

# De nieuwe Nederlandse richtlijn voor laboratoriumdiagnostiek van met ANA geassocieerde auto-immuunziekten

The updated Dutch guideline for laboratory diagnostics of ANA-associated auto-immune diseases

dr. A.A. van Beek<sup>1,6</sup>, dr. M.W.J. Schreurs<sup>2,6</sup>, dr. H.G. Otten<sup>2,3</sup>, drs. F.J.M. Bergkamp<sup>4</sup>, dr. J.G.M.C. Damoiseaux<sup>2,5</sup>

## SAMENVATTING

De nieuwe Nederlandse richtlijn voor laboratoriumdiagnostiek van met antinucleaire antistoffen (ANA) geassocieerde auto-immuunziekten bevat 12 minimumnormen en 5 streefnormen. Zowel de HEp-2-IIF-test als 'solid-phase'-testen zijn nodig om met ANA geassocieerde auto-immuunziekten te diagnosticeren. In dit artikel wordt de nieuwe richtlijn toegelicht.

(NED TIJDSCHR ALLERGIE, ASTMA, KLIN IMMUNOL 2021;21(2):58-64)

## SUMMARY

The updated Dutch guideline for laboratory diagnostics of antinuclear antibody (ANA)-associated autoimmune diseases comprehends 12 minimum standards and 5 target standards. Both the HEp-2 IIF test and the solid phase assays are necessary in diagnosing ANA-associated autoimmune diseases. This article explains the updated Dutch guideline.

## INLEIDING

De test voor antinucleaire antistoffen (ANA) wordt traditioneel uitgevoerd met behulp van een indirecte immunofluorescentie (IIF)-techniek met HEp-2-cellen (of een variant hiervan, zoals HEp-2000- of HEp-2010-cellen) als substraat. Het American College of Rheumatology (ACR) heeft vastgesteld voor welke ziektebeelden een ANA-test van toegevoegde waarde is.<sup>1</sup> De test is zeer bruikbaar voor het stellen van de diagnose systemische lupus erythematosus (SLE) en systemische sclerose (SSc). Ook is de test bruikbaar voor het stellen van de diagnose idiopathische

inflammatoire myopathie (IIM) en het Sjögren-syndroom (SjS). Verder is de ANA-test, als onderdeel van de criteria voor diagnostiek, onmisbaar bij het stellen van de diagnose 'mixed connective tissue disease' (MCTD), door medicijnen geïnduceerde lupus en auto-immunhepatitis (AIH). Daarnaast is de ANA-test opgenomen in de risicofraterificatie voor de kans op uveïtis bij juveniele idiopathische artritis (JIA).<sup>2</sup> Hierbij is het uitgangspunt dat enkel autoantistoffen gericht tegen kernbestanddelen als ANA-positief gerapporteerd worden.

Na de introductie van alternatieve testmethoden (met

<sup>1</sup>laboratoriumspecialist medische immunologie i.o., HLA-laboratorium, afdeling Immunologie, LUMC, Leiden, <sup>2</sup>laboratoriumspecialist medische immunologie, <sup>3</sup>Centraal Diagnostisch Laboratorium, UMC Utrecht, Utrecht, <sup>4</sup>laboratoriumspecialist klinische chemie, Atalmedial, Amsterdam, <sup>5</sup>Centraal Diagnostisch Laboratorium, Maastricht UMC+, Maastricht, <sup>6</sup>laboratorium Medische Immunologie, afdeling Immunologie, Erasmus MC, Rotterdam.

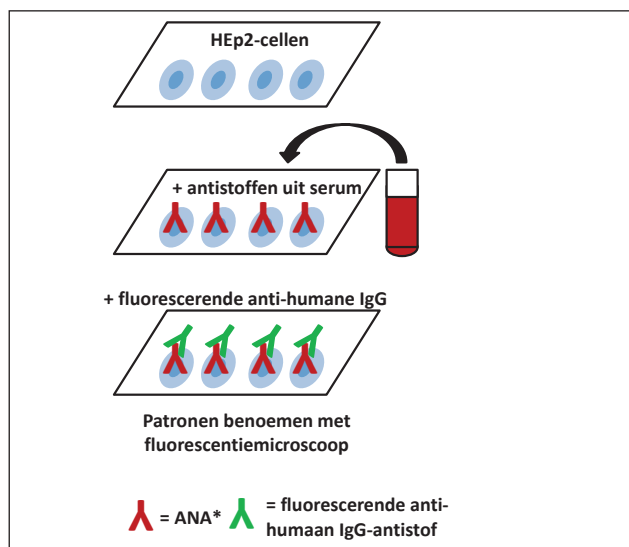
Correspondentie graag richten aan: dr. J.G.M.C. Damoiseaux, Maastricht UMC+, Centraal Diagnostisch Laboratorium, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht, tel.: 043 387 66 55, e-mailadres: jan.damoiseaux@mumc.nl

Belangenconflicten: geen gemeld. Financiële ondersteuning: dr. M.W.J. Schreurs ontving sprekersvergoeding van Thermo Fisher en Biogen, dr. J.G.M.C. Damoiseaux ontving sprekersvergoeding van Euroimmun, Thermo Fisher en Inova Diagnostisc.

