Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

DEPARTAMENTO LABORATORIO BIOMÉDICO NACIONAL Y DE REFERENCIA

DOCUMENTOS TÉCNICOS PARA EL LABORATORIO CLÍNICO

RECOMENDACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

ABRIL 2018

La presente versión responde fielmente al contenido de la Resolución Exenta Nº 824 del 04.04.2018 del Instituto de Salud Pública de Chile, que aprueba el presente documento

AUTORES ISP

BQ. Hugo Moscoso E.
Jefe Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

BQ. Carolina Valenzuela B.
Jefe Sección Inmunología
Subdepartamento de Enfermedades No Transmisibles
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

TM. Ana María Castillo M.
Profesional Sección Inmunología
Subdepartamento de Enfermedades No Transmisibles
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

BQ. Leopoldo Galdames V.
Profesional Sección Inmunología
Subdepartamento de Enfermedades No Transmisibles
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

BQ. Ingrid Mansilla C.
Profesional Sección Inmunología
Subdepartamento de Enfermedades No Transmisibles
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

BQ. Patricia Santis A.
Profesional Sección Inmunología
Subdepartamento de Enfermedades No Transmisibles
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

REVISORES INTERNOS

Dra. Verónica Ramírez M.
Jefe Subdepartamento Coordinación Externa
Departamento Biomédico Nacional y de Referencia
Instituto de Salud Pública de Chile

REVISORES EXTERNOS

Integrantes Comité de Consultores Expertos del Subprograma PEEC de Inmunología.

Dra. Patricia Abumohor G.
QF. Andoni Etcheverry L.
TM. Rebeca Montalva D.
TM. Marcelo Ramírez S.
TM. María Soledad Ripamonti Z.
Qco. María Cristina González Del V.

Representante Sociedad Médica de Laboratorio Clínico

Dra. Carolina Prieto C.

Integrante grupo de trabajo por AAN-ISP

TM. María Luisa Olea B.

RECOMENDACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

RESUMEN

El siguiente documento establece recomendaciones para los laboratorios clínicos en Chile que realizan el examen anticuerpos antinucleares, por la metodología de inmunofluorescencia indirecta en modalidad manual y automatizada. Por ser de importancia la observación del patrón, este documento describe las principales iniciativas de grupos internacionales en búsqueda de armonización de nomenclatura en patrones de anticuerpos antinucleares, hasta la más reciente que ha logrado congregar a los expertos del mundo, denominada "International Consensus on ANA Patterns (ICAP)". Finalmente se incluyen recomendaciones para el aseguramiento de calidad en el ámbito documental, control de calidad, verificación de método, equipamiento e informe de resultados.

ALCANCE

Estas recomendaciones técnicas aplican a la determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta y considera actualmente la adopción de nomenclatura e interpretación de la ICAP, para aplicar en nuestra realidad nacional.

INTRODUCCIÓN

Desde los años 70, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) ha permitido detectar autoanticuerpos con las ventajas de su simple ejecución y la adecuada sensibilidad y especificidad diagnóstica que en general otorga para la detección de estos marcadores. Sin embargo, el consumo de tiempo en la lectura al microscopio y la competencia del laboratorista en esta acción determina, en gran medida, la validez de los resultados. Hoy los laboratorios tienen la opción de utilizar equipos automatizados para realizar esta metodología.

En el transcurso del tiempo la tecnología ha permitido disponer de otros inmunoensayos que tienen la ventaja de pesquisar el autoanticuerpo específico, ya sea de forma colectiva (screening) e individual (único ó perfil) por corrida; además la metodología es de simple ejecución y su detección permite la obtención de un resultado que no es dependiente del operador.

Particularmente en el caso de la determinación de anticuerpos antinucleares por IFI en células HEp-2, éste ha sido reconocido por la American College of Rheumatology como el método de referencia por su mayor sensibilidad con respecto a otros inmunoensayos disponibles en el mercado porque la célula HEp-2 contiene más de un centenar de antígenos y además entrega valiosa información a través del patrón que definen los autoanticuerpos en sueros de pacientes con enfermedad autoinmunes sistémicas.

Estas recomendaciones constituyen una actualización para la determinación específica de anticuerpos antinucleares, tema que ya fue abordado en las "Recomendaciones para la determinación de autoanticuerpos en el laboratorio de Inmunología" emitido por el ISP en julio 2016.

