



# Prevalenza del pattern DFS nella popolazione campana: come implementare la specificità dell'ANA screening su cellule HEP-2

N° 067

ISTITUTO DIAGNOSTICO VARELLI

Marco Varelli\*, Stefania Fasano\*, Rosa De Falco\*, Antonio Monti\*  
\*Istituto Diagnostico Varelli, Via Cornelia dei Gracchi, Napoli

## Introduzione

La prevalenza della positività degli anticorpi anti nucleo (ANA) nella popolazione generale è decisamente superiore rispetto a quella effettivamente riscontrata nelle Malattie Autoimmuni Sistemiche (MAIS) (<0,5%). E' noto infatti che la ricerca degli ANA eseguita con metodica in immunofluorescenza indiretta (IFI) su cellule HEP-2 è caratterizzata da un elevato numero di risultati falsamente positivi per le patologie del connettivo.

Dagli anni '60 ad oggi si è assistito di fatto all'incremento del numero di richieste con una bassa probabilità pre-test, essendo aumentata la tipologia dei medici specialisti o generalisti che richiedono questo esame. E' stato inoltre calcolato che circa il 20% della popolazione sana mostra livelli di positività all' ANA in IFI. Secondo recenti evidenze scientifiche, una parte di queste positività è imputabile alla presenza di autoanticorpi anti-DFS70 che, se non associata ad altre positività anticorpali, non correla con la presenza di una MAIS. La prevalenza del DFS70 varia molto in funzione della popolazione esaminata, si stima che in generale sia compresa tra il 3% e il 12%. Il pattern DFS (Dense Fine Speckled) è caratterizzato da una punteggiatura fine e densa delle cellule in interfase, e da reazione positiva delle cellule in mitosi (Fig.1), ma può venire facilmente confuso con un pattern omogeneo od omogeneo/speckled: per questo l'uso di un test di conferma specifico con metodica alternativa all'IFI è fortemente raccomandato.

## Scopo dello studio

Scopo del presente lavoro è determinare, attraverso un metodo in chemiluminescenza (CLIA), la prevalenza della positività al DFS70 nella popolazione campana e valutarne sulle performance dell'ANA Screening su cellule HEP-2. Infine, per valutare se la positività al DFS70 fosse singola o associata ad altri autoanticorpi, tutti i campioni sono stati esaminati per la positività per un pannello completo di antigeni specifici per le connettiviti.

## Metodi

Sono stati arruolati 121 campioni consecutivi afferiti al laboratorio dell'Istituto Diagnostico Varelli, che richiedevano il dosaggio degli anticorpi anti nucleo. L'ANA screening è stato eseguito con la metodica convenzionale in IFI su cellule HEP-2 (Aesku su Sistema HELIOS), tutti i sieri sono stati esaminati in parallelo per valutare la presenza di anticorpi anti DFS70 con il test QUANTA Flash® DFS70 (INOVA Diagnostics, inc.) metodica in chemiluminescenza sull'analizzatore BIO-FLASH® (INOVA Diagnostics, inc.). La presenza di antigeni specifici per le connettiviti è stata valutata con il QUANTA Flash® CTD Screen Plus (INOVA Diagnostics, inc.) sull'analizzatore BIO-FLASH® per le seguenti specificità anticorpali: dsDNA, Sm/RNP, Ro52, Ro60, SS-B, Scl-70, Centromero, Mi-2, Ku, Th/To, RNA Pol III, Pm/Scl and PCNA, Jo-1 e proteina P ribosomiale.

## Risultati

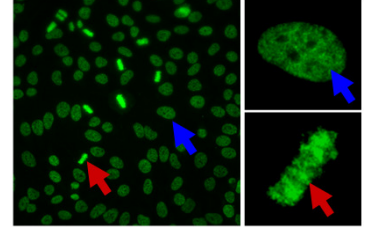
In linea con quanto descritto in letteratura, la prevalenza del DFS70 nella popolazione campana è del 5,8%. Su 121 campioni esaminati, 30 campioni (24,8%) sono risultati positivi in IFI di questi, 7 campioni (5,8% della popolazione generale) sono positivi al DFS70 in CLIA (Fig.2 e Tab.1). Considerando solo i campioni ANA IFI positivi, il 23,4% risulta DFS70 positivo (Fig.3 e Tab.2). Dall'analisi dei pattern fluoroscopici, si evince che il pattern DFS è stato classificato, nella maggioranza dei casi (6 campioni; 85,7%), come pattern omogeneo con un titolo variabile tra 1:160 e 1:1280, mentre solo 1 campione presentava un doppio pattern omogeneo e speckled con titolo 1:320. (Tab.3)

