

## Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi

### Determination of cut off level for screening titer of antinuclear antibody-hep-2 test (ANA)

Neval YURTTUTAN-UYAR<sup>1</sup>, Özge GÜNGÖR<sup>2</sup>, Mustafa SERTESER<sup>3</sup>, Işın AKYAR<sup>4</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** ANA sağlıklı kişilerde pozitif gözlenebilmekte ve dilüsyon titresi arttıkça sağlıklı kişilerde görülme sıklığı azalmaktadır. Son yıllarda, dünyada 1:160 tarama titresinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle CDC (ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü)'nun 1:160 titresini önermesinden sonra kullanımı artmıştır. Ülkemizde ise 1:100 tarama titresi kullanılmaktadır. Bu çalışmada amacımız; ülkemizde 1:160 tarama titresinin kullanımının uygunluğunu araştırmaktır.

**Yöntem:** Çalışmamıza; Acıbadem hastanelerine kan bağışi yapmak amacıyla Ocak - Şubat 2015 tarihleri arasında başvuran ve hazırlanan "Onam Formunu" onaylayan 200 sağlıklı kan dönörü ile birlikte aynı tarihlerde Acıbadem hastanelerinde oto immün hastalık tanısı yeni almış veya takipte olan ve söz konusu Formu onaylayan 200 hasta olmak üzere toplam 400 hasta katılmıştır. Donör ve hastalardan alınan serum numunelerinden ANA testi 1:100 ve 1:160 dilüsyonlarında çalışılmıştır. Donör ve hastalardan yapılan ANA Hep-2 testi sonucunda testin duyarlılık ve özgünlüğü hesaplanmıştır. Testin optimum cut-off değeri, ROC curve analizi ile belirlenmiştir.

#### ABSTRACT

**Objective:** It is important to choose the correct screening titer in immunofluorescent assay for ANA. Recently, the use of 1:160 titer became widespread in the world, particularly after the suggestion of CDC (Centers for Disease Control and Prevention) and WHO (World Health Organisation). In our country, 1:100 is the mostly used titer for screening as a cut off point. In this study, our aim was to investigate the convenience of suggested 1:160 screening titer for our country.

**Methods:** In order to donate blood 200 out of 400 patients who are healthy blood donors confirmed consent form and applied to between January and February 2015. The rest of the patients has been diagnosed or followed autoimmune rheumatic diseases for the first time and approved the form. ANA test which is taken from the serum samples of the donors and patients worked by 1:100 and 1:160. It was figured out the sensitivity and specificity of the ANA as a result of ANA Hep-2 test taken from by donors and patients. Besides cut-off values of the test was determined with ROC curve analyse.

<sup>1</sup>Acıbadem Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul

<sup>2</sup>Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul

<sup>3</sup>Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Neval YURTTUTAN-UYAR

Kerem Aydınlar Kampüsü Kayışdağı Cad. No: 32 Ataşehir İstanbul - Türkiye  
Tel : +90 530 614 31 81 E-posta / E-mail : nevaluyar@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.07.2016  
Kabul Tarihi / Accepted : 21.07.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.27870

Yurtutan-Uyar N, Güngör Ö, Serteser M, Akar I. Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 13-20

**Bulgular:** Antinükleer antikor Hep-2 pozitiflik sıklığı sağlıklı grupta %8 iken, hasta grupta %96 olarak bulunmuştur. Sağlıklı grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı; 1:100 titrede %44, 1:160'da %37, 1:320'de %13, 1:640'da %6 tespit edilmiştir. Sağlıklı grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımı ise yoğun ince benek (DFS70 benzeri) %56, benekli %25, nükleolar %12,5, sentromer %6,5 olarak belirlenmiştir. Hasta grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı ise 1:100 titrede %0,5, 1:160 titrede %3, 1:320'de %26, 1:640'da %25, 1:1280'de %34,5, 1:2560'da %8, 1:5120'de %3 olmuştur. Hasta grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımında; benekli %55, homojen %24, nükleolar %11, sentromer %5, nükleer nokta %3, nükleer membran %2 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamız sonucunda, sağlıklı grupta en fazla DFS70 paterni tespit edilmiş ve DFS70 paterni bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir. 1:100 tarama titresinde duyarlılık % 87,2 ve özgüllük % 67,7 tespit edilmişken; 1:160 tarama titresinde duyarlılık % 74 ve özgüllük % 85,8 olarak belirlenmiştir. 1:160 titrede özgüllük artarken, duyarlılığın azaldığı bulunmuştur. ROC curve analizi sonucunda önerilen optimum cut-off değeri 1:160 olarak tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Bu çalışmada; ANA testi ROC curve analizi sonucuna göre 1:160 tespit edilmiştir. ICAP' ın önerdiği tarama titresi ile uyumludur. Ancak daha geniş bir popülasyonu içeren bir grup ile çalışma önerilir.

