

Lúpus eritematoso sistêmico com fator antinuclear (FAN) negativo: um desafio no diagnóstico

Systemic lupus erythematosus with negative antinuclear factor (FAN): a diagnostic challenge

DOI:10.34119/bjhrv6n1-089

Recebimento dos originais: 12/12/2022

Aceitação para publicação: 13/01/2023

Andrea Verónica García Pacheco

Especialista em Medicina Interna

Instituição: Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

Endereço: Av. de las Américas y Calle Humboldt

E-mail: angie2643.g@hotmail.com

Samantha Estefanía García Pulla

Graduando em Medicina pela Medicina-Campus, Cuenca

Instituição: Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

Endereço: Av. de las Américas y Calle Humboldt

E-mail: samantha.garcia@est.ucacue.edu.ec

Juan Carlos Bermeo Ortega

Especialista em Cirurgia geral, Mastologia

Instituição: Universidad Católica de Cuenca, Azogues-Ecuador

Endereço: Av. 16 de abril, Azogues

E-mail: juan.bermeo@ucacue.edu.ec

Diana Katherine Astudillo Bravo

Mestre em gerencia em saúde; Especialista em Cirurgia geral, Cirurgia Toracica

Instituição: Universidad Católica de Cuenca, Ecuador; Hospital Vicente Corral Moscoso

Endereço: Av. de las Américas y Calle Humboldt

E-mail: diana.astudillo@ucacue.edu.ec

Víctor Jonathan Vera Franco

Especialista em Medicina Interna

Instituição: Hospital Clínica Panamericana

Endereço: Panamá 616 y Roca, Guayaquil - Ecuador

E-mail: vveraf87@gmail.com

RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença auto-imune que afeta 20 a 150 pessoas por 100.000 habitantes, caracterizada pela produção de auto-anticorpos, sendo os principais anticorpos envolvidos na patofisiologia desta doença os anticorpos antinucleares conhecidos como fator antinúcleo (FAN). O FAN positivo é agora considerado o critério de entrada para a classificação dos pacientes com FAN negativo, o que representa um desafio diagnóstico para aqueles com FAN negativo, uma entidade clínica descrita desde 1976 com uma prevalência de 2-20%. Apesar dos avanços nas técnicas de identificação do FAN, há vários fatores do paciente como idade, atividade da doença, uso de glicocorticóides, proteinúria, infecção e/ou sepse, que

levam à negatividade de anticorpos no diagnóstico; assim como diferentes fatores técnicos ao processar o FAN por imunofluorescência indireta (IFI). Esta revisão aborda critérios de classificação do LES, técnicas de identificação do FAN, causas de negatividade e outros métodos de diagnóstico para aqueles pacientes com anticorpos antinucleares negativo e LES clínico, com o objetivo de fornecer informações aos profissionais de saúde que permitam o diagnóstico e tratamento oportuno dos pacientes com esta patologia, melhorando assim seu prognóstico e qualidade de vida.

Palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico, anticorpos antinucleares, diagnóstico.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease affecting 20 to 150 people per 100,000 population, characterized by the production of autoantibodies, the main antibodies involved in the pathophysiology of this disease, being the antinuclear antibodies known as antinuclear factor (ANF). Positive FAN is now considered an entry criterion for the classification of FAN-negative patients, which poses a diagnostic challenge for those with negative FAN, a clinical entity described since 1976 with a prevalence of 2-20%. Despite advances in FAN identification techniques, there are several patient factors such as age, disease activity, glucocorticoid use, proteinuria, infection and/or sepsis, that lead to antibody negativity at diagnosis; as well as different technical factors when processing FAN by indirect immunofluorescence (IFI). This review addresses SLE classification criteria, FAN identification techniques, causes of negativity, and other diagnostic methods for those patients with negative antinuclear antibodies and clinical SLE, with the aim of providing information to health care professionals that will enable the timely diagnosis and treatment of patients with this pathology, thus improving their prognosis and quality of life.

Keywords: systemic lupus erythematosus, antinuclear antibodies, diagnosis.

1 INTRODUÇÃO

Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma patologia auto-imune que causa uma condição sistêmica em indivíduos que sofrem dela, secundária a um processo inflamatório crônico de vários órgãos, tais como pele, sistema hematopoiético, rins, articulações, entre outros.¹ Esta patologia está associada a uma combinação de fatores ambientais, genéticos e imunológicos.² e representa uma doença grave com uma apresentação clínica complexa e heterogênea.³

A incidência aproximada do LES no mundo inteiro é de 1 a 10 por 100.000 pessoas por ano, com uma prevalência de 20 a 70 por 100.000 pessoas.⁴ Na Europa, a incidência é de 3,3 a 4,8 por 100.000 pessoas, com uma incidência 10 vezes maior nas mulheres do que nos homens.⁴ Por outro lado, na América Latina, o lúpus tem uma incidência aproximada de 4,7 a 8,7 por 100.000 indivíduos por ano, muito maior do que na Europa.⁵

