



# UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA

Centro Interdisciplinario de Posgrados

Laboratorios Ruiz

## FRECUENCIA DE PATRONES DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN MUESTRAS DE PACIENTES CON SOSPECHA DE ENFERMEDAD AUTOINMUNE; INNOVACIÓN EN LA NOMENCLATURA, UN NUEVO ENFOQUE.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:  
ESPECIALIDAD EN CIENCIAS DE LABORATORIO CLÍNICO

AUTOR:

**QFB. ADRIANA HUERTA GÓMEZ**

DIRECTOR DE TESIS (METODOLÓGICO)  
**DRA. BRICEIDA LOPEZ MARTINEZ**

DIRECTOR DE TESIS (EXPERTO)  
**QFB. ANA MARIA VERA BALDERAS**

DIRECTOR DE TESIS (ESTADÍSTICO)  
**DRA. MARITZA ESPINOSA ARREOLA**



Puebla, Pue., México  
Febrero, 2023



**UPAEP – Secretaría General**

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

**Tesis Digitales Restricciones de uso:**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Tere y Salvador, mis padres porque siempre han estado a mi lado sin importar las decisiones que tome, que con amor, trabajo y sacrificio me dieron la oportunidad de llegar hasta donde estoy, a mis hermanas, por su apoyo moral, por su compañía, por hacer esta travesía más interesante.*

*Y sobre todo a Dios, por ser el inspirador y darme la fuerza para continuar aun cuando el camino no era favorecedor.*

*A los químicos que dedicaron tiempo a mi formación y compartieron sus conocimientos, sin esperar nada a cambio.*

*A mis compañeras que con el paso del tiempo se hicieron mis amigas y quienes me enseñaron lo esencial que es un equipo.*

*Y por supuesto, agradezco a la Dra. Briceida por apoyarme y guiarme, durante estos años.*

## DEDICATORIAS

*Dedico esta tesis a todos los químicos y químicas que desean continuar en el camino del crecimiento profesional, y al mismo tiempo hacerles saber que el secreto está en cada uno de nosotros.*

*A mí misma, por la perseverancia y el esfuerzo.*

## ÍNDICE GENERAL

|  |     |
|--|-----|
| INDICE DE TABLAS.....  | I   |
| INDICE DE FIGURAS .....  | II  |
| ABREVIATURAS .....   | III |
| RESUMEN.....   | IV  |
| ABSTRACT .....   | VI  |
| ANTECEDENTES .....   | 1   |
| Definición de autoinmunidad .....  | 1   |
| Definición de autoanticuerpo .....   | 2   |
| Enfermedad autoinmune .....  | 2   |
| Factores asociados en las enfermedades autoinmunes .....                         | 2   |
| Clasificación de las enfermedades autoinmunes .....                              | 4   |
| Epidemiología de las enfermedades autoinmunes .....                              | 6   |
| Historia y definición de los Anticuerpos antinucleares .....                     | 7   |
| Clasificación de los anticuerpos antinucleares .....                             | 8   |
| Metodologías para la determinación de anticuerpos antinucleares .....            | 9   |
| Algoritmo de los anticuerpos antinucleares en las enfermedades autoinmunes ..... | 11  |
| Armonización en la nomenclatura de los informes de resultados .....              | 13  |
| JUSTIFICACIÓN.....   | 17  |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....  | 18  |
| OBJETIVOS .....  | 19  |
| Objetivo general .....   | 19  |
| Objetivos específicos .....  | 19  |
| MATERIAL Y MÉTODOS .....   | 20  |
| Tipo y Diseño de investigación.....  | 20  |
| Definición del universo de trabajo.....  | 20  |
| - Población accesible .....  | 20  |
| - Población elegible .....   | 20  |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Definición del grupo de observación .....</b>   | <b>20</b> |
| - <b>Criterios de inclusión .....</b>  | <b>20</b> |
| - <b>Criterios de exclusión .....</b>  | <b>20</b> |
| <b>Ubicación espacio temporal.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>Estrategias de muestreo.....</b>  | <b>21</b> |
| <b>Definición de variables y escala de medición .....</b>  | <b>21</b> |
| <b>Métodos analíticos .....</b>  | <b>21</b> |
| <b>Análisis estadístico .....</b>  | <b>22</b> |
| <b>RESULTADOS.....</b>   | <b>23</b> |
| <b>Análisis de la frecuencia en la realización de los ANA y la prevalencia de resultados positivos de acuerdo con el sexo.....</b> | <b>23</b> |
| <b>Frecuencia de los distintos tipos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune .....</b>               | <b>24</b> |
| <b>Frecuencia de los distintos tipos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune según el sexo.....</b>  | <b>25</b> |
| <b>Frecuencia de los títulos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune .....</b>                       | <b>26</b> |
| <b>Comparación entre la nomenclatura de laboratorio Ruiz y la nomenclatura recomendada por el ICAP. ....</b>                       | <b>27</b> |
| <b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>  | <b>29</b> |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>   | <b>31</b> |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>REFERENCIAS WEB .....</b>   | <b>34</b> |

## INDICE DE TABLAS

| <b>Tabla</b> |  | <b>Página</b> |
|--------------|--|---------------|
| Tabla 1.     | Enfermedades autoinmunes órgano-específicas                                    | 13            |
| Tabla 2.     | Criterios diagnósticos del American College of Rheumatology para el LES        | 14            |
| Tabla 3.     | Clasificación de los ANA   | 22            |
| Tabla 4.     | Patrones convencionales de ANA y su relación con autoanticuerpos según el ICAP | 29            |
| Tabla 5.     | Prevalencia de ANA según sexo  | 38            |
| Tabla 6.     | Frecuencia de patrones de ANA expresados en % y cantidad                       | 39            |
| Tabla 7.     | Frecuencia de patrones ANA según sexo  | 40            |
| Tabla 8.     | Frecuencia de títulos de ANA (%)   | 41            |
| Tabla 9.     | Comparación entre la nomenclatura de laboratorio Ruiz y la nomenclatura ICAP   | 42            |
| Tabla 10.    | Cambios en la nomenclatura de laboratorio Ruiz a la nomenclatura ICAP          | 43            |
| Tabla 11.    | Prevalencia de las enfermedades autoinmunitarias                               | 44            |

## INDICE DE FIGURAS

| <b>Figura</b> |  | <b>Página</b> |
|---------------|--|---------------|
| Figura 1.     | Clasificación de las enfermedades autoinmunes  | 11            |
| Figura 2.     | Clasificación de las enfermedades autoinmunes sistémicas   | 12            |
| Figura 3.     | Algoritmo diagnóstico para el lupus eritematoso sistémico-basados en criterios diagnósticos del American College of Rheumatology (ACR) | 15            |
| Figura 4.     | Algoritmo diagnóstico para el estudio de autoanticuerpos en las miositis autoinmunes   | 16            |
| Figura 5.     | Algoritmo diagnóstico del síndrome de Sjögren  | 17            |
| Figura 6.     | Algoritmo diagnóstico para la sospecha clínica de esclerosis sistémica   | 18            |
| Figura 7.     | Algoritmo diagnóstico de artritis idiopática juvenil   | 19            |
| Figura 8.     | Rango de medida de diferentes tipos de inmunoensayos   | 23            |
| Figura 9.     | Técnica de IFI para la detección de anticuerpos antinucleares  | 24            |
| Figura 10.    | ANA ante la sospecha de enfermedad autoinmune  | 25            |
| Figura 11.    | Algoritmo diagnóstico de los ANA   | 26            |
| Figura 12.    | Nomenclatura y árbol clasificatorio  | 28            |
| Figura 13.    | Imágenes de patrones de anticuerpos antinucleares  | 30            |
| Figura 14.    | Distribución de resultados con relación a la positividad y negatividad de los ANA  | 37            |
| Figura 15.    | Clasificación de pacientes según el sexo, que acudieron a realizarse ANA   | 38            |
| Figura 16.    | Frecuencia de patrones de ANA (%)  | 39            |
| Figura 17.    | Frecuencia de patrones de ANA acorde al sexo (%)   | 40            |
| Figura 18.    | Frecuencia de títulos de ANA (%)   | 41            |

## **ABREVIATURAS**

ANA: Anticuerpos antinucleares

AC: Anti celular (Anti cell)

AG: Antígeno

EAA: Espondiloartritis Anquilosante

EAI: Enfermedades autoinmunes

ICAP: Consenso Internacional sobre Patrones de Anticuerpos Antinucleares (International Consensus on ANA Patterns)

IFI: Inmunofluorescencia indirecta

LES: Lupus Eritematoso Sistémico

PMN: Polimorfonucleares

PEP: pelviespondilopatías

SI: Sistema inmune

## RESUMEN

**Introducción:** El principal mecanismo patogénico de las enfermedades autoinmunes es la pérdida del control en la regulación del sistema inmune, caracterizada por la generación de autoanticuerpos, es decir, inmunoglobulinas con especificidad para componentes antigénicos presentes en los tejidos propios, del cual destaca un grupo de anticuerpos contra una gran variedad de antígenos nucleares, citoplasmáticos y mitóticos denominados anticuerpos antinucleares (ANA). Los ANA son marcadores serológicos de autoinmunidad, su identificación y clasificación mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) en líneas celulares humanas HEp-2, se considera una prueba de cribado en el laboratorio que apoya al diagnóstico de las enfermedades autoinmunes debido a su alta sensibilidad (1,2). Los ANA detectados deben ser evaluados por patrón morfológico de fluorescencia e intensidad (expresada en título o dilución), los patrones observados se asocian a anticuerpos contra antígenos específicos y estos a su vez a patologías autoinmunes, por ejemplo, un ANA positivo para el patrón homogéneo se asocia a Lupus Eritematoso Generalizado, títulos altos son altamente sugestivos de la enfermedad autoinmune (1,3). Debido a la gran variedad de patrones, y a la complejidad de algunos; el Consenso Internacional sobre Patrones de Anticuerpos Antinucleares (International Consensus on ANA Patterns; ICAP, por sus siglas en inglés) promueve la armonización en la notificación de resultados lo cual incluye, estandarización en la lectura e interpretación de los ANA por el método IFI (4).

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de patrones ANA y sus títulos correspondientes en resultados de pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune e identificar la diferencia entre la nomenclatura en el reporte de resultados de un laboratorio clínico y la nomenclatura propuesta por el ICAP.

**Material y métodos:** En este estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y transversal, se analizaron 13,410 resultados de pacientes, ambos sexos que acudieron a un laboratorio clínico de enero del 2019 a marzo del 2021 con sospecha de enfermedad autoinmune.

Los resultados se clasificaron de acuerdo con la frecuencia de los diferentes tipos de patrones de anticuerpos antinucleares y su respectivo título de dilución, además se comparó la nomenclatura del patrón reportado con la nomenclatura sugerida por el ICAP.

**Resultados:** Se observó el predominio de tres tipos de patrones, el patrón homogéneo 40% (n = 3827), patrón nucleolar 24% (n=2333) y patrón moteado fino 21% (n=2047). Los títulos más frecuentes fueron 1:80, siguiendo la dilución 1:320. La comparación en la nomenclatura utilizada por un laboratorio clínico respecto a la nomenclatura propuesta por el ICAP presenta cambios significativos.

**Conclusiones:** Los patrones más frecuentes son el patrón homogéneo, el patrón nucleolar y patrón moteado fino, ciertos patrones tienen relevancia clínica, ya que se asocian a enfermedades autoinmunes comunes en la población mexicana. Los títulos con mayor frecuencia son 1:80 y 1:320; aun cuando se trate de diluciones bajas es importante dar seguimiento con técnicas más específicas por ejemplo western blot, electroinmunotransferencia. La comparación en la nomenclatura utilizada por un laboratorio clínico respecto a la nomenclatura propuesta por el ICAP presenta cambios importantes.

Palabras claves: Anticuerpos antinucleares (ANA); inmunofluorescencia indirecta (IFI); Enfermedades autoinmunes.