**Trefwoorden:** antinucleaire antistoffen, auto-immuunziekten, laboratoriumdiagnostiek.

**Keywords:** antinuclear antibodies, autoimmune diseases, laboratory diagnostics.

ONTVANGEN 1 APRIL 2021, GEACCEPTEERD 12 APRIL 2021.



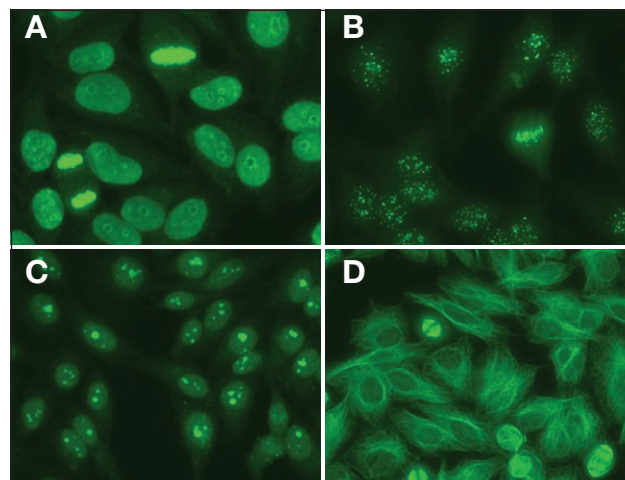
**FIGUUR 1.** Werkwijze HEP-2-IIF-test. Op een glaasje gehechte HEp-2-cellen worden met (verdund) serum van een patiënt geïncubeerd. Gebonden antistoffen in rood blijven na de wasstap aanwezig. Bindende autoantistoffen worden aangetoond met behulp van fluorescerende antistoffen die gericht zijn tegen humaan IgG, en beoordeeld met behulp van een fluorescentiemicroscop.

\*Indien reactief met kernbestanddelen feitelijk ANA.

ANA=antinucleaire antistoffen, HEP-2-IIF-test=HEp-2-indirecte immunofluorescentietest.

name antigeenspecifieke 'solid-phase'-methoden zoals ELISA, FEIA en CLIA) en de constatering dat met name SLE-patiënten een negatief testresultaat hadden met deze nieuwe methoden (niet HEp-2-IIF), is de HEp-2-IIF-test door het ACR gedefinieerd als de gouden standaard voor het bepalen van ANA.<sup>3</sup> Voor alternatieve testen is ruimte, mits deze even goed zijn als de HEp-2-IIF-test en de gebruikte testmethode gecommuniceerd wordt naar de aanvrager. In welke mate en voor welk ziektebeeld de alternatieve testmethode 'even goed' moet zijn, wordt echter niet gespecificeerd. De aanbevelingen van de European Autoimmunity Standardization Initiative (EASI)/International Union of Immunological Societies (IUIS) geven iets meer ruimte voor alternatieve methoden, mits dit kenbaar gemaakt wordt aan de aanvrager en de mogelijkheid wordt geboden alsnog een HEp-2-IIF-resultaat te verkrijgen, eventueel via een verwijzingslaboratorium.<sup>4</sup>

Wat betreft de uitvoering van de HEp-2-IIF-test: serum van patiënten wordt geïncubeerd met HEp-2-cellen die gecoat zijn op glaasjes. Antistoffen tegen antigenen in de HEp-2-cellen worden gebonden en aangetoond met behulp van lichtgevende (fluorescerende) secundaire antistoffen (zie *Figuur 1*). Diverse nucleaire, cytoplasmatische



**FIGUUR 2.** Foto's van enkele fluorescentiepatronen.

(A) AC-1=nucleair homogeen. (B) AC-3=nucleair centromeer. (C) AC-8=nucleair nucleolair. (D) Een combinatie van AC-16=cytoplasmatisch fibrillair en AC-25=mitotisch spoelfiguur.