TERMINOLOGIA

AAN : Anticuerpos anti-nucleares
AC : Anti cell
CANTOR : Converging Agreement by Networking Telematics for Object Recognition
ICAP : International Consensus on ANA Patterns
IFI : Inmunofluorescencia indirecta
IUIS : International Union of Immunological Societies
IWAA : International Workshop on Autoimmunity and Autoantibodies

DESARROLLO

INICIATIVAS DE CONSENSO PARA LA ESTANDARIZACIÓN DE NOMENCLATURA DE PATRONES AAN

El método IFI para AAN descrito en los años 60, se inició usando extractos de timo de ternera, luego cortes de riñón o hígado de ratón o rata hasta llegar al uso de células HEp-2 al comenzar los años 80 (1,2). Estas últimas, tienen la ventaja de disponerse en monocapa y permitir la detección de un gran número de autoanticuerpos dirigidos a estructuras celulares y organelos. De este modo el laboratorista puede distinguir "patrones" definidos por éstas como membrana nuclear, nucleoplasma, nucléolo, aparato de Golgi, ribosomas, mitocondrias y fibras de citoesqueleto entre muchas otras. A su vez estos patrones se han asociado a diferentes enfermedades autoinmunes preferentemente reumatoídeas (3).

La armonización de nomenclatura y descripción de AAN se inicia con posterioridad a los hallazgos que en los años 80 venían realizando los científicos de la European Workshop for Rheumatology Research (EWRR), quienes participaban como revisores de publicaciones que trataban de autoanticuerpos, tema que resultaba altamente debatido en la época. Debido a esto, en 1988 se formó el "European Consensus Study Group for Autoantibodies" para observar la concordancia de los laboratorios europeos en detectar especificidades de autoanticuerpos en sueros seleccionados de pacientes con enfermedades reumatoídeas y así determinar las posibles causas de las discrepancias. Los resultados mostraron que la combinación de dos o más métodos eran capaces de detectar todas las especificidades con una adecuada eficiencia (4). Entonces, se comenzaron a publicar recomendaciones para mejorar la eficiencia en la detección de autoanticuerpos, recomendaciones para estandarizar los protocolos de laboratorio y nomenclatura de patrones de AAN por IFI (5).

En los años 90, el grupo danés liderado por Allan S. Wiik, tuvo la motivación de proponer una nomenclatura y descripción basada en 29 patrones de IFI utilizando imágenes digitales en lugar de usar la microscopía convencional. Esta iniciativa que se aplicó para nivel local, prontamente se extendió a países de la Unión Europea, ampliando la cooperación científica. De esta forma se dio inicio al proyecto CANTOR que tuvo como objetivo alcanzar consenso en nomenclatura AAN entre tres reconocidos centros inmunológicos. Una segunda parte consistió en que el modelo se aplicara para evaluar las habilidades en el reconocimiento de imágenes por los laboratoristas de los otros países europeos. Este proyecto llevado a cabo entre 1998 y 2000 logró mejorar las habilidades de interpretación de imágenes, nomenclatura y descripciones (2,3).

Entre el 2000 y el 2010 el European Consensus Study Group for Autoantibodies, realizó un nuevo ejercicio con el fin de entrenar las capacidades perceptivas de los microscopistas para reconocer imágenes prototipo seleccionadas, las que previamente fueron definidas por expertos como patrones clásicos de referencia. Los laboratorios recibieron un CD-ROM con 20 imágenes AAN por HEp-2 IFI quienes tenían que interpretarlas basadas en los 29 patrones establecidos hasta entonces. Ver Anexo 1 (6).

En el avance de los años, la lenta difusión de la propuesta de proyecto CANTOR, sumada a las traducciones locales "de boca en boca" de los patrones originalmente denominados en inglés, provocó

la aparición de una variedad de nombres de patrones de los cuales muchos eran coincidentes en su descripción. Esto motivó a un grupo de científicos brasileños en el año 2000, a iniciar su trabajo de consenso en lengua portuguesa para nomenclatura de AAN asemejados a la propuesta CANTOR. El grupo brasileño publicó, en forma gráfica, un algoritmo de decisión para lectura de patrones de AAN estableciendo además los patrones de lectura obligatoria y los de lectura opcional, ver Anexo 2 (7). El trabajo sistemático de este grupo, realizó cuatro sesiones más hasta el 2013, en las cuales abordó nuevos aspectos como definición de patrones mixtos, actualización de asociaciones clínicas e incorporación de nuevos patrones.