## ABSTRACT

Introduction: The main pathogenic mechanism of autoimmune diseases is the loss of control in the regulation of the immune system, characterized by the generation of autoantibodies, that is, immunoglobulins with specificity for antigenic components present in their own tissues, of which a group of experiments against a wide variety of nuclear, cytoplasmic and mitotic defects called antinuclear studies (ANA). ANA are serological markers of autoimmunity, their identification and classification by indirect immunofluorescence (IFA) in human HEp-2 cell lines is considered a laboratory screening test that supports the diagnosis of autoimmune diseases due to its high sensitivity (1). ,2). The ANA detected must be evaluated by morphological pattern of fluorescence and intensity (expressed in titer or dilution), the observed patterns are associated with those demonstrated against specific sensitive ones and these in turn with autoimmune pathologies, for example, a positive ANA for the homogeneous pattern is associated with Generalized Lupus Erythematosus, high titers are highly suggestive of autoimmune disease (1,3). Due to the great variety of patterns, and the complexity of some; The International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns (ICAP) promotes harmonization in the reporting of results, which includes standardization in the reading and interpretation of ANAs by the IFI method (6).

Objective: To determine the frequency of ANA patterns and their corresponding titles in the results of patients with suspected autoimmune disease and to identify the difference between the nomenclature in the results report of a clinical laboratory and the nomenclature proposed by the ICAP.

Material and methods: In this retrospective, observational, descriptive, and cross-sectional study, 13,410 patient results were analyzed, both sexes who attended a clinical laboratory from January 2019 to March 2021 with suspected autoimmune disease.

The results were classified according to the frequency of the different types of antinuclear antibody patterns and their respective dilution titer, and the nomenclature of the reported pattern was compared with the nomenclature suggested by ICAP.

Results: The predominance of three types of patterns was observed: the homogeneous pattern 40% (n = 3827), nucleolar pattern 24% (n=2333) and fine speckled pattern 21% (n=2047). The most frequent titres were 1:80, following the 1:320 dilution. The comparison in the nomenclature used by a clinical laboratory with respect to the nomenclature proposed by the ICAP presents significant changes.

Conclusions: The most frequent patterns are the homogeneous pattern, the nucleolar pattern and the fine speckled pattern; certain patterns have clinical relevance, since they are associated with common autoimmune diseases in the Mexican population. The titres most frequently are 1:80 and 1:320; Even when dealing with low dilutions, it is important to follow up with more specific techniques, such as Western blot, electroimmunoblotting. The comparison in the nomenclature used by a clinical laboratory with respect to the nomenclature proposed by the ICAP presents important changes.

Keywords: Antinuclear antibodies (ANA); indirect immunofluorescence (IFI); Autoimmune diseases.

## ANTECEDENTES

### Definición de autoinmunidad

Cuando se presenta una respuesta inmune adaptativa específica contra un antígeno propio se le denomina autoinmunidad. Para comprender mejor la definición empecemos por saber que es inmunidad. "Immunitas" (palabra en latín) que denota el término inmunidad, en el pasado se le nombraba a los senadores romanos de esta forma para exponer su condición de "protegidos" (5) (6). De ahí que cuando nos referimos al sistema inmunitario (SI) la principal función que recordamos es la protección contra los agentes patógenos, sin embargo, proteger es solo una de sus funciones principales, cuyo objetivo primordial es la inmunovigilancia.

La inmunovigilancia no sólo involucra la protección contra los agentes externos de daño orgánicos como: bacterias, virus, hongos y parásitos o inorgánicos como radiación, hidrocarburos, mercurio, luz ultravioleta, y otros, sino también la protección contra agentes propios cuando estos son alterados por el envejecimiento o transformados por procesos neoplásicos (6). En este sentido, se infiere por inmunovigilancia la capacidad del sistema inmunitario para detectar células tumorales y destruirlas (7). Dado lo anterior, se está hablando de un complejo mecanismo de presentación y reconocimiento antigénico, un riguroso sistema de control y regulación; que permite discriminar y aceptar a lo "propio" y al mismo tiempo reconocer y atacar lo "extraño" denominado tolerancia inmunológica (6).

La tolerancia implica la falta de respuesta a un antígeno, provocada por la exposición previa a éste, cuando se trata de antígenos propios se conoce como autotolerancia. Es común hablar de dos tipos: La tolerancia periférica, se realiza en los órganos linfoides secundarios del SI (bazo y ganglios) la cual se desarrolla en la etapa postnatal y la tolerancia central que es llevada a cabo en los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo) que se lleva a cabo sobre todo en la vida fetal. Una de las vías donde la tolerancia central ejerce su función es por medio de la apoptosis o muerte celular programada de aquellos linfocitos inmaduros y autorreactivos, debido a que su receptor antigénico reconoce con alta afinidad a un antígeno propio por lo cual son destruidos antes de madurar y salir a circulación (selección negativa). No obstante, existen linfocitos autorreactivos capaces de madurar y salir a circulación porque la afinidad con que realizan el reconocimiento de un autoantígeno es menor, dejándoles escapar del proceso de muerte celular programada, sobre esta población actúa el fenómeno de tolerancia periférica. Este complejo mecanismo demuestra por qué la pérdida de la autotolerancia se relaciona con el desarrollo de enfermedades autoinmunes (6).

## **Definición de autoanticuerpo**

El término autoanticuerpo se puede dividir en tres palabras: “auto”, “anti” y “cuerpo”, cuyo significado deriva del griego: propio, contra y cuerpo respectivamente (8).

Los autoanticuerpos tienen en común despertar procesos inmunitarios, es decir, respuestas inmunológicas frente a células, órganos o tejidos propios, que provocan, daño y alteración funcional de un órgano o tejido y además la formación de autoanticuerpos circulantes que pueden determinarse por ensayos de laboratorio. Los autoanticuerpos tienen funciones importantes pues apoyan en el diagnóstico o bien proporcionan un valor pronóstico y en algunas ocasiones, son de utilidad en el seguimiento de enfermedades autoinmunes (9).

## **Enfermedad autoinmune**

Afección por la que el sistema inmunitario reconoce lo propio, generando anticuerpos cuyas dianas son las mismas células, tejidos u órganos, es decir, ataca y destruye órganos y tejidos corporales propios y sanos, en lugar de protegerlos; dando lugar a la lesión tisular y alteración funcional de la homeostasis fisiológica (4). La diferencia entre enfermedad autoinmune y autoinmunidad, radica en que la autoinmunidad es un proceso fisiológico y la enfermedad autoinmune es un síndrome clínico originado por la pérdida de la tolerancia inmune, donde se lleva a cabo la activación de las células T, de las células B, o ambas, que conducen a daño tisular en ausencia de una causa visible (10).

Las enfermedades inmunológicas se presentan cuando la tolerancia falla, formando dos grupos de clasificación: Las reacciones por hipersensibilidad a agentes externos, en donde el SI reconoce como potencialmente dañino a un elemento no necesariamente peligroso para el organismo y monta una respuesta inflamatoria contra él, base de la patogenia de las enfermedades alérgicas; así también como reacciones de hipersensibilidad contra el propio organismo situación que da origen a las enfermedades autoinmunes (EAI) (6) .

Las enfermedades autoinmunes son un grupo heterogéneo de afecciones clínicas que involucran una alta complejidad clínica, difícil diagnóstico y tratamiento complicado(8) (11).

## **Factores asociados en las enfermedades autoinmunes**

Al igual que en otras enfermedades, su origen no solo depende del individuo sino también de las características del medio ambiente en el que el individuo se encuentra.

### *Factores genéticos*

Estas enfermedades son complejas, debido a que no siguen el patrón mendeliano de herencia y además son poligénicas, ciertas características hacen que aún no se comprenda completamente la etiología de las EAI, puesto que son multifactoriales. Las EAI se desarrollan en individuos genéticamente susceptibles y su expresión clínica es modificada por el medio ambiente. Cada persona posee una base genética que le confiere susceptibilidad o protección ante ciertas enfermedades, pero esta condición no es suficiente por sí sola, para el inicio y desarrollo de la enfermedad. De forma frecuente, familiares de pacientes con enfermedad autoinmune presentan enfermedades autoinmunes similares, ya sea que se trate de la misma o alguna otra. con la misma o con otra EAI. Aunado a esto, familiares en primer grado de los pacientes tienen una mayor prevalencia de autoanticuerpos sin presentar evidencia clínica de enfermedad.

Los genes más frecuentemente involucrados en las EAI son aquellos que tienen relación con el complejo principal de histocompatibilidad (MHC), en el caso de los humanos se conoce como antígeno leucocitario humano (HLA) el cual contiene genes que se encuentran relacionados en los mecanismos antigénicos de procesamiento, presentación y reconocimiento. No obstante, hay genes no HLA, que también están asociados en la respuesta autoinmune, los cuales tienen diferentes participaciones en el origen de estas patologías (12). El sistema complemento (C2, C4), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la Linfotóxina B (LTB) tienen participación en los procesos de autoinmunidad. El supuesto consiste en que algunos polimorfismos de estos genes codifican para proteínas que influyen negativamente en la tolerancia, es decir, facilitan el desarrollo de autoinmunidad. Por ejemplo, HLA-B27, principalmente con la Espondiloartritis Anquilosante (EAA) (6).

### *Factores hormonales*

Las hormonas son factores importantes en el origen de las Enfermedades Autoinmunes por lo que la población del sexo femenino se ve con mayor frecuencia comprometida (10). El sexo femenino se ve involucrado en el etapa fértil, esta etapa se caracteriza por cambios en las hormonas sexuales, donde las mujeres tienden a desarrollar cuadros de reactivación clínica en etapas de cambios hormonales como la menarquía, el embarazo, la lactancia y el uso de anticonceptivos orales(6). Se ha reportado que antes de los 50 años las mujeres pueden presentar una mayor sensibilización inmunológica a edades fértiles activando la proliferación de linfocitos B tolerantes autorreactivos (1).

Con la edad, en adultos mayores se suma la disminución de la actividad de los linfocitos T reguladores, que conlleva la activación de los linfocitos autorreactivos con capacidad de atacar a antígenos propios (13). Estudios proponen que el envejecimiento está asociado a la inmunosenescencia y que el predominio de ANA es mayor en las personas de la tercera edad (14).

## Factores ambientales

Agentes infecciosos, medicamentos, pesticidas, metales pesados, suplementos dietarios, toxinas y luz ultravioleta, se ha descrito su participación en la génesis y desarrollo de las EAI (10). En el caso de los agentes infecciosos se encuentran los virus y las bacterias como los microorganismos con mayor frecuencia en el desarrollo de autoinmunidad, pueden estar involucrados como factores causales al desencadenar el proceso inflamatorio inicial o bien como factores que alargan el proceso inflamatorio (6)

En cuanto a la luz ultravioleta es un detonante en Lupus Eritematoso Sistémico, pero ha sido benéfico para el manejo de la psoriasis, otra enfermedad autoinmune. El estrés físico y psicológico se han relacionado en las EAI, pero su papel exacto es poco entendido.

Tabaquismo y obesidad pueden aumentar el riesgo de AR, confirmando nuevamente, la esencia multifactorial de las EAI (10).

## Clasificación de las enfermedades autoinmunes

Desde el punto de vista clínico, las enfermedades autoinmunes se clasifican de acuerdo con la localización y afectación que producen en el cuerpo dependiendo si se presentan manifestaciones sistémicas, órgano-específicas u órgano-específicas paradójicas (Figura 1).

