af positiv IIF ANA har lille informationsværdi, og ukritisk rekvisition af undersøgelse for ANA ved lav prætest sandsynlighed for ANA-associeret sygdom, giver anledning til falsk positive resultater med unødvendig bekymring, unødigt supplerende udredning og i værste fald diagnosefejl til følge
- IIF ANA titer er associeret til sandsynlighed for inflammatorisk systemsygdom
- IIF ANA titer korrelerer ikke med sygdomsaktivitet eller prognose

ANA som kriterie i klassifikation og diagnose af immuninflammatorisk bindevævssygdom:

IIF ANA og/eller ANA screening med alternativ metode (*solid phase assays*) er inkorporeret i klassifikationskriterier for SLE. Her bør der være opmærksomhed på

- Diversiteten i de forskellige anvendte immunoassays med manglende standardisering giver forskelle i performance.
- Anvendelse af ANA som en dikotom (POS/NEG) parameter er potentielt vildledende, da kun nogle IIF ANA mønstre er af diagnostisk værdi ved en given sygdom.

For tolkning af specifikke fund henvises til laboratoriets rekvirentinformation:

- RegH: [Labportalen](#)
- RSj: [LMV - ANA \(mønster, imm.flu.\) gruppe;P, KIA](#)
- RSyd: [Brugerhåndbog, Klinisk Immunologisk Afdeling, OUH](#)
- RM: [IIF ANA, HEp2](#)
[P-Bindevævssygdom-relateret-Ab\[ANA\]](#)
[ANA, specifikke antistofspecificiteter](#)
- RN: [Laboratievejledning for RN](#)

Gentagelse af screening for ANA er sjældent indiceret.

Positivt resultat

- Der er ikke indikation for gentagelse eller seriel monitorering, da ændringer i ANA titer ikke korrelerer med sygdomsaktivitet.

Negativt resultat

- Ved stærk mistanke om en udviklende ANA-associeret bindevævssygdom kan analysen gentages
- Ved en ændring i patientens symptomer/klinik med behov for revision af diagnosen kan analysen gentages

Udredning for enkelte ANA-specificiteter:

- Ved positiv screening for ANA (IIF ANA eller *solid phase* ANA-screening)
- Ved bestyrket klinisk mistanke om sygdom. Udredningen bør målrettes den kliniske mistanke (se udredningsforslag, bilag 1, og www.ANAPatterns.org)
- Manglende/variabel detektion i HEp2 ses bl.a. for antistof rettet mod følgende antigener: SSA (Ro52, Ro60), Rib P, Jo-1, MDA-5 og øvrige PM/DM-specifikke antistoffer. Ved klinisk mistanke om Sjögrens syndrom rekvireres primært analyse for P-Sjögren syndrom [SSA]-IgG (anti-Ro52 og –Ro60) og P-Sjögren syndrom [SSB]-IgG
Ved klinisk mistanke om poly-/dermatomyositis bør der udføres udvidet udredning for myositis-specifikke og –associerede antistoffer
- Svagt til moderat positive anti-dsDNA påvist ved *solid phase assays* bør ikke tillægges diagnostisk værdi uden bestyrket klinisk mistanke om eller verificeret SLE. I tvivlstilfælde kan der udføres Crithidia luciliae immunfluorescens test (CLIFT). Positiv CLIFT har høj diagnostisk specificitet for SLE, men lav sensitivitet
- Ved klinisk mistanke om sklerodermi kan udvidet udredning for sklerodermi-associerede antistoffer have såvel diagnostisk som prognostisk værdi

Monitorering

- Ændringer i anti-dsDNA niveau kan afspejle sygdomsaktiviteten i SLE. Monitorering med regelmæssig kvantificering af kendt anti-dsDNA kan udføres ved *solid phase assays*. Til løbende monitorering bør samme metode, udført på samme laboratorium, anvendes. IIF ANA og CLIFT er ikke egnet til monitorering
- Der er aktuelt ikke evidens for, at monitorering af øvrige ANA-specificiteter er af værdi, men studier pågår, og anbefalinger herom kan ændre sig

Tolkning - Autoimmune lever-galdevejssygdomme

Autoimmun hepatitis (AIH):

Diagnosen AIH forudsætter karakteristisk histologi og udelukkelse af virale, arvelige, metaboliske, kolestatisk og lægemiddelinducerede sygdomme, der kan ligne AIH.