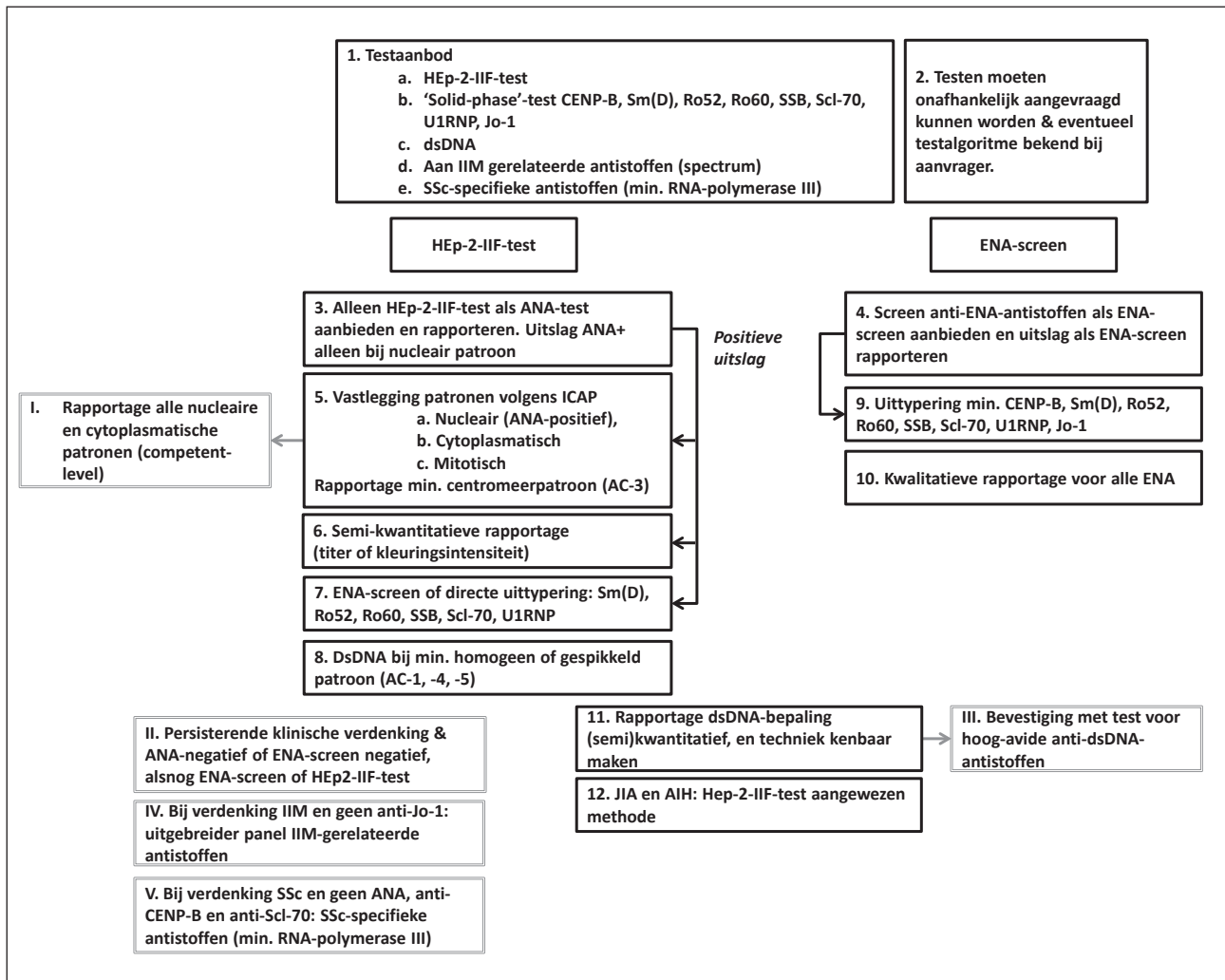
en mitotische patronen kunnen worden waargenomen (zie *Figuur 2*). Ieder van deze patronen is geassocieerd met bepaalde antigenen, bijvoorbeeld het centromeerpatroon (AC-3) met antistoffen tegen het CENP-A- of CENP-B-antigeen. Een nadere beschrijving van de HEp-2-IIF-test en alternatieve testen, in combinatie met de voor- en nadelen van de betreffende testen, is onlangs gepubliceerd door Bossuyt et al.<sup>5</sup>

De vraag of de HEp-2-IIF-test de meest geschikte screeningstest is voor het brede scala aan met ANA geassocieerde aandoeningen, is eigenlijk al door de ACR beantwoord, maar staat opnieuw ter discussie.<sup>1,5</sup> Wel is bekend dat de sensitiviteit van IIF voor antistofdetectie tegen SS-A/Ro60- en Jo-1-antigenen lager is in vergelijking met antigeenspecifieke immuunassays.<sup>6,7</sup> IIM-specifieke autoantistoffen kunnen, met een beperkte sensitiviteit, wel worden aangetoond in de HEp-2-IIF-test, maar met name de anti-synthetase-antistoffen laten een cytoplasmatisch patroon zien en zijn in strikte zin geen ANA.