A taxa de sobrevivência de pacientes com lúpus é de 90% a 5 anos, porém, esta taxa dependerá de aspectos como status socioeconômico, gênero, raça, entre outros.⁶ Há um risco

maior de mortalidade em pacientes que, devido aos aspectos socioeconômicos e à falta de apoio familiar e de assistência médica, são incapazes de controlar sua doença.^{6,7} Em relação à raça, o Grupo Latino-Americano de Estudos Lupus (GLADEL) mostrou que mestiços, indígenas americanos e afro-descendentes têm um risco maior de LES, bem como um pior prognóstico da doença.⁸

Além da morbidade e mortalidade que aflige os pacientes, o LES tem um grande impacto sócio-econômico tanto sobre o paciente quanto sobre os gastos de saúde do país, com gastos anuais de cerca de US\$ 8.712 na população americana, devido às constantes visitas a especialistas, à falta de tratamento padrão ouro e ao custo de medicamentos imunomoduladores e corticosteróides.³

Esta revisão visa fornecer aos médicos e especialistas de cuidados primários informações oportunas sobre o papel das fator antinúcleo (FAN) o anticorpos antinucleares no diagnóstico do LES, quais são as possíveis causas do LES FAN negativo e quais são as opções de diagnóstico para pacientes com FAN negativo, permitindo uma abordagem oportuna para pacientes com FAN negativo a fim de evitar atrasos no diagnóstico e, assim, um curso controlado de sua doença, melhor prognóstico e maior taxa de sobrevivência, bem como a redução de custos associados a complicações e a melhoria da qualidade de vida geral do paciente.⁶ e reduzindo os custos associados às complicações e melhorando a qualidade de vida geral do paciente.⁹

2 METODOLOGIA

Foram analisados 44 artigos, em inglês e espanhol. Os estudos incluídos na revisão foram revisões sistemáticas, meta-análises, ensaios clínicos controlados, estudos de controle de casos e estudos de coorte. As bases de dados utilizadas foram Scopus e Pubmed. Os artigos foram pesquisados utilizando os operadores Booleanos E e NÃO e as palavras-chave: Lúpus eritematoso, Sistêmico; Diagnóstico; Anticorpos, Antinuclear.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DIAGNÓSTICO DOS MESMOS

O LES apresenta uma ampla gama de manifestações clínicas e pode ter períodos de exacerbação, exacerbação e remissão, dependendo do envolvimento do paciente e dos órgãos.¹⁰ É por esta razão que o diagnóstico do LES é considerado clínico, porém, historicamente, organizações internacionais determinaram parâmetros de classificação que permitem a rápida identificação dos pacientes, especialmente para estudos clínicos.¹¹

Uma classificação para pacientes com LES foi proposta pela primeira vez em 1997 pelo American College of Rheumatology (ACR), atualizada em 1982 com a definição de 11 critérios clínicos e sorológicos, dos quais os pacientes tinham que atender pelo menos 4 para serem considerados como portadores de LES.¹²⁻¹⁴ A partir desta publicação surgiram várias dúvidas, pois se concluiu que estes critérios eram incapazes de identificar pacientes com LES em estágio inicial e muitos pacientes que não preenchiam nenhum critério imunológico característico do LES ainda podiam ser diagnosticados apenas pelos critérios clínicos.¹² Em resposta, a Systemic Lupus Erythematosus Lupus Collaborative Clinics (SLICC) propôs critérios em 2012, nos quais um paciente tinha que atender pelo menos 17 critérios, incluindo pelo menos um critério clínico e um critério imunológico a ser definido como tendo lúpus.¹⁵ Entretanto, apesar dos esforços, os critérios têm demonstrado baixa especificidade e classificação errada dos pacientes.^{12,15,16}

Em 2017, o ACR e a Liga Européia Contra o Reumatismo (EULAR) introduziram critérios quantitativos que, ao marcar certos parâmetros, garantiam uma maior precisão na classificação dos pacientes com LES.¹⁶ Em 2019, os grupos EULAR e ACR desenvolveram novos critérios de classificação do LES (EULAR/ACR-2019), com maior sensibilidade e especificidade em relação aos critérios anteriores utilizados para classificação desses pacientes, que incluem critérios clínicos e imunológicos, sendo um ponto-chave para classificação a presença de FAN positivos por técnica de imunofluorescência indireta (IFI) ou outro método com diluição de 1:80 como critério de entrada para a classificação do LES.^{17,18}