Dei 7 campioni DFS70 positivi, 6 campioni presentavano la sola positività al DFS70 in CLIA (QUANTA Flash® DFS70) ed erano negativi al test CLIA per le connettiviti (QUANTA Flash® CTD Screen Plus), questi campioni erano stati classificati come pattern omogeneo anche ad elevato titolo, quindi, sarebbero stati indirizzati ad un percorso volto alla diagnosi del LES, in realtà questi campioni presentano una positività per ANA aspecifica supportata da anticorpi anti-DFS70 e nessuna positività per autoanticorpi associati alle malattie del connettivo, incluso anti-dsDNA.

Un solo campione su 7 invece, presentava una positività sia al DFS70 in CLIA che al test CLIA per le connettiviti ed era stato classificato come pattern omogeneo e speckled, in questo caso la presenza del DFS70 non ha nessun significato, in quanto la positività ANA IFI è legata sia alla presenza di anticorpi anti-DFS70 che alla presenza di autoanticorpi associati alle malattie del connettivo, questo paziente dovrebbe essere indirizzato in un percorso diagnostico volto a comprendere le specificità anticorpali che sostengono tale positività.

## Conclusioni

La prevalenza della positività per il DFS70 (5,8% della popolazione) influenza negativamente la specificità dell'ANA screening in IFI, l'introduzione del dosaggio del DFS70 determinerebbe un aumento della specificità dell'ANA su cellule Hep-2, consentendo di classificare meglio una buona parte di campioni ANA IFI positivi, eliminando fonti di errore come l'errata classificazione di alcune positività di tipo omogeneo che indirizzano il paziente verso un lungo ed inutile iter diagnostico.



Mahler M, Fritzier MJ. Clin Dev Immunol 2012;2012:494356.

Fig.1: Analizzatore BIO-FLASH® per i dosaggi in CLIA (sinistra), Pattern caratteristico su cellule HEP-2, le cellule in interfase mostrano un aspetto Dense fine speckled (freccia blu) con colorazione del materiale cromatinico delle cellule in mitosi (freccia rossa) (destra).

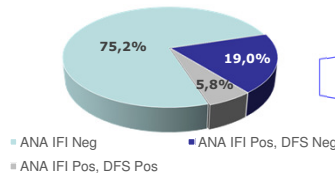


Fig.2: Distribuzione della positività l'ANA in IFI e DFS70 nella popolazione esaminata

Metodologia analitica e marcatori	N° campioni	%
ANA IFI Neg	91	75,2%
ANA IFI Pos+ CLIA DFS70 Neg	7	5,8%
ANA IFI Pos+ CLIA DFS70 Pos	23	19%

Tab.1: Percentuali di positività su 121 campioni esaminati

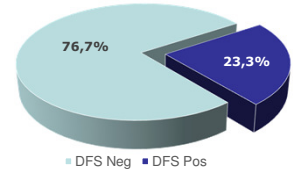


Fig.3: Distribuzione della positività DFS70 nei campioni ANA IFI Positivi

Metodologia analitica e marcatori	N° campioni	%
CLIA QUANTA Flash DFS70 Neg	23	19%
CLIA QUANTA Flash DFS70 Pos	7	5,8%

Tab.2: Percentuali di positività CLIA DFS70 tra i campioni ANA IFI Positivi

ID Campione	Pattern	Titolo	Screening CLIA Connettiviti
DFS70_1	Omogeneo	1:160	Neg
DFS70_2	Omogeneo	1:320	Neg
DFS70_3	Omogeneo	1:1280	Neg
DFS70_4	Omogeneo	1:320	Neg
DFS70_5	Omogeneo	1:1280	Neg
DFS70_6	Omogeneo	1:640	Neg
DFS70_7	Omogeneo, Speckled	1:320	Pos

Tab.3: Classificazione dei pattern fluoroscopici nei campioni DFS70 positivi