

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO**



ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES POR INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA Y AGLUTINACIÓN CON PARTÍCULAS DE LÁTEX EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO ATENDIDOS EN EL HOSPITAL NACIONAL ROSALES DE MARZO A MAYO DE 2018.

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
LABORATORIO CLÍNICO**

PRESENTADO POR:

ROSARIO CONCEPCIÓN PÉREZ MONTOYA
VANESSA ARELY POLANCO RODRÍGUEZ
FÁTIMA GUADALUPE QUINTANILLA RECINOS

ASESOR:

LIC. JOSÉ ALBERTO ARGUETA

CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 2018

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Autoridades académicas

Rector

Msc. Roger Armando Arias

Vicerrector académico

Dr. Manuel de Jesús Joya

Vicerrector administrativo

Ing. Agr. Nelson Bernabé Granados Alvarado

FACULTAD DE MEDICINA

Decana

Dra. Maritza Mercedes Bonilla Dimas

Vicedecana

Licda. Nora Elizabeth Abrego de Amado

ESCUELA DE TECNOLOGIA MÉDICA

Directora

Licda. Dalile Ramos de Linares

LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO

Msp. Miriam Cecilia Recinos de Barrera

AGRADECIMIENTOS

Gratitud

Da sentido a nuestro pasado, trae paz para el día de hoy y crea una visión para el mañana.

Dedico de manera especial a mi madre María Rosario Pérez Montoya por ser el pilar que con sacrificio me apoyado en este largo camino, lleno de obstáculos, mas no imposible culminarlo con éxito, por regalarme la mayor de las herencias que pude haber recibido que es la educación. A mi hija Camila Valeria Morán Pérez que ha sido mi motor principal en los momentos más difícil del camino, mi motivo de luchar, seguir adelante y no rendirme. A mi familia en general por su motivación.

A una amiga muy especial, Sarai Abigail Mazariego por ser una persona llena de energía, su infinita amistad, su ayuda incondicional y estar a la disposición en los momentos indicados apoyándonos en el trayecto de este largo camino.

A licenciado Gilberto Nolasco por su disposición de ayudarnos con el trabajo de investigación, por su tiempo y no negarse a enseñarnos sin fines de lucro. Muchas gracias.

A mis compañeras y amigas por su amistad, por estar presente en esta etapa de mi vida, por estar en los momentos malos y los buenos llenos de experiencias únicas e irrepetibles y permitirme aprender algo nuevo cada día al lado de ellas. Muchas gracias.

Rosario Concepción Pérez Montoya

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios por fortalecer mi corazón en momentos de debilidad e iluminar mi mente para tomar decisiones correctas, por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y por haber puesto en mi camino a personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi madre **Raquel Rodriguez** por ser el pilar más importante de mi vida y por creer siempre en mí. Sin duda alguna en el trayecto de mi vida me demostró su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos. No hay palabras en este mundo para agradecerle todo su amor y aunque ya esté en el cielo, estaré eternamente agradecida por su apoyo incondicional.

A **Sarai Mazariego** por ser parte importante de mi vida, por su invaluable paciencia y apoyo incondicional cuando más lo necesite y porque siempre fue mi ayuda y fortaleza en cada momento de la vida motivándome a ser mejor cada día, espero que este triunfo te llene de orgullo.

A mis compañeras de tesis por formar un excelente equipo y lograr superar todos los obstáculos y llegar a la meta propuesta. Por último, pero no menos importante, agradezco a todos aquellos que contribuyeron a mi formación académica y que aportaron un granito de arena a fortalecer mis conocimientos.

Vanessa Arely Polanco Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

Hemos llegado a la última etapa de este gran sueño, compuesto de muchas experiencias vividas, momentos de alegrías, tristezas, desvelos, nerviosismo, pero todo enfocado bajo un mismo fin, el cual era llegar al final de este largo camino.

Sabemos que para poder superar cada obstáculo y caminar hacia delante, no lo hubiésemos podido lograrlo sin la ayuda de muchas personas que nos brindaron esa luz para guiar nuestro camino por eso le damos las gracias:

- A Dios misericordioso por darme la bendición, sabiduría e inteligencia de poder cumplir este sueño, por poner ángeles en mi camino que me guiaron en todo momento.
- A mi madre y mi padre que con mucho amor, sacrificio, paciencia y fe me han apoyado en todo momento, siendo mis principales entes de fuerza para llegar al final de esta meta.
- A mis trece hermanos, por apoyarme incondicionalmente en todo momento, por ser mis mayores ejemplos a seguir por demostrarme que la vida no es fácil que todos los sueños se pueden hacer realidad, todo y cuando nosotros lo queramos y luchemos por ellos y hacerme ver que en esta vida no hay nada imposible y que los límites solo están en nuestra mente.
- A mi querida amiga Saraí Mazariego por su amistad incondicional y ser un gran apoyo en la realización de esta investigación.