3.2 SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS SISTEMAS DE CLASSIFICAÇÃO DO

Historicamente, os critérios foram atualizados, mas ainda não se sabe qual critério deve ser o mais utilizado.¹¹ Os critérios ACR de 1997 mostraram algumas inconsistências em seu uso, entretanto, a especificidade destes critérios foi considerada superior ao SLICC 2012 para classificação de pacientes jovens.¹⁹ Pelo contrário, ao classificar uma população adulta, os critérios do SLICC são mais sensíveis do que o ACR 1997.¹⁹ Os critérios ACR/EULAR têm sensibilidade semelhante para adultos e crianças e são mais sensíveis que os critérios ACR 1997 e SLICC 2012 para o reconhecimento de pacientes com envolvimento de órgãos ou órgãos importantes.²⁰

Levando em conta que o uso dos critérios varia entre populações, foi demonstrada uma maior sensibilidade dos critérios SLICC 2012 em comparação com o ACR/EULAR nas populações da Malásia, Índia e China.²⁰ Para pacientes com doença precoce, os critérios SLICC 2012 demonstraram ser mais sensíveis, da mesma forma para pacientes cuja doença

ainda não está estabelecida com envolvimento de múltiplos órgãos, ou seja, cuja doença apresenta uniorganicamente os critérios ACR 1997 e SLICC foram mais sensíveis.²¹ Pacientes cuja duração da doença é inferior a 5 anos, os critérios do SLICC 2012 terão melhor desempenho na classificação de pacientes.²²

Embora os critérios ACR/EULAR sejam os mais atualizados, há certas considerações a serem levadas em conta ao escolher os critérios para cada paciente, assim, para jovens e crianças, é muito melhor usar os critérios SLICC.^{19,21} Por exemplo, no caso de pacientes com doença precoce e uniorgânica, são sugeridos critérios SLICC.^{20,22}

Tabela 1. Desempenho diagnóstico dos critérios de classificação do LES

Autor	Ano	Participantes	Objetivo do estudo	Sensibilidade e especificidade
Hartman E et.al	2017	5236 casos e 1313 controles de LES adulto, e 568 casos e 339 controles de LES juvenil.	Desempenho dos critérios SLICC 2012 vs ACR 1997	Em adultos SLICC 2012 sensibilidade 94% e especificidade 95,5%. ACR 1997 89,6% de sensibilidade e 98,1% de especificidade. Nos jovens, SLICC 2012 sensibilidade 99,9% e especificidade 82,0%. ACR 1997 sensibilidade 84,3% e especificidade 94,1%.
Selvananda S et.al	2022	205 pacientes com um diagnóstico de LES e 100 controles	Desempenho dos critérios ACR/EULAR vs SLICC 2012 e ACR 1997	SLICC 2012 sensibilidade de 96,1% e especificidade de 94%. Sensibilidade ACR/EULAR 90,8% e especificidade 94%. ACR 1997 sensibilidade 82% e especificidade 96%.
Cheng S et.al	2022	Pacientes do LES (221 crianças e 221 adultos) e controles (214 crianças e 214 adultos)	Desempenho dos critérios ACR/EULAR vs. SLICC 2012 e ACR 1997 em pacientes com LES adulta e LES juvenil	Em crianças ACR 1997 sensibilidade 63,3% e especificidade 99,5%. SLICC 2012 sensibilidade de 94,6% e especificidade de 98,6%. Sensibilidade ACR/EULAR 98,2% e especificidade 93,5%. Em adultos ACR 1997 sensibilidade 72,9% e especificidade 97,2%. SLICC 2012 sensibilidade de 96,8% e especificidade de 92,5%. Sensibilidade ACR/EULAR 99,1% e especificidade 90,2%.
Guavita-Nvarro D et.al	2021	146 registros de pacientes	Desempenho ACR/EULAR vs SLICC 2012 em pacientes de ascendência ameríndia	Sensibilidade ACR/EULAR 84,9% versus sensibilidade SLICC 2021 85,6%. Em pacientes com menos de 5 anos de doença

				ACR/EULAR sensibilidade de 76,4% e SLICC 2012 sensibilidade de 92,5%.
--	--	--	--	-----------------------------------------------------------------------

Fonte: Autores

3.3 FATOR ANTINÚCLEO

Na fisiopatologia do LES, as FAN, também conhecidas como fatores antinucleares, são os autoanticorpos mais importantes devido a sua sensibilidade de 97,8%.¹⁷ Os FAN são definidos como imunocomplexos que têm a função de apontar, ligar e destruir estruturas no núcleo e têm uma alta sensibilidade²³, permitindo assim a identificação precoce de pacientes com LES, mesmo antes do início clínico, bem como a análise da progressão do LES.^{24,25} Eles também são usados para analisar a progressão da doença e alguns anticorpos podem até estar associados a certas características clínicas dos pacientes.^{26,27}