En el año 2014 durante la 12° reunión IWAA celebrada en Sao Paulo, Brasil, surgió la iniciativa ICAP donde 66 expertos a nivel mundial sesionaron un día completo para discutir en grupos separados, según conocimiento y experiencia, los patrones nucleares, patrones nucleolares, patrones citoplasmáticos y patrones mitóticos. Con este trabajo inicial emitieron la publicación "Report of the first international consensus on standarized nomenclature on antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015" que muestra 28 patrones en un árbol de clasificación: esta nomenclatura define un código de anticuerpo identificado como AC-XX donde XX es el número asignado al tipo de patrón, que refleja el anticuerpo presente; ver Anexo 3 (8). Además construyeron el sitio web www.anapatterns.org con imágenes representativas de cada patrón y su nomenclatura. El acierto de esta iniciativa es que es de libre acceso a la comunidad internacional y se encuentra traducido a ocho idiomas en la actualidad.

Debido a la naturaleza que implica la construcción de un consenso internacional, los organizadores de ICAP, se reúnen anualmente para revisar nuevos aspectos como lo debieran ser próximamente los patrones compuestos y los patrones mixtos. Por ello, en la medida que se generen nuevos acuerdos por los expertos, se irán mostrando en la web.

DEFINICIÓN DE UN VALOR DE CORTE O SCREENING PARA LA DILUCIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

Los resultados de las pruebas para autoanticuerpos, son insuficientes para establecer el diagnóstico de una enfermedad reumática; éstos siempre deben ser interpretados en el contexto clínico. En el caso de AAN, con cierta frecuencia, son positivos en pacientes con enfermedades no reumáticas y en individuos normales (9).

En 1997 el Comité de Estandarización (subcomité AAN) de la IUIS, realizó un estudio multicéntrico para establecer el rango de títulos de AAN en individuos normales y en pacientes con ciertas enfermedades reumáticas. Tomando muestras provenientes de EEUU, Europa, Australia, Canadá y Japón, demostraron entre otros hallazgos, que la positividad de AAN en individuos normales era 31,7% a 1:40, 13,3% a 1:80, 5% a 1: 160 y un 3,3 % a 1:320 (10).

El valor de corte o screening para una prueba serológica dicotómica, como lo es la determinación de AAN, es aquella dilución que define la negatividad (normal) o positividad (anormal). Generalmente esta dilución se establece con el 95% de las muestras de donantes normales, sin embargo también debe considerarse obtener una adecuada sensibilidad diagnóstica. La recomendación entregada por expertos internacionales es que el valor de corte o screening de dilución debe determinarse en cada laboratorio clínico utilizando una población de personas sanas, ya que los valores pueden diferir de un país a otro (10,11).

Varias publicaciones, basadas en este estudio multicéntrico, consideran actualmente 1:80 como la dilución de valor de corte para AAN para lograr una adecuada sensibilidad y especificidad diagnóstica (9,12,13).

SISTEMAS AUTOMATIZADOS EN INMUNOFLUORESCENCIA

En los últimos 10 años han aparecido en el mercado sistemas automatizados para la realización y lectura de IFI. Actualmente, hay al menos 6 sistemas para la detección de AAN y otros autoanticuerpos, que permiten la clasificación de muestras con una alta eficiencia en la discriminación de positivo y negativo; además tienen una correlación aceptable con lectura manual de microscopio, realizan cuantificación automatizada de autoanticuerpos y poseen un sistema cuantitativo de control de calidad interno. Solo algunos de ellos son capaces de clasificar patrones de fluorescencia básicos: homogéneo, granular, nucleolar, centrómero, puntos nucleares, membrana nuclear y citoplasmático (14, 15).

Una reciente publicación indica que estos sistemas automatizados pueden diferenciar, en forma confiable, muestras fuertemente positivas de negativas y débilmente positivas. Sin embargo, en esta etapa, la lectura automatizada no puede reemplazar a la visual, ya que el reconocimiento del patrón ANA no se realiza de manera perfecta. Las próximas mejoras en el reconocimiento de patrones irán conduciendo la gradual incorporación de la IFI automatizada en el diagnóstico de rutina (16).

RECOMENDACIONES PARA ASEGURAMIENTO DE CALIDAD EN LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES POR IFI

1.1 PROCEDIMIENTO

a) En la utilización de kits comerciales, se deben seguir las instrucciones de uso indicados por el fabricante y se deben utilizar los reactivos contenidos en él (no intercambiar reactivos con otros kit de autoanticuerpos del mismo fabricante)

b) Se debe utilizar láminas de células HEp-2 convencionales. No se recomienda utilizar células HEp-2 transfectadas. Los pocillos deben presentar aproximadamente 3 mitosis por campo visual.

c) Para screening se recomienda usar la dilución 1/80 como dilución inicial.

d) Las muestras positivas se deben titular a punto final en diluciones múltiplo de 2, hasta un título final 1/1280.