Diagnose understøttes yderligere af forhøjede s-aminotransaminaser, forhøjet s-IgG og/eller tilstedeværelse af autoantistoffer, herunder ANA.

For ANA ved AIH:

- IIF ANA udføres ved mistanke om AIH
- Tilstedeværelse af ANA er associeret til AIH type I
- Homogent og/eller plettet mønster er de hyppigst forekommende mønstre. Udredning af kernemønster med specifikke antistoffer er uden kendt klinisk/diagnostisk værdi og anbefales ikke, med mindre anden ANA-associeret sygdom – herunder PBC – mistænkes. Tilstedeværelse af øvrige AIH-associerede antistoffer i tillæg til ANA øger sandsynligheden for diagnosen betydeligt
- ANA som isoleret serologisk fund kan også ses ved øvrige leversygdomme, herunder PSC, viral hepatitis, non-alkoholisk fedt lever sygdom og kronisk alkohol-associeret leversygdom, ved øvrige immuninflammatoriske sygdomme samt hos en mindre andel af tilsyneladende raske

ANA som kriterie i klassifikation og diagnose af AIH:

Klinikere og udførende laboratorier bør være opmærksomme på, at det er ANA i graduerede titre (1:40, 1:80 og >1:80) baseret på detektion med immunfluorescens i rotteæv, der er inkorporeret i de diagnostiske kriterier.

Bruges standard analyse for IIF ANA (hvor der anvendes HEp-2 celler) er der en betydeligt højere sensitivitet, hvorfor kun høje titre ($\geq 1:160$) bør være pointgivende, såfremt de diagnostiske kriterier anvendes.

Primær biliær kolangitis (PBC):

PBC er karakteriseret ved kolestase, forhøjet levertype p-basisk fosfatase, p-glutamyltransferase og IgM, serologisk reaktivitet i form af mitokondrie-antistoffer (AMA) og/eller specifikke ANA samt histologiske tegn på kronisk, granulomatøs, lymfocytær kolangitis af de små galdegange.

For ANA ved PBC anbefales at udføre specifik analyse for PBC-associerede antistoffer:

- P-Mitochondrie-Ab (M2 (E2-PDC)-antistof), som påvises hos op mod 95% af patienter med PBC. Hvis dette ikke påvises, kan udredningen suppleres med
- P-Nucleoporin Gp-210-IgG og P-Nuclear auto-ag Sp-100-IgG, der påvises hos ca. 30% af patienter med PBC. En række studier indikerer prognostisk værdi af fund af antistoffer rettet mod Gp210, idet disse er rapporteret at findes hos patienter med mere avanceret sygdom og at være associeret med højere dødelighed
- IIF ANA kan også udføres ved mistanke om PBC, hvor fund af cytoplasmatiske, retikulær (anti-mitokondrie) fluorescens (AC-21) bør føre til specifik analyse for E2-PDC-antistof,

da andre anti-mitokondrie-antistoffer med lav specificitet for PBC kan give samme mønster (AC-21) i IIF ANA. Mønstrene multiple nukleære dots (AC-6) og nukleær envelope (laminer) (AC-12) er også associeret til PBC og bør føre til specifik analyse for henholdsvis P-Nuclear auto-ag Sp-100-IgG og P-Nucleoporin Gp-210-IgG. Centromer mønster ses hos omkring 10% af PBC-patienter.

Anbefalinger målrettet laboratorier, der udfører analyse for ANA:

