

ENCUESTA:

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES Y SUS ESPECIFICIDADES

Elaboración de la encuesta: M. Luisa Vargas, Álvaro Prada, Aurora Jurado, Garbiñe Roy, Laura Martínez, Ricardo Rojo, Marco Antonio Montes, Esther Vergara

Análisis de resultados: M. Luisa Vargas

GRUPO ESPAÑOL DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES. Marzo 2021

PARTICIPANTES

1. Cristina Abad Molina. Hospital Clínico Universitario de Valladolid
2. Arantxa Alfranca. Hospital de La Princesa. Madrid
3. Delia Almeida. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife
4. M^a José Amengual. Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell
5. Belén Aparicio. Complejo Asistencial Universitario Salamanca
6. Yvelise Barrios. Complejo Hospitalario Universitario de Canarias. La Laguna
7. Rosario Caro Narros. Complejo Asistencial de Segovia
8. Clara Esteve Cols. CLILAB Diagnòstics.
9. Mireia Fonolleda Ramboux. CATLAB.
10. Concepción González. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla
11. Nicolás Adolfo Guerrero Navarrete. Complejo Asistencial de Zamora
12. Carlos Hierro Delgado. Complejo Asistencial de Ávila
13. María Imaz. Hospital Universitario de Basurto. Bilbao
14. Laura Jaimez. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada
15. Montaña Jiménez. Hospital Virgen del Puerto de Plasencia.
16. Rosa Julia. Hospital Universitari Son Espases. Palma de Mallorca
17. Aurora Jurado. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba
18. Nallibe Lanio. Hospital Juaneda Miramar de Palma. Palma de Mallorca
19. Marcos López Hoyos. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander
20. Isabel Lorenzo Romo. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid
21. M^a José Martínez Becerra. Fundación Jiménez Díaz. Madrid
22. Alba Martínez Chamorro. Hospital Universitario de Jaén
23. Laura Martínez. Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona
24. Pedro Martínez. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia
25. Juana María Merino Roncal. Clínica Universitaria de Navarra.
26. Marco Antonio Montes. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla
27. Francisco Morandeira Rego. Hospital Universitari de Bellvitge.
28. Lourdes Mozo. Hospital Universitario Central de Asturias
29. M. José Muñoz- Delgado Mérida. Complejo Asistencial de Soria
30. Pilar Nozal. Hospital Universitario la Paz. Madrid
31. Juliana Lucía Ochoa Grullón. Hospital Clínico San Carlos. Madrid
32. Jesús Ontañón. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete
33. M^a Aranzazu Pacho de Lucas. Hospital Universitario Cruces. Baracaldo
34. Jaume Pérez. Hospital Clínico de Valencia.
35. Aresio Plaza. Hospital Puerta e Hierro. Madrid
36. Álvaro Prada. Hospital Universitario Donostia
37. Enriqueta Preciado San Miguel. Hospital Universitario Araba
38. Bibiana Quirant. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona
39. Beatriz Rodríguez Bayona. Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Huelva
40. Carmen Rodríguez. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz
41. Ricardo Rojo. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña
42. Garbiñe Roy. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid
43. Beatriz Sacristán. Hospital de Mérida
44. Mayte Sanz. Hospital Universitario Vall d' Hebron. Barcelona
45. Antonio Serrano. Hospital Universitario 12 Octubre. Madrid
46. Pilar Timoneda. Consorci Hospital General Universitari de València
47. M. Luisa Vargas. Hospital Universitario de Badajoz
48. Esther Vergara. Hospital Universitario San Pedro de Alcántara. Cáceres
49. Vicente Villamandos Nica. Hospital Universitario de Burgos
50. M^a José Zaro. Hospital Don Benito- Villanueva.

50 Laboratorios donde se realiza determinación de anticuerpos antinucleares (ANA) y sus especificidades

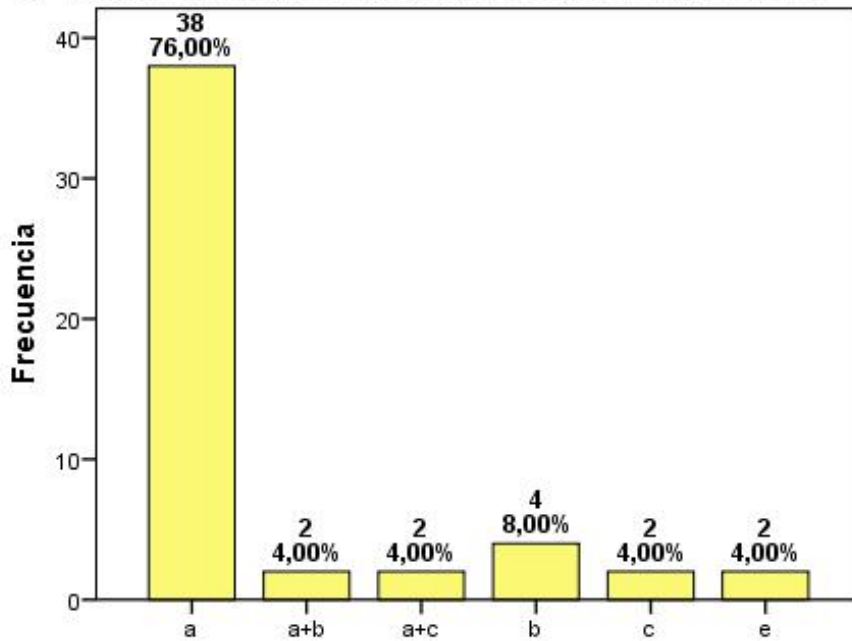
Periodo de realización de la encuesta: Septiembre de 2019-Enero de 2020

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LOS PARTICIPANTES



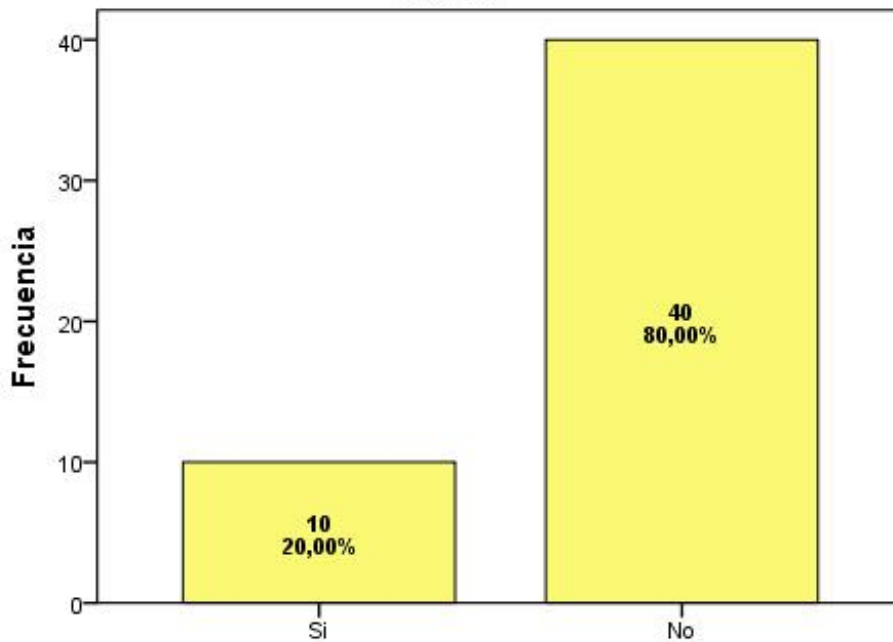
RESULTADOS

1. Método de detección de ANA como cribado inicial

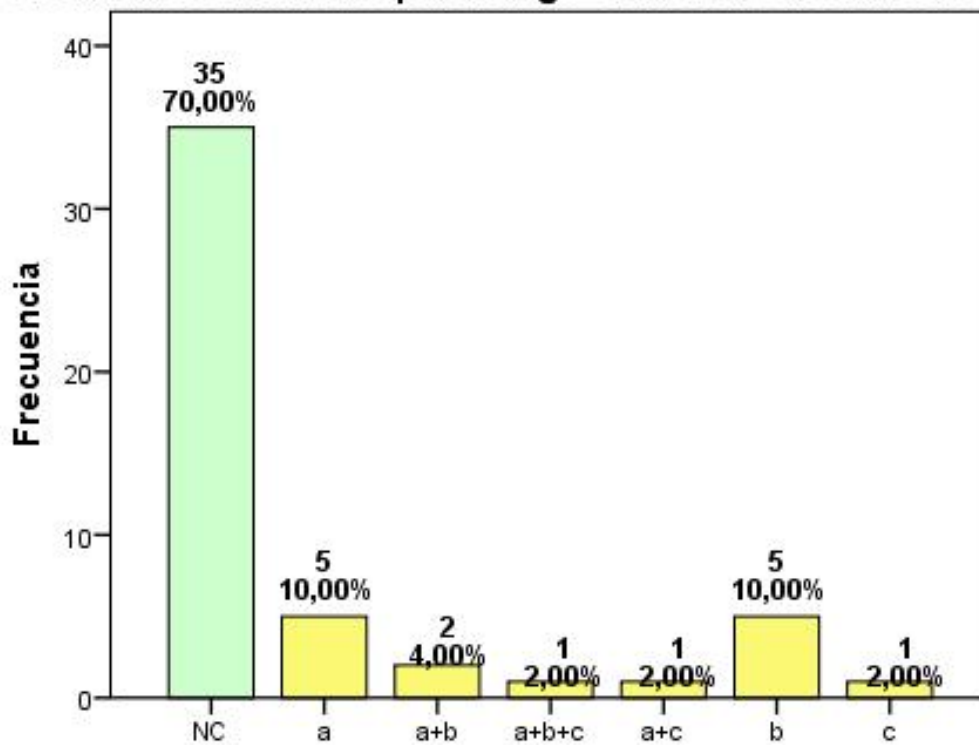


- a. IFI
- b. ELISA con extractos celulares y antígenos recombinantes
- c. ELISA/FEIA /CLIA con mezclas de antígenos
- d. Line DOT
- e. Otro

2. ¿Utiliza distintos métodos de ANA para el cribado inicial?