**Anahtar Kelimeler:** ANA, 1:160, titre, IFA, IIF

**Results:** In healthy group the frequency of positivity is 8%, whereas in patients group it is 96%. In healthy group distribution of ANA titer positivity is: in 1:100 titer 44 %, in 1:160 37%, in 1:320 13% and in 1:640 6%. In healthy group in 1:160 distribution of ANA patern is: dense fine speck (dfs 70) 56%, speckled 25%, nucleolar 12,5%, centromere 6.5%. In patients' group distribution of ANA titer positivity is: in 1:100 0,5%, in 1:160 3%, in 1:320 26%, in 1:640 25%, in 1:280 34,5%, in 1:2560 8% and in 1:5120 3%. In patients group in 1:160 distribution of ANA patern is: speckled 55%, homogeneous 24%, nucleolar 11%, centromere 5%, nuclear dots 3% and nuclear membrane 2%. As a result of this study in healthy group, the most common patern is dense fine speck (dfs 70) and In patients' group is homogenous and speckled as expected. At 1:100 titer screening, sensitivity is 87,2 and specificity is 67,7 and At 1:160 titer screening, sensitivity is 74 and specificity is 85,8. According to ROC curve analysis 1:160 titer is detected.

**Conclusion:** In this study, the screening titer of 1:160 for ANA test was confirmed by ROC Curve analyse. The screening titer of 1:160, as proposed by ICAP. It has been proposed to study a large group including more population.

**Key Words:** ANA, 1:160, titre, IFA, IIF

## GİRİŞ

Sistemik otoimmün hastalıkların taranması amacıyla en sık kullanılan parametre anti-nükleer antikor (ANA) testidir (1, 2). Anti-nükleer antikorlar, hücre çekirdeğinde bulunan farklı antijenleri hedefleyen çok geniş bir oto antikor grubunu içermektedir. İnsan epidermoid larinks karsinom (HEp-2) hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen indirekt immünflorasan (IIF) yöntemi ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntemdir (3, 4). Bu yöntemle elde edilen sonuçların güvenilir olması hastalık tanısı açısından büyük önem taşımaktadır (1). ANA varlığı yanında sitoplazmada/mitotik hücrelerde bulunan yapılara karşı oluşabilen oto antikorların varlığı da belirlenebilmektedir. HEp-2 hücre serisinde nükleer antijenlerin anlamlı ölçüde bulunması tanı duyarlılığını artırmaktadır. Ancak bu duyarlılık artışı özgüllükte bir azalmayı da beraberinde getirmiştir. Çok sayıda sağlıklı kişi ve diğer hastalık tanısı olan kişilerde de ANA pozitifliği saptanması üzerine ANA pozitifliği için daha yüksek bir sınır değer kullanımı gündeme gelmiştir. Güncel kılavuzlar otoimmün sistemik hastalık tanısı için ANA sınır değeri olarak  $>1/160$  titreyi öngörmektedir (5, 6). Aynı zamanda HEp-2 hücreleri, her seride benzer özellikte olduğundan ANA saptanmasında diğer dokulara göre daha standart bir ortam sağlamaktadır. HEp-2 hücre serilerinde anti-ribosomal P protein antikorları (anti-Rib-P), anti-SS-A/Ro antikorları ve anti-Jo-1 antikorları genellikle düşük düzeyde eksprese olduğundan “yalancı negatif” sonuçlarla karşılaşılabilir (3, 5).

Pozitif ANA sonucunun tanı koydurucu rolü hastalıklara göre değişmektedir (4). Anti nükleer antikor, sistemik lupus eritematozus (SLE) tanısında yaklaşık %93 duyarlılık ve %57 özgüllük göstermektedir. Negatif ANA sonucu SLE’yi dışlamada çok değerlidir. Ancak ANA pozitifliği sağlıklı popülasyonda ve başka klinik durumlarda da görülebildiğinden pozitif sonuçların mutlaka klinikle birlikte yorumlanması gerekmektedir. Sağlıklı kontrollerde düşük titre (1/40-

1/80) ANA pozitifliği genel olarak %13-15 oranında görülmekle birlikte %40-45 oranlarının saptandığı uluslararası raporlarda bulunmaktadır. Özellikle kadınlarda yaşla birlikte ANA pozitifliği artmaktadır (2, 4).