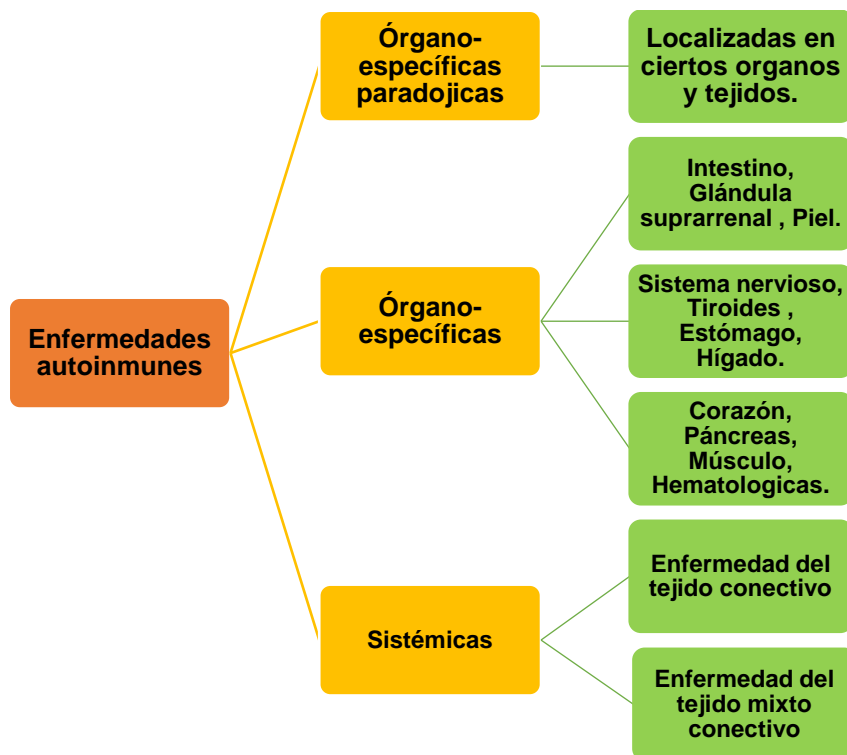
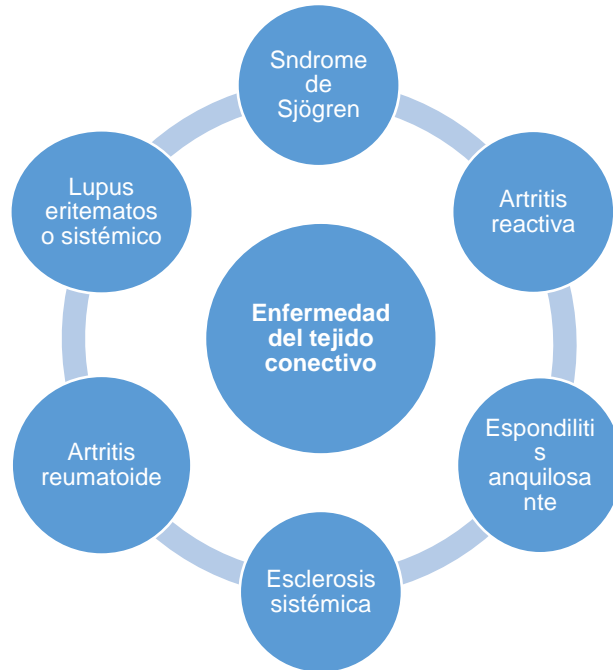
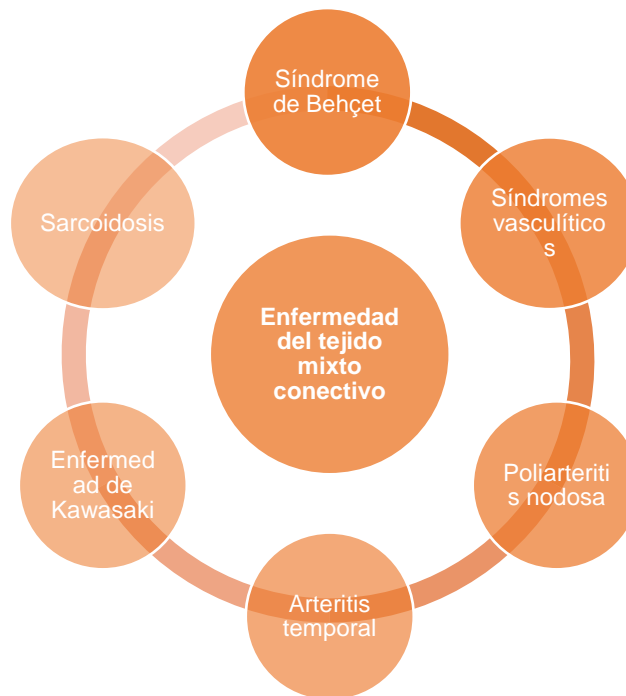


Figura 1. Clasificación de las enfermedades autoinmunes.

A su vez las enfermedades autoinmunes sistémicas se dividen en dos grupos: enfermedades del tejido conectivo y enfermedades del tejido mixto conectivo, la clasificación se lleva a cabo considerando el grado de afectación, estas enfermedades afectan a múltiples órganos (4) (Figura 2).



A)



B)

Figura 2. Clasificación de las enfermedades autoinmunes sistémicas. A) Enfermedades del tejido conectivo, B) Enfermedades del tejido mixto conectivo.

Las enfermedades autoinmunes órgano específicas se clasifican dependiendo el órgano o sistema afectado (Tabla 1).

| Órgano                      | Enfermedad   |
|-----------------------------|--|
| <b>Tiroides</b>             | Tiroiditis de Hashimoto, Enfermedad de Graves.                 |
| <b>Sistema nervioso</b>     | Esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré.               |
| <b>Músculo</b>              | Miastenia gravis.  |
| <b>Corazón</b>              | Fiebre reumática   |
| <b>Estómago</b>             | Anemia perniciosa.   |
| <b>Intestino</b>            | Enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad celia      |
| <b>Glándula suprarrenal</b> | Enfermedad de Addison.   |
| <b>Páncreas</b>             | Diabetes tipo 1 autoinmunitaria                                |
| <b>Piel</b>                 | Pénfigo, psoriasis, vitíligo.                                  |
| <b>Hígado</b>               | Hepatitis autoinmunitaria                                      |
| <b>Hematológicas</b>        | Anemias hemolíticas, púrpura trombocitopénica autoinmunitaria. |

Tabla 1. Enfermedades autoinmunes órgano-específicas

Por ultimo las enfermedades órgano-específicas paradójicas: En las inmunodeficiencias es frecuente encontrar las expresiones de autoinmunidad, pudiera pensarse que esto es un evento paradójico, especialmente en aquellas inmunodeficiencias en las cuales hay un descenso en la realización de anticuerpos. La autorreactividad se encuentra presente en esta desregulación inmunológica, que involucra tipos específicos de órganos o tejidos, pero con autoantígenos sistémicos (15) (4).

### **Epidemiología de las enfermedades autoinmunes**

La magnitud aproximada a nivel mundial de las enfermedades autoinmunes es 90 por cada 100,000 individuos al año con una prevalencia de 5% en población general (13). Si bien las enfermedades autoinmunes afectan a millones de personas en todo el mundo no se tienen claros los números sobre todo en la población mexicana.

## Historia y definición de los Anticuerpos antinucleares

El descubrimiento de los ANA comenzó tras el hallazgo del fenómeno de las células LE acontecimiento observado en 1948 por Malcolm Hargraves, Helen Richmond y un médico residente Morton en la Clínica Mayo (Rochester) (16), quienes estudiaban extendidos de médula ósea de enfermos con lupus eritematoso diseminado agudo (LES), al observar las preparaciones notaron una célula característica, en ese entonces extraña pero más adelante denominada célula LE (por lupus eritematoso) lo que observaron en los frotis representaba un leucocito polimorfonuclear neutrofílico maduro que contenía material genético (cromatina) dentro de una gran vacuola fagocítica (17). Posteriormente, en 1949, Haserick, et al. (18) evidencio que después de agregar plasma de enfermos con lupus activo a frotis de médula ósea de individuos sanos inducía el fenómeno LE, por lo que se pensó que el plasma contenía algún elemento para producir la formación de células LE, esto último fue la base para señalar el carácter autoinmune de la enfermedad. Posteriormente 10 años adelante Kunkel, demostró que la presencia del fenómeno LE se debida a la interacción de un agente o agentes séricos llamados anticuerpos y determinados elementos nucleares llamados antígenos, por ejemplo: ADN y ADN-proteínas(16).

Por mucho tiempo se consideró que el fenómeno LE era colateral a la opsonización de desechos de material genético por anticuerpos antinucleares, lo que favorecía su fagocitosis por neutrófilos, Más adelante se explicó que los anticuerpos antinucleares inducían la apoptosis, descubriendo así que los propios ANA eran la génesis de la fagocitosis de cuerpos apoptóticos por los polimorfonucleares (PMN) (18). Este breve relato histórico es solo el comienzo de una vasta investigación científica acerca del suceso inmunitario.

Existen inmunoglobulinas con especificidad para componentes antigénicos presentes en los tejidos propios, de entre los que destaca un grupo de anticuerpos que van contra una gran variedad de antígenos nucleares, citoplasmáticos y mitóticos denominados anticuerpos antinucleares (1), dicho lo anterior, se puede deducir la incoherencia en el nombre, puesto que no solo reconocen antígenos presenten en el núcleo, sino además, reconocen antígenos presentes en la periferia de la célula, en el citoplasma o cuando se encuentran en la fase mitótica. Se tiene una recomendación para referirnos de una mejor manera a estos anticuerpos, sugerida por el Consenso Internacional sobre Patrones de Anticuerpos Antinucleares, quien propone llamarlos anticuerpos anticelulares, sin embargo, es un término que por cuestiones históricas se sigue utilizando (19).

## Clasificación de los anticuerpos antinucleares

Estudios han determinado que pueden estar presentes tres tipos de anticuerpos antinucleares en circulación.

Cuando se encuentran títulos relativamente bajos se les denomina ANA naturales. Otro tipo de ANA se forman tras un proceso infeccioso, cuya génesis no se asocia a manifestaciones clínicas de alguna enfermedad autoinmune, cuando el proceso infeccioso termina los títulos disminuyen. El último tipo de ANA son originados por la pérdida de la tolerancia inmunológica (2) (Tabla).

| <i>ANA</i>         | <i>Origen</i>   | <i>Características</i>   |
|--------------------|---|--|
| <i>Naturales</i>   | No se conoce el estímulo antigénico que origina su síntesis<br>En niños y adultos mayores pueden estar presentes a títulos relativamente altos  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Son producidos por linfocitos B CD5+</li> <li>2. Son de baja avidéz</li> <li>3. Codificados por genes de línea germinal</li> <li>4. Principalmente de isotipo IgM</li> <li>5. Son polirreactivos</li> <li>6. No se asocian a manifestaciones clínicas</li> </ol>   |
| <i>Infecciosos</i> | Producidos en respuesta a estímulos antigénicos externos (infecciones)  | <p>Funciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Primera línea de defensa contra patógenos</li> <li>2. Depuración de moléculas propias dañadas</li> <li>3. Participan en la red de regulación idiotipo-antiidiotipo.</li> </ol> <p>Características:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Son de alta avidéz</li> <li>2. Isotipos IgG, IgA e IgM</li> <li>3. No se asocian a manifestaciones clínicas de autoinmunidad</li> <li>4. Reconocen componentes ubicuos (ADN, fosfolípidos, etc.)</li> <li>5. Los títulos disminuyen cuando desaparece el estímulo antigénico</li> </ol> |
| <i>Autoinmunes</i> | El estímulo que origina su síntesis es endógeno o exógeno.<br>Son de origen multifactorial (pérdida de tolerancia inmunológica, carga genética, interacción con el medio ambiente, otros) | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Son de alta avidéz</li> <li>2. Principalmente de isotipo G pero también pueden ser IgA y/o IgM</li> <li>3. Se asocian a manifestaciones clínicas de autoinmunidad</li> <li>4. Reconocen componentes ubicuos (ADN, fosfolípidos, etc.)</li> <li>5. Los títulos fluctúan a lo largo del curso de la enfermedad</li> </ol>  |

Tabla 2. Clasificación de los ANA

Tomada de: Cabiedes J, Núñez-Álvarez CA. Anticuerpos antinucleares. Reumatol Clin. 2010;6(4):224–30 (2)

## Metodologías para la determinación de anticuerpos antinucleares

En la mayoría de los laboratorios la detección y semi-cuantificación de los ANA se realiza por IFI (19), sabiendo que la respuesta inmune es variada en cada individuo, es decir, pueden existir varios enfermos con la misma patología autoinmune, pero con diferentes perfiles de autoanticuerpos ya que, una vez perdida la tolerancia inmunológica crece la tendencia a sintetizar nuevos autoanticuerpos (20). Por lo tanto, es necesario utilizar técnicas sensibles y específicas; en la actualidad existen varias técnicas para la determinación de los ANA, se tratan de métodos de inmunoensayo, cuyo principio es la reacción antígeno-anticuerpo.