## DE NIEUWE NEDERLANDSE RICHTLIJN

In 2010 formuleerde het Nederlandse EASI-team 15 aanbevelingen voor de laboratoriumdiagnostiek voor met ANA geassocieerde auto-immuunziekten.<sup>8</sup> In 2014 volgden 25 aanbevelingen vanuit Europees verband.<sup>4</sup> De toepassing van de Nederlandse aanbevelingen werd onlangs onderzocht met een enquête onder Nederlandse laboratoriumspecialisten.<sup>15</sup> De uitkomsten van deze enquête werden gebruikt als uitgangspunt voor de nieuwe richtlijn.

De Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde (NVKC) en het College van Me-



**FIGUUR 3.** Overzicht en samenhang van minimum- en streefnormen. De minimumnormen zijn met Arabische cijfers weergegeven, de streefnormen met Romeinse cijfers.

ANA=antinucleaire antistoffen, ENA=extraheerbare nucleaire antigenen, ICAP='international consensus on ANA patterns', IIF=indirecte immunofluorescentie, IIM=idiopathische inflammatoire myopathie, SSc=systemische sclerose.

disch Immunologen (CMI) van de Nederlandse Vereniging voor Immunologie hebben in 2020 gezamenlijk de richtlijn Aanbevelingen in de laboratoriumdiagnostiek van ANA, anti-dsDNA- en anti-extraheerbare nucleaire antigenen (ENA)-antistoffen vastgesteld. Deze is opgenomen in de veldnorm, waardoor laboratoria bij accreditatie aan deze richtlijn worden getoetst. De richtlijn beperkt zich tot met ANA geassocieerde auto-immuunziekten: systemische auto-immuunziekten (IIM, MCTD, SjS, SLE en SSc), JIA en AIH.

Als uitgangspunt werden 2 vragen geformuleerd, aan de hand waarvan de richtlijn is opgesteld:

1. Wat is de rol van ANA HEP-2-IIF-test binnen de diagnostiek van met ANA geassocieerde auto-immuunziekten?
2. Hoe passen alternatieve testen voor de HEP-2-IIF-test

binnen de diagnostiek van met ANA geassocieerde auto-immuunziekten?

Dit artikel heeft als doel deze nieuwe richtlijn nader te duiden. Voor de volledige richtlijn wordt verwezen naar de website van de beide wetenschappelijke verenigingen. <https://medischeimmunologie.nl/cmi/richtlijnen> en <https://www.nvkc.nl/kwaliteit/richtlijnen/normen-en-richtlijnen>. De richtlijn bevat 12 minimumnormen en 5 streefnormen, die zijn samengevat in Figuur 3.

## MINIMUMNORMEN

### MINIMUMNORM 1

Voor de diagnostiek van met ANA geassocieerde auto-immuunziekten (systemische auto-immuunziekten, AIH en JIA) moet het laboratorium beschikken over een compleet repertoire aan autoantistofbepalingen:

- De HEp-2-IIF-test;
- ‘Solid-phase’-immunoassays waarbij anti-ENA-antistoffen worden aangetoond specifiek voor CENP-B, Sm (overwegend SmD), SS-A/Ro52, SS-A/Ro60, SS-B/La, topoisomerase I (Scl-70), UIRNP en Jo-1;
- Anti-dsDNA-antistof-test;
- Testen voor een uitgebreider panel aan IIM-gerelateerde antistoffen ter ondersteuning van het spectrum van IIM (anti-synthetasesyndroom/overlap myositis, dermatomyositis, necrotiserende myositis);
- Antistof-testen specifiek voor systemische SSc (minimaal RNA-polymerase III).

De respectievelijke testen kunnen ook beschikbaar worden gesteld via een verwijzingslaboratorium. Daar waar gesproken wordt over de HEp-2-IIF-test, worden ook alle andere HEp-2-varianten hiervan bedoeld. Te denken valt aan de HEp-2000-IIF-test, die gevoeliger is voor het aantonen van antistoffen tegen SS-A/Ro60, en de HEp-2010-IIF-test die meer cellen in mitose bevat ten bate van patroondefinities.

#### **MINIMUMNORM 2**

Bovenstaand repertoire aan autoantistofbepalingen dient onafhankelijk van elkaar te kunnen worden aangevraagd, maar kan daarnaast in een testalgoritme worden ondervangen. Het testalgoritme dient kenbaar gemaakt te worden aan de aanvrager. Het te gebruiken testalgoritme is deels vastgelegd in de minimumnormen 6-8. Daarnaast geven de streefnormen II-V verder richting aan het te gebruiken testalgoritme.