Antinükleer antikor IIF çalışmasını etkileyen önemli parametrelerden biri de tarama dilüsyonudur. Her laboratuvarın %95 persentile dayalı kendi sınır değerini belirlemesi önerilmektedir. Ancak bu uygulama her laboratuvar için geçerli olamayabileceğinden, erişkinde önerilen tarama dilüsyonunun 1:160 olmasıdır (5, 6). Bu konuda ulusal verimiz çok az bulunduğu gözlenmektedir (7).

Antinükleer antikor tarama dilüsyonu ile ilgili olarak uluslararası literatürde; 1:160 önerilmekle birlikte ülkemizde yaygın olan uygulama 1:100 dilüsyonla tarama yapılmaktadır. Ulusal verilerimizin toplanması sonucunda 1/160 dilüsyonla ANA taraması yapılması konusunda kesin bir karara varılması beklenmektedir (5, 6, 8,9,10).

Tarama dilüsyonunun 1:160 olması, 1:100 ile taramaya göre düşük pozitif ANA sonuçlarının azalmasını sağlayacak ve dolayısıyla gereksiz refleks (monospesifik) test istemleri bir ölçüde önlenecektir. Düşük pozitif (1:100) ANA pozitiflikleri, ANA pozitif sonuçların yaklaşık %70-75’ini oluşturmaktadır. Bu sonuçlar bazı klinisyenler tarafından gereksiz olarak “ANA pozitif” olarak değerlendirilmekte, refleks test istenmekte ve hasta maliyetini yükseltmektedir (5, 6). Öte yandan bazı paternlerin yakalanması dilüsyon katsayısına bağlı olarak değişebilmektedir (5).

Bu çalışmanın amacı; ANA testinin popülasyonumuz için hem ekonomik hem de tıbbi olarak en uygun tarama titresi olup olmadığını araştırmak ve rutin ANA tarama testi değerlendirilmesi için ülkemizde sık kullanılmakta olan 1:100 titresine yada güncel kılavuzlarda önerilen 1:160 titresinin tercih edilmesine karar vermektir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza; Acıbadem hastanelerine kan bağışi yapmak amacıyla Ocak - Şubat 2015 tarihleri arasında başvuran ve hazırlanan “Onam Formunu” onaylayan 200 sağlıklı kan donörü dahil edilmiştir. Aynı zamanda aynı tarihler arasında Acıbadem hastanelerinde otoimmün hastalık tanısı yeni almış veya takipte olan ve hazırlanan “Onam Formunu” onaylayan 200 hasta daha katılmıştır. Tüm katılımcılar 18-35 yaşları arasındadır. Her iki grupta da kadın erkek oranı 5:1’dir.

Toplam 400 hastadan serum numunesi alınmış ve ANA testi çalışılmıştır. Antinükleer antikor testi çalışmasında Aesku (Almanya) ve Euroimmun (Almanya) iki farklı ticari kit kullanılmıştır. Bu iki kit ile çalışmadan önce verifikasyonları tamamlanmıştır. Verifikasyon çalışmaları iç/dış akreditasyon denetimlerinde kontrol edilmiştir. Ayrıca çalışmada kalibre edilmiş pipetler kullanılmıştır.

Mikroskopik değerlendirme ise aynı LED mikroskopu kullanılarak farklı iki kişi tarafından gerçekleştirilmiştir. Anti nükleer antikor IIF slaytlarında paternler; nükleer, sitoplazmik ve mitotik paternler olarak ayrı ayrı incelenmiş ve rapor edilmiştir. Sitoplazmik veya mitotik reaktivite olması durumunda ANA IIF test sonucu “pozitif” olarak bildirilmiştir. Aynı zamanda DFS (Dense Fine Speckled) paterni daha çok LEDGF/p75 (lens epithelium-derived growth factor p75) olarak da bilinen DFS70 antijenine karşı oluşan antikorlarda şüpheli pozitif olarak belirlenmiştir. Şüpheli pozitif DFS’likleri monospesifik doğrulama kiti ile doğrulanmamıştır.