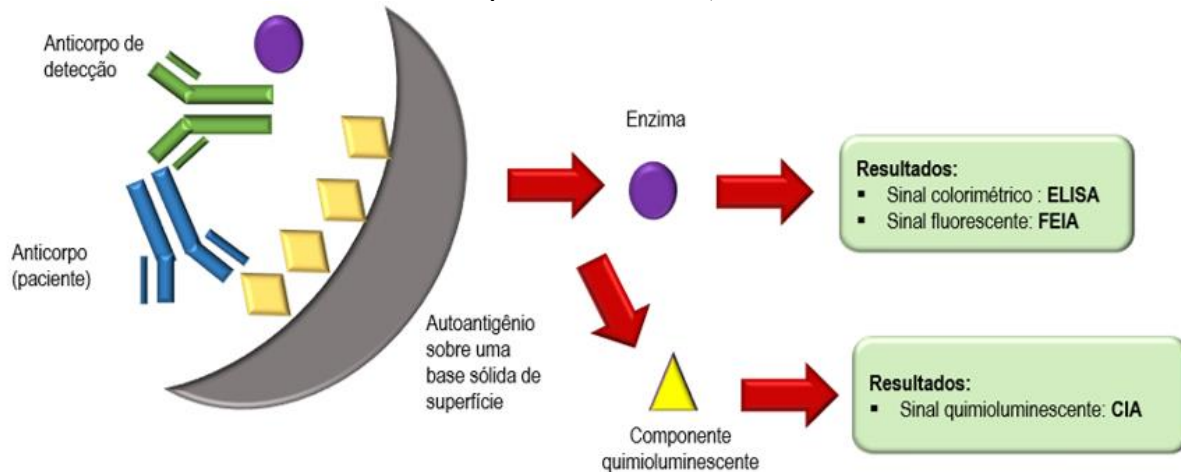
Muitos métodos insensíveis têm sido usados para detectar FAN, o que anteriormente levou a um número maior de pacientes diagnosticados com FAN negativo LES, entretanto, atualmente, o método padrão ouro para determinação de FAN ainda é a imunofluorescência indireta, usando seções de tecido dos roedores ou a linha 2 de células derivadas de HeLa humano (HEp-2).²⁸⁻³⁰

3.4 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE FAN

3.4.1 Testes de Base Sólida

Esta é outra técnica amplamente utilizada para a detecção de FAN, utilizando uma superfície sólida, seja poliestireno ou nitrocelulose, na qual os autoanticorpos são colocados e depois incorporados com anticorpos e o plasma do paciente, que no caso de ter autoanticorpos, se ligarão e poderão ser lidos com a adição de uma ligadura enzimática no caso do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), estes se ligarão e poderão então ser lidos com a adição de uma enzima ligante no caso do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) que, por sua vez, será relatado como resultado de acordo com os sinais colorimétricos ou fluorescentes produzidos⁶. O ensaio com sinais fluorescentes é conhecido como imunoensaio ligado a enzimas fluorométricas ou FEIA⁶. Além disso, um componente que emite sinais quimioluminescentes também pode ser usado e este ensaio é referido como ensaio de quimioluminescência ou CIA por suas siglas em inglês⁶ (Figura 1).

Figura 1: Representação de ensaios de base sólida. Ao contrário da imunofluorescência, os autoanticorpos estão sobre uma base sólida e este complexo estará ligado a uma enzima que representará os resultados em forma colorimétrica para ELISA, fluorescente para FEIA. Alternativamente, o complexo pode ser ligado a um componente quimioluminescente e então produzirá um sinal quimioluminescente e é chamado de ensaio da CIA. ELISA (ensaio de imunoenensaio enzimático; FEIA (imunoenensaio enzimático fluorométrico); CIA (ensaio de quimioluminescência)



Fonte: Autores

3.4.2 Imunofluorescência Indireta

A técnica de imunofluorescência indireta ou IFI é o padrão ouro para determinação de FAN, para a qual é recomendado o uso de seções de tecido roedor ou a linha 2 de células humanas derivadas de HeLa (HEp-2) que é colocada em interação com o plasma diluído do paciente.²⁸⁻³⁰. As células Hep-2 contêm antígenos de superfície, portanto, se o anticorpo estiver presente no plasma do paciente, um complexo antígeno-anticorpo se formará e marcará positivo para a coloração fluorescente; os padrões de fluorescência devem ser avaliados posteriormente.⁶.

3.4.3 Desempenho IFI para determinação da FAN

A técnica IFI de acordo com o ACR EULAR tem uma sensibilidade de 97,8%.¹⁷ e embora seja considerado o método padrão-ouro para determinação da FAN, há certos fatores que lançam dúvidas sobre seu desempenho.^{24,31}.