3. Criterios utilizados para elegir el método de cribado

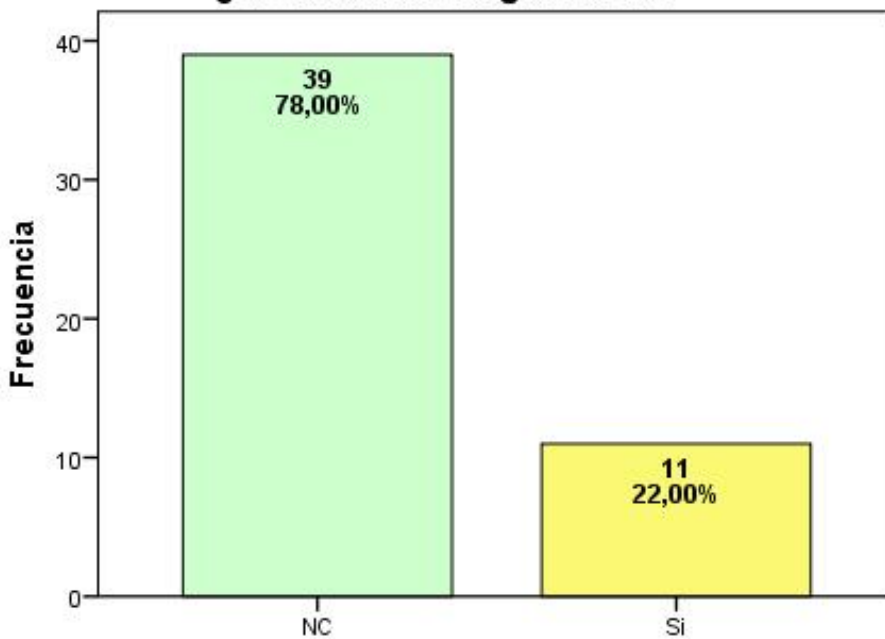


a. Según origen petionario

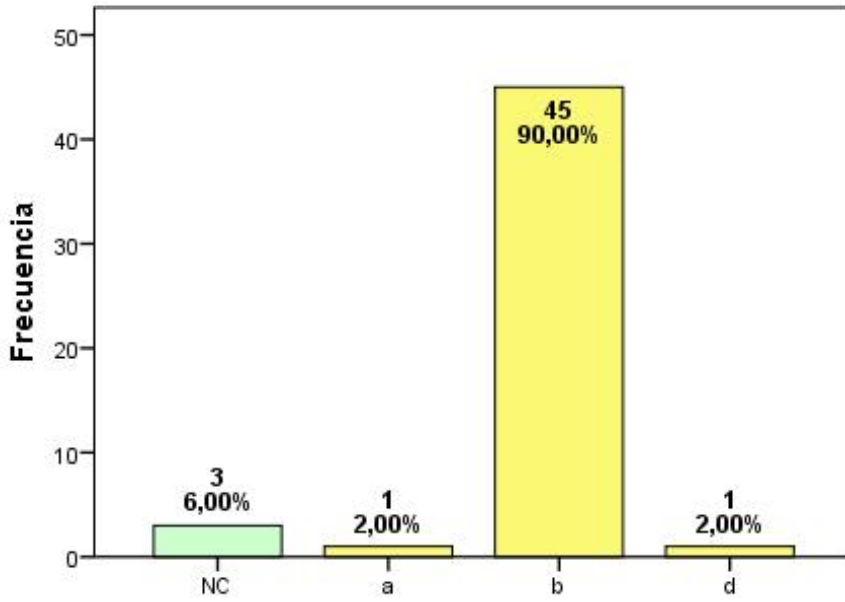
b. Según diagnóstico

c. Otro

4. Si utiliza métodos distintos a IFI como cribado inicial ¿utiliza la IFI en algún caso?

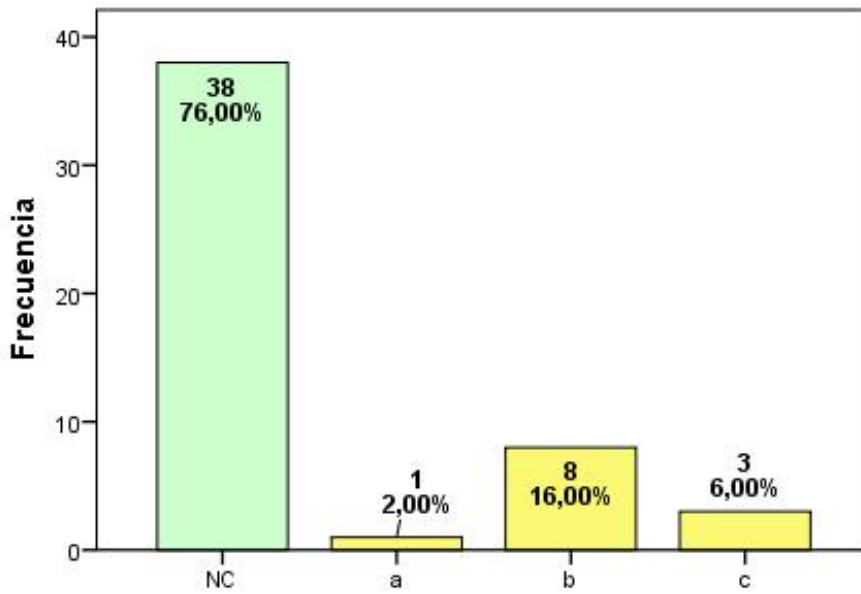


5. Si utiliza IFI como cribado, ¿cómo informa los resultados?



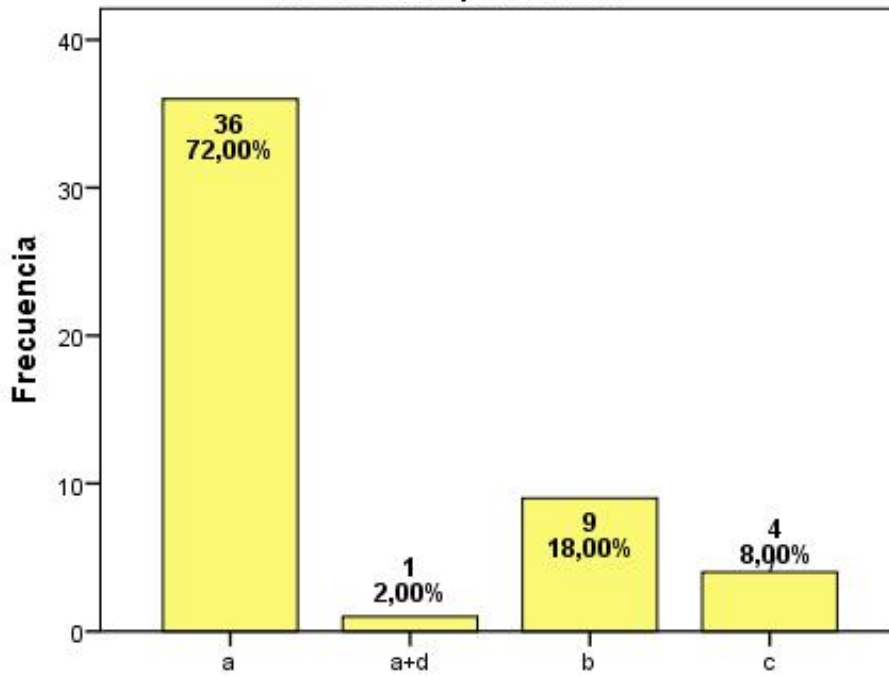
- a. Positivo o negativo
- b. Positivo (con título y patrón) y negativo
- c. Positivo (con patrón) y negativo
- d. Positivo (con título) y negativo

6. Si utiliza otro método de cribado distinto a la IFI ¿Cómo informa los resultados?



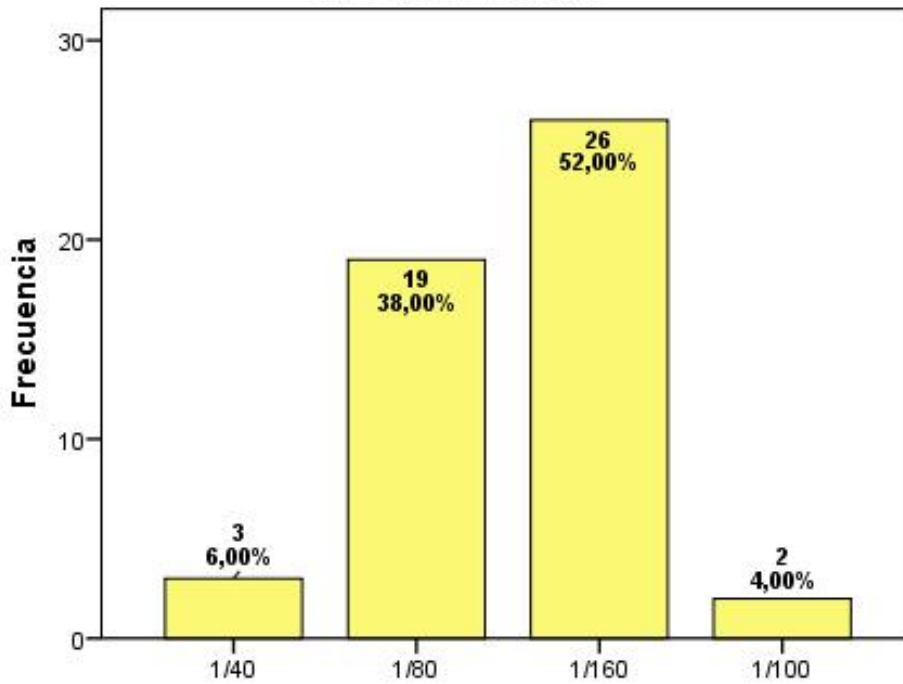
- a. De forma cuantitativa
- b. Positivo, Negativo
- c. Otro

7. Sustrato para la IFI

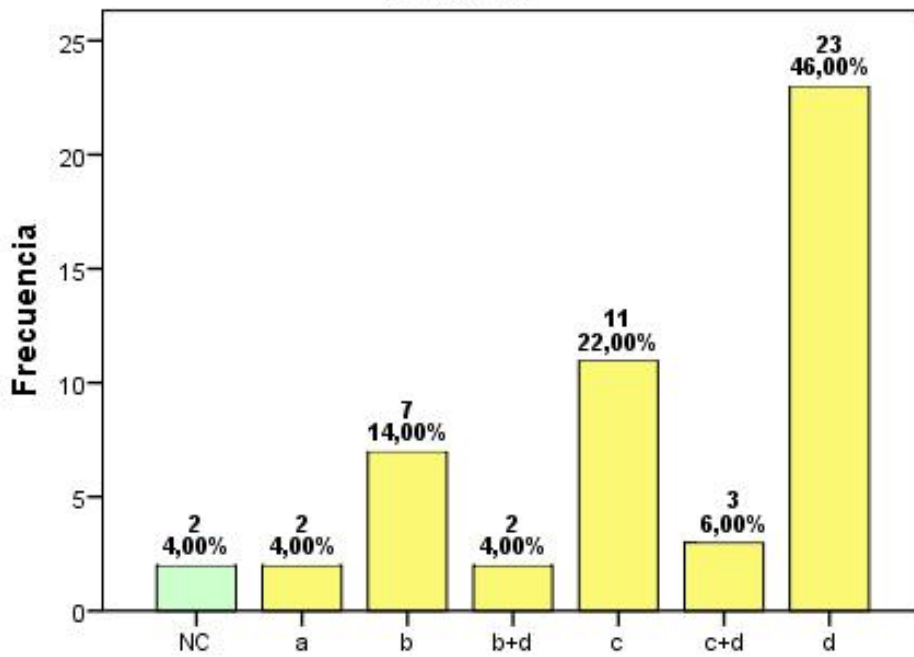


- a. Células HEp-2
- b. Células Hep-2000
- c. Otra variedad de Células HEp-2
- d. Hígado de rata
- e. Otros sustratos

8. Dilución inicial

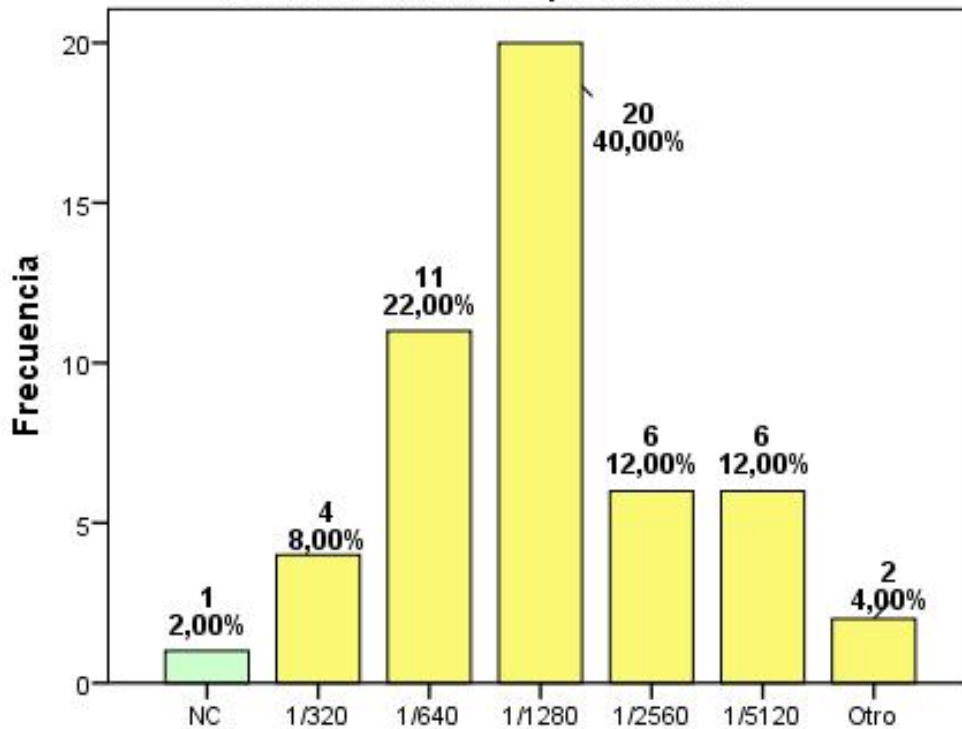


9. ¿Hace diluciones de los sueros positivos o estima la dilución?