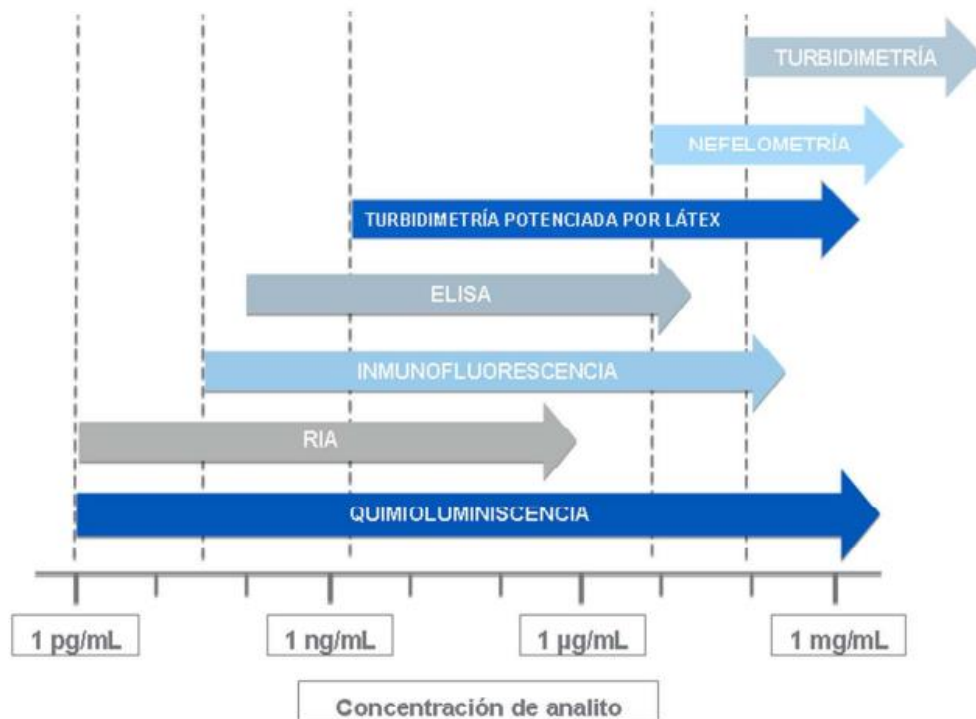


Figura 3. Rango de medida de diferentes tipos de inmunoensayos  
Tomada de: López Sañudo SFAIFPL. Talleres 2017 de Formación-Metodología en autoinmunidad y algoritmos de trabajo: anticuerpos antinucleares y sus especificidades. 2017. p. 22. (20)

Las técnicas o ensayos utilizados en el laboratorio se pueden ver condicionados por múltiples factores, por ejemplo: reacciones cruzadas entre diferentes autoantígenos relacionados a procesos infecciosos o bien a alguna enfermedad autoinmune, también es importante la composición de los epítomos y debe preservarse en la metodología que se emplea (20).

El estándar de oro para la detección de ANA es por medio de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 (células epiteliales procedentes de un laringoma humano) este método ha sido reconocido por el Colegio Americano de Reumatología como método de referencia, por su mayor sensibilidad con respecto a otros inmunoensayos ya que las células HEp-2 contienen una variedad de antígenos, además de que se obtiene valiosa información a través del patrón que definen los autoanticuerpos en sueros de pacientes con enfermedad autoinmune sistémica (3)(21).

Experimentalmente por los años 60, se describió el método IFI, comenzando con el empleo de células del timo de bovinos, posteriormente se usaron tejidos de hígado o riñón de ratón o rata hasta llegar a la línea celular de carcinoma laríngeo Hep-2 (21). Las células Hep-2 son ideales como sustrato para la determinación de los ANA, ya que tienen facilidad de crecimiento se reproducen en forma de monocapa, lo que facilita la visualización de las células a través del microscopio de fluorescencia (8), poseen más de 46 cromosomas, más de dos nucleolos, son células activas metabólicamente, por tal motivo tienen abundantes mitocondrias. Poseen núcleos grandes, no se comparan con cualquier otra célula de la misma estirpe, esto ayuda a la observación de patrones nucleares y citoplásmicos. Asimismo se pueden visualizar antígenos que solo aparecen en las fase mitótica (2)(22)

La IFI es un método sencillo, para esta prueba se necesita el suero del paciente, el cual se diluye 1/40 o más, este se agrega sobre la laminilla de las células HEp-2 ocurriendo la reacción antígeno-anticuerpo, es decir, si el paciente presenta ANA estos se van a unir a los antígenos diana presentes en las células HEP-2 proceso que ocurre durante la incubación. Posteriormente se realiza un lavado y se añade una solución con IgG antihumana acoplada a un fluorocromo que se unirá al complejo antígeno/anticuerpos si es que el paciente lo presenta. Para terminar se hace un segundo lavado el cual eliminara los anticuerpos fluorescentes no unidos, finalmente se observa al microscopio de fluorescencia (8,20) (Figura 4).

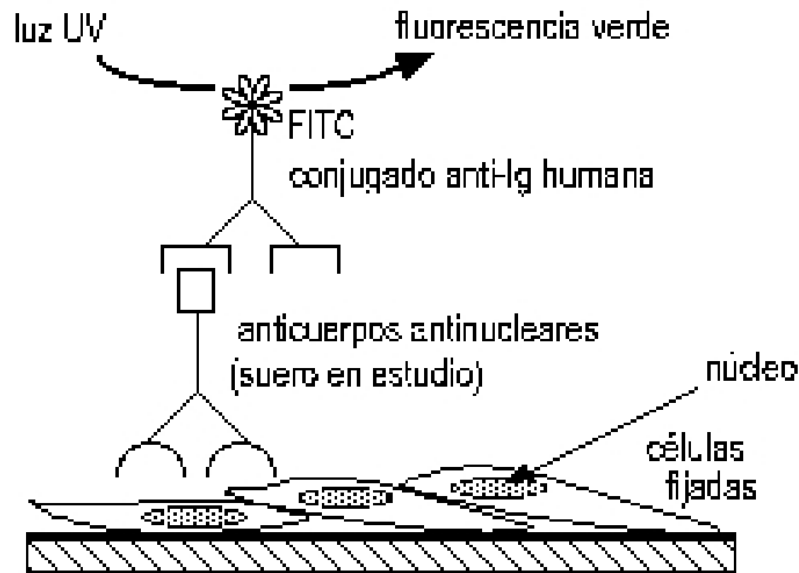


Figura 4. Técnica de IFI para la detección de anticuerpos antinucleares. Tomada de: Técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de... | Download Scientific Diagram (researchgate.net)

### Algoritmo de los anticuerpos antinucleares en las enfermedades autoinmunes

Si se sospecha de alguna enfermedad autoinmune sistémica se debe incluir en la solicitud de estudios ANA (22). La primera herramienta de cribado para la detección de alguna enfermedad autoinmune. Los patrones de fluorescencia obtenidos son tan solo sugestivos de los diferentes antígenos que pueden estar presentes.

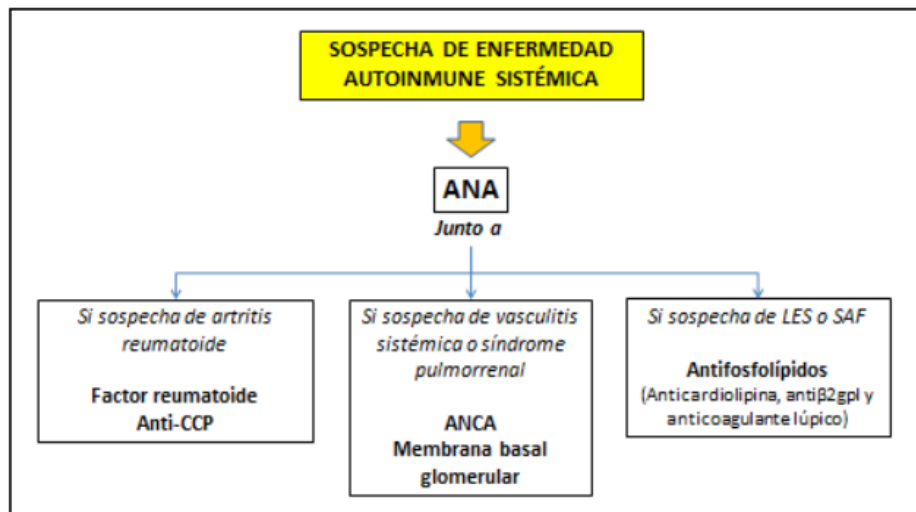


Figura 5. ANA ante la sospecha de enfermedad autoinmune  
 Extraído de: Jeklin A. CUADERNOS DE AUTOINMUNIDAD. 2019;2(July):1–23. (22)

Para la identificación y semi-cuantificación de los ANA se debe empezar el proceso con una dilución la cual depende de la población con la que se trabaje, el algoritmo presentado en la figura 6 comienza con una dilución 1/160, sin embargo, una dilución de esa magnitud no es recomendable a pesar de que titulaciones bajas se relacionan con mayor número de casos falso-positivos, lo ideal es comenzar con diluciones 1/80, es un valor de corte recomendado, ya que este valor debe determinarse en cada laboratorio clínico utilizando una población de personas sanas (23) (8).

Ahora si el resultado es positivo, y dependiendo de la intensidad de la fluorescencia se puede realizar un segundo test con una dilución 1/80 (x2), 1/160 (x4), o 1/320 (x8) para diluir el suero (22).

A continuación, se determina la especificidad antigénica mediante otros métodos que tengan mayor especificidad por ejemplo radioinmunoanálisis. ELISA, electroinmunotransferencia o Western blot con el objetivo de determinar la especificidad antigénica a la cual están dirigidos los anticuerpos (figura 6) (8).

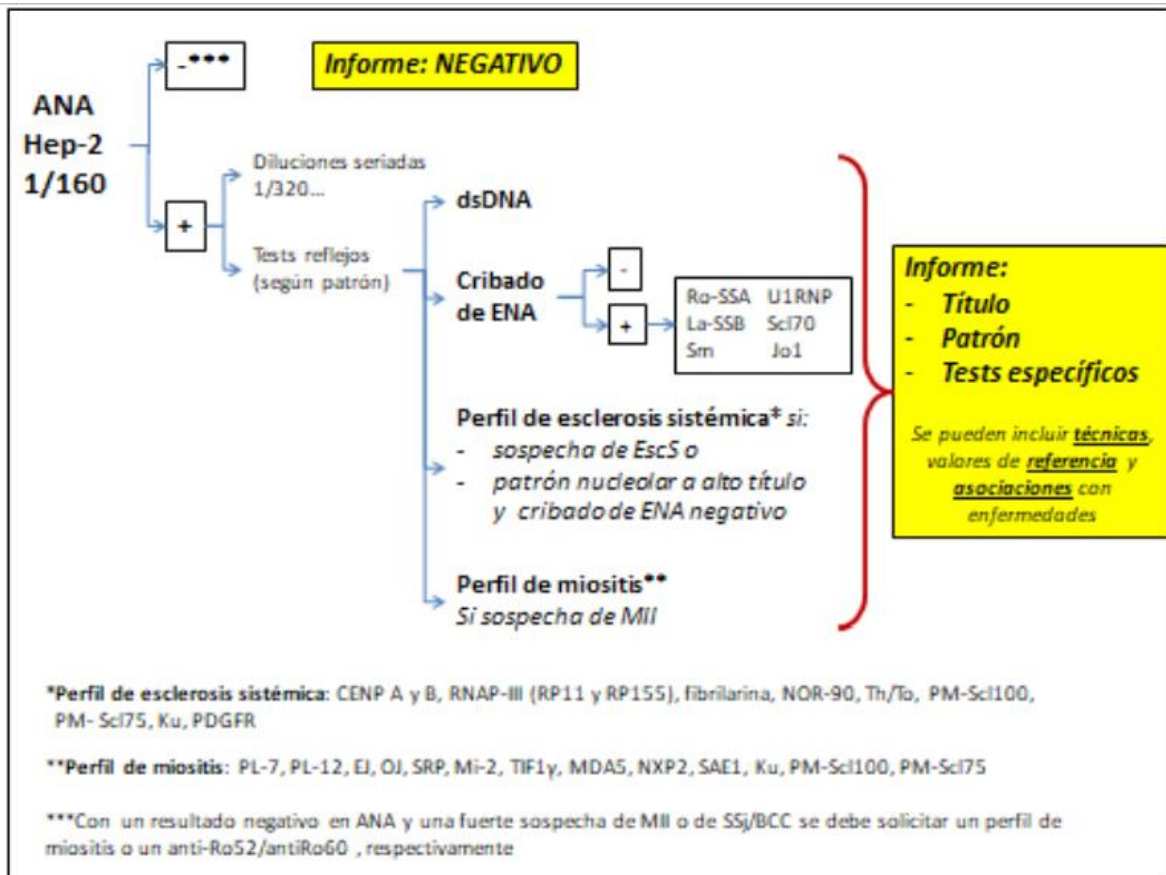


Figura 6. Algoritmo diagnóstico de los ANA  
Tomada de: Jeklin A. CUADERNOS DE AUTOINMUNIDAD. 2019;2(July):1–23. (22)

Cabe destacar que los resultados de la prueba de ANA por IFI, se deben tratar con cautela, solo son pruebas de cribado no es una prueba que establezca el diagnóstico de alguna EA, deben ser interpretados en el contexto clínico (21), de forma ordenada y racional, tomando como base el patrón y título de ANA (24).