- Agradecimientos a nuestro co-asesor licenciado Nolasco por el apoyo que nos brindó en el trabajo de campo compartiendo su tiempo, conocimientos, experiencia su ayuda fue muy importante para esta investigación.
- A mis compañeras de grupo Vanesa Arely Polanco y Rosario Concepción Montoya, por ser grandes personas entregadas al trabajo, con dedicación, amor e inteligencia.
- Al Hospital Nacional Rosales por brindarnos la información necesaria para llevar a cabo el trabajo de investigación

Fátima Guadalupe Quintanilla Recinos

CONTENIDO

Introducción	
I Planteamiento del problema	10
II Justificación	13
III Objetivos	14
IV Marco teórico	15
4.1 Aspectos inmunológicos	
4.2 Lupus Eritematoso Sistémico	
4.3 Tipos de lupus	
4.4 Etiopatogenia	
4.5 Sintomatología	
4.6 Criterios de clasificación de lupus	
4.7 Factores	
4.8 Pruebas de laboratorio	
4.9 Diagnóstico	
V Diseño metodológico	37
5.1 Tipo de estudio	
5.2 Población	
5.3 Muestra	
5.4 Unidad de análisis	
5.4 Fuente y procedimientos de obtención de datos	
5.5 Consideraciones éticas	
5.6 plan de análisis de resultados	
VI Resultados	40
VII Discusión	43
VIII Conclusiones	47
IX Recomendaciones	48
Referencias	50
Anexos	53

INTRODUCCIÓN.

El lupus eritematoso sistémico (de aquí en adelante LES) es una enfermedad autoinmune multisistémica, debido a la producción de autoanticuerpos contra autoantígenos y a la formación de múltiples inmunocomplejos que median respuestas inflamatorias al depositarse en diversos órganos y tejidos, incluidos los riñones, el corazón, los pulmones, el cerebro, la sangre, las articulaciones y la piel, etc. Su expresión abarca desde manifestaciones relativamente leves, hasta cuadros clínicos grave.

El primero en describir la enfermedad es Pierre Louis Alphée Cazenave (1851). Según estimaciones, en Alemania acerca de 40.000 personas, sobre todo mujeres jóvenes en edad fértil, sufren LES. En Europa el lupus eritematoso sistémico se presenta con incidencia anual de entre 25 y 27 nuevos casos por 100.000 personas, mientras en la EE. UU. es mayor. La tasa de supervivencia de 5 años se sitúa en el 95%, mientras que la tasa de supervivencia de 10 años, en el 85%.

Hay diferentes pruebas de laboratorio que se realizan a pacientes con sospecha de LES, como pruebas hematológicas, químicas, serológicas, entre otras; estas en conjunto ayudan al diagnóstico. También hay una prueba no menos importante de anticuerpos antinucleares (ANA), que describe una variedad de anticuerpos que reacciona con los constituyentes de los núcleos celulares incluyendo DNA, ARN y varias proteínas y ribonucleoproteínas. Esta prueba puede ser realizada por diferentes métodos. Por tanto, el presente trabajo de investigación estuvo enfocado en un análisis

comparativo de la sensibilidad y especificidad entre la determinación de los métodos de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta y aglutinación con partículas de látex para el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Muchos de los principales trastornos reumatológicos son de naturaleza autoinmunitario, Por tanto, es esencial un conocimiento extenso de los mecanismos de respuesta inmunitaria para comprender estas enfermedades y sus hallazgos en el laboratorio clínico. Entre los padecimientos reumatológicos que tienen patologías inmunitarias se encuentran el lupus eritematoso sistémico.

El LES es una enfermedad inflamatoria de causa desconocida, caracterizadas por ciertos criterios clínicos que ayudan a guiar el diagnóstico como eritema malar, lupus discoidal, úlceras nasofaríngeas, serositis, artritis, afectación renal, afectación neuronal, alteraciones hematológicas y afectaciones inmunológicas que son determinadas por pruebas de laboratorio como ANA que determina anticuerpos antinucleares positivos y títulos elevados, en cualquier momento de la enfermedad.