e) Debe incluir a lo menos un control positivo y un control negativo de suero humano en la corrida. Se recomienda incluir ambos controles por cada placa. Si la corrida es realizada en equipo automatizado, incluir los controles para cada número de lote de placa.

f) El conjugado que se debe utilizar es anti-IgG humana-FITC. En kit comercial, se debe usar el conjugado de éste y no intercambiarlo por los de otros kit de autoanticuerpos del mismo fabricante.

g) Realizar la incubación con el conjugado en oscuridad, excepto que el fabricante haga otra indicación.

h) Al usar kit comercial, se debe usar el líquido de montaje de éste y no intercambiarlo por los de otros kit de autoanticuerpos del mismo fabricante.

i) Realizar la lectura de láminas en un cuarto oscuro.

j) Los profesionales lectores de AAN deben tener las competencias para realizar lecturas al menos de nivel competente.

1.2 CONTROL DE CALIDAD

a) Se recomienda incluir control de punto de corte (muestra de título final conocido) con el fin de controlar intensidad de fluorescencia del ensayo, en la frecuencia que establezca el laboratorio.

b) Se recomienda incluir un control de patrón Ro para verificar expresión de este antígeno en cada lote de láminas HEp-2.

c) En caso que el control de calidad sea insatisfactorio, se invalida la lámina ó corrida. Se debe revisar el procedimiento realizado, la vigencia de cada componente del ensayo, las diluciones aplicadas, los tiempos de incubación, el estado de los controles aplicados y por último la condición del microscopio y/ó sistema automatizado.

d) Por ser subjetiva la lectura de AAN, se recomienda que cada laboratorio realice, con una frecuencia establecida, una verificación en la concordancia entre profesionales lectores mediante lectura ciega.

1.3 EQUIPAMIENTO (Microscopio, Sistema automatizado)

a) La lectura de autoanticuerpos debe realizarse en un microscopio de epifluorescencia con lámpara de mercurio de 100 watts o con iluminación LED.

b) Si el microscopio posee lámpara de mercurio, mantener registro de horas de uso de ésta. Para lámpara de mercurio ó iluminación LED, se recomienda utilizar un portaobjeto para control de intensidad de fluorescencia de origen comercial.

c) El uso y mantención usuaria del equipamiento para IFI debe seguir las indicaciones del fabricante.

1.4 REGISTROS

a) Mantener registros actualizados de los reactivos utilizados: Nº de lote, fecha de expiración y fabricante.

b) Mantener registro de cada determinación con sus resultados y la identificación del profesional responsable de la emisión.

1.5 VERIFICACIÓN – VALIDACIÓN

a) El laboratorio debe verificar en caso de usar kit comercial, ó validar en caso de usar metodología implementada en el laboratorio, con el fin de asegurar el uso previsto de su aplicación.

b) Ante cambio de metodología IFI desde manual a automatizada, se debe realizar verificación del método y un estudio de comparación de ambas metodologías (positividad y títulos). De utilizar software de lectura que diferencie patrones, se recomienda realizar estudio con patrones a títulos bajos y altos. Se sugiere aplicar el documento CLSI EP12-A2 “User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline—Second Edition”

c) Ante cambio de microscopio con iluminación de lámpara de mercurio a LED, se debe validar en las mismas condiciones de aumento (40x), apertura numérica (0,65), filtro secundario v/s intensidad de fluorescencia.

1.6 INFORME DE RESULTADOS

a) Para informar patrones AAN se recomienda adoptar la nomenclatura basada en ICAP a lo menos en los patrones de nivel competente. Ver Anexo 3.

b) Revisar en forma frecuente la página web www.anapatterns.org para afianzar el uso de la nomenclatura e interpretación de los patrones en observación.

c) Se recomienda que el Informe contenga la información indicada en el siguiente formato. Ver Anexo 4.

d) Se recomienda que junto al nombre del examen AAN, se indique “anticuerpos antinúcleo- citoplasmáticos”

e) El formato requiere ser completado con la siguiente información

- En el informe se debe indicar resultado positivo o negativo para Anti-nuclear, título y patrón. Además resultado positivo o negativo para Anti-citoplasmático y patrón.
- Junto al patrón colocar entre paréntesis la clasificación AC de ICAP.
- En observaciones, se recomienda indicar presencia de patrón mitótico y entre paréntesis la clasificación AC de ICAP.