### **Armonización en la nomenclatura de los informes de resultados**

Para el año 2014, surgió la iniciativa ICAP (Por sus siglas en inglés “International Consensus on ANA Patterns”, Consenso Internacional sobre Patrones de Anticuerpos Antinucleares) donde 66 expertos a nivel mundial dedicaron un día completo para debatir en grupos separados, conforme a conocimiento y experiencia, los patrones nucleares, patrones citoplasmáticos y patrones mitóticos. Teniendo el trabajo inicial compartieron la publicación “Report of the first international consensus on standardized nomenclature on antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015” que muestra 28 patrones en un árbol de clasificación por grupos principales (nucleares, citoplasmáticos y mitóticos), esta nomenclatura define un código de anticuerpo identificado como AC-XX donde AC corresponde anti cell (siglas en inglés) y XX es el dígito que se definió para la expresión fluorescente que refleja el anticuerpo presente. Además, construyeron el sitio web [www.anapatterns.org](http://www.anapatterns.org) con imágenes representativas de cada patrón y su nomenclatura (4). Este sitio se actualiza anualmente, hasta el momento se han incluido dos patrones (AC-0 y AC-29) por lo que hay un total de 29 patrones y el negativo (AC-0). (20,21)

La destreza de esta iniciativa es que es de libre acceso a la comunidad internacional y se encuentra traducido a ocho idiomas en la actualidad (21). Debido a la gran variedad de patrones, y a la complejidad de algunos el ICAP promueve la armonización en la notificación de resultados lo cual incluye la estandarización en la lectura e interpretación de los ANA por el método IFI (20).

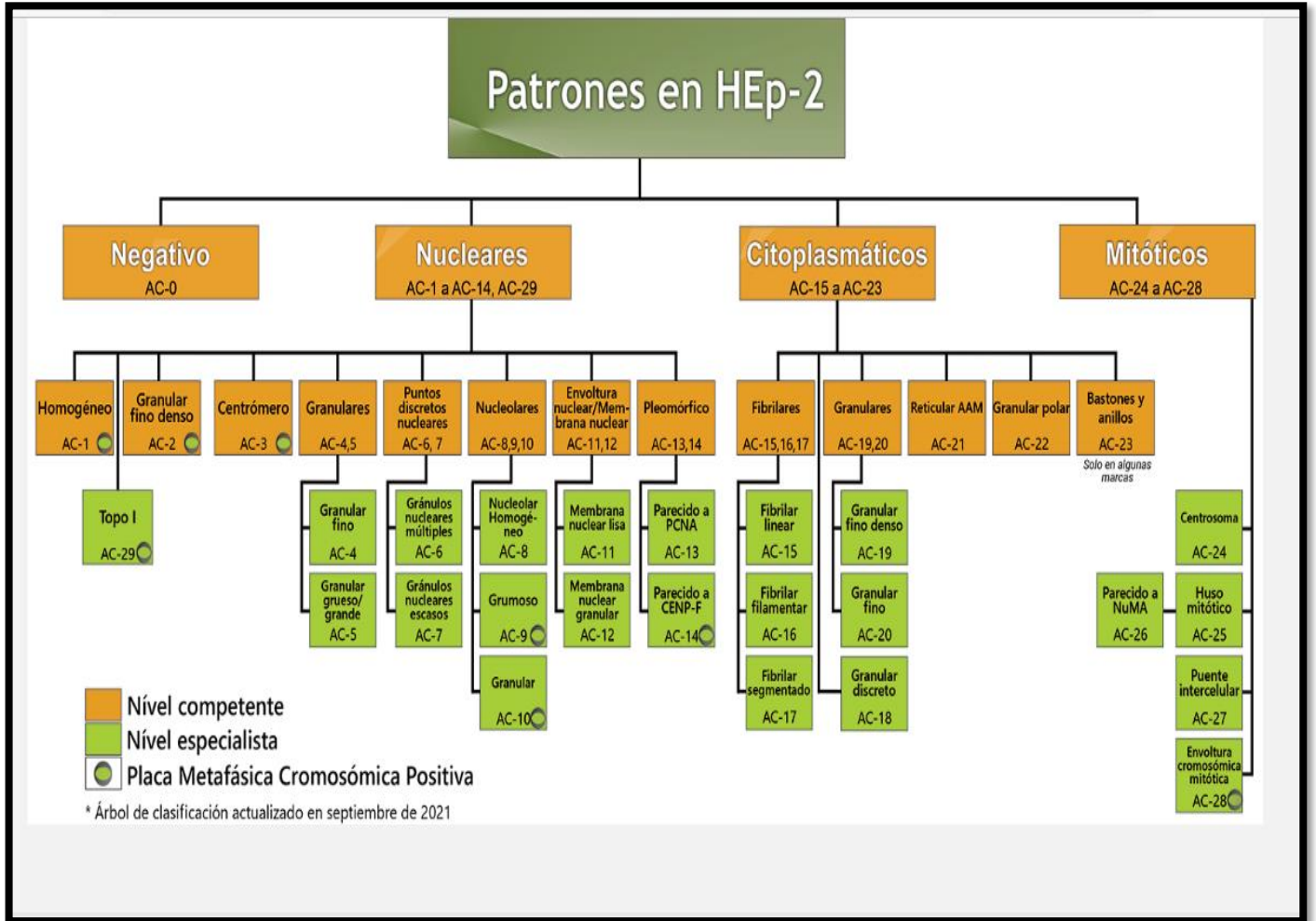


Figura 7. Nomenclatura y árbol clasificatorio  
Tomada de: ANA Patterns

En la página Ana patterns, se desglosa la especificidad de cada uno de los diferentes tipos de patrones de fluorescencia, por ejemplo, para el patrón homogéneo (figura 7) los antígenos asociados son: dsADN, nucleosomas, histonas, en cuanto al patrón centrómero (figura ) el antígeno asociado es CENP-A/B (C). De esta manera se cuenta con información fácil y sencilla de obtener (Tabla 3).

| Patrón                              | Antígeno específico relacionado   | Enfermedad o condición clínica relacionada  |
|-------------------------------------|---|---|
| <b>Nuclear</b>                      |   |   |
| <b>Homogéneo (AC-1)</b>             | ADN de doble cadena, cromatina, histonas, nucleosomas                   | LES, lupus inducido por medicamentos, artritis idiopática juvenil   |
| <b>Moteado (AC-2, 4, 5)</b>         |   |   |
| Moteado denso fino (AC-2)           | DFS-70, LEDGF   | Prevalente en individuos sanos  |
| Moteado fino (AC-4)                 | SS-A/Ro, SS-B/La, ARN polimerasa II y III, Ku, Ki, Mi-2, topo 1(Scl-70) | LES, SS, SSc, miopatías inflamatorias, EMTC   |
| Moteado grueso (AC-5)               | hnRNP, U1RNP, Sm, ARN polimerasa III                                    | LES, EMTC, SSc  |
| <b>Puntos nucleares discretos</b>   |   |   |
| Centromérico (AC-3)                 | Anticentrómero CENP-A y CENP-B  | Esclerosis cutánea limitada, CBP  |
| Múltiples puntos nucleares (AC-6)   | Sp100, proteína de leucemia promielocítica                              | CBP, enfermedades autoinmunes sistémicas, polimiositis, dermatomiositis                                     |
| Pocos puntos nucleares (AC-7)       | p80 coilina, SMN  | LES, SSc, polimiositis, SS, individuos asintomáticos  |
| <b>Nucleolar (AC-8, 9, 10)</b>      |   |   |
| Homogéneo (AC-8)                    | PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th, To, nucleolina, U3-snoRNP/fibrilarina        | SSc, polimiositis con sobreposición de SSc  |
| Grumoso (AC-9)                      | U3-snoRNP/fibrilarina   | SSc   |
| Punteado (AC-10)                    | ARN polimerasa I  | SS, SSc   |
| <b>Membrana nuclear (AC-11, 12)</b> |   |   |
| Membrana lisa nuclear (AC-11)       | Lámina A, B, C nuclear o proteínas asociadas a láminas                  | LES, SS, artritis seronegativa  |
| Membrana punteada nuclear (AC-12)   | Proteínas asociadas al poro nuclear                                     | CBP   |
| <b>Pleomórficos (AC-13, 14)</b>     |   |   |
| PCNA-like (AC-13)                   | PCNA  | LES   |
| CENP-F-like (AC-14)                 | CENP-F  | Cáncer  |
| <b>Citoplasmáticos</b>              |   |   |
| <b>Fibrilar (AC-15, 16, 17)</b>     |   |   |
| Actina/lineal (AC-15)               | Actina, miosina no relacionada con el músculo                           | EMTC, hepatitis crónica activa, cirrosis hepática, miastenia gravis, enfermedad de Crohn, CBP, hemodiálisis |
| Filamentoso/microtúbulos (AC-16)    | Vimentina, citoqueratina  | Condiciones inflamatorias o infección, hemodiálisis, hepatopatía alcohólica, psoriasis, controles sanos     |
| Segmentario (AC-17)                 | Alfa-actina, vinculina, tropomiosina                                    | Miastenia gravis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa   |
| <b>Moteado (AC-18, 19, 20)</b>      |   |   |
| Puntos discretos (AC-18)            | GW182, Su/Ago2, Ge-1  | CBP, enfermedades autoinmunes del SNC   |
| Moteado denso fino (AC-19)          | PL-7, PL-12, proteína p ribosomal                                       | Síndrome antisintetasa, polimiositis, dermatomiositis, LES, lupus neuropsiquiátrico                         |
| Moteado fino (AC-20)                | Jo-1/histidil-ARNt sintetasa  | Síndrome antisintetasa, polimiositis, dermatomiositis, esclerosis cutánea limitada                          |
| <b>Reticular/AMA (AC-21)</b>        | PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E3BP/proteína X                          | CBP, SSc  |
| <b>Polar/Golgi-like (AC-22)</b>     | Giantin/macrogolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97, golgin-245 | SS, LES, AR, EMTC, ataxia cerebelar idiopática, infecciones virales   |
| <b>Barras y anillos (AC-23)</b>     | IMPDH2  | Hepatitis C postterapia con IFN/rivabirina, LES, tiroiditis de Hashimoto                                    |
| <b>Mitóticos</b>                    |   |   |
| Centrosoma (AC-24)                  | Pericentrina, nineína, Cep250, Cep110, enolasa                          | SSc, fenómeno de Raynaud, infecciones (virales y micoplasma)  |
| Fibras del huso (AC-25)             | HsEg5   | SS, LES   |
| NuMA-like (AC-26)                   | Centrofilina  | SS, LES, otros  |
| Puente intracelular (AC-27)         | Aurora cinasa B, CENP-E, MSA-2, KIF-14, MKLP-1                          | SSc, fenómeno de Raynaud, malignidad  |
| Capa del cromosoma mitótico (AC-28) | Histona modificada H3, MCA-1  | Lupus discoide, leucemia linfocítica crónica, SS, polimialgia   |

AR: artritis reumatoide; CBP: cirrosis biliar primaria; EMTC: enfermedad mixta del tejido conectivo; IFN: interferón; LES: lupus eritematoso sistémico; SNC: sistema nervioso central; SS: síndrome de Sjögren; SSc: esclerosis sistémica.

