

İndirekt İmmüno Floresan Yöntemiyle Çalışılan Antinükleer Antikor Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of Antinuclear Antibody Results Detected by Indirect Immunofluorescence Method

Melek Bilgin*, Şule Baklacioğlu**

* Samsun Üniversitesi, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

** Samsun Üniversitesi, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Romatoloji Kliniği, Samsun, Türkiye

Atf/Cite as: Bilgin M, Baklacioğlu Ş. İndirekt immüno floresan yöntemiyle çalışılan antinükleer antikor sonuçlarının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg. 2023;53(3):143-148.

Öz

Amaç: Romatoloji kliniğinden anti-nükleer antikor (ANA) araştırılması için tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen hasta örnekleri ile yapılan indirekt floresan antikor (IFA) sonuçlarının geriye dönük olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Ocak 2021-Ocak 2022 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında otoimmün hastalık şüphesi ile ANA testi çalışılmış olan toplam 2171 hasta sonucu çalışmaya dahil edilmiştir. Üretici firmanın (Hep 20-10, Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) önerisi doğrultusunda IFA tekniğiyle serumlar ANA için 1/100 oranında sulandırılarak çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 2171 hasta örneğinin 1808'i (%83.3) kadın hastaya 363'ü (%16.7) erkek hastaya aitti. İncelenen hasta örneklerinde değişik titre ve motiflerde %41.2 (n=894) oranında pozitiflik saptandı. Sekiz yüz doksan dört pozitif ANA testinin 312'si (%34.9) benekli, 188'i homojen (%21), 160'ı (%17.9) nükleolar, 69'u (%7.7) homojen+benekli, 37'si (%4.2) benekli+nükleolar, 35'i (%3.9) sentromer, 11'i (%1.2) homojen+nükleolar, 17'si (%1.9) nükleer dot, 14'ü (%1.6) nükleer membran olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızın verileri bölgemizde ANA pozitiflik oranının yüksek olduğunu göstermiştir ve en sık görülen paternlerin literatürle uyumlu olarak; benekli, homojen ve nükleolar olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antinükleer antikor, indirekt immüno floresan, otoimmünite

ABSTRACT

Objective: Our aim was to evaluate the results of indirect fluorescent antibody (IFA) method performed with the specimens sent to our medical microbiology laboratory for anti-nuclear antibody (ANA) investigation from the rheumatology clinic.

Methods: ANA test results of 2171 patients with an autoimmune disease-suspect between January 2021 and January 2022 in the Medical Microbiology laboratory were included in the study. The serums were analyzed by IFA technique (Hep 20-10, Euroimmun AG, Lübeck, Germany) after diluting by 1/100 for antinuclear antibody.

Results: Of the 2171 patient samples, 1808 (83.3%) belonged to female patients and 363 (16.7%) belonged to male patients. Antinuclear antibody positivity was detected in 41.2% (n=894) of specimens at various titers and patterns. Among ANA-positive patients, the common fluorescence patterns were 312 (34.9%) nuclear granular, 188 (21%) homogeneous, 160 (17.9%) nucleolar, 69 (7.7%) homogeneous+granular, 37 (4.2%) granular+nucleolar, 35 (3.9%) centromere, 11 (1.2%) homogeneous+nucleolar, 17 (1.9%) nuclear dot, 14 (1.6%) nuclear membrane.

Conclusion: The data of our study showed that the rate of ANA positivity was high in our region and the most common patterns were granular, homogeneous and nucleolar in accordance with the literature.