f) Ejemplo de informe de resultados en Anexo 5.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Friou GJ, Finch SC and Detre KD. Interaction of nuclei and globulin from lupus erythematosus serum demonstrated with fluorescent antibody. J Immunol 1958; 80: 324-329.
2. Humbel RL. Detection of antinuclear antibodies by immunofluorescence, part 1 In: van Venrooij WJ and Maini RN. Editors. Manual of Biological Markers of Disease. Kluwer Academic Publishers 1993.
3. Wiik AS, Høier-Madsen M, Forslid J, Charles P and Meyrowitsch J. Antinuclear antibodies: A contemporary nomenclature using HEp-2 cells. Journal of Autoimmunity 2010; 35: 276-290
4. van Venrooij WJ, Charles P and Maini RN. The consensus workshops for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. Journal of Immunological Methods 1991; 140: 181-189.
5. van Venrooij WJ and Maini RN. Editors. Manual of Biological Markers of Disease. Kluwer Academic Publishers 1993.
6. Atlas HEp-2 Refference Patterns. Disponible en http://www.percepton.com/Download/Documents/Atlas_HEp-2_Reference_Patterns_Ed_Allan_Wiik.pdf
7. Dellavance Alessandra, Gabriel Júnior Alexandre, Cintra Alice F. U, Ximenes Antônio Carlos, Nuccitelli Barbara, Tabilerti Ben Hur, Moreira Caio, von Mühlen Carlos Alberto, Bichara Carlos David, dos Santos Cláudio Henrique Radmos, Yano Cristiane Martinez, Mangueira Cristovão Luis Pitangueira, Carvalho Darlene Gonçalves, Bonfá Eloísa Silva Dutra de O, Doi Elvira M, Guimarães Fabiana Nunes de Carvalho, e Araújo Flávia Ikeda, Mundim Hugo Mendonça, Rego Jozelia, Vieira Lisiane Ericonio dos Anjos, Poli Luciana, Andrade Luís Eduardo Coelho, Callado Maria Roseli, Mesquita Mauro Meira, Sugiyama Mitiko; Slhessarenko Natasha, da Silva Nilzio Antônio, Carballo Orlando Gabriel, Leser Paulo Guilherme, Francescantonio, Paulo Luiz Carvalho, Jarach Renata, Xavier Ricardo Machado, Levy Roger Abramino, Neves Suzane P. F, Cruvinel Wilson de Melo, dos Santos Wilton Silva. II Brazilian Consensus on Antinuclear Antibodies in Hep-2 Cells. Rev. Bras. Reumatol 2003; 3(3): 129-140.
8. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo O, Conrad K, de Melo Cruvinel W, PL Carvalho Francescantonio, Fritzler MJ, Garcia-De La Torre, Herold M, Mimory T, Satoh M, von Mühlen CA and Andrade LEC. Report of the first international consensus on standarizad nomenclature on antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015. Frontiers in Immunology 2015; 6: 1-13
9. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH and Homburger HA. Guidelines for Clinical Use of the Antinuclear Antibody Test and Tests for Specific Autoantibodies to Nuclear Antigens. Arch Pathol Lab Med 2000; 124: 71–81

10. Tan EM, Feltkamp TEW, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, Gordon T, Hardin JA, Kalden JR, Lahita RG, Maini RN, McDougal JS, Rothfield NF, Smeenk RJ, Takasaki Y, Wiik A, Wilson MR and Koziol JA. Range of Antinuclear antibodies in "Healthy" Individuals. Arthritis and Rheumatism 1997; 40(9): 1601-1611
11. Wiik AS and Bizarro N. Missing links in high quality diagnostics of inflammatory systemic rheumatic disease. Autoimmun Highlights 2012; 3: 35-49
12. de Almeida Brito F, Elói Santos SM, Ferreira GA, Pedrosa W, Gradisse J, Costa LC and Figueiredo Neves SP. Detection of anti-nuclear antibodies by indirect immunofluorescence on HEp-2 cells: setting the appropriate screening dilution for the diagnosis of autoimmune rheumatic diseases. Rev.Bras. Reumatol 2013; 54(1): 13-20
13. Dellavance A, Leser PG and Coelho Andrade LE. Critical Analysis of Antinuclear Antibody test as a tool in clinical practice. Rev.Bras. Reumatol 2007; 47: 265-275
14. Peng X, Tang J, Wu Y, Yang B and Hu J. Novel method for ANA quantitation using IIF imaging system. J Immunol.Methods 2013; http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2013.12.004
15. Tozzoli R, D'Aurizio F, Villalta D and Bizzaro N. Automation, consolidation, and integration in autoimmune diagnostics. Autoimmun Highlights 2015; 6: 1–6
16. Loock CD, Egerer K, Feist E and Burmester G-R. Automated evaluation of ANA under real-life conditions. RMD Open 2017; 3:e000409. doi:10.1136/rmdopen-2016-000409