Tabla 3. Patrones convencionales de ANA y su relación con autoanticuerpos según el ICAP  
Tomada de: Mendez-Rayó T, Ochoa-Zárate L, Posso-Osorio I, Ortiz E, Naranjo-Escobar J, Tobón GJ.  
Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. Rev Colomb Reumatol.  
2018;25(2):112–25. (8)

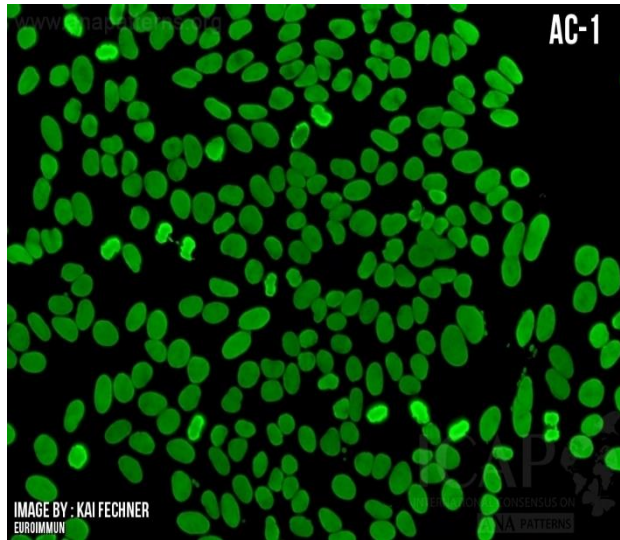


Figura 8. AC-1 Patrón homogéneo  
Tomada de: ANA Patterns

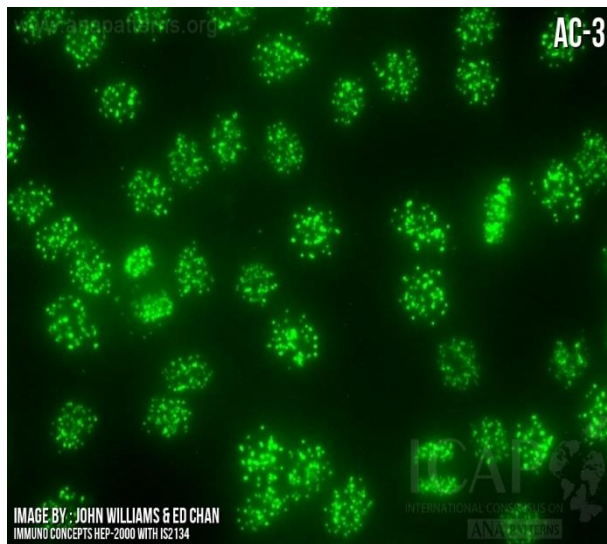


Figura 9. AC-3 Patrón centrómero  
Tomada de: ANA Patterns

## JUSTIFICACIÓN

Una de las principales formas para evaluar las enfermedades autoinmunes en el laboratorio clínico, es mediante la prueba de anticuerpos antinucleares por IFI, es una técnica que se utiliza como marcador serológico y con regularidad se presenta en las diferentes enfermedades autoinmunes sistémicas como es lupus eritematoso o tiroiditis, también pueden estar presentes en neoplasias o infecciones de igual forma se pueden encontrar en personas sanas.

Debido a su estado multifactorial es importante saber evaluar el informe de laboratorio clínico, la interpretación debe tratarse con cautela, iniciando con la dilución reportada y el patrón de fluorescencia observado, el cual puntualiza la estructura y ubicación celular del antígeno al que va dirigido el anticuerpo. El valor de corte para las titulaciones de los ANA no se ha podido establecer de manera general, ya que depende de la población a estudiar. Sin embargo, se ha sugerido positividad a EAI a partir de diluciones 1:80. La frecuencia en la realización de este estudio es sumamente alto en el género femenino debido a los diversos procesos hormonales y fisiológicos que acontecen, en el caso de los varones no es tan frecuente, sin embargo, hay reportes significativos para este género, lo cual revela importancia para su adecuado seguimiento.

Una vez evaluada esta fase, cobra importancia el poder establecer una relación entre los diferentes patrones de fluorescencia determinados y su titulación con la enfermedad subyacente.

Para lograr lo mencionado anteriormente es fundamental homogeneizar el reporte de resultados siguiendo pautas establecidas por organizaciones especializadas en autoinmunidad. De este modo se podrán elaborar intervenciones tempranas y profilácticas, al igual que diseñar estrategias específicas y eficaces para la intervención en las enfermedades autoinmunes.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La falta de estandarización para reportes de ANA en el laboratorio puede limitar el abordaje clínico de los médicos hacia los pacientes para determinar acciones útiles. La iniciativa ICAP ha tenido éxito en la creación y difusión de la importancia en la correcta identificación y denominación de los diversos patrones observables en la prueba ANA-HEp-2 por IFI, permitiendo dar una idea más clara al médico tratante sobre las posibles enfermedades autoinmunes que pueden estarse presentando, evitando el retraso en un tratamiento adecuado. Sin embargo, al ser una nomenclatura relativamente nueva, no se ha logrado establecer en nuestra población la correlación entre los patrones de ANA y su relevancia clínica, en relación con las recomendaciones de ICAP, por lo que la posibilidad de reportar las frecuencias de estos patrones nos ofrece una alternativa para la correlación de enfermedades más comunes es nuestro país.

**Pregunta de investigación:** ¿Cuál es la frecuencia de los diferentes tipos de patrones de ANA en muestras de pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune analizados en Laboratorios Ruiz?

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Determinar la frecuencia de los diferentes tipos de patrones de anticuerpos antinucleares y sus títulos correspondientes en resultados de pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune correlacionando los resultados con la diferencia de la nomenclatura en el informe de resultados de Laboratorios Ruiz y la nomenclatura propuesta por el ICAP.

### Objetivos específicos

- Definir la frecuencia con la que acuden los pacientes a realizarse el estudio de ANA en Laboratorios Ruiz
- identificar la prevalencia de ANA positivos en la población mexicana
- Analizar la prevalencia de resultados positivos de ANA de acuerdo con el sexo
- Establecer la frecuencia de los distintos tipos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune
- Analizar la frecuencia de los distintos tipos de patrones de ANA según el sexo.
- Clasificar la frecuencia de los títulos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune
- Relacionar la comparativa entre la nomenclatura de laboratorio Ruiz y la nomenclatura recomendada por el ICAP.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Tipo y Diseño de investigación

Estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y transversal.

Se describieron las características de la muestra, la información se adquirió por medio de la observación directa y el registro de datos sin ejercer ninguna intervención. Se analizó una base de datos con información de resultados realizados en años anteriores en un solo momento, en un tiempo único.

### Definición del universo de trabajo

- **Población accesible**

Pacientes que acudieron a realizarse estudios a Laboratorios Ruiz

- **Población elegible**

Pacientes que acudieron a Laboratorio Ruiz a realizarse por primera vez el estudio de anticuerpos antinucleares

### Definición del grupo de observación

- **Criterios de inclusión**

Pacientes que acudieron a realizarse el estudio de anticuerpos antinucleares por medio de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 en el período 2019 – 2021.

- **Criterios de exclusión**

Pacientes que se realizaron más de un estudio de anticuerpos antinucleares durante el periodo 2019-2021.

## Ubicación espacio temporal

El presente estudio se realizó en Laboratorios Clínicos de Puebla (Laboratorios Ruiz) en el periodo comprendido de enero 2019 a marzo 2021.

## Estrategias de muestreo

Por conveniencia, se trabajó con resultados de pacientes a los cuales se tiene acceso.

## Definición de variables y escala de medición

| Variable                                    | Tipo de variable | Definición conceptual  | Definición operacional   | Indicadores   | Escala de medición | Tipo de variable |
|---|------------------|--|--|---|--------------------|------------------|
| <b>Edad</b>                                 | Cuantitativa     | Tiempo de vida de una persona desde el nacimiento hasta el corte del estudio.            | Años vividos   | Años  | Razón              | Independiente    |
| <b>Sexo</b>                                 | Cuantitativa     | Condición biológica que define hombre o mujer  | Hombre o mujer   | Hombre o mujer  | Nominal            | Independiente    |
| <b>Títulos de anticuerpos antinucleares</b> | Semicuantitativa | Grado máximo de dilución que presenta un paciente frente a los anticuerpos antinucleares | Presencia de positividad para cualquier patrón de anticuerpos antinucleares. | Título 1:80<br>Título 1:160<br>Título 1:320<br>Título 1:640 | Razón              | Dependiente      |

## Métodos analíticos

La base de datos se obtuvo bajo la autorización de la Dra. Alma Belén Rodríguez Gallegos (Directora Médica).

Se realizó estadística descriptiva de los resultados, además de una correlación de Spearman entre estos y sus características sociodemográficas. Los resultados se clasificaron de acuerdo con la frecuencia de los diferentes tipos de patrones de anticuerpos antinucleares y su respectivo título de dilución, además se comparó entre la nomenclatura del patrón de fluorescencia reportado en Laboratorios Ruiz y la nomenclatura recomendada por el ICAP. Se recabó una base de datos de 13,410 resultados de pacientes que se realizaron la determinación de anticuerpos antinucleares

por Inmunofluorescencia indirecta en el periodo de enero 2019 a marzo del 2021 con sospecha de enfermedad autoinmune en Laboratorios Clínicos de Puebla (Laboratorios Ruiz).

### **Análisis estadístico**

Se llevo a cabo el análisis de las frecuencias, además de análisis estadísticos para la correlación entre variables.

## RESULTADOS

### Análisis de la frecuencia en la realización de los ANA y la prevalencia de resultados positivos de acuerdo con el sexo.

Se analizaron 13,410 resultados de pacientes que acudieron a Laboratorio Ruiz a realizarse el estudio de anticuerpos antinucleares, de los cuales 9,669 fueron positivos obteniendo así el 72% de prevalencia, correspondiente al total de pacientes que se realizaron el estudio de ANA con alguna sospecha de enfermedad autoinmune, el resto 3,741 corresponden a resultados negativos para anticuerpos antinucleares. (Figura 10, Tabla 4).

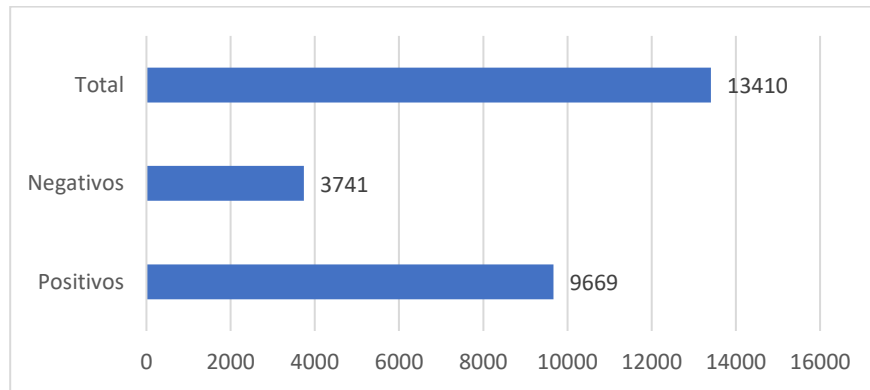


Figura 10. Distribución de resultados con relación a la positividad y negatividad de los ANA.

A partir del total de resultados se hizo una clasificación de acuerdo con el sexo, consiguiendo de esta manera 10,652 (79 %) resultados para el género femenino y 2,758 (21%) para el género masculino (Figura 11).

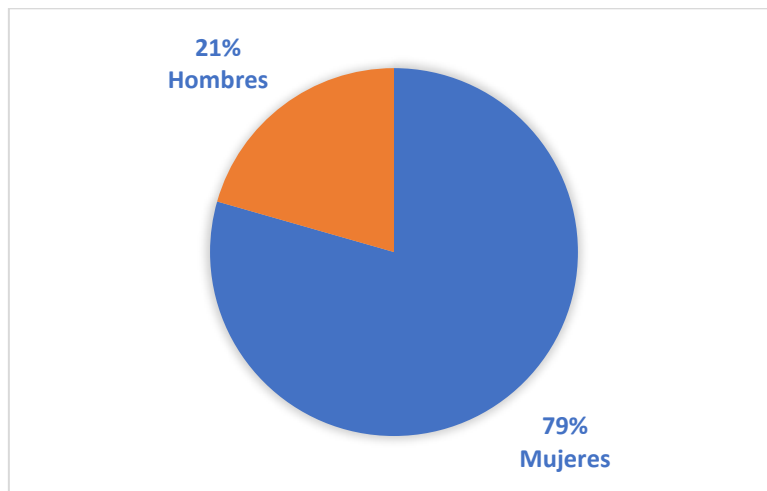


Figura 11. Clasificación de pacientes según el sexo, que acudieron a realizarse ANA.