Keywords: Anti-nuclear antibody, indirect immunofluorescent, autoimmunity

Alındığı tarih / Received:

04.07.2022 / 04.July.2022

Kabul tarihi / Accepted:

11.02.2023 / 11.February.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.09.2023 / 01.September.2023

ORCID Kayıtları

M. Bilgin 0000-0003-0025-8717

Ş. Baklacioğlu 0000-0001-9062-8675

✉ drmelekbilgin@gmail.com

GİRİŞ

İmmün sistem normal koşullarda çok sayıda antijene karşı yanıt oluştururken organizmanın öz antijenlerine karşı yanıt oluşturmamaktadır. “İmmünolojik tolerans” olarak tanımlanan bu durumun bozulması otoantikör ve/veya otoreaktif T hücre oluşumuna neden olarak otoimmün hastalık gelişimine yol açar⁽¹⁾. Sistemik otoimmün hastalıklarda saptanan otoantikörler sıklıkla hücre çekirdeğine yönelik olup bu antikörler anti-nükleer antikörler (ANA) olarak da adlandırılmaktadır. “Anti-nükleer antikörler” (ANA) ve “ekstrakte edilebilir nükleer antijenler” (ENA) terimleri artık teknik olarak doğru değildir ve mitotik iğ aparatına, sitozole veya sitoplazmik organellere karşı hedeflenen tüm otoantikörleri kapsamazlar. Bu nedenle ANA Modelleri Üzerine Uluslararası Uzlaş (ICAP) aslında ANA yerine anti-cell (AC) antikör tanımının kullanılmasını önermektedir⁽²⁾.

İndirekt immünofloresan antikör (IIF) yöntemi ile ANA testlerinde kullanılması önerilen standart substrat insan epitelium karsinom hücreleri olan Hep-2 hücreleridir⁽³⁾. Hep-2 hücrelerinin yüksek mitotik hücre sayısına sahip büyük hücrelerden oluşması ANA IIF testlerinde standardizasyonun sağlanmasını kolaylaştırmıştır⁽⁴⁾. ANA tanısında IIF yöntemi 1957’de kullanıma girmiş ve sistemik lupus eritematozus tanısında 1948’de tanımlanan lupus eritematozus (LE) hücre testine göre duyarlılığı daha yüksek bulunmuştur⁽¹⁾. IIF testleri, genelde görece olarak kolay uygulanabilir ve pahalı olmayan yararlı yöntemlerdir. Ancak; floresan mikroskopuna ve değerlendirme için eğitilmiş ve deneyimli personele gereksinim göstermesi ve daha uzun sürede sonuçlanması dezavantajları arasında sayılmaktadır⁽³⁾. Bununla birlikte elde edilen sonuçların güvenilir olması, hastalık tanısı açısından büyük önem taşımaktadır⁽¹⁾. Günümüzde otoimmün hastalıkların patogenezi açıklayabilecek çok sayıda antikör tanımlanmıştır ve otoimmün romatizmal hastalıkların tanısında en önemli parametre olan ANA grubunun belirlenebilmesi için IIF yöntemi hala altın standart olarak kabul edilmektedir^(5,6).

Çalışmamızda, Romatoloji kliniğinden ANA araştırılması için tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına

gönderilen hasta örnekleri ile yapılan indirekt immünofloresan yöntemiyle çalışılan antinükleer antikör sonuçlarının geriye dönük olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (01.12.2021 tarih ve GOKA/2021/19/4 karar numarası) onaylanmıştır.

Bu çalışmada Samsun Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2021-Aralık 2021 tarihleri arasında romatoloji kliniğinden otoimmün hastalık şüphesi ile ANA testi istenen 2171 hasta sonucu değerlendirmeye alındı.

Çalışmada insan epitel kanser (Hep-20-10/ Hepar Prim. Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) hücreleri ile hazırlanan preparatlar kullanıldı. Hasta serumları, üretici firma önerileri doğrultusunda PBS (fosfat tamponlu izotonik) solüsyonu ile 1/100 oranında dilüe edildi. Serum örnekleri slayt üzerindeki her bir kuyucuğa 30’ar µl ilave edilerek, oda ısısında otuz dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda slaytlar iki defa PBS ile yıkandı. Kuyucuklara tekrar 25 µl floresan işaretli anti-human immünooglobulin (konjugat) dolduruldu ve 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. İkinci inkübasyonun ardından kuyucuklar PBS ile tekrar yıkandı. Kuyucuklara 30 µl kapatma solüsyonu dolduruldu ve üzerleri lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar 400x büyütmede EurostarIII plus (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) floresan mikroskopunda değerlendirildi. Pozitifliklerin değerlendirilmesi 1/100, 1/320, 1/1000 ve 1/3200 için sırası ile 1+, 2+, 3+ ve 4+ olarak değerlendirildi. ANA Modelleri Üzerine Uluslararası Uzlaş (ICAP) standartları dikkate alınarak sonuçlar değerlendirildi⁽⁷⁾.