Örnekler, 72 saatten daha uzun süre bekleyeceği için -20 C’de muhafaza edilmiş ve tekrar dondurulup çözümlene işlemi yapılmamıştır.

Her iki kit ile önce ANA testi 1:100 tarama titresinde çalışılmış ve pozitif tespit edilen örnekleri ileri seri dilüsyonlar (1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560 ve 1:5120) ile tekrar çalışılmıştır. Çalışmanın sonunda yine her iki kit ile önce ANA testi 1:160 tarama titresinde çalışılmış ve pozitif tespit edilen örneklerde ileri seri dilüsyonlar (1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560

ve 1:5120) yapılmıştır. Her çalışmaya kitlerin içinde çıkan pozitif ve negatif kontroller de dahil edilmiştir. Tarama çalışmalarından sonra yapılan seri dilüsyon çalışmalarında, kit kontrollere ek olarak sonucu sertifikalandırılmış bir dış kalite kontrol numunesi de seri dilüsyonlu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlardan testi duyarlılık ve özgünlükleri hesaplanmıştır. Testin optimum cut-off değeri, ROC analizi ile hesaplanmıştır.

## BULGULAR

Antinükleer antikor Hep-2 pozitiflik sıklığı sağlıklı grupta %8 iken, hasta grupta %96 olarak bulunmuştur. Sağlıklı grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı; 1:100 titrede %44, 1:160’da %37, 1:320’de %13, 1:640’da %6 tespit edilmiştir.

Sağlıklı grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımı ise yoğun ince benek (DFS70 benzeri) %56, benekli %25, nükleolar %12,5, sentromer %6,5 olarak belirlenmiştir.

Hasta grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı ise 1:100 titrede %0,5, 1:160 titrede %3, 1:320’de %26, 1:640’da %25, 1:1280’de %34,5, 1:2560’da %8, 1:5120’de %3 olmuştur.

Hasta grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımında; benekli %55, homojen %24, nükleolar %11, sentromer %5, nükleer nokta %3, nükleer membran %2 olarak tespit edilmiştir.

Sağlıklı grupta en fazla ANA pozitifliği, en düşük tarama titresinde gözlenmiş ve titre artıkça görülme yüzdesi azalmakta, 1:1280 ve üstü titrelerde hiç pozitiflik tespit edilmemiştir (Tablo 1). Hasta grupta ise bunun tam tersi bir dağılım belirlenmiştir. ANA pozitifliği en fazla 1:320, 1:640 ve 1:1280 titrelerinde gözlenirken; en az 1:100 ve 1:160 titrelerinde bulunmuştur.

Çalışmamız sonucunda, sağlıklı grupta en fazla DFS70 paterni tespit edilmiş ve DFS70 paterni bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (Tablo 2). Hasta grupta ise romatizmal hastalıklarla ilişkilendirilen homojen ve benekli patern sık görülmüştür.

**Tablo 1.** Sağlıklı ve hasta gruplarda ANA pozitif sonuçların titrelere göre dağılımı

ANA Titresi	Sağlıklı Grupta ANA Pozitiflik Yüzdesi	Hasta Grupta ANA Pozitiflik Yüzdesi
1:100	44	1
1:160	31	3
1:320	19	26
1:640	6	25
1:1280	-	34
1:2560	-	8
1:5120	-	3