En el caso de las mujeres 7,969 resultados fueron positivos con una prevalencia del 75%, en los hombres se presentaron 1,700 resultados positivos, obteniendo así una prevalencia del 62 % en relación con el total de pacientes de cada población (Tabla 4).

|                | n     | ANA Positivos | Prevalencia % |
|----------------|-------|---------------|---------------|
| <b>Total</b>   | 13410 | 9669          | 72            |
| <b>Sexo</b>    |       |               |               |
| <b>Mujeres</b> | 10652 | 7969          | 75            |
| <b>Hombres</b> | 2758  | 1700          | 62            |

Tabla 4. Prevalencia de ANA según sexo

### Frecuencia de los distintos tipos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune

En cuanto a la frecuencia de los diferentes tipos de patrones de fluorescencia de los ANA, se determinó el predominio de tres tipos de patrones: patrón homogéneo, presente en el 39.6% de la población (n = 3827), patrón nucleolar 24.1% (n=2333) y patrón moteado fino 21.2% (n=2047). Los patrones menos frecuentes pero que están presentes en la población mexicana son: patrón moteado fino (11.1 %), patrón centromérico (3.5 %), patrón mitocondrial (0.3%), patrón punteado nuclear (0.2%) y patrón aparato de Golgi (0.1%) (Figura 12, Tabla 5).

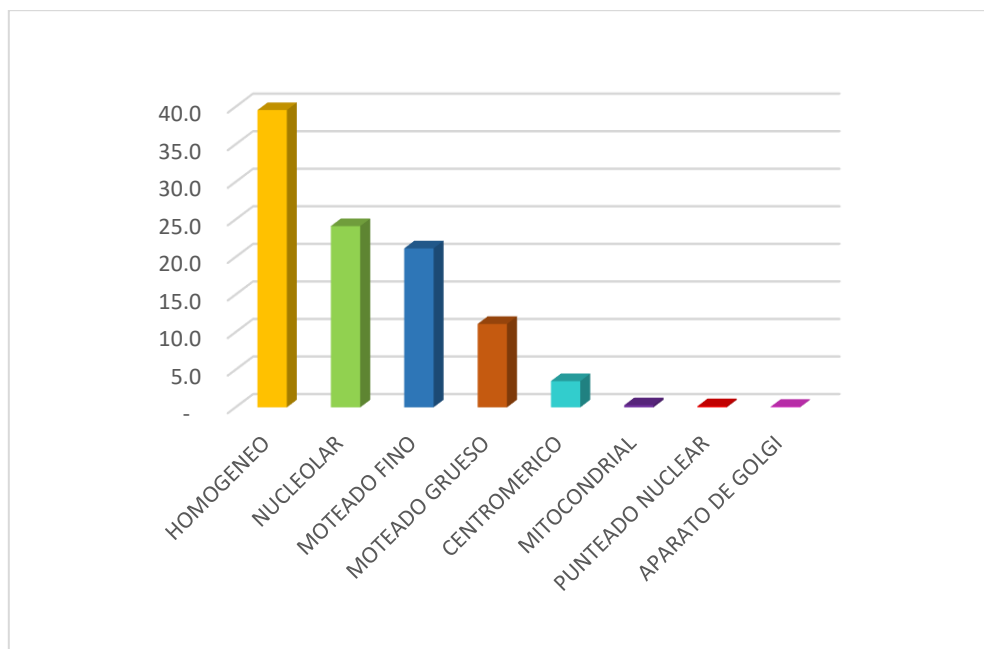


Figura 12. Frecuencia de patrones de ANA (%)

| Patrón           | n    | Prevalencia (%) |
|------------------|------|-----------------|
| Homogéneo        | 3827 | 39.6            |
| Nucleolar        | 2333 | 24.1            |
| Moteado fino     | 2047 | 21.2            |
| Moteado grueso   | 1074 | 11.1            |
| Centromerico     | 338  | 3.5             |
| Mitocondrial     | 28   | 0.3             |
| Punteado nuclear | 15   | 0.2             |
| Aparato de Golgi | 7    | 0.1             |

Tabla 5. Frecuencia de patrones de ANA expresados en % y cantidad.

### Frecuencia de los distintos tipos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune según el sexo.

Para la mayoría de los diferentes tipos de patrones de ANA se presentó una prevalencia mayor en las mujeres, a excepción del patrón aparato de Golgi este es fue más frecuente en los hombres (57%), sin embargo, no hay una diferencia significativa con las mujeres (43%) (Tabla 6).

| Patrón           | Mujeres (%) | Hombres (%) |
|------------------|-------------|-------------|
| Homogéneo        | 84          | 16          |
| Nucleolar        | 78          | 22          |
| Moteado fino     | 80          | 20          |
| Moteado grueso   | 87          | 13          |
| Centromérico     | 95          | 5           |
| Mitocondrial     | 86          | 14          |
| Punteado nuclear | 93          | 7           |
| Aparato de Golgi | 43          | 57          |

Tabla 6. Frecuencia de patrones ANA según sexo

La mayoría de los patrones presentaron una alta frecuencia en el género femenino a excepción del patrón aparato de Golgi el cual presento un mayor porcentaje en el género masculino 57%, sin embargo, no hay una diferencia significativa con la población femenina donde la frecuencia fue del 43%. (Figura 13).

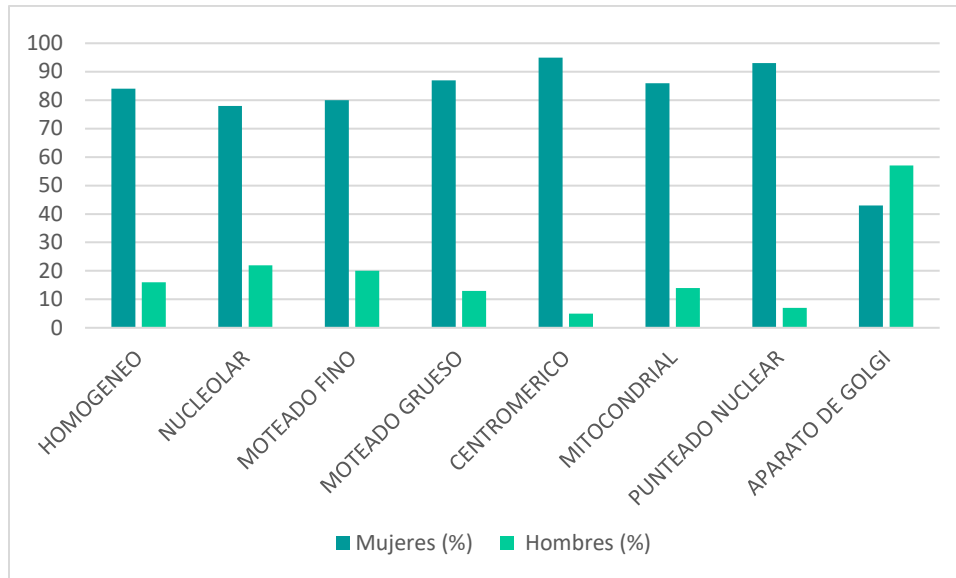


Figura 13. Frecuencia de patrones de ANA acorde al sexo (%).

### Frecuencia de los títulos de patrones de ANA en pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune

Los títulos más frecuentes corresponden a la dilución 1:80, para la mayoría de los diferentes tipos de patrones de ANA, el segundo título más frecuente fue 1:320. A diferencia de los patrones centromérico y punteado nuclear, el título con mayor frecuencia corresponde a 1:640 y 1:160 respectivamente (Tabla 7).

| Patrones         | Título 1:80 | Título 1:160 | Título 1:320 | Título 1:640 |
|------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Homogéneo        | 57          | 14           | 18           | 11           |
| Nucleolar        | 75          | 9            | 10           | 6            |
| Moteado fino     | 88          | 5            | 6            | 2            |
| Moteado grueso   | 39          | 12           | 21           | 28           |
| Centromérico     | 7           | 3            | 12           | 78           |
| Mitocondrial     | 96          | 0            | 4            | 0            |
| Punteado nuclear | 27          | 53           | 7            | 13           |
| Aparato de Golgi | 86          | 0            | 0            | 14           |

Tabla 7. Frecuencia de títulos de ANA (%)

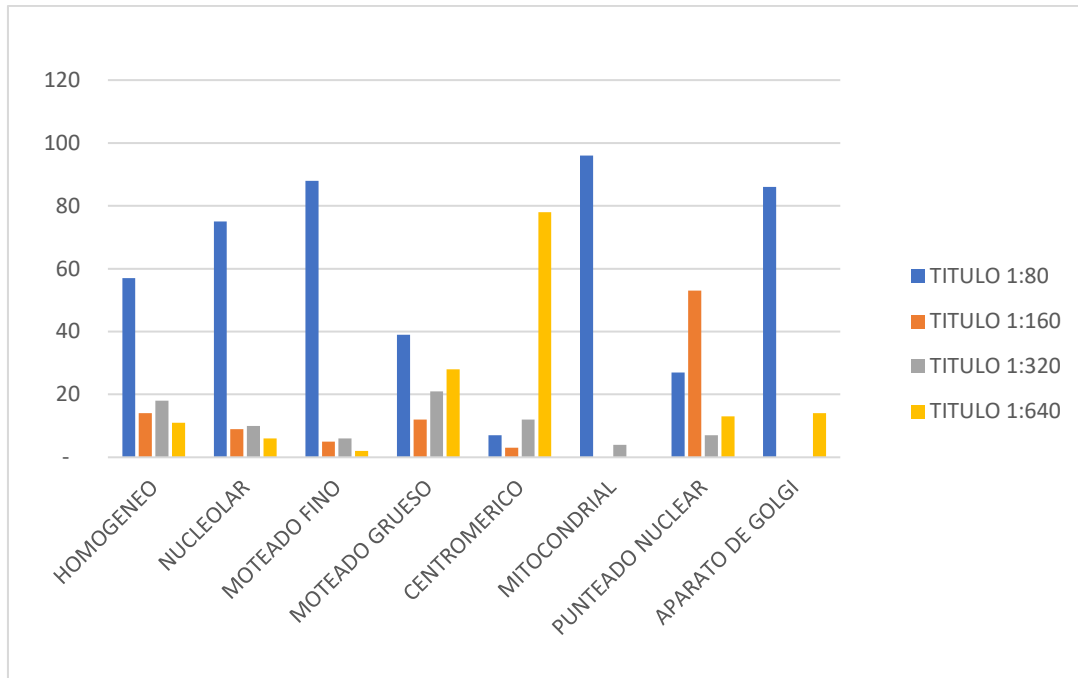


Figura 14. Frecuencia de títulos de ANA (%)

**Comparación entre la nomenclatura de laboratorio Ruiz y la nomenclatura recomendada por el ICAP.**

Respecto a la nomenclatura reportada en los estudios de ANA, se realizó un análisis comparativo, entre los nombres de los diferentes patrones de ANA reportados en Laboratorio Ruiz y el nuevo nombre ICAP (Tabla 8, tabla 9).

| NOMBRE DEL PATRÓN DE FLUORESCENCIA ICAP                     | NOMENCLATURA ICAP | NOMBRE DEL PATRON DE FLUORESCENCIA LABORATORIO RUIZ |
|---|-------------------|---|
| NEGATIVO  | AC-0              | NEGATIVO  |
| HOMOGENEO   | AC-1              | HOMOGENEO   |
| NUCLEAR GRANULAR FINO DENSO                                 | AC-2              | MOTEADO FINO  |
| CENTRÓMERO  | AC-3              | CENTRÓMERO  |
| NUCLEAR GRANULAR FINO                                       | AC-4              | MOTEADO FINO  |
| NUCLEAR GRANULAR GRUESO                                     | AC-5              | MOTEADO GRUESO                                      |
| GRANULOS NUCLEARES MULTIPLES                                | AC-6              | PUNTEADO NUCLEAR                                    |
| GRANULOS NUCLEARES ESCASOS                                  | AC-7              | PUNTEADO NUCLEAR                                    |
| NUCLEOLAR HOMOGENEO   | AC-8              | NUCLEOLAR   |
| NUCLEOLAR GRUMOSO   | AC-9              | NUCLEOLAR   |
| NUCLEOLAR GRANULAR  | AC-10             | NUCLEOLAR   |
| CITOPLASMATICO GRANULAR POLAR (PARECIDO A APARATO DE GOLGI) | AC-22             | APARATO DE GOLGI                                    |

Tabla 8. Comparación entre la nomenclatura de laboratorio Ruiz y la nomenclatura ICAP.