BULGULAR

Çalışmaya romatoloji bölümünce takip edilen toplam 2171 hasta örneği ile IIF yöntemi ile çalışılan ANA

sonuçları dahil edildi. Örneklerin 1808'i (%83.3) kadın hastaya 363'ü (%16.7) erkek hastaya aitti. İncelenen hasta örneklerinde değişik titre ve paternlerde %41.2 (n=894) oranında pozitiflik saptandı. Erkeklerde pozitiflik oranı %36.9 kadınlarda ise %42 olarak tespit edildi. Sekiz yüz doksan dört pozitif ANA testinin 312'si (%34.9) benekli, 188'i homojen (%21), 160'ı (%17.9) nükleolar, 69'u (%7.7) homojen+benekli, 37'si (%4.2) benekli+nükleolar, 35'i (%3.9) sentromer, 11'i (%1.2) homojen+nükleolar, 17'si (%1.9) nükleer noktacıklar, 14'ü (%1.6) nükleer membran olarak ve 51'i (%5.7) yoğun-ince benekli (DFS) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda 28 hastada ANA negatif sitoplazmik boyanma pozitif olarak tespit edilmiştir. Sitoplazmada sıklıkla retiküler tarzda, fibriler tarzda ve yoğun ince benekli tarzda boyanma saptanmıştır. İndirekt immün floresan yöntemi ile tespit edilen antinükleer antikor paternlerinin dağılımı Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. İndirekt immün floresan yöntemi ile tespit edilen ANA paternlerinin dağılımı

ICAP	Patern	Sıklık n (%)
AC-4,5,29	Benekli (granüler)	312 (34.9)
AC-1	homojen	188 (21)
AC-8,9,10	nükleolar	160 (17.9)
	homojen+benekli	69 (7.7)
Karışık patern	benekli+nükleolar	37 (4.2)
	homojen+nükleolar	11 (1.2)
AC-3	sentromer	35 (3.9)
AC-6,7	nükleer noktacıklar (dots)	17 (1.9)
AC-11,12	nükleer membran	14 (1.6)
AC-2	yoğun-ince benekli (DFS)	51 (5.7)

TARTIŞMA

Otoimmün hastalıkların prevalansında yıllar içinde bir artış görülmüştür⁽⁸⁻¹¹⁾, genel tahmini prevalans yaklaşık %4.5 olarak bildirilmektedir⁽¹²⁾. Bu nedenle otoimmün hastalıkların zamanında tanı alması kadar erken dönemde öncül belirteçlerinin tespit edilip edilmeyeceği de çok önemlidir.

ANA tanısında mutlaka floresan boyanma paternine dikkat edilmelidir. Farklı boyanma paternlerinin

belli hastalıklarla ilişkisi kanıtlanmıştır. Bu nedenle ANA için homojen, benekli (granüler, "speckled"), nükleolar, nükleer membran, sentromer paternleri yanı sıra sitoplazmik boyanma paternleri de rapor edilmelidir^(1,13). Rutin ANA testlerinde, sitoplazmik patern %6.4–21.8 oranında raporlandığı bildirilmektedir^(14,15). Çalışmamızda 28 (%3.13) hastada sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir.