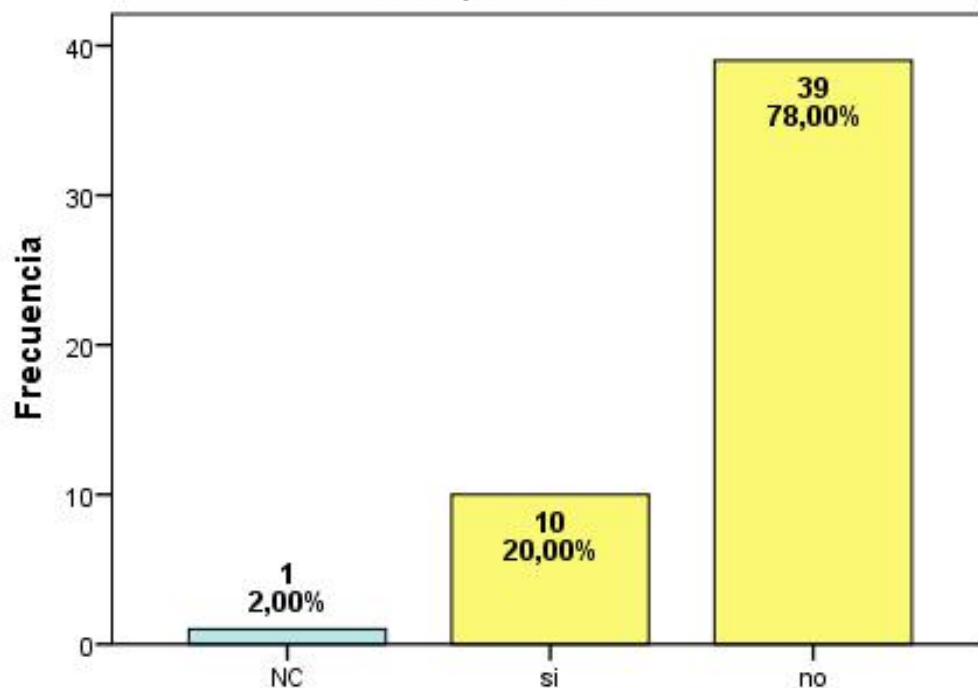


- a. No hago diluciones
- b. Diluciones seriadas
- c. Diluciones alternas
- d. Estimo la dilución

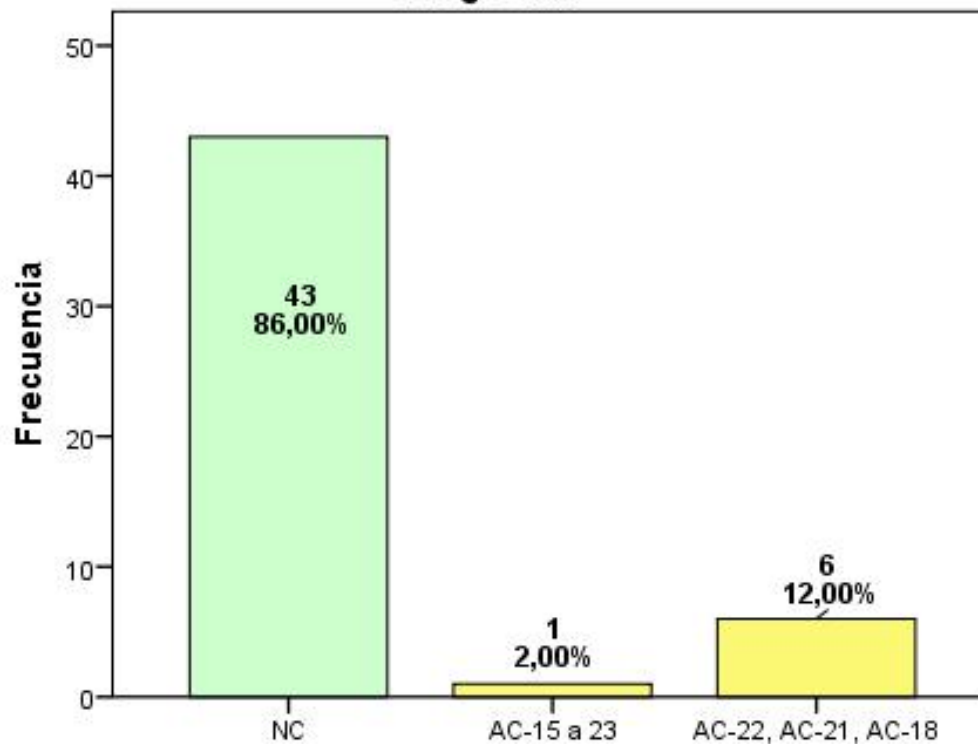
10. Título máximo que informa



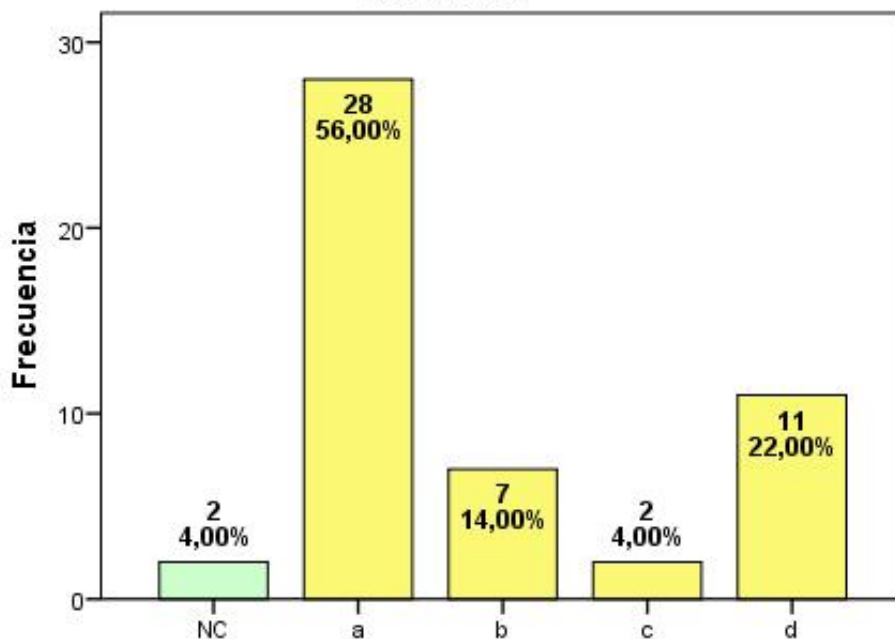
11. ¿Hay algún patrón que no titule y solo lo informa como positivo?



12. ¿Cuál?

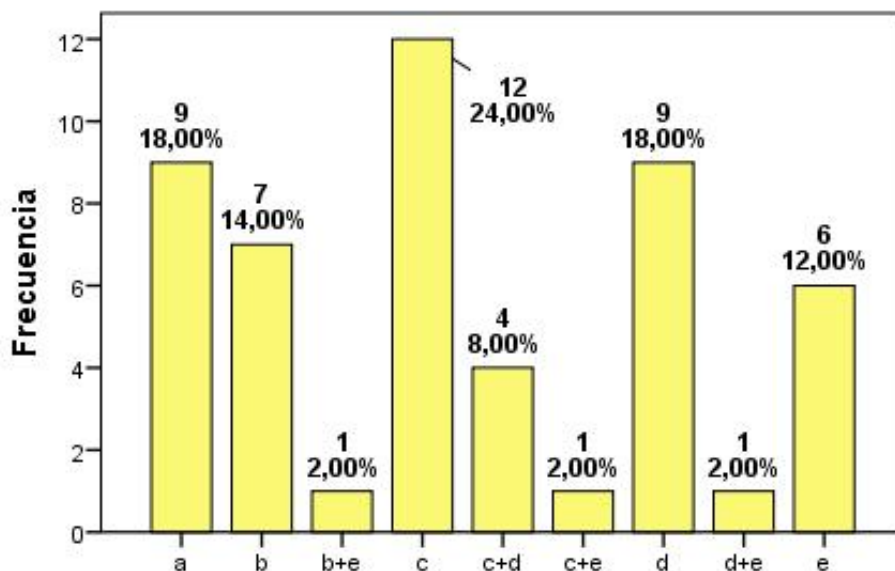


13. ¿Utiliza equipos de lectura automatizada de IFI para los ANA?



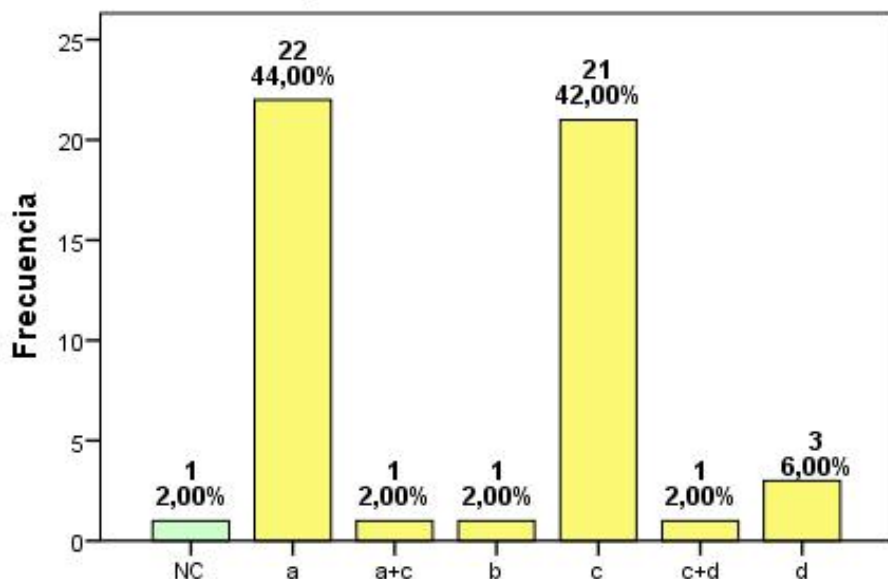
- a. No
- b. Sí, únicamente cribado positivo vs. negativo
- c. Sí, cribado y título
- d. Sí, cribado, título e interpretación del patrón

14. Cuando el ANA es negativo, ¿realiza determinaciones de anti DNAn o anti ENAs (por su método habitual) si están pedidos en el volante?