**Tablo 2.** Sağlıklı ve hasta gruplarda ANA pozitif sonuçların paternlere göre dağılımı

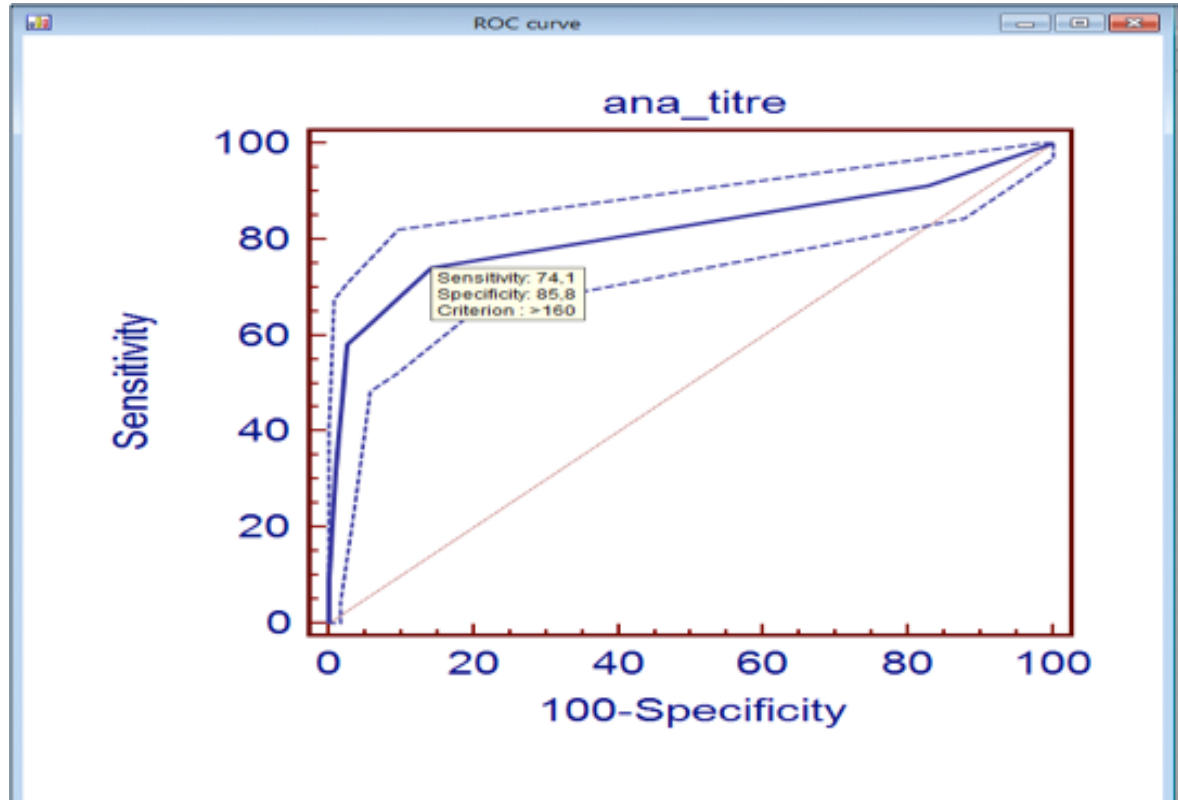
Paternler	Sağlıklı Grupta ANA Patern Dağılım Yüzdesi	Hasta Grupta ANA Patern Dağılım Yüzdesi
Yoğun ince benek (DFS70)	56	0
Benekli	25	55
Homojen	-	24
Nükleolar	12,5	11
Sentromer	6,5	5
Nükleer noktalar	-	3
Nükleer membran	-	2

1:100 tarama titresinde duyarlılık %87,2 ve özgüllük %67,7 tespit edilmişken; 1:160 tarama titresinde duyarlılık %74 ve özgüllük %85,8 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). 1:160 titrede özgüllük

artarken, duyarlılığın azaldığı bulunmuştur. ROC curve analizi sonucunda önerilen optimum cut-off değeri 1:160 olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).

Tablo 3. 1:100 ve 1:160 titrelerin duyarlılık ve özgüllük karşılaştırması

	1:100 Tarama Titresi	1:160 Tarama Titresi
Duyarlılık (%)	87,2	74
Özgüllük (%)	67,7	85,8



Şekil 1. ANA tarama testinin optimum tarama titresinin cut-off değeri

Mikroskop değerlendirmesi yapan iki kişi arasındaki fark; sadece iki hastada belirlenmiştir. Değerlendirme yapanlardan biri 1:100 tarama titresinde negatif olarak değerlendirirken diğeri pozitif olarak değerlendirmiştir. Biri homojen olarak değerlendirirken, diğeri ise DFS70 patern olarak raporlamıştır. Mikroskop değerlendirmesi yapan iki kişinin sonuçları uyumlu bulunmuştur (%99,5). Bu laboratuvar sonuçlarımızın devamlılığı için anlamlı bir veri olmuştur.

Sağlıklı grupta yapılan çalışmada kullanılan iki ticari kite ait sonuçlar arasında fark gözlenmezken, hasta grupta yapılan çalışmada ise iki hastada patern farklılığı bulunmuştur. Bir tane homojen benekli farklılığı ve bir tane benekli-nükleer membran farklılığı tespit edilmiştir.