La prevalencia de LES en la población general es de 20 a 150 casos por cada 100,000 habitantes dependiendo de la zona geográfica, el origen étnico, factores dependientes del sexo y la raza, influyen de modo notable en la mayor o menor incidencia de la enfermedad en diversos subgrupos. Así la prevalencia en mujeres caucásicas es de 164 por 100,000, frente a 406 por 100,000 en las mujeres afroamericanas. La incidencia del LES es 10 veces más alta en las mujeres que en los hombres, correspondiendo el 90 % de los casos a mujeres en edad reproductiva.

En El Salvador el número de personas registradas bajo control de un especialista en reumatología es limitado. Según datos de la asociación salvadoreña de reumatólogos

(ASR) en El Instituto Salvadoreño del Seguro Social (ISSS) hay un aproximado de 600 pacientes, mientras que en el Hospital Nacional Rosales hay alrededor de 350. El Hospital Nacional Zacamil registra un promedio de 150 casos.

Es una enfermedad en la que se presentan una serie de autoanticuerpos en más del 95% de los pacientes, pero su presencia es común en otras enfermedades como artritis reumatoide, esclerosis múltiple, esclerodermia, hipertiroidismo, hipotiroidismo, enfermedades autoinmunes de la piel y también pueden estar presentes en títulos bajos en población normal, por ello es preciso enfatizar que esta prueba no es confirmatoria por sí sola, pero si ayuda a guiar diagnóstico.

Tanto el método de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta como el método de aglutinación por partículas de látex son pruebas conocidas en el diagnóstico de LES, pero sin embargo se desconoce que método resulta más sensible y específico para guiar el diagnóstico de la enfermedad y así a partir de ello, poder disminuir el riesgo de obtener resultados falsos positivos y falsos negativos.

Por lo anterior expuesto se plantean las siguientes preguntas:

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta en pacientes diagnosticados con lupus eritematoso sistémico?

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba por aglutinación con partículas de látex en pacientes diagnosticados con lupus eritematoso sistémico?

¿Cuál es el grado de concordancia entre los resultados de ambas pruebas?

II. JUSTIFICACIÓN

Este proyecto de investigación se realizó porque permitió comparar la sensibilidad y especificidad entre los métodos de determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta y el método por aglutinación con partículas de látex, ambas pruebas son parte del pronóstico de lupus eritematoso sistémico, sin embargo, se consideró importante conocer el método más sensible y específico para asegurar un diagnóstico oportuno.

Durante estas dos últimas décadas, se han desarrollado pruebas sanguíneas más específicas que han permitido reconocer verdaderos casos de lupus, pero no es difícil imaginar que en los resultados de las pruebas se obtengan falsos positivos por reacciones con otras enfermedades y esto retrase el diagnóstico para un paciente, de ahí nace la importancia de realizar la presente investigación porque no se conoce el método más sensible y específico para LES.

El estudio planteado ayuda, entre otros aspectos, a proporcionar información que será útil para profesionales de la salud, que se interesen por proporcionar una prueba con más valor, para el diagnóstico de LES.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

- ❖ Realizar un análisis comparativo de la sensibilidad y especificidad entre los métodos de determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta y aglutinación con partículas de látex en pacientes con lupus eritematoso sistémico atendidos en el Hospital Nacional Rosales de marzo a junio de 2018.

Objetivos específicos

- ❖ Determinar la sensibilidad y especificidad del método de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia en pacientes diagnosticados con lupus eritematoso sistémico.
- ❖ Establecer la sensibilidad y especificidad de la prueba de aglutinación con partículas de látex en pacientes diagnosticados con lupus eritematoso sistémico.
- ❖ Determinar el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia y la prueba de aglutinación por partículas de látex.

IV. MARCO TEÓRICO.

Aspectos inmunológicos.

El responsable de mantenernos sanos y protegidos es el sistema inmunitario, ya que puede reconocer a millones de microbios diferentes y producir moléculas solubles y células específicas contra ellos. El sistema inmunitario tiene la enorme capacidad de distinguir entre las células del organismo y los componentes que no le son propios. Por lo tanto, si una molécula ajena al organismo es detectada por el sistema inmune, éste se lanzará al ataque de inmediato. No obstante que este sistema debe trabajar con la exactitud de la maquinaria de un reloj, la vigilancia inmunitaria puede fallar y entonces ataca a las células o tejidos del propio organismo, lo cual da lugar a diferentes daños, incluso la muerte (Leticia, 2015, 2-4).