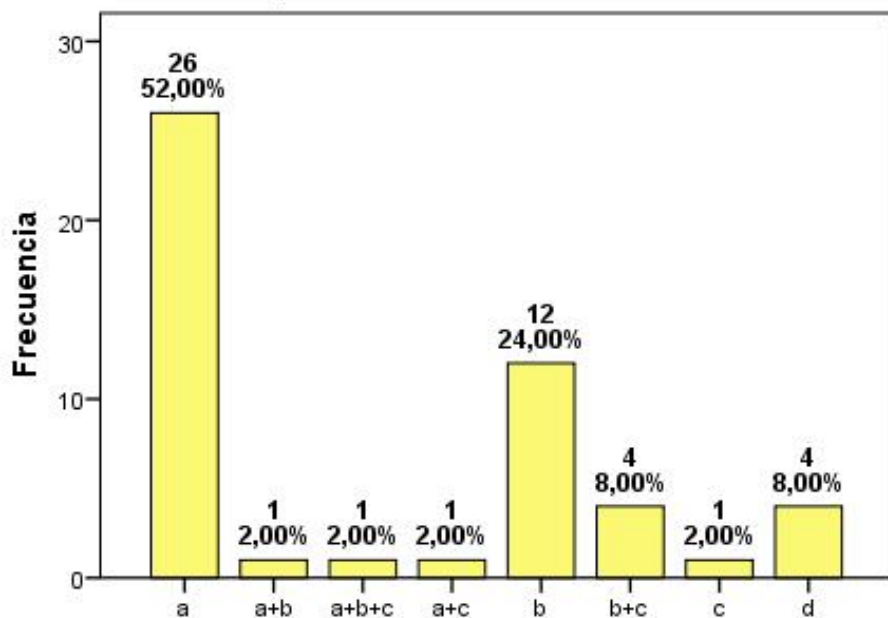
- a. Sí
- b. No
- c. Solo si se pide específicamente anti Jo-1 u otros anticuerpos con patrón citoplasmático
- d. Depende del ENA
- e. Otro

15. Cuando el ANA es positivo, ¿realiza determinaciones de anti DNAn o anti ENAs aunque no estén pedidos en el volante?



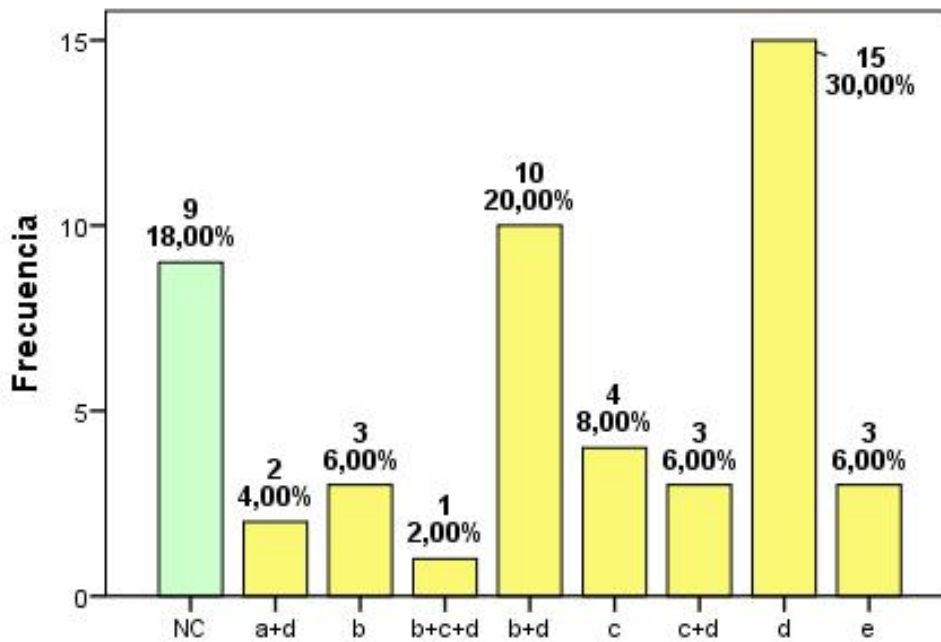
- a. Sí, siempre
- b. No
- c. Depende de título/patrón
- d. Otro

16. ¿Cómo realiza el proceso de determinación de especificidades de ANA?



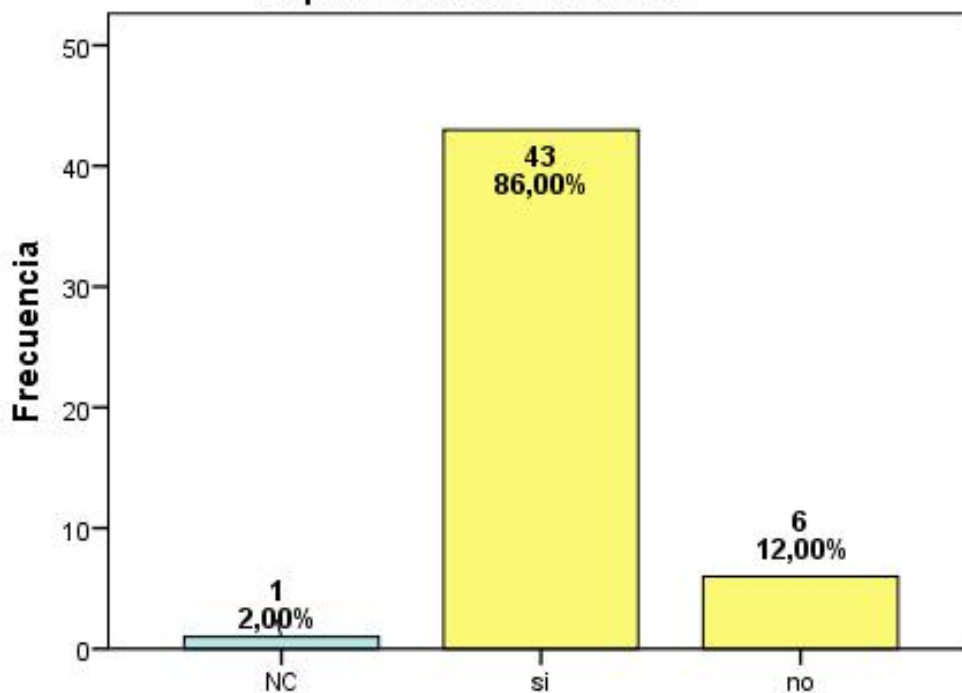
- a. Cribado previo con mezclas antigénicas (ELISA, CLIA, FEIA)
- b. Directamente en Line Blot con bandas específicas
- c. Directamente identificando los antígenos individualizados por ELISA/CLIA/FEIA
- d. Otro

17. ¿Cómo confirma las distintas positividades? ((si utiliza más de una técnica señálela))

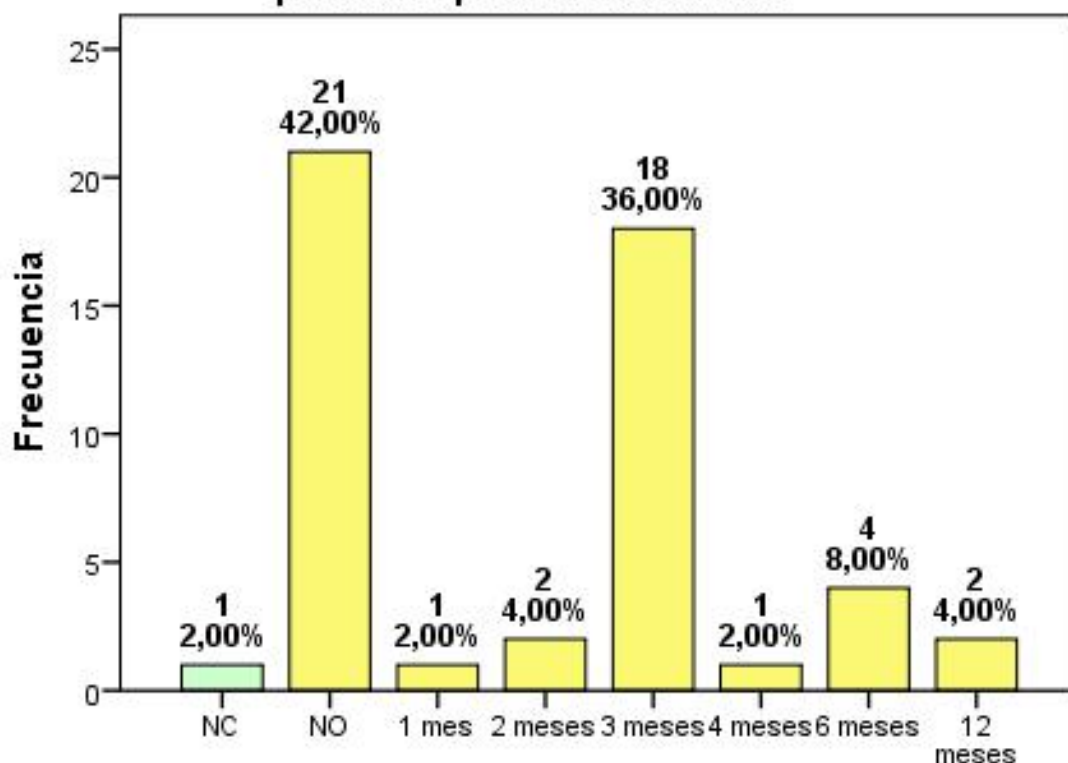


- a. ELISA individualizado
- b. FEIA individualizado
- c. CLIA individualizado
- d. Line Blot con bandas específicas
- e. Otro

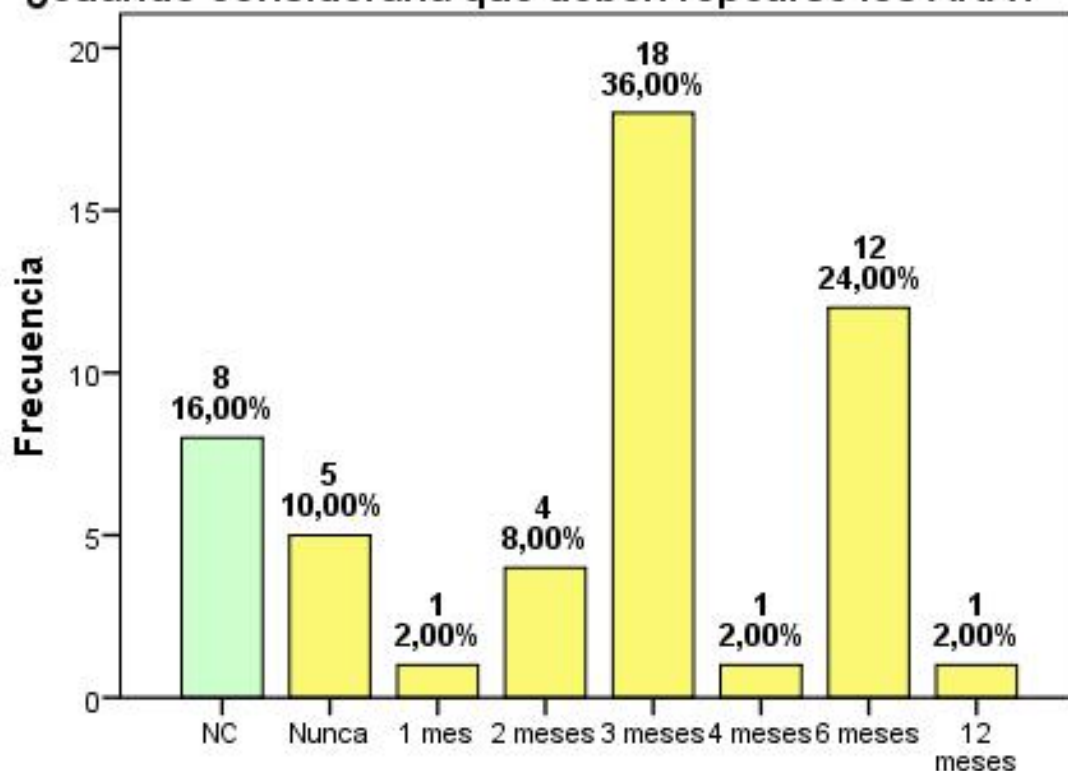
18. El patrón de ANA ¿condiciona la realización de especificidades de ANA?