Em primeiro lugar, a sensibilidade desta técnica depende da diluição utilizada. Foi demonstrado que em diluições mais baixas, a sensibilidade é menor, enquanto se for utilizada a diluição proposta pela guia ACR/EULAR 1:80, a sensibilidade é maior.²⁴. Da mesma forma, descobriu-se que, ao utilizar títulos de diluição ≥ 3 IFI é altamente específico para determinar o FAN em pacientes com LES.³².

Foi demonstrado que a combinação de diluições como 1:80 e 1:160 aumenta a sensibilidade e especificidade da técnica; entretanto, os laboratórios às vezes, a fim de

economizar custos e tempo, não realizam a técnica com diluições diferentes, o que pode diminuir o desempenho do IFI ao relatar falsos negativos.³³

Além do título utilizado, existem diferentes kits IFI, e dependendo de qual deles for utilizado, o desempenho da técnica varia. Os kits utilizados nos EUA são dos laboratórios Bio-Rd e NovaLite, sendo o kit NovaLite mais sensível.³⁴ Em relação a essas diferenças nos kits, são necessárias iniciativas internacionais para gerar diretrizes estabelecidas que permitam padronizar os kits a serem utilizados para determinar a FAN, melhorando assim seu desempenho e, portanto, seu desempenho e propriedades.³⁵

Muitas vezes, métodos diferentes são usados para detectar FAN como IFI, ELISA, que não são relatados nos resultados de laboratório, gerando confusão; além disso, nem todos os centros usam a mesma diluição ou substrato, o que também não é relatado nos resultados; finalmente, os padrões de imunofluorescência também não são relatados³⁶. Em geral, os autores afirmam que há uma falta de uniformidade na determinação do FAN, o que pode distorcer o diagnóstico oportuno dos pacientes.³⁶

3.4.4 Desempenho das outras técnicas para determinar o FAN

Atualmente o imunoensaio multiplex baseado em esferas (MBA) e o imunoensaio de transferência linear (LIA) estão substituindo o IFI para a detecção de FAN, ambos demonstraram ter uma especificidade maior do que o IFI, mas uma sensibilidade menor, e ao comparar MBA e LIA, o MBA teve um melhor desempenho para a detecção de FAN. Isto demonstra que embora estes métodos possam ser utilizados, o IFI ainda é uma opção melhor devido a sua maior sensibilidade.³⁷

A ELISA, por outro lado, tem uma boa sensibilidade comparada à IFI, e ambas têm uma baixa especificidade.³⁸ Os ensaios FEIA e CIA têm similarmente alta especificidade, mas baixa sensibilidade, portanto, sugere-se que estas técnicas são de apoio ao diagnóstico das doenças do tecido conjuntivo, entretanto, um resultado IFI negativo é ainda mais sensível para excluir doenças do tecido conjuntivo como o LES.³⁸

3.5 LES COM FAN NEGATIVA

O LES com FAN negativo foi descrito pela primeira vez por Koller S et al. em 1976, definido como a ausência de anticorpos antinucleares por IFI em HEp-2 (10), ACR/ EULAR o define como a ausência de FAN detectada por IFI em uma diluição de 1:80 em HEp-2 ou determinada por outro método.¹⁷ Historicamente, foram descritos números variados para a frequência do FAN negativo do LES, com números variando de 4,9 a 22,3% de pacientes com

LES, com outros autores sugerindo uma frequência de 2% de pacientes com LES. ³¹outros autores sugerem uma frequência de 2%, dependendo da diluição e do método utilizado. ²⁴.

3.5.1 Causas do FAN negativo LES

A positividade do FAN depende de fatores como atividade da doença, tratamento com medicamentos imunomoduladores e proteinúria persistente, levando a danos renais e consequente perda renal de imunoglobulinas. ²⁵.

Os pacientes FAN negativos em um estudo de coorte de um total de 1.137 pacientes tinham 40,9 anos de idade, enquanto os pacientes FAN positivos tinham 34,7 anos; outro determinante da positividade do FAN é o índice de atividade da doença, os pacientes com menor atividade da doença calculados com a escala SLEIDAI-2K tinham maior probabilidade de serem FAN negativos. ²⁵.

Com relação às drogas, indivíduos com histórico de uso de glucocorticóides em altas doses têm maior probabilidade de ter FAN negativo. ²⁵Postula-se que o uso do glicocorticóide inibe a função imunológica e diminui a produção de anticorpos. ³⁹. Os pacientes com outros imunossupressores, tais como metotrexato, azatioprina, micofenolato, são menos propensos a serem FAN negativos, devido aos seus diferentes mecanismos de ação. ²⁵.

Dentro dos fatores do paciente, a proteinúria também pode determinar a negatividade de FAN. Foi demonstrado que pacientes com proteinúria de gamma nefrítica e hipoalbuminaemia são geralmente FAN negativos, devido a uma perda de imunoglobulinas renais. ^{34,39}. Finalmente, os pacientes com infecção grave também foram considerados mais propensos a serem FAN negativos, secundários à perda de células B e à produção anormal de imunoglobulina em pacientes com sepse. ³⁹.