- Laboratorier, der udfører analyse for ANA bør tilbyde screening i form af immunmorfologiske teknikker med immunfluorescens (IIF) med HEp-2-celler eller tilsvarende cellelinje (eks. HEp2000) som substrat
- Udførende laboratorier skal som minimum kunne rapportere mønstre på niveau med 'competent level' i henhold til det internationale standardiseringsinitiativ (ICAP, www.ANAPatterns.org), inklusive cytoplasmatiske og mitotiske mønstre. Om muligt rapporteres AC-mønstre på ekspertniveau.
Enkelte AC-mønstre bør kun rapporteres, hvis de er verificerede med antigenspecifikke metoder (AC-2: DFS70 og AC-29: Topoisomerase 1 [Sci70])
- IIF ANA cut off fastlægges svarende til 95-percentilen blandt raske. I de fleste laboratorier ligger denne svarende til en screeningsfortynding på 1:160 eller 1:320
- Titrering af positive IIF ANA bør udføres med følgende formål:
 - Afdække evt tilstedeværelse af flere, underliggende mønstre
 - IIF ANA titer er associeret med sandsynlighed for ANA-associeret sygdom
- *Solid phase assays* er værdifulde i tillæg til IIF til påvisning af ANA
- Ved dokumenteret høj performance (i eget lab, på egen population) kan *solid phase assays* anvendes som primære screening på uselektede populationer med lav præ-test sandsynlighed for sygdom, f.eks. prøver fra patienter i primær sektor. Der bør informeres om, hvilke antistofspecificiteter der detekteres med pågældende metode, og at metoden ikke omfatter alle undertyper af ANA, der kan detekteres med IIF ANA
- Hvis *solid phase assays* anvendes som primære screening for ANA, bør der ved negativt resultat tilbydes analyse med IIF ANA, hvis der er bestyrket klinisk mistanke om ANA-associeret sygdom
- I udvalgte patientpopulationer, herunder børn samt patienter mistænkt for autoimmun lever/galdevejssygdom bør screening for ANA udføres med IIF ANA, da disse patienter ofte har antistofspecificiteter, der ikke detekteres med *solid phase assays*
- IIF ANA er inkluderet i klassifikationskriterierne for SLE, som prognostisk markør ved juvenil idiopatisk arthritis (oligoarthritis) og i diagnostiske kriterier for autoimmun leversygdom
- Ved screening med IIF ANA bør der informeres om variabel/manglende detektion af visse ANA-specificiteter, herunder primært SSA (Ro60 og Ro52) og Jo-1
- Det er afgørende, at rekvirenter har adgang til kompetent rådgivning fra det udførende laboratorium vedrørende svartolkning samt vurdering af indikation for eventuel yderligere udredning
- Kommunikation mellem klinikere og laboratorium bidrager til optimal diagnostik. Laboratorier bør være opsøgende i dialogen med rekvirenterne og have fokus på optimal

kommunikation af relevant information vedr. performancekarakteristika af analysemetode samt kommentarer med hjælp til tolkning

Metodetekniske overvejelser ved analyse for ANA:

IIF ANA:

Laboratorier, der udfører IIF ANA, bør orientere sig i "ICAP training module 1" på www.ANAPatterns.org, hvor nedenstående gennemgås:

- De afgørende trin for at sikre den bedste analysekvalitet og reproducerbarhed
- HEp-2-cellesubstratet med fokus på celleyklus og cellestrukturer, der er essentielle
- Den tekniske procedure og relevante tips for optimale resultater

I tillæg til ovenstående opmærksomhedspunkter vedr. IIF ANA bør der med denne teknik (som med andre teknikker til detektion af antistof) være opmærksomhed på falsk lave / falsk negative resultater på grund af prozoneeffekt.

Solid phase assays

- Hvis ANA screening er positiv, men analyse for specifikke antistoffer indeholdt i screeningen alle er uden reaktivitet, kan nedenstående overvejes:
 - Hvis to eller flere parametre giver et øget, men stadig negativt resultat (< cut off), kan en kumulativ effekt være årsagen til reaktiviteten i ANA screeningen
 - Hvis der anvendes forskellige typer af antigen til henholdsvis screening og specifik analyse (eks. nativt antigen i screeningen og bakterielt plasmidderiveret antigen i den specifikke analyse), kan man i sjældne tilfælde se diskrepant reaktivitet af denne årsag
 - Interaktionen mellem to eller flere antigener, der indgår i ANA screeningen kan føre til dannelsen af en neo-epitop, som kan genkendes af et antistof i en patientprøve. En sådan utilsigtet reaktivitet har ingen klinisk relevans
- Interferens fra antistoffer hos patienten, der reagerer med proteiner i coatningsbuffer og/eller linkerprotein, eksempelvis streptavidin eller bovint serum albumin, kan give anledning til falsk positive reaktioner i såvel ANA screening som specifikke analyser. Interferens ses sjældent, men bør overvejes, når antistoffund peger i flere forskellige retninger, og/eller når de serologiske resultater er uforenelige med de kliniske fund.

Litteratur:

Anbefalingerne vedrørende immuninflammatorisk bindevævssygdom i denne standard baseres overvejende på internationale rekommandationer forfattet af European Autoimmunity Standardisation Initiative og International Union of Immunologic Societies (IUIS) Autoantibody Standardization Subcommittee (EASI) (3) samt International Consensus on Antinuclear Antibody Pattern (ICAP) (4, 5)

Anbefalingerne vedrørende autoimmune lever-galdevejssygdomme i denne standard baseres overvejende på internationale rekommandationer fra European Association for the Study of the Liver (EASL) (6) og American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) (7).