#### **MINIMUMNORM 3**

Uitsluitend wanneer wordt gebruikgemaakt van de HEp-2-IIF-test mag deze als ANA-test worden aangeboden. Alleen in geval van een nucleair patroon mag de uitslag als ANA-positief worden gerapporteerd.

De aanwezigheid van cytoplasmatische (en eventueel mitotische) patronen mag niet als ANA-positief resultaat worden gerapporteerd. Rapportage van dergelijke patronen dient voor de aanvrager onderscheidend van een ANA-positief testresultaat plaats te vinden.

#### **MINIMUMNORM 4**

Indien in plaats van de HEp-2-IIF-test gebruik wordt gemaakt van een screen voor anti-ENA-antistoffen, gebaseerd op een mengsel van gedefinieerde antigenen, moet de test als ENA-screen worden aangeboden en moet het resultaat als ENA-screen worden gerapporteerd.

De screen voor anti-ENA-antistoffen wordt gedefinieerd als ENA-screen, en moet als zodanig kenbaar worden gemaakt aan de aanvrager, zodat helder is dat dit geen ANA-

test betreft.

#### **MINIMUMNORM 5**

Indien de HEp-2-IIF-test positief is, moet het patroon worden vastgelegd volgens ‘international consensus on ANA patterns’ (ICAP)-nomenclatuur en -definities (minimaal competent-niveau, met uitzondering van het dicht fijn gespikkeld patroon [AC-2] dat onder de streefnorm valt); hierbij dient een onderscheid te worden gemaakt tussen nucleaire, cytoplasmatische en mitotische patronen. Minimaal het centromeerpatroon (AC-3) dient te worden gerapporteerd.

Vastlegging van de ICAP-patronen kan beperkt blijven tot de zogeheten ‘competente’ patronen (zie Damoiseaux et al. en [www.anapatterns.org](http://www.anapatterns.org)).<sup>9</sup> Alleen een nucleair patroon wordt als ANA-positief geïnterpreteerd, conform ICAP. Bij het vinden van dubbel patronen worden alle patronen intern vastgelegd conform ICAP. Vastleggen van patronen kan dienen voor het bepalen van welke vervolgstap het passendst is (testalgoritme), om de uitslag van ‘solid-phase’-testen te verifiëren (kwaliteitscontrole) en om een veranderd patroon in kaart te brengen. Het centromeer HEp-2-IIF-patroon moet aan de aanvrager worden gerapporteerd, omdat dit patroon als item telt in de ACR/EULAR-criteria voor de classificatie van SSc.<sup>10</sup> Het dicht fijn gespikkeld patroon is uitgezonderd, omdat de Nederlandse laboratoria nog onvoldoende voorbereid zijn op adequate rapportage van dit patroon. Enerzijds dient ervaring te worden opgedaan met correcte herkenning van dit patroon. Anderzijds is voor een juiste klinische interpretatie van dit patroon een bevestigingstest voor het onderliggende antigeen DFS70 vereist.

#### **MINIMUMNORM 6**

Een positieve HEp-2-IIF-test wordt semi-kwantitatief gerapporteerd (titer of kleuringsintensiteit).

Indien gebruik wordt gemaakt van met software ondersteunde IIF-microscopie kan gebruik worden gemaakt van een titervoorspelling op basis van de verkregen resultaten in de screenings-verdunning. Een screeningstiter van 1:80 is gebruikelijk voor de HEp-2-IIF-test, maar ieder laboratorium zal dit in zijn eigen populatie en setting moeten testen (met als doel 95% specificiteit). Zowel voor titer als voor kleuringsintensiteit bestaat bewijs dat hoe hoger de titer/intensiteit, hoe waarschijnlijker sprake is van een systemische auto-immuunziekte.<sup>11,12</sup> In het geval van dubbel patronen of verdenking op ‘pro-zone’-effect, is titratie raadzaam.

#### **MINIMUMNORM 7**

Een positieve HEp-2-IIF-test met een nucleair patroon (dat wil

zeggen ANA-positief) moet gevolgd worden door een ENA-screen, dan wel directe uittypering van anti-ENA-antistoffen minimaal gericht tegen Sm(D), SS-A/Ro52, SS-A/Ro60, SS-B/La, topoisomerase I (Scl-70) en U1RNP (met uitzondering van een aanvraag in het kader van AIH of JIA).