É importante enfatizar que, além dos fatores dos pacientes, existem causas de negatividade de FAN que não estão relacionadas aos mesmos, mas estão relacionadas a fatores técnicos IFI como os kits e a diluição utilizada para a determinação de cada kit. ^{25,39}. Como mencionado acima, o uso de altas diluições como 1:160 melhora a especificidade do teste IFI, em várias ocasiões os pacientes estudados podem ser mal classificados devido à variação nas determinações de diluição e os diferentes métodos usados além do IFI. ³⁴.

Os kits ImmunoConcepts, Inova Diagnostics, Bio-Rad Kallestad que também são usados nos EUA mostraram uma frequência variável de FAN negativo, com a maior frequência de FAN negativo com o kit ImmunoConcepts, os outros dois tiveram uma frequência menor, mas moderada de FAN negativo, isto mostra que uma causa principal da negatividade de FAN é a falta de uniformidade dos kits IFI usados e a variação dos resultados que eles relatam. ⁴⁰.

Além da variação do kit, há variação na qualidade da lâmina utilizada no microscópio, bem como diferentes desempenhos e composição do substrato de imunofluorescência, o que, juntamente com a subjetividade da interpretação por parte do pessoal do laboratório, aumenta os erros diagnósticos.⁴¹ Foi encontrada uma concordância intermediária entre laboratórios, o que confirma que nem todos os estudos IFI são realizados uniformemente e, portanto, geram falsos negativos, o que é uma causa óbvia da taxa de população FAN negativa.⁴¹

3.6 NOVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA LES

Existem agora novos métodos que podem ser usados para pacientes de difícil diagnóstico.⁴² Um exemplo é o uso de um ensaio de painel multianalítico ou MAP composto de: EC4d eritrócito complementar e B-lymphocyte-bound complement (BC4d) mais lúpus e anticorpos não lúpus, este MAP é comercializado sob o nome AVISE na Europa e EXAGEN nos EUA, mostrando que um MAP positivo resulta em um aumento da confiança na definição do LES ou na exclusão do diagnóstico e permitiu que decisões apropriadas de tratamento fossem tomadas e, finalmente, um MAP positivo foi melhor do que usar anticorpos convencionais para excluir o diagnóstico.⁴²

A genética é um campo que está constantemente sob investigação e os genes têm sido analisados em relação ao LES que podem servir como biomarcadores ou como base para o tratamento do LES.⁴³ Dez biomarcadores de diagnóstico do LES potencialmente benéficos foram encontrados: IFI44, IFI44, EIF2AK2, IFIT3, IFITM3, ZIBP1, TRIM22 e PRIC285, que estavam intimamente relacionados à patogênese e ao desenvolvimento da doença, bem como à modulação imunológica.⁴³ sendo o IFI44 considerado o biomarcador ideal para pacientes difíceis de diagnosticar.⁴³

Como é conhecido, além do FAN, existem outros anticorpos que estão associados ao LES, sendo um exemplo os anticorpos anti-cmDNA, que demonstraram estar presentes em 52,9% das amostras negativas para anticorpos padrão (anti-dsDNA e/ou anti-Sm).⁴⁴ Devido à alta especificidade da detecção de anti-cmDNA, pode-se afirmar que é uma boa ferramenta de diagnóstico e pode servir como base para ampliar os anticorpos de triagem no LES e melhorar o diagnóstico em pacientes com anticorpos padrão negativos.⁴⁴

Tabela 2. Causas da negatividade de FAN

Causa FAN negativo	Base
Redução da atividade da doença, medida pela escala SLEIDAI-2K	Menos anticorpos circulantes
Idade do paciente	O aumento da probabilidade de ser FAN negativo em idades mais avançadas foi demonstrado.
História do uso do glicocorticóide	O uso do glicocorticóide inibe a função imunológica e diminui a produção de anticorpos.
Proteinúria de gama nefrítica e hipoalbuminaemia	Vazamento de imunoglobulina renal
Infecção/sepsia severa	Perda de células B e produção de imunoglobulinas anormais em pacientes
Diluição usada em IFI	As diluições baixas têm menor sensibilidade, resultando em negatividade de FAN.
Kits IFI	O desempenho do diagnóstico varia de acordo com o kit utilizado
Qualidade da lâmina utilizada no microscópio	Na ausência de padronização, esses fatores levam a uma alta taxa de falsos negativos.
Desempenho e composição diferentes do substrato de imunofluorescência	
Subjetividade da interpretação pelo pessoal do laboratório	