Gennemgang af evidens:

Anbefalingen for ANA-diagnostik ved indikationen immuninflammatorisk bindevævssygdom:

IIF ANA anses for at være *gold standard* til screening for ANA (3). Såvel mønster som antistoftiter er informativt. Titer som udtryk for antistofniveau er generelt i overensstemmelse med den kliniske relevans af testresultatet. Højere antistofniveauer er associeret med sandsynlighed for systemisk autoimmun reumatisk sygdom, lige som de er associeret med sandsynlighed for at identificere de(t) specifikke autoantistof(fer) i opfølgende analyser (8-13). Relevansen af antistofniveau af autoantistoffer anerkendes også i guidelines fra American College of Rheumatology såvel som i anbefalingerne udstedt af European Autoimmunity Standardization Initiative (EASI) og International Union of Immunologic Societies (IUIS) Autoantistof Standardization Subcommittee (3, 14). ANA har siden 1982 været indeholdt som selvstændigt kriterie i klassifikation af SLE, og er i de nylige EULAR/ACR (2019) klassifikationskriterier endvidere defineret som et indgangskriterie(23). IIF ANA har dog begrænsninger, herunder klinisk relevant variation i resultater mellem forskellige laboratorier (15-17) og ikke mindst lav specificitet(18). I forhold til visse antistofspecificiteter (f.eks. Jo-1, Ribosomal P, SSA (Ro52/Ro60) og SSB samt RNA-polymeraser mangler IIF ANA også følsomhed (3).

Flere studier har vist en diagnostisk værdi af ANA udført med *solid phase assays* (8, 19-23), som anvender et begrænset antal native eller rekombinante antigener og således er væsentligt forskellige fra IIF ANA. De udvalgte antigener er klinisk relevante, hvorfor alternative metoder opnår væsentlig højere specificitet og dermed betydeligt højere positiv likelihood ratio (LR+) i forhold til IIF ANA. Alternative metoder er vist at komplementere IIF ANA, idet antistofspecificiteter, som SSA (Ro52+Ro60), SSB, Jo-1 og RNA-polymerase, for hvilke IIF ANA har begrænset følsomhed, detekteres med høj følsomhed i flere *solid phase assays*. Internationale rekommandationer anerkender anvendelse af *solid phase assays* (3). Det er dog meget væsentligt at huske, at der er tale om et begrænset repertoire af antigener i *solid phase assays*, hvorfor falsk negative resultater forekommer. Ved bestyrket klinisk mistanke om ANA-associeret sygdom, hvor der ikke detekteres antistof ved analyse med et *solid phase assay*, bør der udføres IIF ANA.

Anbefalingen for ANA-diagnostik ved indikationen autoimmun lever/galdevejssygdom:

AIH:

Diagnosen AIH kræver biopsi med histologi, der er forenelig hermed (interfase hepatitis med portal plasmacelleinfiltration er karakteristisk, ofte ses også rosettedannelse af hepatocytter) og udelukkelse af virale, arvelige, metaboliske, kolestatisk og lægemiddelinducerede sygdomme der kan ligne AIH (6, 7).

Diagnose understøttes yderligere af forhøjede aminotransaminaser i serum, forhøjet s-IgG samt tilstedeværelse af autoantistoffer, herunder ANA.

De hyppigst rapporterede IIF ANA HEp-2-mønstre hos AIH-patienter er homogent (AC-1) og/eller fint plettet (AC-4) (25). Der er ingen erkendte specifikke targets ved AIH, men specificitet mod DNA, histoner, chromatin og andre er rapporteret, og hos cirka 30% ses ikke reaktivitet mod kendte targets. Derudover kan det fibrillære, cytoplasmatiske mønster (AC-15) forekomme hos patienter med F-actin antistoffer, men denne sammenhæng er ikke absolut (26).