Bij een bevinding van een nucleair patroon in de HEp-2-IIF-test, is uittypering voor Jo-1 niet noodzakelijk, omdat reactiviteit tegen Jo-1 een cytoplasmatisch beeld oplevert. Voor de verdenking IIM is een rechtstreekse analyse van anti-Jo-1-antistoffen wenselijk. Uittypering voor CENP-B is niet noodzakelijk, omdat het vinden van het centromeer HEp-2-IIF-patroon in principe afdoende is.<sup>10</sup> Bij een lage titer centromeerpatroon is het raadzaam om een bevestigingstest voor anti-CENP-B-antistoffen uit te voeren. Indien uittypering niet automatisch kan plaatsvinden, dient het advies gegeven te worden een uittypering aan te vragen.

#### **MINIMUMNORM 8**

*Minimaal een homogeen en gespikkeld ANA-patroon (AC-1 en AC-4 of AC-5) moet gevolgd worden door een anti-dsDNA-antistofbepaling (met uitzondering van een aanvraag in het kader van AIH of JIA).*

Anti-dsDNA-antistoffen resulteren in een nucleair homogeen HEp-2-IIF-patroon, al dan niet gemaskeerd door nucleair gespikkelde HEp-2-IIF-patronen. Afhankelijk van het testalgoritme, kan een anti-dsDNA-antistofbepaling volgen op iedere ANA (met uitzondering van een aanvraag in het kader van AIH en JIA). Indien toevoeging van anti-dsDNA-antistoffen niet automatisch kan plaatsvinden, dient het advies gegeven te worden deze test aan te vragen.

#### **MINIMUMNORM 9**

*Een positieve ENA-screen moet worden gevolgd door uittypering van minimaal de 8 standaard-ENA (CENP-B, Sm[D], SS-A/Ro52, SS-A/Ro60, SS-B/La, topoisomerase I [Scl-70], U1RNP en Jo-1). Indien de ENA-screen dsDNA bevat, dient ook voor anti-dsDNA-antistoffen getest te worden bij een positieve ENA-screen.*

Indien de ENA-screen niet alle 8 standaard-ENA bevat, dient de ontbrekende specificiteit in het testalgoritme te worden ondervangen. Indien uittypering niet automatisch kan plaatsvinden, dient het advies gegeven te worden deze uittypering aan te vragen.

#### **MINIMUMNORM 10**

*Uitslagen van anti-ENA-antistoffen moeten voor alle 8 standaard-ENA (CENP-B, Sm[D], SS-A/Ro52, SS-A/Ro60, SS-B/La, topoisomerase I [Scl-70], U1RNP en Jo-1) afzonderlijk kwalitatief worden gerapporteerd (dus ook de negatieve resultaten); indien het resultaat van een ENA-screen als negatief wordt ge-*

*rapporteerd, kan worden volstaan met het aangeven welke ENA in die test aanwezig zijn.*

Het is afdoende om de uitslagen kwalitatief te rapporteren; indien een klinische verdenking voor MCTD is uitgesproken, is kwantitatieve rapportage van anti-RNP-antistoffen te overwegen, maar een afkapwaarde voor klinische relevantie is niet vastgesteld. Een positieve anti-SS-A-antistof moet altijd uitgesplitst worden in SS-A/Ro52 en SS-A/Ro60 en als zodanig worden gerapporteerd.

#### **MINIMUMNORM 11**

*De gebruikte techniek voor het aantonen van anti-dsDNA-antistoffen dient kenbaar te worden gemaakt aan de kliniek. Resultaten van anti-dsDNA-antistoffen dienen (semi)kwantitatief te worden gerapporteerd.*

Kwantitatieve rapportage van anti-dsDNA-antistoffen is van klinisch belang voor monitoring van ziekteactiviteit. Daarbij is het van belang dat dezelfde techniek wordt gebruikt om anti-dsDNA-antistoffen te monitoren.

#### **MINIMUMNORM 12**

*In het kader van JIA en AIH, biedt de ENA-screen geen alternatief en is de HEp-2-IIF-test de aangewezen methode.*

De ANA die gevonden worden bij patiënten met AIH zijn doorgaans niet gericht tegen de standaard-ENA of dsDNA, terwijl dit voor JIA nog onduidelijk is.<sup>13</sup> In het kader van JIA is het vinden van ANA voorspellend voor het ontwikkelen van uveïtis; het heeft daarmee directe consequenties voor behandeling.<sup>14</sup> In het kader van AIH is het vermeldenswaardig dat de gevonden ANA-titer in de HEp-2-IIF-test door een factor 2 moet worden gedeeld voor de diagnostische criteria voor AIH (die gebaseerd zijn op het aantonen van ANA in levercoupes).<sup>13</sup> In de praktijk betekent dit dat voor de diagnose AIH bij het item ANA 1 dan wel 2 punten behaald worden bij een HEp-2-IIF-titer  $\geq 80$ , dan wel  $\geq 160$ . Het laboratorium moet alert zijn dat de titer mede wordt bepaald door zaken als de gebruikte HEp-2-celijnvariant, apparatuur en conjugaat.