Anexo 1 :

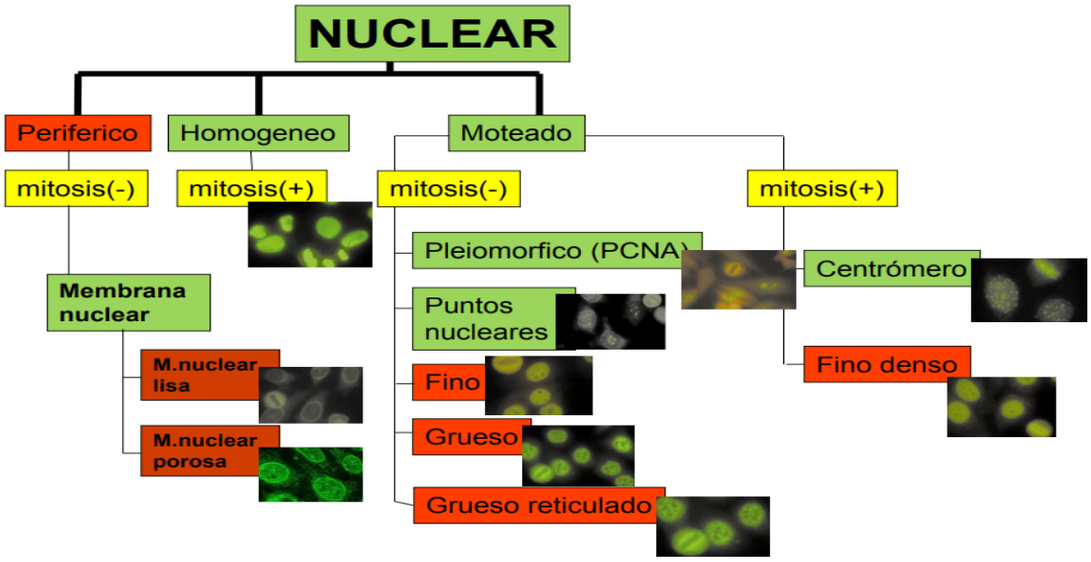
Patrones AAN en HEp-2, establecidos en proyecto CANTOR

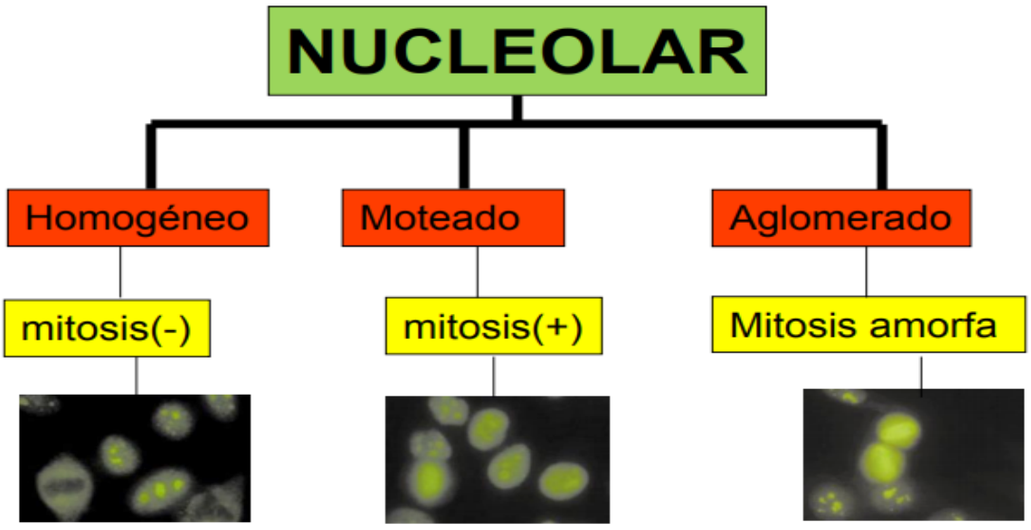
HEp-2 Autoimmune Reaction Patterns
Organized Into Six Categories and Twentynine Types.