Ved anvendelse af ANA i de diagnostiske kriterier for AIH, bør der være opmærksomhed på følgende:

De diagnostiske kriterier for AIH, har inkorporeret IIF ANA i graderede titre (1:40, 1:80 og >1:80), og disse er baseret på detektion i rottevæv (2, 26, 27). Ved standard analyse for IIF ANA anvendes HEp-2 celler med betydeligt højere sensitivitet, hvorfor IAIHG i en konsensus-erklæring har foreslået, at kun højere (IIF ANA HEp-2) titre (>1:80) bør være pointgivende i anvendelsen af diagnostiske kriterier (25). Derudover er anvendelse af ANA som en dikotom (POS/NEG) parameter ikke optimal, da kun nogle mønstre er associeret til AIH, mens andre kernemønstre, herunder centromer (AC-3), multiple dots (AC-6) og laminer (AC-12) samt det cytoplasmatiske retikulære mønster (AC-21) associeret med mitokondrie-antistof – særligt i denne patientgruppe - bør lede mistanken over på anden leversygdom, specielt primær biliær kolangitis (PBC).

Primær biliær kolangitis (PBC):

PBC er en kronisk, kolestatisk leversygdom. Diagnosen baseres på kombinationen af en kolestatisk biokemisk profil og tilstedeværelse af anti-mitokondrie antistof (rettet mod E2-komponenten i det mitokondrielle pyruvat dehydrogenase kompleks (E2-PDC) eller andre sygdomsspecifikke ANA (28). Antistof rettet mod E2-PDC findes hos op til 95% af PBC-patienter. I ANA IIF giver dette antistof anledning til cytoplasmatiske, retikulær (anti-mitokondrie) fluorescens (AC-21). Ved klinisk mistanke anbefales dog at udføre specifik analyse for E2-PDC-antistof, da øvrige anti-mitokondrie-antistoffer med lav specificitet for PBC også giver anledning til AC-21 i ANA-IIF.

Øvrige sygdomsspecifikke ANA findes hos cirka en tredjedel af PBC-patienter og er typisk karakteriseret ved multiple nukleære dots (AC-6) eller nukleær envelope (laminer) (AC-12) mønster i IIF ANA (29, 30). Disse mønstre betragtes som diagnostiske for PBC, også i fravær af anti-E2-PDC (30). Fagrådet anbefaler dog, at der ved fund af nukleære dots eller nukleær envelope i ANA IIF og klinisk mistanke om PBC suppleres med analyse for specifikke PBC-associerede antistoffer, herunder P-Nucleoporin Gp-210-IgG (ved nukleær envelope, AC-12) og P-Nuclear auto-ag Sp-100-IgG (ved nukleære dots, AC-6). En række studier indikerer prognostisk værdi af fund af antistoffer rettet mod Gp210, idet disse er rapporteret at findes hos patienter med

mere avanceret sygdom (29) og fundet at være associeret med højere dødelighed, selv hos patienter med normal bilirubin på diagnosetidspunktet (31-33). Antistoffer rettet mod Sp100 er mindre specifikke for PBC (34), men hos en patient med klinisk mistanke om PBC understøttes diagnosen af fund af antistoffer rettet mod Sp100. En eventuel prognostisk værdi er kontroversiel (30).

Endelig ses ANA i form af anti-centromer antistoffer hos omkring 10 % af PBC-patienter og har i nogle studier, men ikke alle, været forbundet med portal hypertension og mere alvorlig sygdom (30, 35)

Arbejdsgruppens overvejelser:

Balancen mellem fordele og ulemper	<p>Gruppen har taget udgangspunkt i eksisterende litteratur, herunder internationale anbefalinger vedr. diagnostik af ANA med brug af forskellige metoder til detektion samt egne erfaringer fra laboratoriet og klinikken.</p> <p>IIF ANA og alternative metoder til screening for ANA komplementerer hinanden. Primær udførelse af begge kan øge sensitiviteten, men det vurderes mere hensigtsmæssigt at anvende metoderne differentieret på prætest sandsynlighed.</p>
Kvaliteten af evidensen	

Referencer

1. 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(6):594-608.
2. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology.* 2008;48(1):169-76.
3. 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.
4. 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.
5. Chan EK, Andrade LE. International Consensus on ANA Patterns (ICAP) [Available from: <https://anapatterns.org/trees-2021.php>.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 2015;63(4):971-1004.
7. Mack CL, Adams D, Assis DN, Kerkar N, Manns MP, Mayo MJ, et al. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis in Adults and Children: 2019 Practice Guidance and Guidelines From the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2020;72(2):671-722.