Pozitif ANA sonucunun tanı koydurucu rolü hastalıklara göre değişmektedir. Antinükleer antikor testi, belirli hastalıklar da; SLE (%90-95), primer Sjögren Sendromu (%75), skleroderma (%85-90) ve miks bağ dokusu hastalığı (MCTD) (%100) yüksek tanısal duyarlılık gösterir, ancak nispeten düşük özgüllüğe sahiptir⁽¹³⁾. Aynı zamanda yoğun-ince benekli (DFS) boyanma paterni anti-DFS70 otoantikoru ile ilişkilendirilmiştir ve sağlıklı bireylerde otoimmün hastalıkları olanlardan daha yaygın olabildiği bildirilmiştir^(16,17). Çalışmamızda 51 (%2.3) hastada ANA sonucu yoğun-ince benekli (DFS) olarak tespit edilmiştir; bu hastalara Anti-ENA profile immunoblot testi ile Anti Scl70, Anti Jo-1, Anti-SS-A, Anti-SS-B, Anti Sm/ RNP ve Anti-Sm antikorları negatif olarak saptanmıştır ancak anti-DFS70 antikoru bakılamamıştır. Bununla birlikte ANA pozitifliği sağlıklı popülasyonda ve başka klinik durumlarda da görülebildiğinden pozitif sonuçların mutlaka klinikle birlikte yorumlanması gerekmektedir. Sağlıklı kontrollerde %25-30 oranında 1/40, %10-15 oranında 1/80 ve %5 oranında $\geq 1/160$ titrede ANA pozitifliği saptanabildiği bildirilmektedir⁽¹⁾. Özellikle kadınlarda yaşla birlikte ANA pozitifliği artmaktadır⁽¹⁸⁾. Bizim çalışmamızda da kadınlarda özellikle 40 yaşından sonra pozitiflik oranlarının arttığı görülmüştür.

ANA tarama dilüsyonu ile ilgili olarak uluslararası literatürde 1/160 önerilmekle birlikte ülkemizde yaygın olan uygulama 1/100 dilüsyonla tarama yapılmasıdır. Tarama dilüsyonunun 1/100 olması 1/160 ile taramaya göre düşük pozitif ANA sonuçlarının artmasına sebep olmaktadır. Düşük pozitif (1/100) ANA pozitifliklerinin, ANA pozitif sonuçların yaklaşık %70-75'ini oluşturduğu bildirilmektedir⁽¹⁾. Bizim çalışmamızda da ANA pozitif saptanan sonuçların %49'unun düşük pozitif olarak değerlendirildiği görülmüştür.

IIF testi değerlendirilmesinde, mikroskopik değerlendirme subjektif olduğundan değerlendiren kişinin uzmanlığı ve bu konuda tecrübesi de oldukça önemlidir. Bu nedenle laboratuvarlar arası ve laboratuvar içi standardizasyonu sağlamak zordur⁽¹⁾. Ancak bizim çalışmamızdaki tüm IIF testlerinin aynı uzman tarafından değerlendirilmiş olması; laboratuvar içi standardizasyonun sağlanması için önemli bir avantaj olmuştur.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, ülkemizde Olgun ve ark.'nın⁽¹⁹⁾ yaptıkları çalışmada, en sık görülen ANA paternleri %33.9 homojen, %30.6 benekli olarak değerlendirilmiştir. Karakeçe ve ark.'nın⁽²⁰⁾ yaptıkları çalışmada, farklı kliniklerden gelen hasta örneklerinde değişik titre ve motiflerde %33.3 (n=755) oranında pozitiflik saptandığı, en sık görülen floresan paternini nükleer benekli olduğunu bildirmişlerdir ve pozitiflik oranının (n=310) %41.1 oranı ile en sık romatoloji kliniğinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Evrensel ve ark.'nın⁽²¹⁾ yapmış oldukları çalışmada ise, ANA pozitiflik oranı %34 olarak görülmüş ve en sık boyanma paternleri %41 benekli, %14 homojen+benekli olarak değerlendirilmiştir. Mengelöglü ve ark.'nın⁽²²⁾ 2014 yılında yapmış oldukları çalışmada, ANA pozitiflik oranı %15.8 olarak belirtilmiş olup en sık görülen floresan paternlerini, kaba benekli %31.2, nükleolar %18, ince benekli %11.5, olarak bildirmişlerdir. Samancı Aktar ve ark.'nın⁽³⁾ yaptığı çalışmada 4363 ANA testinin 873'ünü (%20) pozitif olarak saptadıklarını; ANA pozitif olarak bildirilen hastalardan en sık görülen floresan paternlerinin; nükleer benekli %39.8, nükleolar %20.9, homojen %19.9 olarak değerlendirdiklerini bildirmektedirler. Bölgemizden Gür Vural ve ark.'nın⁽²³⁾ 2021'de yaptıkları çalışmalarında ANA pozitiflik oranını %21.33; sık görülen ANA paternleri: %27.03 benekli, %15.31 nükleer benekli+sitoplazmik benekli, %10.47 homojen+benekli olarak saptamışlardır; ancak bu çalışmada tüm kliniklerden gelen örnekler dahil edilmiş ve romatoloji bölümünden gelen hastalardaki pozitiflik oranı belirtilmemiştir. Çalışmamıza sadece romatoloji bölümünden gelen örnekler dahil edildiği için pozitiflik oranı Karakeçe ve ark.'nın⁽²⁰⁾ sonuçlarına benzer şekilde daha yüksek (%41.2) tespit edilmiştir. En sık görülen paternler diğer çalışmalara benzer şekilde sırasıyla, benekli %36.3, homojen %21.8 ve nükleolar %18.6 olarak saptanmıştır. Ülkemizde romatolojik hastalıkların