- HEp-2 Patterns, Ed. Allan Wiik ⊠ VersionDate: 20090501.
  - Membranous Nuclear Patterns
    - Smooth Membranous
    - Punctate Membranous
  - Nucleoplasmic Nuclear Patterns
    - Homogeneous with Positive Nucleoli
    - Homogeneous with Negative Nucleoli
    - Large Speckled (Nuclear Matrix)
    - Coarse Speckled
    - Fine Speckled
    - Grainy Scl-70-like
    - Pleomorphic Speckled (PCNA)
    - Centromere
    - Multiple Nuclear Dots (NSp-I)
    - Coiled Bodies
  - Nucleolar Patterns
    - Homogeneous Nucleolar
    - Clumpy Nucleolar
    - Punctate Nucleolar
  - Spindle Apparatus Patterns
    - Centriole
    - Spindle Pole (NuMa)
    - Spindle Fibre
    - Midbody (MSA-2)
    - CENP-F (NSP-II, MSA-3)
  - Cytoplasmic Patterns
    - Diffuse Cytoplasmic
    - Fine Speckled Cytoplasmic
    - Mitochondrial-like
    - Lysosomal-like
    - Golgi-like
    - Contact proteins
    - Vimentin-like
  - Negative
    - Distinct
    - Borderline
  - Unknown Staining

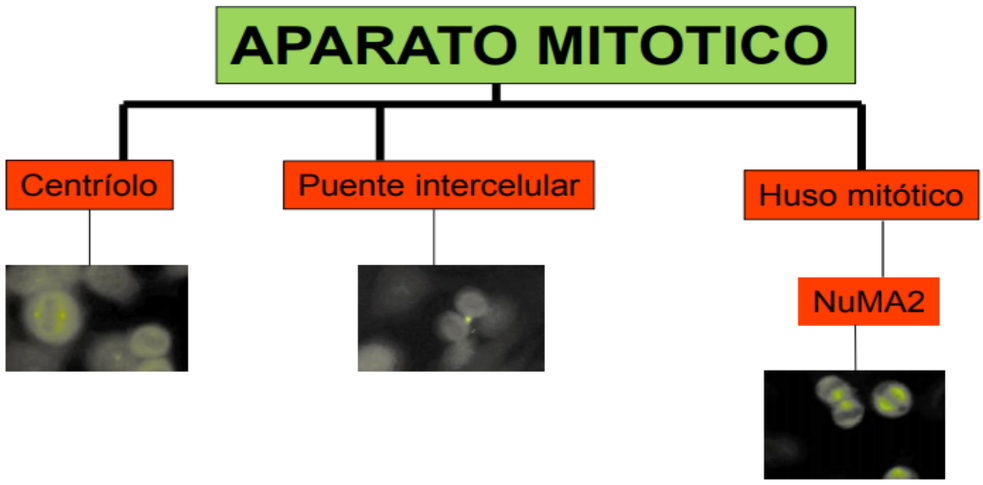
Anexo 2 :

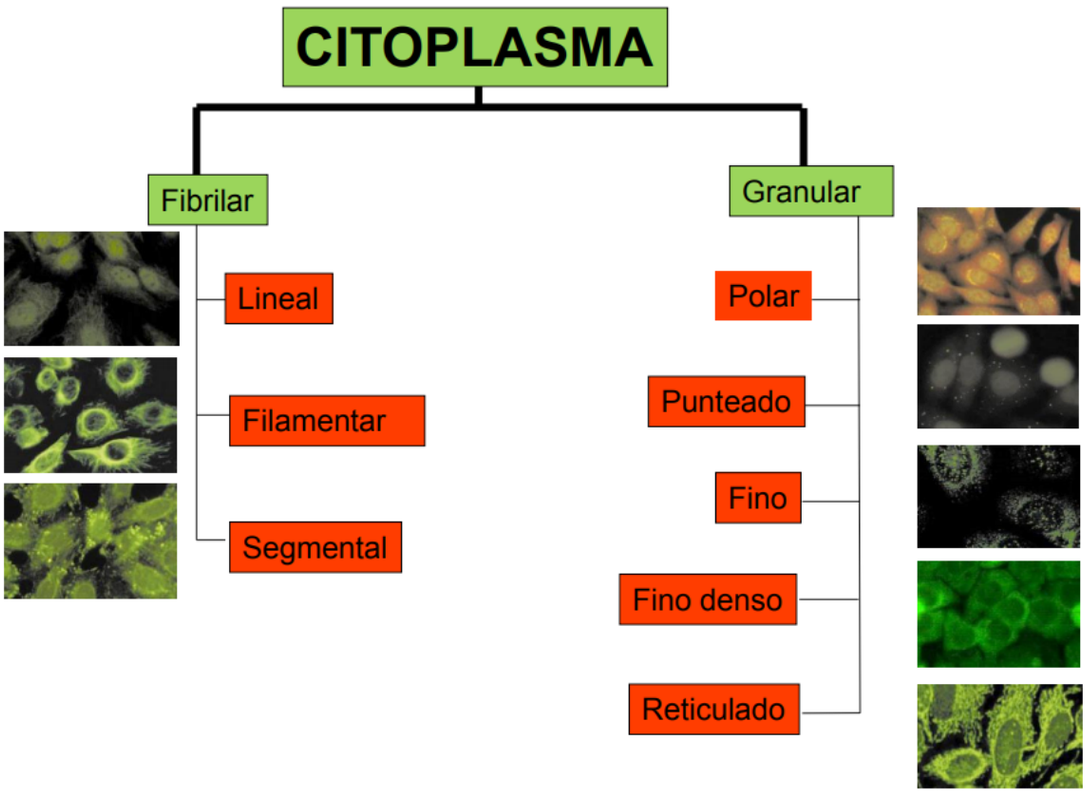
Algoritmo para clasificación de patrones AAN, basado en II Consenso brasileño.