### **STREEFNORMEN**

#### **STREEFNORM I**

*Alle nucleaire en cytoplasmatische patronen in de HEp-2-IIF-test dienen te worden gerapporteerd volgens ICAP-nomenclatuur en -definities (minimaal competent-level).*

De klinische relevantie van mitotische patronen is niet duidelijk en rapportage ervan wordt daarom niet aanbevolen.<sup>9</sup> In tegenstelling tot de minimumnorm, impliceert deze streefnorm wel het vastleggen en rapporteren van het nucleaire dicht fijn gespikkeld patroon (AC-2).

## AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 Zowel een test voor antinucleaire antistoffen (ANA) als een screen op extraheerbare nucleaire antigenen (ENA) kunnen als startpunt worden gebruikt bij een verdenking op auto-immuunziekten geassocieerd met ANA (met uitzondering van juveniele idiopathische artritis en auto-immunhepatitis, waarvoor de ANA-test als enige aangewezen test geldt). Om verwarring te voorkomen dient de gebruikte methode (ANA-test of ENA-screen) altijd te worden gerapporteerd aan de aanvrager.
- 2 Nucleaire en cytoplasmatische patronen worden vastgelegd, met het streven dat deze ook worden gerapporteerd aan de kliniek. Deze patronen kunnen klinische relevantie hebben en richting geven aan verder testen en de diagnose.
- 3 Titratie of kleuringsintensiteit van een positieve ANA-test wordt gerapporteerd. Hoe hoger de titer of intensiteit, hoe groter de klinische relevantie.
- 4 Een positieve ANA-test wordt gevolgd door een ENA-screen of het testen van de afzonderlijke ENA. Een positieve ENA-screen wordt gevolgd door het testen van de afzonderlijke ENA.
- 5 Een homogeen of gespikkeld ANA-patroon wordt gevolgd door een anti-dsDNA-antistofbepaling. Anti-dsDNA-antistoffen worden in het diagnostiektraject bevestigd door een test voor hoog-afide anti-dsDNA-antistoffen.
- 6 Voor zowel idiopathische inflammatoire myopathie (IIM) als voor systemische sclerose (SSc) moet een breder panel aan IIM- of SSc-gerelateerde antistoffen beschikbaar zijn. De aanvrager dient zoveel mogelijk de waarschijnlijkheidsdiagnose te vermelden bij de aanvraag, zodat het laboratorium het testalgoritme op de juiste wijze kan inzetten.

### STREEFNORM II

*Indien een persisterende klinische verdenking bestaat op een met ANA geassocieerde (reumatische) auto-immuunziekte bij een negatieve HEp-2-IIF-test, dan dient het inzetten van een ENA-screen te worden overwogen. Indien een persisterende klinische verdenking bestaat op een met ANA geassocieerde auto-immuunziekte bij een negatieve ENA-screen, dan dient het inzetten van een HEp-2-IIF-test te worden overwogen.*

De HEp-2-IIF-test kan beperkter sensitief zijn voor anti-SS-A/Ro60-, anti-SS-A/Ro52- en anti-Jo-1-antistoffen. De ENA-screen kan beperkter sensitief zijn voor nog onbekende of niet beschikbare antigenen. Daarom wordt aanbevolen om bij een persisterende klinische verdenking van een met ANA geassocieerde (reumatische) auto-immuunziekte alsnog een ENA-screen (bij een negatieve HEp-2-IIF-test) of een HEp-2-IIF-test (bij een negatieve ENA-screen) in te zetten.

### STREEFNORM III

*Een positieve bevinding voor anti-dsDNA-antistoffen in het diagnostiektraject dient bevestigd te worden met testen (Farr- of Crithidia luciliae-IIF-test) die met hoge specificiteit anti-dsDNA-antistoffen aantonen.*

Door EASI/IUIS worden de Farr-assay en de *Crithidia luciliae*-IIF-test (CLIFT) als meest geschikt beoordeeld, omdat andere immuunassays minder specifiek zijn voor SLE.<sup>4</sup> Daarom wordt aanbevolen om in het diagnostiektraject een positieve bevinding in een alternatieve immuunassay te bevestigen met de Farr-assay of de CLIFT. Dit is met name van belang bij laagpositieve bevindingen, maar het is niet mogelijk hiervoor een afkapwaarde te definiëren. De huidige beschikbare 'solid-phase'-testen zijn beperkt specifiek.