prevalansına yönelik yapılan çalışmalarda; bölgesel farklılıklar olduğu ancak özellikle karadeniz bölgesinde bu grup hastalıkların daha sıklıkla görüldüğü belirtilmektedir⁽²⁴⁾. Hastanemiz üçüncü basamak bir tedavi merkezi olarak hem il içi hem il dışı romatolojik şikayetleri olan hastalara hizmet vermektedir. Bu nedenlerle çalışmamızda pozitiflik oranının (%41.2) diğer çalışmalardan daha yüksek tespit edildiği düşünülmektedir.

Çalışmamız; bölgemizdeki romatoloji kliniğine başvuran hastalardaki IIF testlerinin değerlendirildiği sayılı çalışmalardan biri olmasına rağmen; ENA immüno blot test verileri ile birlikte değerlendirilmemiş olması ve çalışmamız retrospektif planlandığı için çalışmada kontrol grubu dahil edilememiş olması çalışmamızın kısıtlı yanlarıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmanın verileri üçüncü basamak bir hastanede romatoloji kliniğine başvuran hastalarda ANA pozitiflik oranının %41.2 ile yayımlanmış çalışmalara kıyasla yüksek olduğu ve kadınlarda erkeklere göre pozitiflik oranının daha fazla olduğunu göstermiştir. ANA pozitif olgularda en sık görülen paternlerin granüler, homojen ve nükleolar olduğu tespit edilmiştir. Bölgemizde romatoloji hastalarının klinikteki takipleri ile IIF testleri arasındaki ilişkinin araştırılacağı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmüştür.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (01.12.2021 tarih ve GOKA/2021/19/4 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Health Sciences University, Samsun Research and Education Hospital, Scientific Research Ethics Committee (12.01.2021; GOKA/2021/19/4).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Klimud. Otoantikörlerin Laboratuvar Tanısı Rehberi. 3. Baskı. Ankara: Klimud; 2020.
2. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as antinuclear antibodies. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(1):17-23. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203863>
3. Samancı Aktar G, Ayaydın Z, Rahmanlı Onur A, Gür Vural D, Temiz H. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde İFA yöntemiyle çalışılan otoantikör sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Turk J Immunol*. 2017;5(3):77-81. <https://doi.org/10.25002/tji.2017.633>
4. Chan EKL, de Melo Cruvinel W, Andrade LEC. The international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns (ICAP) initiative - Current state and perspectives. In: Conrad K, Chan EKL, Andrade LEC, Steiner G, Pruijn GJM, Shoenfeld Y, editors. *From Autoantibody Research to Standardized Diagnostic Assays in the Management of Human Diseases series. Report on the 12th Dresden Symposium on Autoantibodies*. Germany; 2015:282-8.
5. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(8):1420-2. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.127100>
6. Kasifoglu N, Yasar Bilge NS, Kasifoglu T. The anti-cytoplasmic and anti-mitotic autoantibodies; Are these antibodies associated with diseases? *Osmangazi J Med*. 2022;44(6):851-61. <https://doi.org/10.20515/otd.1142942>
7. Damoiseaux J, von Mühlen CA, Garcia-De La Torre J, et al. International consensus on ANA patterns (ICAP): The bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Auto Immun Highlights*. 2016;7(1):1. <https://doi.org/10.1007/s13317-016-0075-0>
8. Lerner A, Jeremias P, Matthias T. The world incidence and prevalence of autoimmune diseases is increasing. *Int J Celiac Dis*. 2015;3(4):151-5. <https://doi.org/10.12691/ijcd-3-4-8>