Durante el siglo XX se pudo describir una serie de padecimientos muy distintos entre sí, pero que contaban con una característica en común: el daño tisular en todos ellos era ocasionado por la respuesta inmune. El conocimiento que se tenía entonces, especialmente a principios de siglo, relacionaba automáticamente a la respuesta inmune con mecanismos de protección. Los doctores Gell y Coombs propusieron la primera clasificación de los mecanismos inmunológicos de daño celular.

En su propuesta estos autores establecen la existencia de cuatro mecanismos inmunológicos de lesión que se resumen de la manera siguiente:

- Tipo I o hipersensibilidad inmediata. En este grupo se incluyen las enfermedades alérgicas como la rinitis alérgica, el asma bronquial, el choque anafiláctico, la urticaria, entre otras. El efector de la respuesta inmune que participa en el daño es la inmunoglobulina G o anticuerpo reagínico.
- Tipo II o hipersensibilidad citotóxica. En este mecanismo, los anticuerpos del isotipo inmunoglobulina G e inmunoglobulina M son los efectores responsables del daño. Un ejemplo clásico es la reacción a la transfusión de sangre incompatible en el sistema ABO de los eritrocitos humanos. En este tipo de transfusiones, los anticuerpos naturales reaccionan sobre la superficie de los eritrocitos y activan el sistema del complemento, con lo cual se produce lisis extensa e inmediata de los de los eritrocitos que puede incluso llegar a producir muerte.
- Tipo III o hipersensibilidad por complejos inmunes. Los anticuerpos responsables en este tipo de mecanismo son el isotipo inmunoglobulina G e inmunoglobulina M. en este caso, los antígenos pueden provenir de microorganismos (como bacterias, hongos, o virus), o bien, de antígenos propios (como el DNA en el caso de enfermedades autoinmunes como lupus, artritis reumatoide) o de enfermedades neoplásicas como pólipos adenomatoso familiar, leucemia mieloide y leucemia linfoblástica, linfoma folicular, etc. La estimulación continua del sistema inmune induce una respuesta de anticuerpos cuya concentración aumenta en la circulación.

A su encuentro con el antígeno, estos anticuerpos reaccionan formando complejos inmunes de diferente tamaño. Tras activarse el sistema del complemento se originan los fragmentos C3a y C5a, que son quimiotácticos y con efecto vasoactivo. Su presencia lleva a la acumulación de células de tipo polimorfonucleares en el sitio del depósito de esos complejos inmunes, lo que propicia la liberación de enzimas lisosomales, las cuales contribuyen al daño tisular. Por otro lado, estos mismos fragmentos tienen efecto de anafilotoxinas. La liberación de leucotrienos, prostaglandinas, serotonina, histamina y otros mediadores contribuye a potenciar o aumentar la inflamación tisular del sitio afectado.

- Tipo IV o hipersensibilidad celular o tardía. Este es el único mecanismo que es mediado por células y no por anticuerpos. El nombre de hipersensibilidad tardía indica que generalmente tarda de 24 a 72 horas para que se manifieste el daño después de que ha ocurrido la reacción entre el antígeno y los linfocitos sensibilizados. El ejemplo clásico es la respuesta de una persona sensibilizada con *Mycobacterium tuberculosis* a la inyección intradérmica o prueba de la tuberculina, de manera semejante en otras enfermedades infecciosas crónicas producidas por bacterias intracelulares como *Nocardia brasiliensis*, *Salmonella typhi*, *Brucella abortus*, etc. También algunos hongos son capaces de inducir una respuesta de este tipo (Mario, 2010, 136-146).

LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.

El nombre de lupus es de origen incierto, proviene del latín lupus que significa lobo, ya que las lesiones en el rostro de la gente afectada por el lupus recuerdan una mordedura de lobo. Fue hasta 1981 que se le denominó lupus eritematoso sistémico (LES). El lupus se presenta en edades que van de 15 a 40 años durante los picos de fertilidad, por lo que los estrógenos, hormonas sexuales femeninas, se consideran como un factor clave en el desarrollo del lupus. Los factores ambientales pueden disparar el lupus. Por ejemplo, la luz solar, que exacerba la enfermedad induciendo entre otros factores, la inflamación y alteraciones a nivel renal en algunos pacientes. La prescripción de ciertas drogas, en donde se incluyen medicamentos para el corazón y antipsicóticos, pueden causar efectos lupídicos. Los virus y bacterias pueden afectar al sistema inmunológico haciéndolo más susceptible a su desregulación (Sergio, H. 2004,173-180).