8. 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.
9. Oyaert M, Bossuyt X, Ravelingien I, Van Hoovels L. Added value of indirect immunofluorescence intensity of automated antinuclear antibody testing in a secondary hospital setting. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(2):e63-6.
10. Damoiseaux JG, Tervaert JW. From ANA to ENA: how to proceed? *Autoimmun Rev.* 2006;5(1):10-7.
11. Li H, Zheng Y, Chen L, Lin S. High titers of antinuclear antibody and the presence of multiple autoantibodies are highly suggestive of systemic lupus erythematosus. *Sci Rep.* 2022;12(1):1687.
12. Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodrigues SH, Dellavance A, Andrade LE. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2011;63(1):191-200.
13. Schouwers S, Bonnet M, Verschueren P, Westhovens R, Blockmans D, Mariën G, et al. Value-added reporting of antinuclear antibody testing by automated indirect immunofluorescence analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52(4):547-51.
14. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum.* 2002;47(4):434-44.
15. Pisetsky DS, Spencer DM, Lipsky PE, Rovin BH. Assay variation in the detection of antinuclear antibodies in the sera of patients with established SLE. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(6):911-3.
16. Van Hoovels L, Schouwers S, Van den Bremt S, Bossuyt X. Variation in antinuclear antibody detection by automated indirect immunofluorescence analysis. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(6):e48.
17. Infantino M, Manfredi M, Soda P, Merone M, Afeltra A, Rigon A. ANA testing in 'real life'. *Ann Rheum Dis.* 2020;79(1):e3.
18. Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, et al. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum.* 1997;40(9):1601-11.
19. 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(6):909-18.
20. Willems P, De Langhe E, Westhovens R, Vanderschueren S, Blockmans D, Bossuyt X. Antinuclear antibody as entry criterion for classification of systemic lupus erythematosus: pitfalls and opportunities. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(8):e76.
21. Claessens J, Belmonto T, De Langhe E, Westhovens R, Poesen K, Hùe S, et al. Solid phase assays versus automated indirect immunofluorescence for detection of antinuclear antibodies. *Autoimmun Rev.* 2018;17(6):533-40.
22. Bizzaro N. Can solid-phase assays replace immunofluorescence for ANA screening? *Ann Rheum Dis.* 2020;79(3):e32.
23. Bizzaro N, Brusca I, Previtali G, Alessio MG, Daves M, Platzgummer S, et al. The association of solid-phase assays to immunofluorescence increases the diagnostic accuracy for ANA screening in patients with autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev.* 2018;17(6):541-7.
24. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(9):1151-9.
25. Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cañado 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(4):677-83.
26. Liberal R, Grant CR, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Diagnostic criteria of autoimmune hepatitis. *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):435-40.

27. 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(5):929-38.
28. EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary kolangitis. *J Hepatol.* 2017;67(1):145-72.
29. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. The clinical usage and definition of autoantibodies in immune-mediated liver disease: A comprehensive overview. *Journal of Autoimmunity.* 2018;95:144-58.
30. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM, Adams D, Alpini G, et al. The challenges of primary biliary kolangitis: What is new and what needs to be done. *J Autoimmun.* 2019;105:102328.
31. Yang F, Yang Y, Wang Q, Wang Z, Miao Q, Xiao X, et al. The risk predictive values of UK-PBC and GLOBE scoring system in Chinese patients with primary biliary kolangitis: the additional effect of anti-gp210. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(5):733-43.
32. Wesierska-Gadek J, Penner E, Battezzati PM, Selmi C, Zuin M, Hitchman E, et al. Correlation of initial autoantibody profile and clinical outcome in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2006;43(5):1135-44.
33. Nakamura M. Clinical significance of autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2014;34(3):334-40.
34. Wichmann I, Montes-Cano MA, Respaldiza N, Alvarez A, Walter K, Franco E, et al. Clinical significance of anti-multiple nuclear dots/Sp100 autoantibodies. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38(9):996-9.
35. Liberal R, Grant CR, Sakkas L, Bizzaro N, Bogdanos DP. Diagnostic and clinical significance of anti-centromere antibodies in primary biliary cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2013;37(6):572-85.

Redaktionel uafhængighed

Retningslinjen/standarden er udviklet uden ekstern støtte.

Interessekonflikt

TK har modtaget økonomisk godtgørelse som foredragsholder samt økonomisk støtte til kongresdeltagelse fra Thermo Fisher. KBL har modtaget økonomisk godtgørelse som foredragsholder fra Thermo Fisher Ingen af gruppens øvrige medlemmer har interessekonflikter i forhold til den udarbejdede retningslinje/standard.