9. Chandrashekar S. The treatment strategies of autoimmune disease may need a different approach from conventional protocol: a review. *Indian J Pharmacol*. 2012;44(6):665-71. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.103235>
10. Dinse GE, Parks CG, Weinberg CR, et al. Increasing prevalence of antinuclear antibodies in the United States. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(6):1026-35. <https://doi.org/10.1002/art.41214>
11. Minz RW, Kumar Y, Anand S, et al. Antinuclear antibody positive autoimmune disorders in North India: an appraisal. *Rheumatol Int*. 2012;32(9):2883-8. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2134-1>
12. Hayter SM, Cook MC. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2012;11(10):754-65. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.02.001>
13. Damoiseaux J, Andrade LE, Fritzler MJ, Shoenfeld Y. Autoantibodies 2015: From diagnostic biomarkers toward prediction, prognosis and prevention. *Autoimmun Rev*. 2015;14(6):555-63. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.01.017>
14. Infantino M, Palterer B, Biagiotti R, et al. Reflex testing of speckled cytoplasmic patterns observed in routine ANA HEp-2 indirect immunofluorescence with a multiplex anti-synthetase dot-blot assay: a multicentric pilot study. *Immunol Res*. 2018;66(1):74-8. <https://doi.org/10.1007/s12026-017-8974-3>
15. Stinton LM, Eystathiou T, Selak S, Chan EKL, Fritzler MJ. Autoantibodies to protein transport and messenger RNA processing pathways: endosomes, lysosomes, Golgi complex, proteasomes, assemblyosomes, exosomes, and GW bodies. *Clin Immunol*. 2004;110(1):30-44. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2003.10.005>
16. 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. <https://doi.org/10.1002/art.30084>
17. Mahler M, Andrade LE, Casiano CA, Malyavantham K, Fritzler MJ. Implications for redefining the dense fine speckled and related indirect immunofluorescence patterns. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(5):447-8. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1596802>
18. Yurttutan-Uyar N, Güngör Ö, Serteser M, Akyar I. Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg*. 2017;74(1):13-20. <https://doi.org/10.11613/BM.2021.020502>
19. Olgun P, Behlül A, Yazısız H, et al. Bağ dokusu hastalıklarının tanısında antinükleer antikorun (ANA) kullanılabilirliği. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 10-13 Kasım 2013, Belek, Antalya; 2013:PS-285.
20. Karakeçe E, Atasoy AR, Çakmak G, Tekeoğlu İ, Harman H, Çiftçi İH. Bir üniversite hastanesinde antinükleer antikor pozitiflikleri. *Turk J Immunol*. 2014;2(1):5-8.

21. Evrensel N, Arslan F, Gödekmerdan A. Antinükleer antikorların retrospektif olarak değerlendirilmesi. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 10-13 Kasım 2013, Belek, Antalya. 2013;PS-284.
22. Mengeloglu Z, Tas T, Kocoglu E, Aktas G, Karabörk S. Determination of anti-nuclear antibody pattern distribution and clinical relationship. Pak J Med Sci. 2014;30(2):380-3.
<https://doi.org/10.12669/pjms.302.4276>
23. Gür Vural D, Tanrıverdi Çaycı Y, Bıyık İ, Bilgin K, Birinci A. Evaluation of immunoblotting test results in patients with positive antinuclear antibodies. Turk Hij Den Biyol Derg. 2021;78(4):443-50.
<https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2021.24482>
24. Akkoç N. Türkiye’de romatizmal hastalıkların epidemiyolojisi ve diğer ülkelerle karşılaştırılması. J Turk Soc Rheumatol. 2010;2(2):1-8.