### STREEFNORM IV

*Indien een klinische verdenking is aangeduid voor IIM en geen anti-Jo-1-antistoffen gevonden zijn, is het raadzaam om voor overige aan IIM gerelateerde autoantistoffen te testen.*

Negatieve uitslagen van de HEp-2-IIF-test en van anti-Jo-1-antistoffen zijn niet sensitief genoeg om (het spectrum van) IIM betrouwbaar uit te sluiten.

### STREEFNORM V

*Indien een klinische verdenking is aangeduid voor SSc, is het effectief om eerst te screenen met een ANA-test of een alternatieve screen (HEp-2-IIF-test of ENA-screen). Een positief resultaat in de screen dient te worden opgevolgd door het uityperen*

voor anti-CENP-B en anti-Topoisomerase I (Scl-70) antistoffen. Indien deze autoantistoffen niet worden aangetoond, is het raadzaam om te testen voor overige SSc-specifieke autoantistoffen (minimaal RNA-polymerase III).

In plaats van een multiplex immuunassay voor SSc-specifieke autoantistoffen kan eventueel worden volstaan met een test voor anti-RNA polymerase III antistoffen.

## DISCUSSIE

De nieuwe richtlijn is een volgende stap in de harmonisatie van de diagnostiek van met ANA geassocieerde auto-immuunziekten. Ten opzichte van de eerdere aanbevelingen bestaat minder vrijheid om af te wijken van de richtlijn. Door het opnemen van de richtlijn in de veldnormen van het NVKC en CMI, wordt bij accreditatie van de laboratoria getoetst of deze richtlijn wordt gevolgd. Dat geldt ook voor de SKML-rondzending en beroepsvisaties. Wel biedt de richtlijn bij de start van het diagnostiektraject meer ruimte voor een keuze tussen de ANA-test en de ENA-screen. De discussie is met de nieuwe richtlijn echter niet ten einde. Zo toonde een recente meta-analyse aan dat de combinatie van ANA-test plus ENA-screen van toegevoegde waarde is voor het stellen of uitsluiten van diagnoses.<sup>5</sup> Daarnaast dient bij het opstellen van criteria voor diagnostiek en classificatiecriteria rekening te worden gehouden met de manier waarop laboratoriumtesten worden uitgevoerd en geïnterpreteerd. Als voorbeeld dienen de recente SLE-classificatiecriteria, waarvoor een ANA van 1:80 (of alternatieve test) als ingangscriterium wordt gehanteerd. Het is echter onduidelijk of cytoplasmatische patronen meetellen. Eveneens is het onduidelijk aan welke criteria alternatieve testen voor de ANA moeten voldoen. Ten slotte staat zelfs de term ANA ter discussie; daarover bestaat vooralsnog geen consensus.

## CONCLUSIE

De nieuwe Nederlandse richtlijn voor de laboratoriumdiagnostiek van met ANA geassocieerde auto-immuunziekten toont aan dat de bepaling van ANA een grote toegevoegde waarde heeft in de diagnostiek van met ANA geassocieerde aandoeningen, mits uitgevoerd in de juiste klinische context. Bovendien zijn alternatieven voor de HEp-2-IIF-test volwaardig om met ANA geassocieerde aandoeningen te diagnosticeren. Voor optimale diagnostiek zijn zowel de HEp-2-IIF-test als 'solid-phase'-testen noodzakelijk.

## REFERENTIES

1. Solomon DH, et al. *Arthritis Rheum* 2002;47:434-44.
2. Angeles-Han ST, et al. *Arthritis Care Res* 2019;71:703-16.
3. Meroni PL, et al. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1420-22.
4. Agmon-Levin N, et al. *Ann Rheum Dis* 2014;73:17-23.
5. Bossuyt X, et al. *Nat Rev Rheumatol* 2020;16:715-26.
6. Bossuyt X, et al. *Clin Chem* 2005;51:2426-27.
7. Yazdany J, et al. *Arthritis Care Res* 2013;65:329-39.
8. Damoiseaux J, et al. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2010;35:234-39.
9. Damoiseaux J, et al. *Ann Rheum Dis* 2019;78:879-89.
10. Van Den Hoogen F, et al. *Ann Rheum Dis* 2013;65:2737-47.
11. De Beeck KO, et al. *Autoimmun Rev* 2011;10:801-8.
12. Oyaert M, et al. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:e63-6.
13. Hennes EM, et al. *Hepatology* 2008;48:169-76.
14. Giancane G, et al. *Rheumatol Ther* 2016;3:187-207.
15. Van Beek A, et al. *Laboratoriumgeneeskd* 2021;4:1-26.