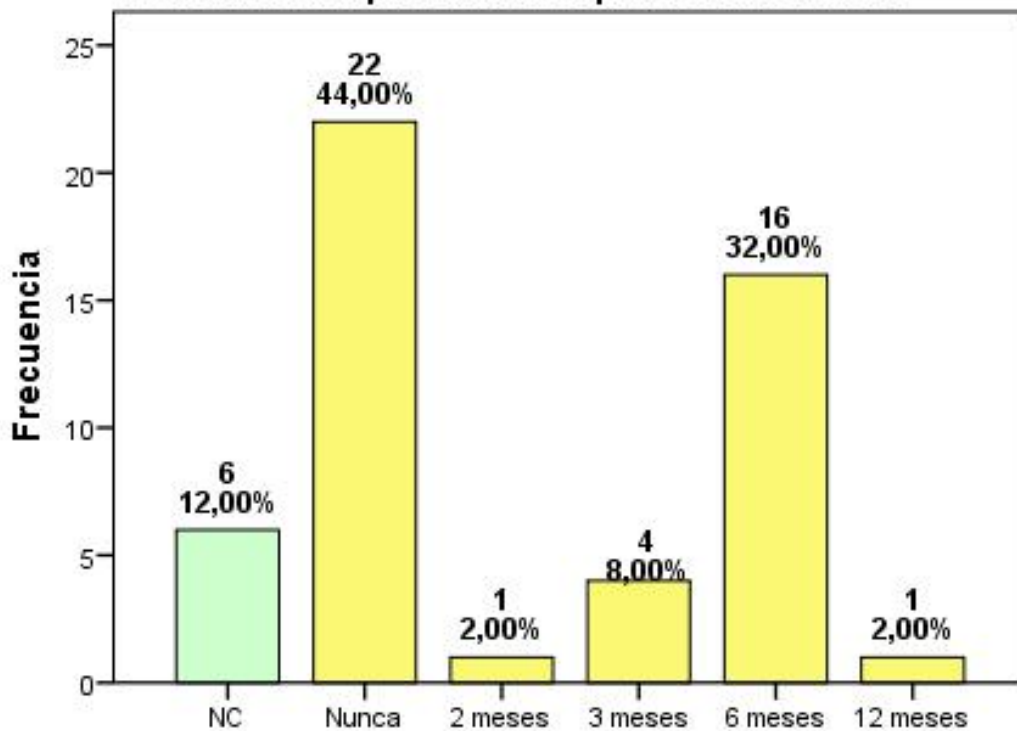
19. ¿Tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de ANA?



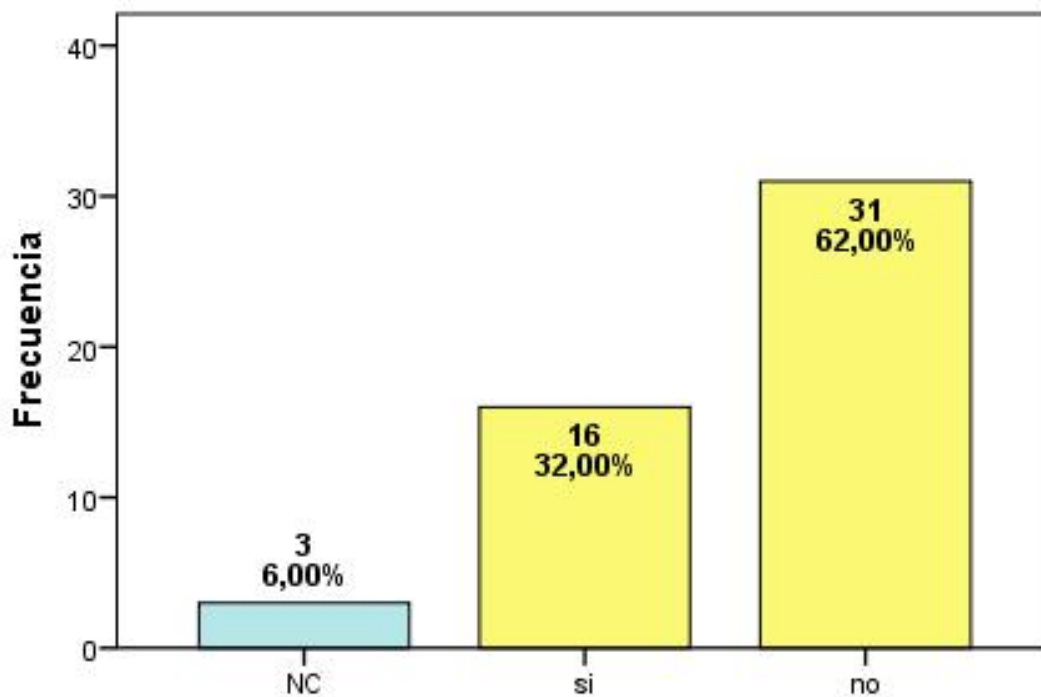
20. En un paciente con diagnóstico inicial en estudio, ¿cuándo consideraría que deben repetirse los ANA?



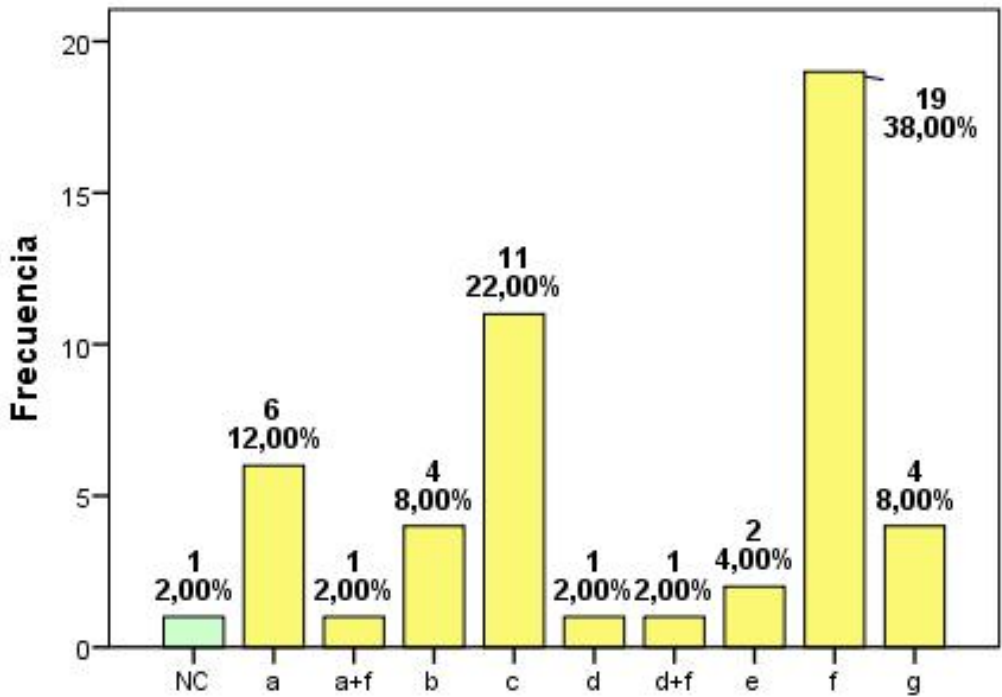
21. En un paciente con diagnóstico definitivo, ¿cuándo consideraría que deben repetirse los ANA?



22. En pacientes con patrón de ANA muy bien definido y claramente asociado a una especificidad concreta ¿se debería repetir la determinación de ANA?

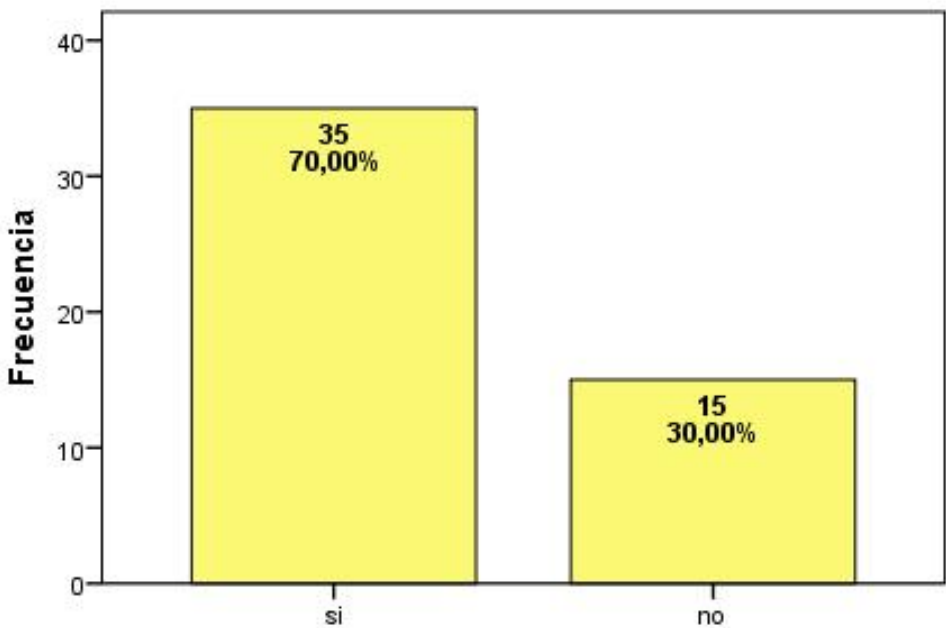


23. Método inicial utiliza para la realización de acs. anti DNAn

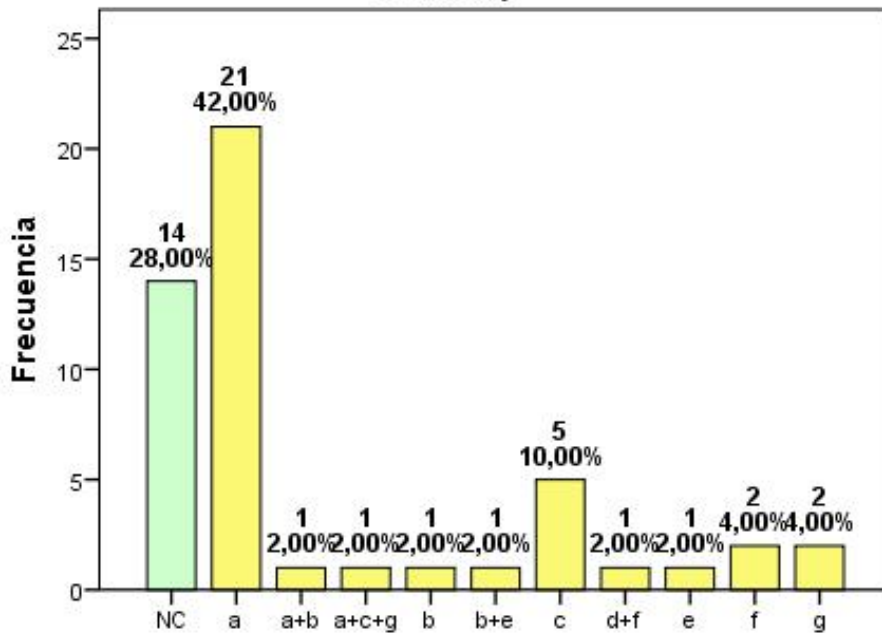


- a. CLIFT
- b. ELISA
- c. FEIA
- d. RIA
- e. Line DOT
- f. CLIA
- g. Otro

24. Cuando el resultado de acs. anti DNA por su método inicial es positivo ¿lo comprueba por otra técnica?

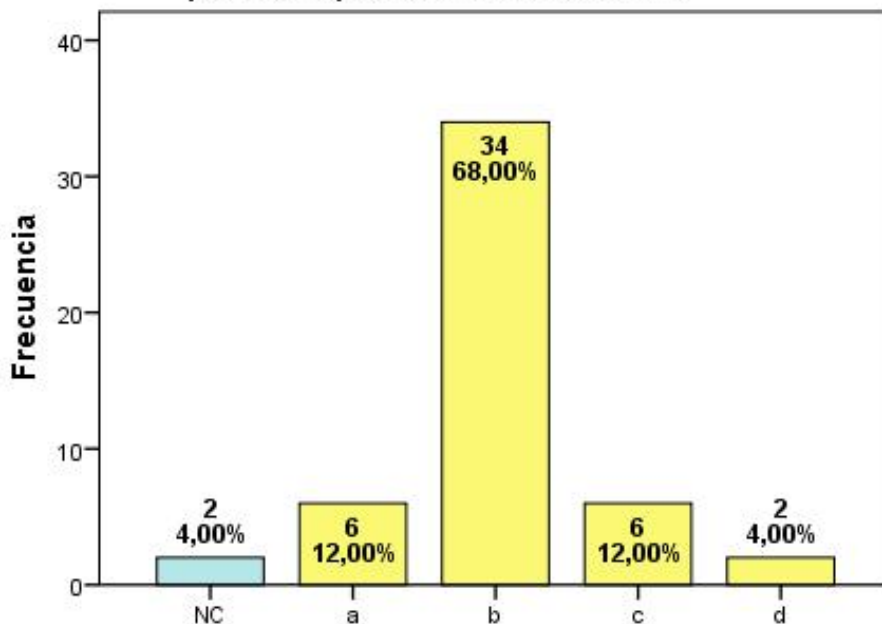


25. ¿Qué técnica/s utiliza? (si utiliza más de una técnica señálela)