Fonte: Autor

4 CONCLUSÃO

Os critérios de classificação do ACR/EULAR 2019 LES, apesar de terem um bom desempenho, não se aplicam a todos os pacientes, pois embora IFI seja a técnica de escolha, ainda existem certas falhas no processamento de amostras que podem levar a falsos negativos; isto com os fatores do paciente como idade, proteinúria, infecções graves, uso de glicocorticóides ou baixa atividade da doença, pode levar à exclusão do LES em pacientes que têm a doença causando aumento de morbidade e mortalidade nos pacientes. Por este motivo, é essencial que o pessoal de saúde reconheça o FAN negativo LES como uma entidade clínica que ainda pode ser encontrada, portanto, os pacientes devem sempre ser analisados individualmente para que se possa chegar a um diagnóstico e gerenciamento oportunos que garantam uma melhor evolução e qualidade de vida para os pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Manson JJ, Isenberg DA. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Neth J Med*. 2003;61(11):343-6.
2. Calderón JMS, Rivera CMM, Rivera DMM, Idrovo CAI. Lupus eritematoso sistémico, manifestaciones clínicas, diagnóstico y tratamiento. *Anatomía Digit*. 2021;4(1):244-61.
3. Kariburyo F, Xie L, Sah J, Li N, Lofland JH. Real-world medication use and economic outcomes in incident systemic lupus erythematosus patients in the United States. *J Med Econ*. 2020;23(1):1-9.
4. Kunz M. Lupus erythematosus. Part I: epidemiology, genetics and immunology. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges*. 2013;11(8):709-20.
5. Scolnik M. Epidemiology of Lupus in Latin America. 2016;1(2):3.
6. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-26.
7. Soares C, Viana K, Moraes-Santos F, Vieira C, Lamarão F, Iglesias-Rodriguez M. PSY17 - Mortality Rate and Premature Mortality Due to Systemic Erythematosus Lupus (Sle) in Latin America, Us and England and Wales. *Value Health*. 2015;18(7):805-881.
8. Pons-Estel BA, Bonfa E, Soriano ER, Cardiel MH, Izcovich A, Popoff F, et al. First Latin American clinical practice guidelines for the treatment of systemic lupus erythematosus: Latin American Group for the Study of Lupus (GLADEL, Grupo Latino Americano de Estudio del Lupus)-Pan-American League of Associations of Rheumatology (PANLAR). *Ann Rheum Dis*. 2018;77(11):1549-57.
9. Jiang M, Near AM, Desta B, Wang X, Hammond ER. Disease and economic burden increase with systemic lupus erythematosus severity 1 year before and after diagnosis: a real-world cohort study, United States, 2004–2015. *Lupus Sci Med*. 2021;8(1):e000503.
10. Fortuna G, Brennan MT. Systemic Lupus Erythematosus: Epidemiology, Pathophysiology, Manifestations, and Management. *Dent Clin North Am*. 2013;57(4):631-55.
11. Gergianaki I, Bortoluzzi A, Bertias G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2018;32(2):188-205.
12. Ugarte-Gil MF, González LA, Alarcón GS. Lupus: the new epidemic. *Lupus*. 2019;28(9):1031-50.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. *Lupus*. 2004;13(11):829-37.
14. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25(11):1271-7.

15. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and Validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677-86.
16. Oku K, Atsumi T. Systemic lupus erythematosus: nothing stale her infinite variety. *Mod Rheumatol.* 2018;28(5):758-65.
17. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(9):1151-9.
18. Kiriakidou M, Ching CL. Systemic Lupus Erythematosus. *Ann Intern Med.* 2020;172(11):81-96.
19. Hartman EAR, van Royen-Kerkhof A, Jacobs JWG, Welsing PMJ, Fritsch-Stork RDE. Performance of the 2012 Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria versus the 1997 American College of Rheumatology classification criteria in adult and juvenile systemic lupus erythematosus. A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2018;17(3):316-22.
20. Selvananda S, Kan SL. Performance of the 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus in a multiethnic Malaysian cohort. *Int J Rheum Dis.* 2022;25(2):131-9.
21. Cheng S, Ding H, Xue H, Cao L. Evaluation of the 2019 EULAR/ACR classification criteria for systemic lupus erythematosus in children and adults. *Clin Rheumatol.* 2022;41(10):2995-3003.
22. Guavita-Navarro D, Gallego-Cardona L, Arredondo AM, Cubides H, Cajamarca-Barón J, Ibáñez C, et al. Comparison of the sensitivity of the EULAR / ACR 2019 and SLICC 2012 classification criteria in a Colombian population with systemic lupus erythematosus. *J Transl Autoimmun.* 2021;4.
23. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009;4 (1).
24. Leuchten N, Hoyer A, Brinks R, Schoels M, Schneider M, Smolen J, et al. Performance of Antinuclear Antibodies for Classifying Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Literature Review and Meta-Regression of Diagnostic Data. *Arthritis Care Res.* 2018;70(3):428-38.
25. Choi MY, Clarke AE, St Pierre Y, Hanly JG, Urowitz MB, Romero-Diaz J, et al. Antinuclear Antibody-Negative Systemic Lupus Erythematosus in an International Inception Cohort. *Arthritis Care Res.* 2019;71(7):893-902.
26. Novak S. Clinical significance of antinuclear antibodies and other serological abnormalities in systemic lupus erythematosus (SLE). *Reumatizam.* 2009;56(2):22-5.
27. Pisetsky DS. Antinuclear antibodies in rheumatic disease: a proposal for a function-based classification. *Scand J Immunol.* 2012;76(3):223-8.