| <b>NOMBRE DEL PATRON DE FLUORESCENCIA LABORATORIO RUIZ</b>         | <b>CAMBIOS</b>                         | <b>NOMBRE DEL PATRÓN DE FLUORESCENCIA ICAP</b> |
|--|--|--|
| NEGATIVO   | SIN CAMBIOS                            | NEGATIVO                                       |
| <b>HOMOGENEO</b>   | SIN CAMBIOS                            | HOMOGENEO                                      |
| <b>MOTEADO FINO</b>  | CAMBIA EL NOMBRE Y SE CLASIFICA EN DOS | NUCLEAR GRANULAR FINO DENSO                    |
| <b>CENTRÓMERO</b>  | SIN CAMBIOS                            | CENTRÓMERO                                     |
| <b>MOTEADO FINO</b>  | CAMBIA EL NOMBRE Y SE CLASIFICA EN DOS | NUCLEAR GRANULAR FINO                          |
| <b>MOTEADO GRUESO</b>  | CAMBIA EL NOMBRE                       | NUCLEAR GRANULAR GRUESO                        |
| <b>PUNTEADO NUCLEAR</b>  | CAMBIA EL NOMBRE Y SE CLASIFICA EN DOS | GRANULOS NUCLEARES MULTIPLES                   |
| <b>PUNTEADO NUCLEAR</b>  | CAMBIA EL NOMBRE Y SE CLASIFICA EN DOS | GRANULOS NUCLEARES ESCASOS                     |
| <b>NUCLEOLAR</b>   | SE ESPECIFICA EL TIPO DE PUNTEADO      | NUCLEOLAR HOMOGENEO                            |
| <b>NUCLEOLAR</b>   | SE ESPECIFICA EL TIPO DE PUNTEADO      | NUCLEOLAR GRUMOSO                              |
| <b>NUCLEOLAR</b>   | SE ESPECIFICA EL TIPO DE PUNTEADO      | NUCLEOLAR GRANULAR                             |
| <b>CITOPLASMATICO GRANULAR POLAR (PARECIDO A APARATO DE GOLGI)</b> | CAMBIA EL NOMBRE                       | APARATO DE GOLGI                               |

Tabla 9. Cambios en la nomenclatura de laboratorio Ruiz a la nomenclatura ICAP

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los anticuerpos antinucleares son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos contra una gran variedad de antígenos localizados en el núcleo, citoplasma de la célula y aparato mitótico, se detectan en pacientes con diferentes patologías autoinmunes sistémicas, así como en pacientes sin algún síndrome clínico definido (4). Las enfermedades autoinmunes provocan daño intrínseco, ligado a un defecto del reconocimiento de lo propio lo que va a llevar a lesiones de afectación local o sistémica por lo que el diagnóstico es crucial para un adecuado tratamiento, lo que afecta directamente el pronóstico de este tipo de pacientes (13).

Se observó una prevalencia del 72 % en los 13 410 resultados analizados para ANA positivos. La prevalencia en mujeres corresponde al 75% (n=7969), mientras que en hombres 62% (1700), esto se debe a que las enfermedades autoinmunes en mujeres tienen mayor prevalencia a causa de factores hormonales relacionados con la menopausia (estrógeno, prolactina), uso de anticonceptivos orales, la sensibilización inmunológica provocada por embarazos previos o factores ambientales y metabólicos desempeñan un papel en este proceso (13) (14).

El patrón más frecuente fue el homogéneo (39.6%), el cual se encuentra en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) , hepatitis autoinmune crónica o artritis idiopática juvenil,(4) seguido del patrón nucleolar (24.1%), encontrado en pacientes con esclerosis sistémica (ES), síndrome de superposición ES-MIA y en pacientes con manifestaciones clínicas de otra enfermedad reumática autoinmune sistémica; el tercer patrón más frecuente corresponde al moteado fino (21.2%), comúnmente encontrado en individuos aparentemente saludables o en pacientes que no tienen enfermedad reumática autoinmune sistémica (ERAS) (22)(16)(8).

El título más frecuente en este estudio corresponde a la dilución 1:80, seguido de la dilución 1:320 en ambos sexos para la mayoría de los patrones, el patrón centrómero presenta mayor frecuencia con la dilución 1:640, y el patrón punteado nuclear la dilución más frecuente corresponde al título 1:160

En cuanto a la compara de la nomenclatura, se observó la diferencia entre el reporte anterior y la nomenclatura recomendada por el ICAP. Los resultados analizados emitieron un reporte general de acuerdo con la expresividad de los ANA, por ejemplo: tanto para el patrón nuclear granular fino denso (AC-2) y patrón nuclear granular fino (AC-4) se reportó como patrón moteado fino, para ambos casos. Los patrones gránulos nucleares múltiples (AC-6) y gránulos nucleares escasos (7) el reporte se emitió como patrón punteado nuclear. En el caso del patrón nucleolar homogéneo, grumoso y granular se reportó como patrón nuclear en los tres casos.

Analizando la situación es evidente que el reporte necesita ser mejorado ya que, si se adopta la nomenclatura recomendada por del ICAP, se obtendrá, más información acerca de la posible patología que puede estar presentando el paciente.

El objetivo final de este trabajo es dar a conocer a la población medica el nuevo reporte establecido por el ICAP que promueve la armonización y la comprensión de la nomenclatura de las pruebas de autoanticuerpos, así como las pautas de interpretación para las pruebas de ANA, optimizando así el uso en la atención al paciente. El árbol de clasificación (Figura) propuesto para los patrones de fluorescencia está diseñado por niveles, ciertos patrones corresponden para la notificación competente, mientras que otros son para la información a nivel de expertos. (4)

## CONCLUSIONES

A partir de la investigación realizada se concluye que la frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares es alta para el patrón homogéneo, posteriormente se encuentra el patrón nucleolar, ambos patrones tienen relevancia clínica, ya que se asocian a enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), hepatitis autoinmune crónica o artritis idiopática juvenil (4), así como esclerosis sistémica (ES), síndrome de superposición ES-MIA y en pacientes con manifestaciones clínicas de otra enfermedad reumática autoinmune sistémica, respectivamente, el patrón moteado fino es el tercer patrón más frecuente, se presentan en Síndrome de Sjögren, LES, LES subcutáneo, LES neonatal, bloqueo cardíaco congénito, ES y el síndrome de superposición ES-MIA.

El título más frecuente fue 1:80 y el título 1:320; aun cuando se trate de diluciones bajas es importante dar seguimiento con técnicas más específicas como ELISA, electroinmunotransferencia u otras para confirmar el o los antígenos reconocidos por los autoanticuerpos.

Finalmente, la comparación entre la nomenclatura utilizada en Laboratorio Ruiz respecto a la nomenclatura propuesta por el ICAP, presenta cambios significativos, debido a que la nomenclatura en el reporte del laboratorio clínico se emitió de forma general, sin especificar o detallar la morfología del patrón, lo cual repercute en la interpretación de los resultados. Analizando la situación es evidente que el reporte necesita ser mejorado ya que, si se adopta la nomenclatura recomendada por el ICAP, se obtendrá, más información acerca de la posible patología que puede estar presentando el paciente (4).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Vázquez Castillo TV, Solís Martínez RA. Frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares en pacientes con sospecha de enfermedades sistémicas reumáticas autoinmunes. *Horiz Sanit.* 2020;19(3):385–92.
2. Cabiedes J, Núñez-Álvarez CA. Anticuerpos antinucleares. *Reumatol Clin.* 2010;6(4):224–30.
3. Guedán MJA, Hernández CR. *Protocolos De Diagnóstico Inmunológico En Enfermedades Autoinmunes.* 2014.
4. Rodríguez E. Anticuerpos en la enfermedad autoinmune sistémica. *Rev Soc Val Reuma [Internet].* 2019;8(1):6–10. Available from: <https://www.reumatologiaclinica.org/es-anticuerpos-las-enfermedades-autoinmunitarias-sistemicas--articulo-resumen-S1699258X08761333>
5. Pollard KM, Hultman P, Kono DH. Immunology and genetics of induced systemic autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2005;4(5):282–8.
6. Jadue A N, González A I. Immunopathogenesis of autoimmune diseases. *Rev Médica Clínica Las Condes.* 2012;23(4):464–71.
7. Botella Estrada R. Inmunovigilancia e interferón gamma. *Piel.* 2002;17(6):237–8.
8. Mendez-Rayó T, Ochoa-Zárate L, Posso-Osorio I, Ortiz E, Naranjo-Escobar J, Tobón GJ. Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. *Rev Colomb Reumatol.* 2018;25(2):112–25.
9. Bielsa I. Significado biológico de los autoanticuerpos y técnicas para su detección. *Med Cutan Ibero Lat Am.* 2010;38(3):109–16.
10. Anaya J, García-Carrasco M, Cervera R, Shoenfeld Y, Correa P, García-Carrasco M, et al. Autoinmunidad y Enfermedad Autoinmune. *Corporación para Investig Biológicas.* 2006;328–40.
11. Nicole JA, Iván GA. Inmunopatogenia de las enfermedades autoinmunes. *Rev Médica Clínica Las Condes.* 2012;23(4):464–72.
12. Enfermedades DELAS, Mito A, Riesgo RY, Anilo OSD, Hernández OR, Guzmán SILÓ, et al. PREDICCIÓN DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES : MITO , REALIDAD Y RIESGO PREDICTION OF AUTOIMMUNE DISEASES : MITH , REALITY AND RISK Abstract PREDIÇÃO DAS DOENÇAS AUTOINMUNES : MITO , REALIDADE E RISCO. 2008;16(1):56–73.
13. Santafé-Sarzosa L, Sáenz-Flor K, Rocío C, Arévalo J. Anticuerpos antinucleares en pacientes con sospecha clínica de enfermedad autoinmune. *Rev Mex Patol Clínica y Med Lab.* 2019;66(1):6–12.
14. La Rosa Blass CF, Lozano Fernández VS. Prevalencia de anticuerpos antinucleares en

- personas aparentemente sanas. Lima-Perú. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab [Internet]. 2017;64(1):8–13. Available from:  
[www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)[www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
15. María Angélica MM. Inmunodeficiencias y su relación con enfermedades autoinmunes. Rev Médica Clínica Las Condes. 2012;23(4):484–91.
  16. Fernández Mesa T de los Á, Sánchez Martínez CI, Junco-Calzadilla III R, Denises González González GI, Margarita Iglesias-González I V. Importancia diagnóstica de los anticuerpos antinucleares Diagnostic significance of antinuclear antibodies. Rev Cuba Reumatol [Internet]. 2016;18(2):192–5. Available from: [www.revreumatologia.sld.cu](http://www.revreumatologia.sld.cu)
  17. Dieppe P, Wollheim FA, Schumacher HR. Artículos clásicos en reumatología. 1ª Edición. Londres; 2001. 464 p.
  18. Carrillo-esper R, Rosillo FJ, Girón-ramírez V, Carrillo-córdova JR, Carrillo-córdova LD, Carrillo-córdova CA, et al. Fenómeno de las células de lupus eritematoso (LE): reporte de un caso. 2012;19(3):190–2.
  19. Hernández-Flórez D, Valor L. Ni los anticuerpos antinucleares ni los anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo son lo que solían ser. Un futuro cambio de nomenclatura y recomendaciones para su determinación en práctica clínica habitual. Reumatol Clínica. 2018;14(6):317–9.
  20. López Sañudo SFAIFPL. Talleres 2017 de Formación-Metodología en autoinmunidad y algoritmos de trabajo: anticuerpos antinucleares y sus especificidades. 2017. p. 22.
  21. Moscoso H, Valenzuela C, Castillo A, Galdames L, Mansilla I SP. RECOMENDACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES. 2018.
  22. Jeklin A. CUADERNOS DE AUTOINMUNIDAD. 2019;2(July):1–23.
  23. Molina J. El laboratorio en las enfermedades reumáticas autoinmunes. Med Lab [Internet]. 2007;13(43):11–33. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2007/myl071-2c.pdf>
  24. Carballo OG, Ingénito FB, Ginaca AA, Carabajal P, Costa MA, Balbaryski J. Primer consenso argentino para la estandarización de la determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta-HEp-2. Acta Bioquim Clin Latinoam. 2012;46(1):3–13.

## REFERENCIAS WEB

1: Técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de... | Download Scientific Diagram (researchgate.net)

2: ANA Patterns