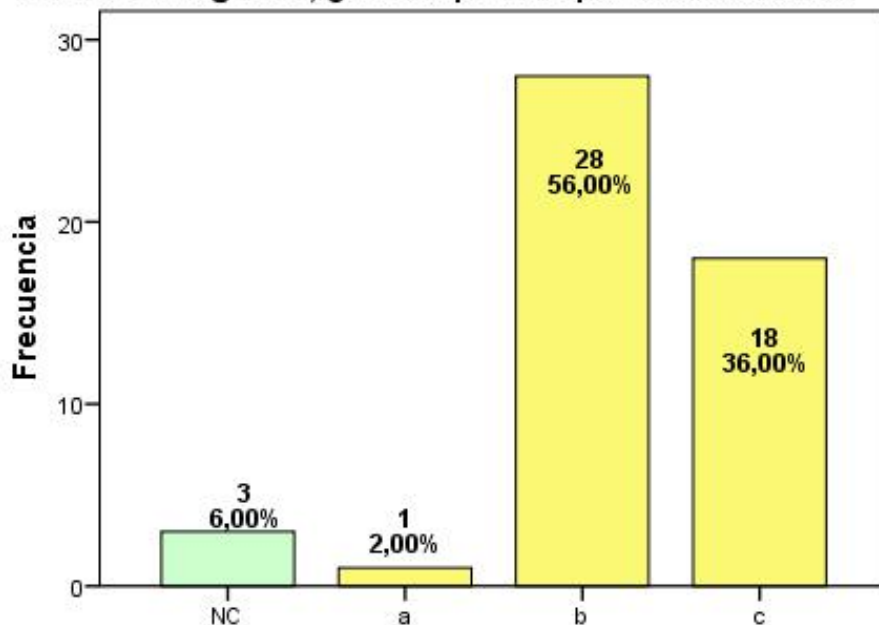
- a. CLIFT
- b. ELISA
- c. FEIA
- d. RIA
- e. Line DOT
- f. CLIA
- g. Otro

26. ¿Tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de antiDNAn?



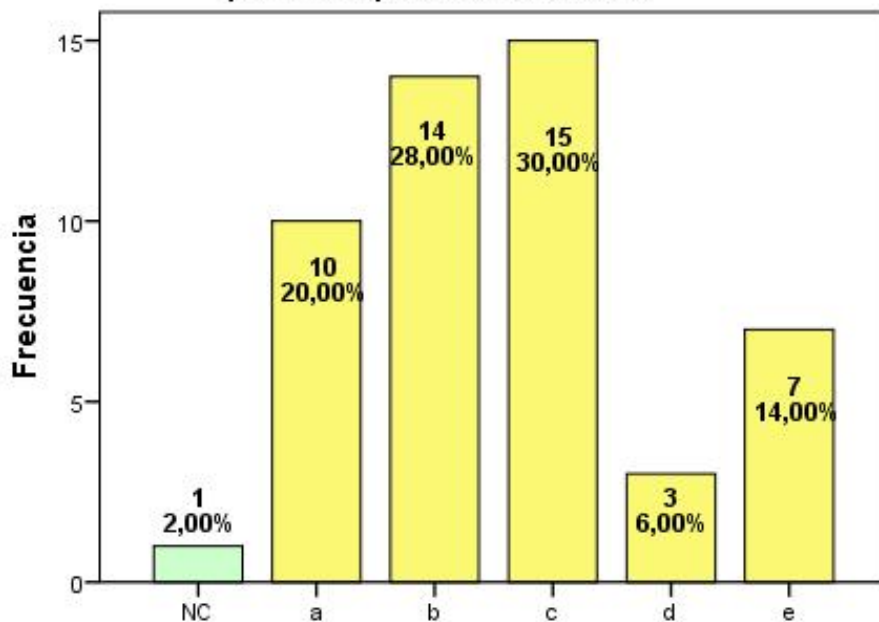
- a. Sí, siempre
- b. No nunca
- c. Solo si son negativos
- d. Otro

27. Cuando el resultado de acs. anti DNA por su método inicial es negativo, ¿lo comprueba por otro método?



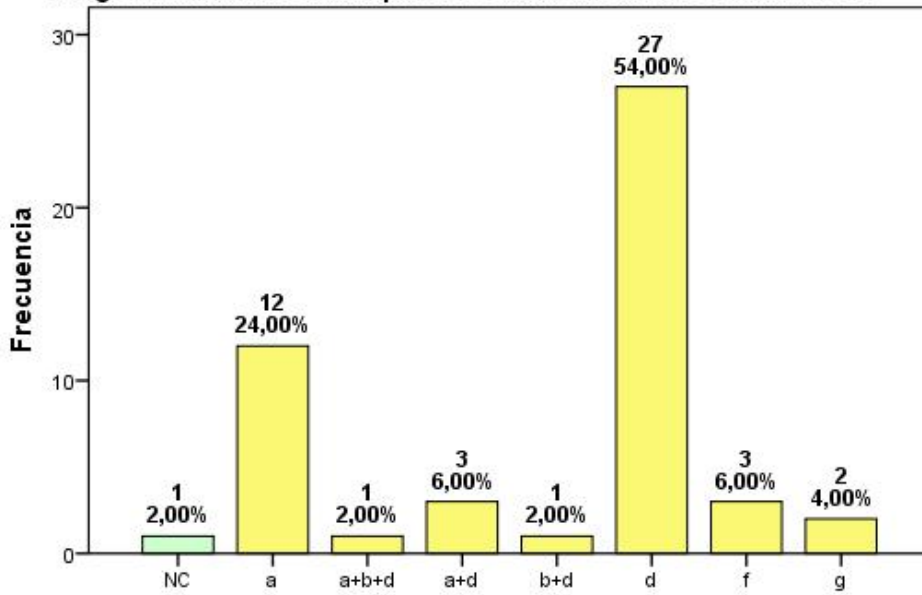
- a. Sí
- b. No
- c. Sí, si la clínica es sugerente y/o existe una hipocomplementemia por consumo

28. ¿Tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de ENA?



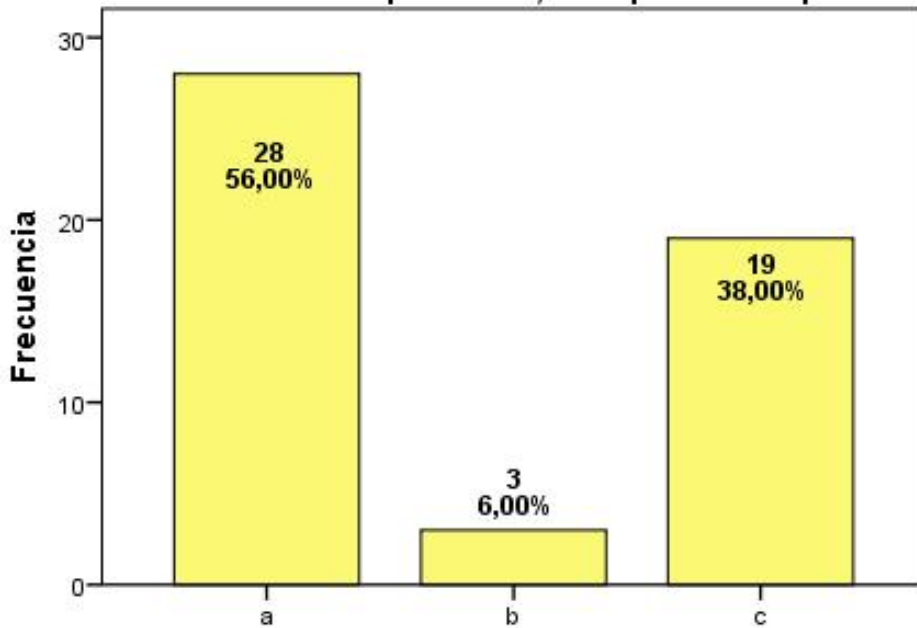
- a. Sí, siempre
- b. No, nunca
- c. Sí, si son negativos. Los positivos, generalmente no los repito
- d. Solo si son negativos
- e. Otro

29. ¿Cómo determina la presencia de acs. anti Centrómero?



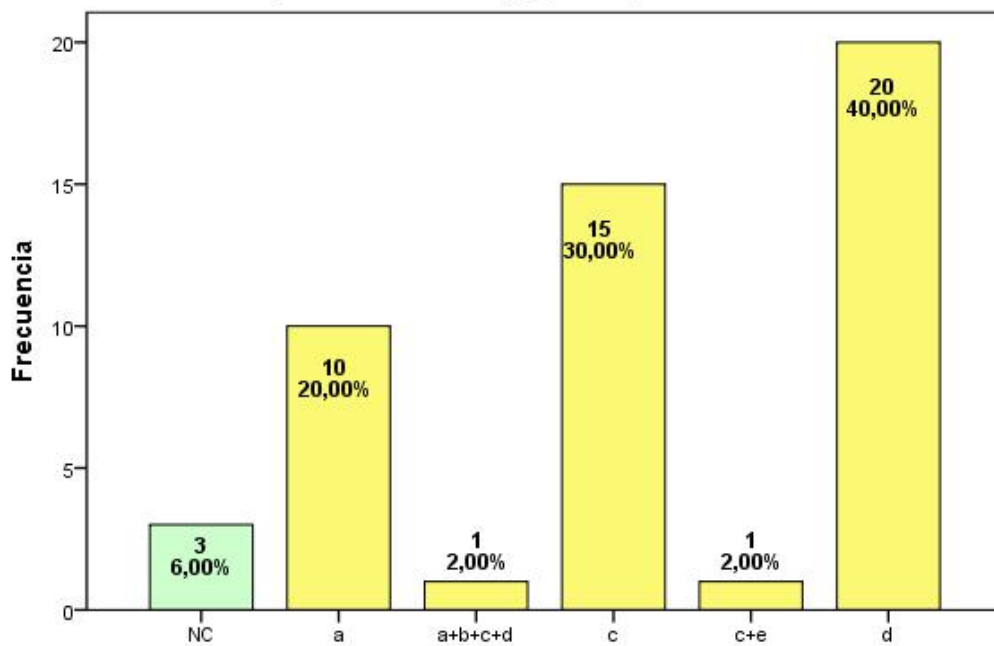
- a. IFI
- b. CLIA
- c. ELISA
- d. LINE DOT
- e. FEIA
- f. IFI inicial y método confirmatorio si el patrón es compatible
- g. otro

30. En caso de patrones citoplasmáticos (AC-19,20), ¿realiza determinación específica de antígenos relacionados con esos patrones, aunque no los pidan?