28. Perez D, Gilburd B, Cabrera-Marante O, Martinez-Flores JA, Serrano M, Naranjo L, et al. Predictive autoimmunity using autoantibodies: screening for anti-nuclear antibodies. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(10):1771-7.
29. Pisetsky DS, Lipsky PE. New insights into the role of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(10):565-79.
30. Callado MRM, Barroso MN de A, Alves VM, Abreu MA de L, Muniz LMMM, Lima JRC. Antinuclear antibodies: two-step detection strategy. *Immunol Invest*. 2014;43(1):86-95.
31. Pisetsky DS, Bossuyt X, Meroni PL. ANA as an entry criterion for the classification of SLE. *Autoimmun Rev*. 2019;18(12):102400.
32. Li H, Zheng Y, Chen L, Lin S. High titers of antinuclear antibody and the presence of multiple autoantibodies are highly suggestive of systemic lupus erythematosus. *Sci Rep*. 2022;12(1).
33. Vasdev V, Patnaik SK, Bhakuni DS, Shanmuganandan K, Bhayana A, Mullick G, et al. Assessment of ideal serum dilution for screening of antinuclear antibodies by an indirect immunofluorescence method in diagnosis of autoimmune disorders. *Med J Armed Forces India*. 2022;78(1):54-60.
34. Choi MY, Clarke AE, Urowitz M, Hanly J, St-Pierre Y, Gordon C, et al. Longitudinal analysis of ANA in the Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) Inception Cohort. *Ann Rheum Dis*. 2022;81(8):1143-50.
35. Silva MJ, Dellavance A, Baldo DC, Rodrigues SH, Grecco M, Prado MS, et al. Interkit Reproducibility of the Indirect Immunofluorescence Assay on HEp-2 Cells Depends on the Immunofluorescence Reactivity Intensity and Pattern. *Front Immunol*. 2022;12.
36. Naides SJ, Genzen JR, Abel G, Bashleben C, Ansari MQ. Antinuclear Antibodies Testing Method Variability: A Survey of Participants in the College of American Pathologists' Proficiency Testing Program. *J Rheumatol*. 2020;47(12):1768-73.
37. Yuan W, Cao H, Li W, Wu X, Zheng J. Comparison study of bead-based and line-blot multiplex ANA immunoassays in the diagnosis of systemic autoimmune rheumatic diseases. *Clin Rheumatol*. 2022;41(3):899-909.
38. Orme ME, Andalucia C, Sjölander S, Bossuyt X. A hierarchical bivariate meta-analysis of diagnostic test accuracy to provide direct comparisons of immunoassays vs. indirect immunofluorescence for initial screening of connective tissue diseases. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(3):547-61.
39. Song LJ, Ding F, Liu HX, Shu Q, Yu X, Li J, et al. Analysis of 15 patients with systemic lupus erythematosus manifesting with negative immunofluorescence anti-nuclear antibodies after treatment. 2012;21(8):919-24.
40. Pisetsky DS, Spencer DM, Lipsky PE, Rovin BH. Assay variation in the detection of antinuclear antibodies in the sera of patients with established SLE. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(6):911-3.

41. Copple SS, Giles SR, Jaskowski TD, Gardiner AE, Wilson AM, Hill HR. Screening for IgG antinuclear autoantibodies by HEp-2 indirect fluorescent antibody assays and the need for standardization. *Am J Clin Pathol.* 2012;137(5):825-30.
42. Alexander RV, Rey DS, Conklin J, Domingues V, Ahmed M, Qureshi J, et al. A multianalyte assay panel with cell-bound complement activation products demonstrates clinical utility in systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2021;8(1).
43. Jiang Z, Shao M, Dai X, Pan Z, Liu D. Identification of Diagnostic Biomarkers in Systemic Lupus Erythematosus Based on Bioinformatics Analysis and Machine Learning. *Front Genet.* 2022;13.
44. Awang Kechik FNA, Abdullah M, Arip M, Hassan M, Mahayidin H. Clinical usefulness of anti-cell membrane DNA autoantibodies in serology negative systemic lupus erythematosus. *Malays J Pathol.* 2022;44(1):75-81.