## TARTIŞMA

HEp-2 hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen IIF yönteminin ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntem olduğu görülmektedir. HEp-2 hücre serisinde nükleer antijenlerin anlamlı ölçüde eksprese olması tanı duyarlılığını arttırmaktadır. Ancak bu duyarlılık artışı, özgüllükte bir azalmayı da beraberinde getirmektedir. Çok sayıda sağlıklı kişi ve diğer hastalık tanısı olan kişilerde de ANA pozitifliği saptanması üzerine ANA pozitifliği için daha yüksek bir sınır değer kullanımını gündeme getirmektedir (5, 6,9,10).

Çalışmamızda; ülkemizde ANA test için en uygun tarama titresi araştırılmış ve ROC Curve analizi ile 1:160 tarama titresinin uygun olduğu tespit edilmiştir. Böylece fazla refleks (monospesifik) test istemleri bir ölçüde önlenmiş olacaktır.

Hasta grupta %96 ANA pozitifliğinin %0,5'i sadece 1:100 titrede bulunurken, 1:160 %3 gözlenmiştir. Algoritmalara; son yıllarda hastanın klinik şikayeti olması durumunda ANA testi negatif iken refleks testlerinin istenmesi eklenmiştir. Bunun nedeni olarak HEp-2 hücre serilerinde; anti-Rib-P, anti-SS-A ve anti-Jo-1 genellikle düşük düzeyde eksprese olduğundan "yalancı negatif" sonuçlarla karşılaşılabilir (3, 5,9,10).

Çalışmamızda; sağlıklı grupta yüksek sentromer patern pozitifliği gözlenmiştir (%6,5). Çalışmamız sırasında bu grubun hiç bir klinik şikayeti olmamakla beraber, çalışma sonrası romatolojik takibe alınmıştır.

DFS70 paterni hasta grupta hiç gözlenmemişken, sağlıklı grupta en sık gözlenen patern olmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda; ROC Curve analizi ile 1:160 tarama titresinin uygun olduğu tespit edilmiştir. ICAP'ın önerdiği tarama titresi ülkemiz içinde uygundur ve laboratuvarlarımızda uygulanabilir. Ancak otoimmün romatizmal hastalık şüpheli bir kişi değerlendirilirken; hangi tarama titresi kullanırsa kullanılsın ANA antikorunun negatif olmasına rağmen kişinin hasta olabileceği dikkate alınmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Mahler M, Meroni PL, Bossuyt X, Fritzler MJ. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J Immunol Res*, 2014; 2014: 315179. doi: 10.1155/2014/315179, 1-18.
2. Op De Beeck K, Vermeersch P, Verschueren P, Westhovens R, Mariën G, Blockmans D, et al. Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence and by solid phase assay. *Autoimmun Rev*, 2011; 10 (12): 801-8. doi: 10.1016/j.autrev.2011.06.005.
3. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F, et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol*, 2002; 117 (2): 316-24.
4. Anonymous. ANA position statement. American College of Rheumatology, 08/2011.
5. Anonymous. Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberi; Otoantikörlerin Laboratuvar Tanısı rehberi. Ankara: KLİMUD, 2016.
6. Bizzaro N, Antico A, Platzgummer S, Tonutti E, Bassetti D, Pesente F, et al. Automated antinuclear immunofluorescence antibody screening: a comparative study of six computer-aided diagnostic systems. *Autoimmun Rev*, 2014; 13 (3): 292-8. doi: 10.1016/j.autrev.2013.10.015.
7. Kaklıkkaya N, Akıneden A, Topbaş M, Aydın F. Determination of anti-nuclear antibody seroprevalence in adult age groups in Trabzon Province. *Balkan Med J*, 2013; 30 (3): 343-4. doi: 10.5152/balkanmedj.2013.8125.
8. Kang I, Siperstein R, Quan T, Breitenstein ML. Utility of age, gender, ANA titer and pattern as predictors of anti-ENA and -dsDNA antibodies. *Clin Rheumatol*, 2004; 23 (6): 509-15.
9. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, Cruvinel WM, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, Torre IG, Herold M, Mimori T, Satoh M, Muhlen CA, Andrade LEC. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015 *Front. Immunol.*, 20 August 2015 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00412>
10. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, Cruvinel WM, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, Torre IG, Herold M, Mimori T, Satoh M, Muhlen CA, Andrade LEC. Report on the second International Consensus on ANA Pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015 *Lupus* (2016) 25, 797-804