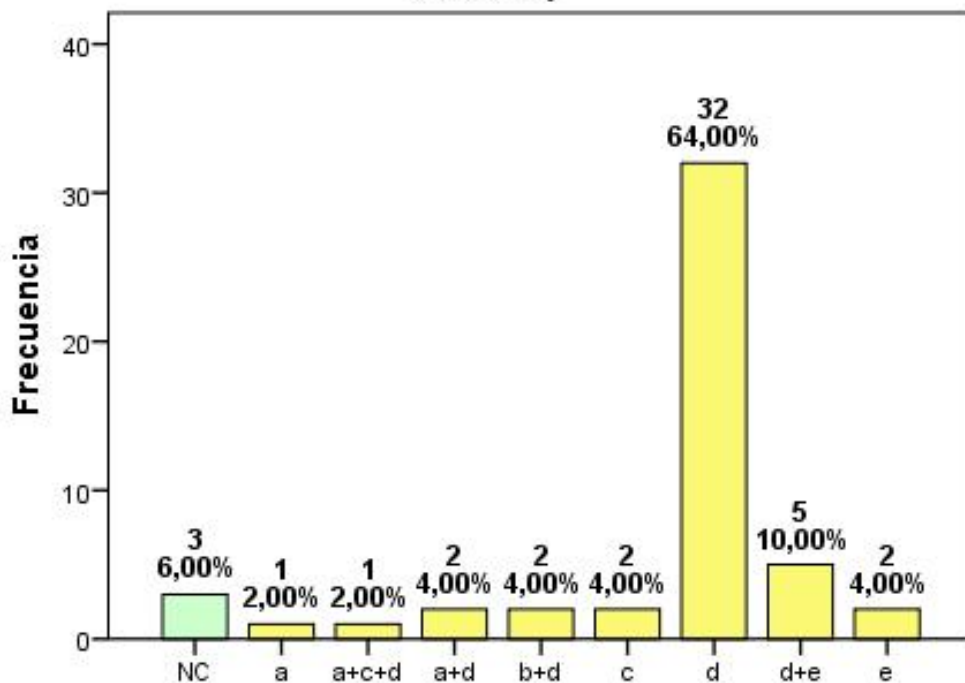
- a. Sí
- b. No
- c. Sí, después de un cribado para ENAs con resultado negativo y con datos clínicos sugestivos

31. En caso de respuesta afirmativa, ¿Qué especificidades determina?



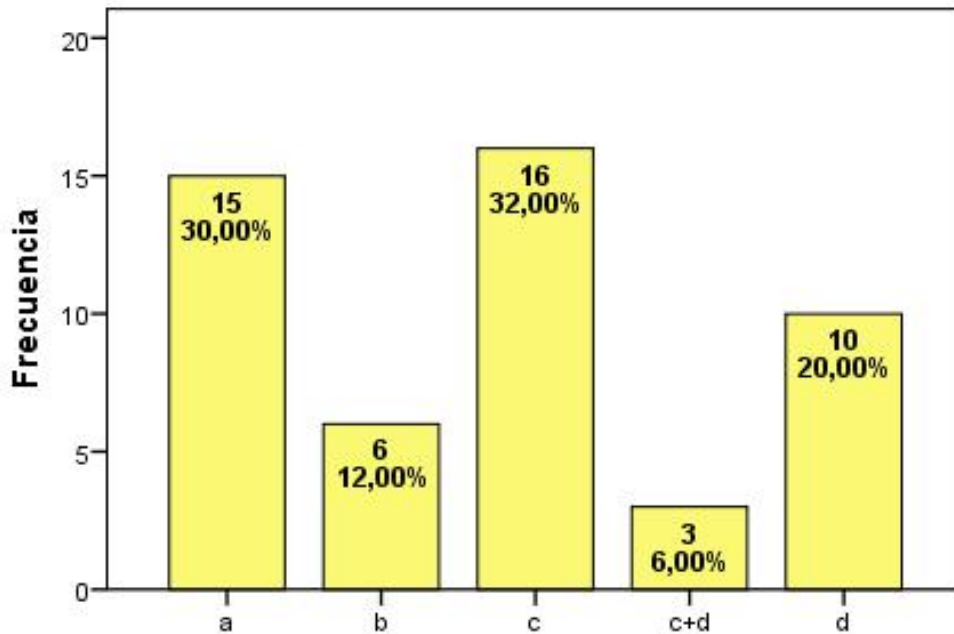
- a. Frente a Antígenos específicos de miositis (incluido Ro52)
- b. Frente a Proteína P-ribosomal
- c. Frente a los dos anteriores
- d. Según patrón
- e. otro

32. ¿Qué técnica/s utiliza? (si utiliza más de una técnica señálela)



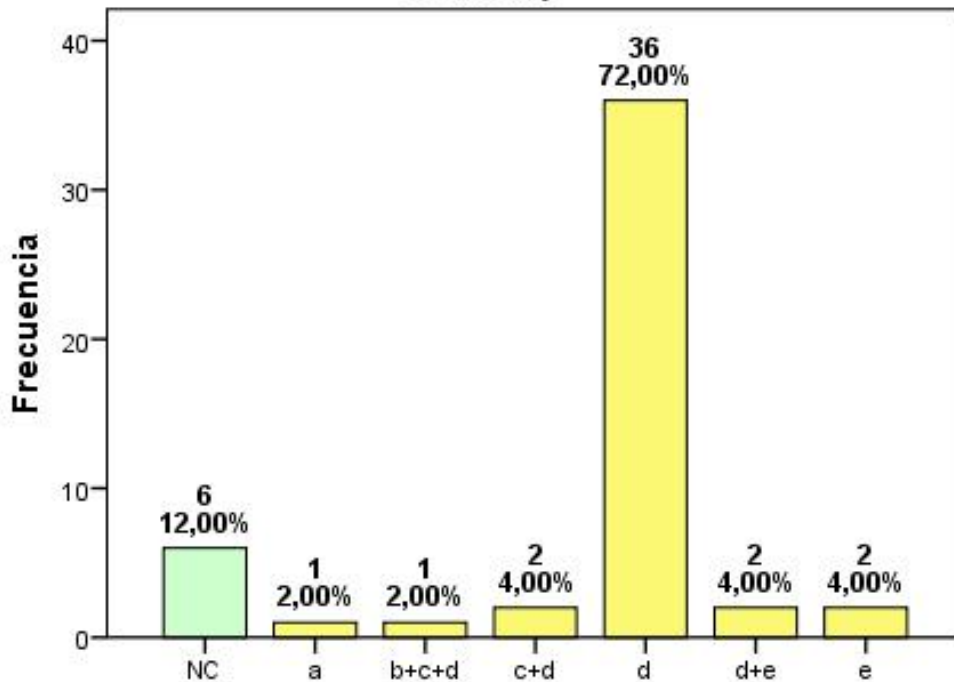
- a. IFI
- b. CLIA
- c. ELISA
- d. LINE DOT
- e. Otro

33. Ante patrones nucleolares (AC-8,9,10), ¿realiza determinación específica de antígenos relacionados con esos patrones, aunque no los pidan?



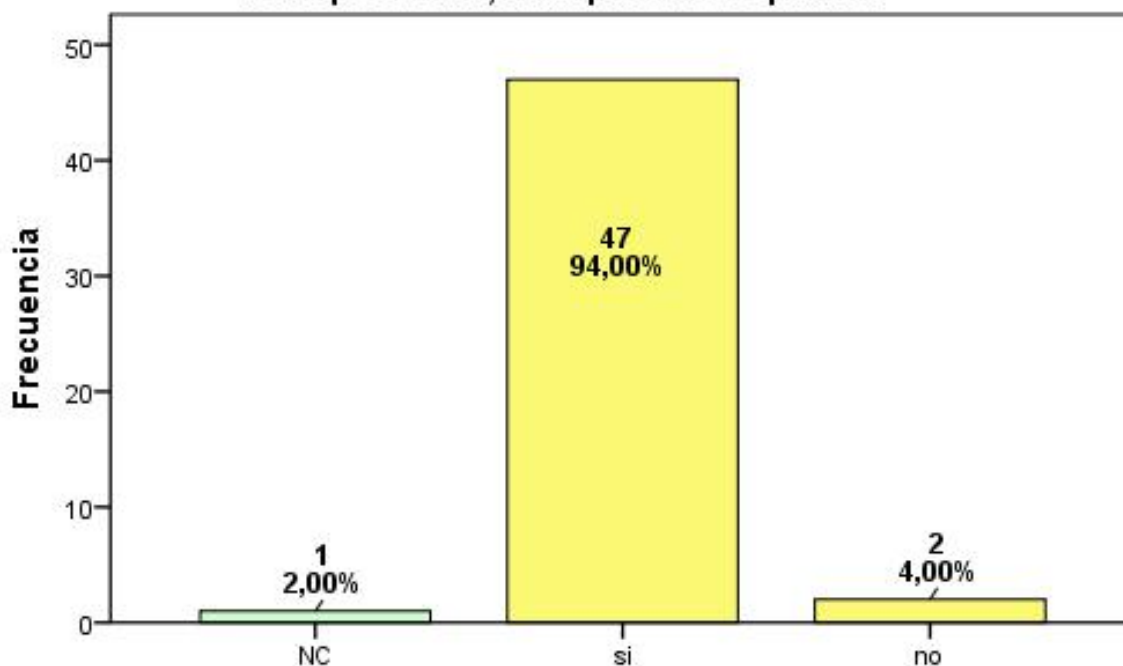
- a. Sí
- b. No
- c. Depende del título
- d. Sí, después de un cribado para ENAs con resultado negativo y con datos clínicos sugestivos

34. ¿Qué técnica/s utiliza? (si utiliza más de una técnica señálela)

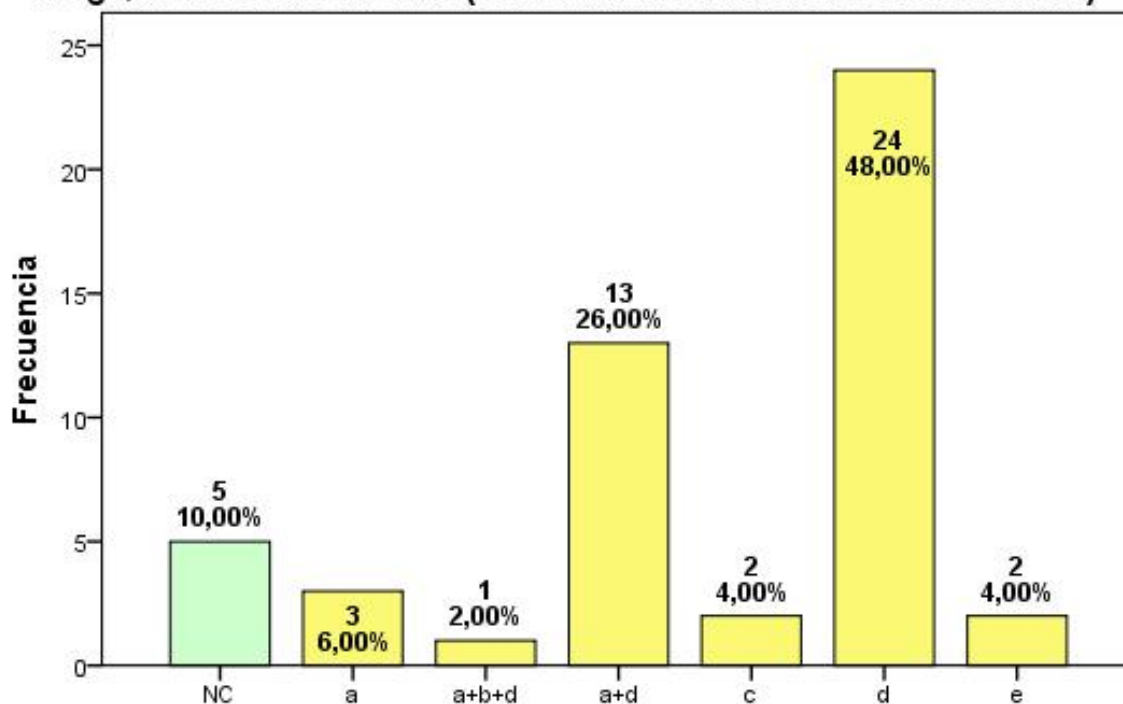


- a. IFI
- b. CLIA
- c. ELISA
- d. LINE DOT
- e. Otro

35. Ante patrones nucleares y citoplasmáticos asociados a HAI, ¿realiza determinación específica de antígenos relacionados con esos patrones, aunque no los pidan?