de reporte obligatorio de reporte opcional guía para interpretación

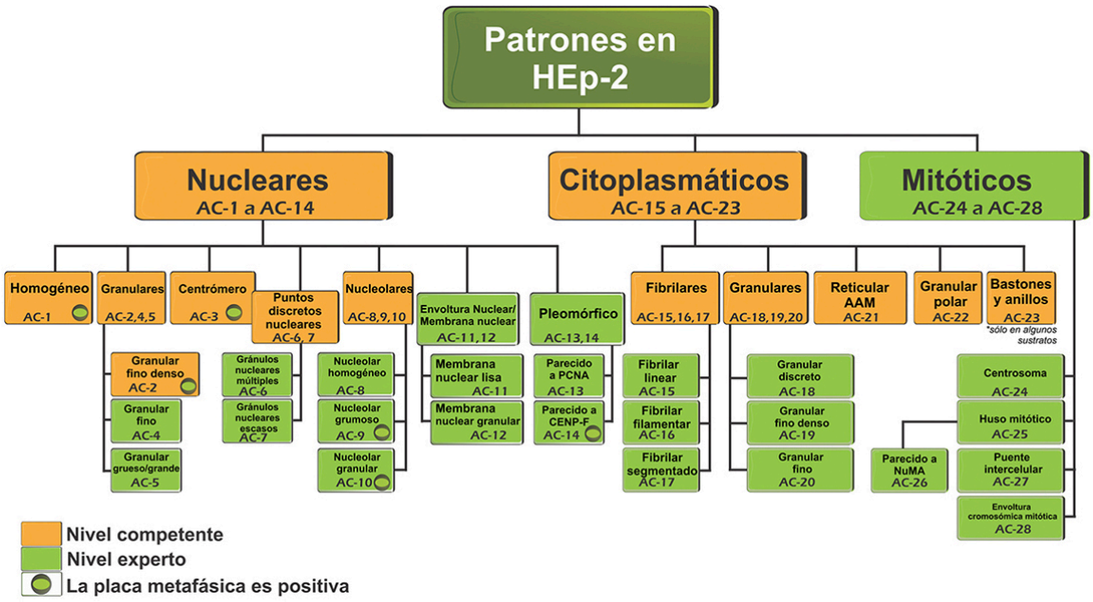




de reporte obligatorio de reporte opcional guía para interpretación

Anexo 3:

Árbol de clasificación para AAN. Iniciativa ICAP



Anexo 4 :

Propuesta de informe para AAN

Informe de resultados

Examen: Anticuerpos antinucleares (anti-núcleo- citoplasmáticos)

Método: Inmunofluorescencia indirecta; Sustrato: Célula de HEp-2;

Dilución inicial de trabajo: 1/80

	Resultados	**Valor de Referencia**
Anti-nuclear	: _____	Negativo
Patrón	: _____	
Título	: _____	
Anti-citoplasmático	: _____	Negativo
Patrón	: _____	

Observaciones: _____

Nomenclatura AC de patrones AAN basada en consenso internacional ICAP.

Ver www.anapatterns.org

Anexo 5:

Ejemplo de informe de resultados para AAN

Informe de resultados

Examen: Anticuerpos antinucleares (anti-núcleo- citoplasmáticos)

Método: Inmunofluorescencia indirecta; Sustrato: Célula de HEp-2;

Dilución inicial de trabajo: 1/80

	Resultados	**Valor de Referencia**
Anti-nuclear	: Positivo	Negativo
Patrón	: Granular (AC-2,4,5)	
Título	: 1/640	
Anti-citoplasmático	: Negativo	Negativo
Patrón	: _____	

Observaciones: Se observa patrón mitótico puente intercelular (AC-27)

Nomenclatura AC de patrones AAN basada en consenso internacional ICAP.

Ver www.anapatterns.org