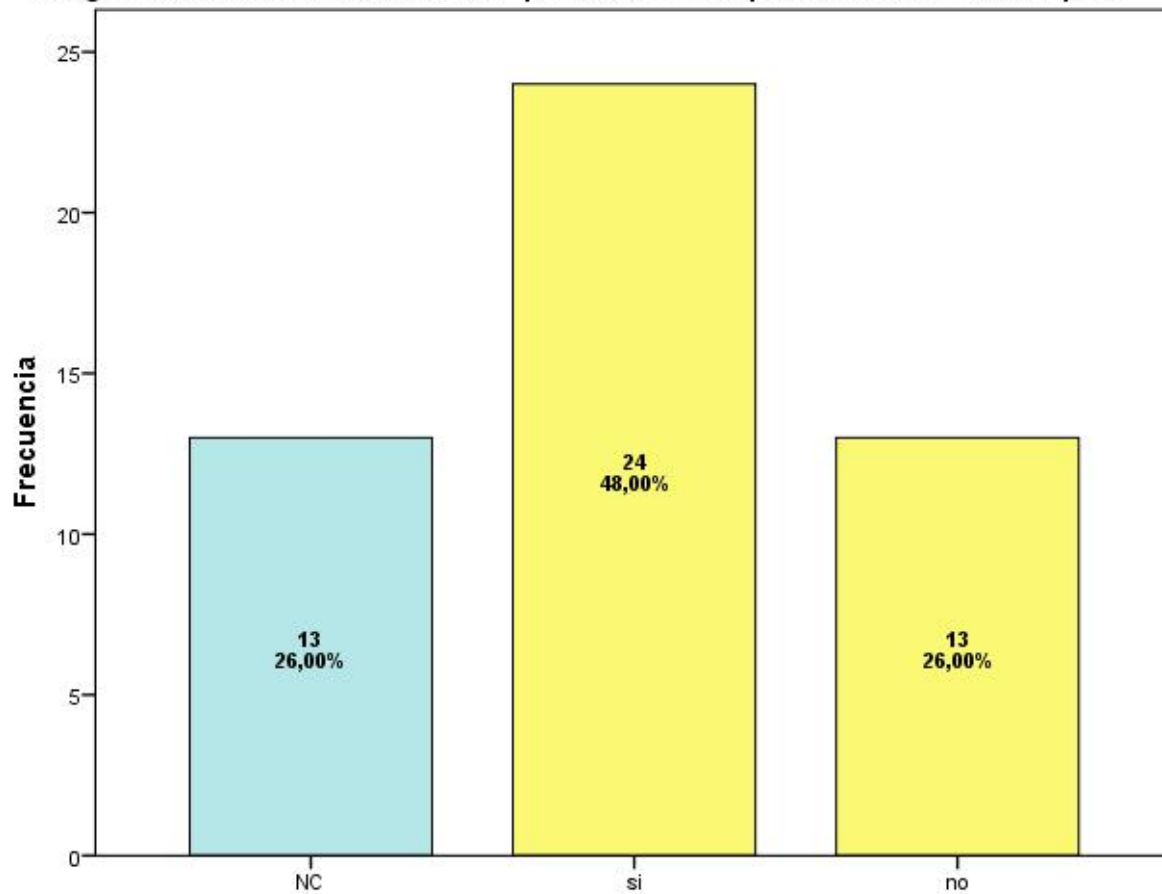


36. ¿Qué técnica/s utiliza? (si utiliza más de una técnica señálela)



- a. IFI (sobre sustrato específico)
- b. CLIA
- c. ELISA
- d. LINE DOT
- e. Otro

37. ¿Utiliza la nomenclatura ICAP para definir los patrones de IFI en HEp-2?



EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para la evaluación de los resultados consideramos que existe CONSENSO cuando el 66% (33 laboratorios) de los encuestados coinciden total o parcialmente en sus respuestas.

Se ha alcanzado consenso en los siguientes puntos:

- El método de detección de ANA utilizado de forma mayoritaria es la IFI sobre células HEp-2 o sus variedades. Los 11 laboratorios que utilizan otras técnicas para determinación de ANA, utilizan también la IFI sobre HEp-2.
- Los resultados positivos se informan con Título y Patrón
- El resultado de ANA (positivo o negativo), así como el título y el patrón condiciona la determinación de las especificidades de ANA en muchos casos independientemente de lo que pidan en el volante
- Para la determinación de acs. Anti DNAn, se utilizan mayoritariamente métodos cuantitativos, y cuando el resultado es positivo el 70 % de los laboratorios confirman el resultado de forma mayoritaria con IFI sobre *Citidiala Lucilae* (CLIFT).
- No se establece un periodo mínimo para la repetición de acs. Anti DNAn
- La técnica más utilizada para la determinación de anticuerpos anti centrómero (AC-3 es el Line dot), que en algunos laboratorios se asocia con otras técnicas
- La técnica más utilizada para la determinación de especificidades que se asocian a patrones citoplasmático (AC18, 19, 20) y nucleolares (AC8, 9 y 10) es el Line dot.
- Ante patrones nucleares y citoplasmáticos asociados a hepatopatías autoinmunes, se realiza la determinación específica de los anticuerpos implicados en estos patrones aunque no sean solicitados por el clínico.

No se ha alcanzado consenso pero hay acuerdo en al menos la mitad de los participantes en:

- La dilución inicial para la determinación de ANA es 1/160 en el 52% de los laboratorios
- En el momento de la realización de la encuesta, más de la mitad de los laboratorios no utilizaban equipos de lectura automática de IFI, aunque es posible que esto haya cambiado en la actualidad.
- Para la determinación de especificidades de ANA el 52% de los laboratorios hace un cribado previo con mezclas antigénicas. Cuando el resultado es positivo se utilizan técnicas con detección individualizada de los autoanticuerpos
- El 62% de los laboratorios considera que no se debe repetir la determinación de ANA que presentan un patrón muy bien definido y claramente asociado a una especificidad concreta.

No se ha alcanzado mayoría clara en:

- Título máximo que se informa
- Aunque la mayor parte de los laboratorios tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de ANA, tanto en pacientes al diagnóstico como en los ya diagnosticados, no hay acuerdo en la duración del periodo.
- Informe de los patrones de ANA según la nomenclatura de ICAP

COMENTARIOS DE LOS ENCUESTADOS EN LAS RESPUESTAS

A continuación se recogen los distintos comentarios asociados por algunos de los encuestados a determinadas preguntas.

Pregunta 6: Si utiliza otro método de cribado distinto a la IFI ¿Cómo informa los resultados?

-)] Se especifica que el negativo es por técnica de mezcla de antígenos, detallando concretamente los antígenos incluidos en la mezcla empleada. Tras diversos estudios de comparación de esta mezcla con otras del mercado, así como con la IFI en Hep2, hemos concluido limitaciones y puntos fuertes en algunos antígenos de la mezcla. Aquellos antígenos que pese a estar incluidos en la mezcla, en nuestra experiencia no tienen adecuada especificidad, se excluyen de este listado.

Pregunta 14: Cuando el ANA es negativo, ¿realiza determinaciones de anti DNAn o anti ENAs (por su método habitual) si están pedidos en el volante?

-)] Sospecha diagnóstica alta
-)] Si hay información clínica que lo justifique
-)] Como los ANA se procesan por técnicas diferentes en función de la sospecha clínica, un ANA negativo de Bioplex ya descartaría con adecuada sensibilidad numerosos ENA, por lo que no se procesarían. Si el ANA negativo es por IFI en Hep2, depende del ENA solicitado se estudiará o se informará que no procede por la ausencia de patrón característico del ENA en cuestión.
-)] Depende del diagnóstico y el histórico paciente
-)] Según sospecha diagnóstica

Pregunta 15. Cuando el ANA es positivo, ¿realiza determinaciones de anti DNAn o anti ENAs aunque no estén pedidos en el volante?

-)] Siempre a los nuevos y primera recomprobación. Todos los seguimientos de DNA positivos previos.
-)] Sin justificación de cambio clínico no se repiten los conocidos
-)] Depende del patrón y del contexto clínico

Pregunta 16. ¿Cómo realiza el proceso de determinación de especificidades de ANA?

-)] En función del patrón observado, de la sospecha clínica y de las especificidades a estudiar.

Pregunta 17: ¿Cómo confirma las distintas positividades?

-)] En nuestra experiencia no existe una única técnica/fabricante que permita captar con adecuada sensibilidad y especificidad todas las posibles dianas antigénicas de los ANA. Utilizamos una combinación de FEIA, Line/Dot blot, Luminex.

Pregunta 19: ¿Tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de ANA?

-)] Sí, un año en pacientes ya diagnosticados, en confirmaciones al debut no tenemos un período mínimo definido

Pregunta 20: En un paciente con diagnóstico inicial en estudio, ¿cuándo consideraría que deben repetirse los ANA?

- Sí, en cualquier momento por temas de trazabilidad, como confirmación.
- Depende del diagnóstico
- Según la sospecha del clínico, una vez finalizado el estudio
- 12 meses, si los síntomas no cambian

Pregunta 21. En un paciente con diagnóstico definitivo, ¿cuándo consideraría que deben repetirse los ANA?

- No se harán más determinaciones sin justificación clínica
- La repetición de ANA dependerá de varios factores: es un ANA con especificidad antigénica caracterizada? es un paciente con diagnóstico definido? es una EAI en la que puedan presentarse varios anticuerpos, que se desarrollen de manera secuencial y que tengan implicaciones pronósticas o en monitorización? En nuestra experiencia un paciente con ANA positivos con patrón definido pero sin especificidad puede beneficiarse de la reevaluación con nuevas técnicas/marcadores que se incorporen al laboratorio; por otro lado nuestra experiencia nos dicta que en ocasiones el perfil de anticuerpos del paciente cambia en el curso de la enfermedad, añadiendo especificidades que pueden aportar valor en el manejo del paciente. Por tanto, no existe una regla fija, el perfil de laboratorio, el fenotipo clínico y la disponibilidad de técnicas en el laboratorio dictan la periodicidad con la que se reevalúan los ANA.
- Si existe discordancia con sospecha clínica.

Pregunta 22: En pacientes con patrón de ANA muy bien definido y claramente asociado a una especificidad concreta ¿se debería repetir la determinación de ANA?

- Una segunda determinación. No se harán más determinaciones sin justificación clínica
- Cada 12 meses por si aparece nuevo patrón asociado a nuevas especificidades de ANA
- Pienso que no, salvo discordancia con cuadro clínico.

Pregunta 26: ¿Tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de antiDNA?

- 7 días. Como para la mayoría de las técnicas, para evitar duplicidades por descuido
- No establecemos un periodo mínimo para estas repeticiones, los repetimos siempre

Pregunta 27. Cuando el resultado de acs. anti DNA por su método inicial es negativo, ¿lo comprueba por otro método?

- Especialmente si IFI Homogénea y Nucleosomas/Histonas descartados

Pregunta 28.: ¿Tiene establecido un periodo de tiempo mínimo para la repetición de ANA?

- Aquellos que carecen de utilidad no se repiten, para los que la utilidad es controvertida (Scl70, Jo1, Ro en Miopatías, etc.) sí se evalúan periódicamente.
- Primera repetición no antes de 1 mes, después sólo con justificación clínica

Pregunta 30: En caso de patrones citoplasmáticos (AC-19,20), ¿realiza determinación específica de antígenos relacionados con esos patrones, aunque no los pidan?

-)] Sí, integrando datos clínicos, un ENA positivo no nos descarta esta vía de confirmación ya que anti-Ro es frecuente en estos pacientes.
-)] Sí, continuo el estudio con blot

Pregunta 31. En caso de respuesta afirmativa, ¿Qué especificidades determina?

-)] En función del patrón de Hep2, de triple tejido (apoyo en sospecha de Ribosomal/SRP) y de la sospecha clínica.
-)] JO-1 RIB-P
-)] Blot de ENAs o esclerodermia según sospecha clínica o patrón