Esta enfermedad fue reconocida por primera vez en la Edad Media por la descripción de sus manifestaciones dermatológicas. El término lupus se atribuye al médico Rogerius (siglo XII), que lo utilizó para describir el eritema malar clásico. El período neoclásico se anunció con el reconocimiento que hizo Móric Kaposi, en 1872, de la manifestación sistémica de la enfermedad y el moderno descubrimiento en 1948, de las células del lupus eritematoso células LE(aunque el uso de estas células como indicadores de diagnóstico se ha abandonado en gran parte) y se caracterizó por los avances en el conocimiento de la fisiología patológica y de las características clínicas y de laboratorio de la enfermedad, así como por los progresos en el tratamiento.

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmune de curso crónico, de causa desconocida y tiene numerosas manifestaciones clínicas y multisistémicas debido a la producción de autoanticuerpos contra autoantígenos y a la formación de múltiples inmunocomplejos que median respuestas inflamatorias al depositarse en diversos órganos y tejidos, incluidos los riñones, el corazón, los pulmones, el cerebro, la sangre, las articulaciones y la piel, etc. (Witjal, 2017, 1-18).

TIPOS DE LUPUS.

Lupus eritematoso cutáneo subagudo. Recientemente algunas formas de lupus denominadas seronegativas, han despertado gran interés clínico por su asociación con los anticuerpos anti-Ro. Tal es el caso de una variante fotosensible que fue descrita por Sontheimer y Gilliam. Las lesiones clínicas están constituidas por lesiones policíclicas, eritematoescamosas no cicatriciales con características e histología similar a la del LES. La distribución de éstas ocurre principalmente en áreas expuestas al sol, especialmente en la parte superior del tórax, dorso de brazos, antebrazos, cuello y, en ocasiones, existen lesiones en la cara, piel cabelluda y extremidades inferiores. La característica serológica del lupus eritematoso cutáneo subagudo es la presencia de anticuerpos anti-Ro en un 60% y en un 36% anti-La. Algunos pacientes pueden desarrollar en forma concomitante síntomas de disminución de las secreciones hasta en un 44%. Sin embargo, el dato clínico más relevante es la fotosensibilidad, cuyas lesiones inclusive pueden ser inducidas por exposición a la radiación ultravioleta.

La fracción ultravioleta-B penetra la epidermis y es absorbida en la parte superior de la dermis, en tanto que la irradiación ultravioleta-A penetra hasta lo más profundo de la dermis. A las moléculas responsables de absorber la luz se les denomina cromóforos. La melanina es el principal cromóforo, el cual absorbe longitudes de onda que van desde 350 a 1200 nm. La luz absorbida puede producir cambios químicos en un proceso que se llama fotoquímica y al rango de longitud de onda con suficiente energía para causar estos cambios se le denomina espectro de absorción.

Lupus neonatal. Es una enfermedad rara debida al paso transplacentario de anticuerpos antinucleares con especificidad Ro y/o La, de una madre con lupus al producto; de tal forma que el infante neonatal presenta lesiones cutáneas transitorias de lupus eritematoso cutáneo subagudo (SCLE) y en ocasiones también presenta bloqueo cardíaco congénito (BCC). En relación al BCC, se presenta durante la vida intrauterina y puede ser detectado desde la 16^a y 24^a semana de gestación, pero con frecuencia es irreversible. Histológicamente se presenta una fibrosis del sistema de conducción y en ocasiones el nodo aurículo-ventricular se calcifica. Aún con este recurso, el 10% de los recién nacidos afectados no responde al tratamiento y muere de insuficiencia cardíaca. (Ábida, 2011, 15-17).

Lupus eritematoso discoide. Se presenta en todas las razas. A diferencia del LES, es más común en mujeres mayores de 40 años de edad y tiene una evolución crónica e insidiosa, constituye una lesión crónica, consistente en placas eritematosas con descamación, que se localizan en piel cabelluda, orejas, cara y cuello.

Los pacientes con LES y lesiones discoides habitualmente tienen baja incidencia de complicaciones renales. Los exámenes de laboratorio generalmente son negativos. Sin embargo, algunas formas diseminadas pueden cursar con anemia hemolítica y/o trombocitopenia discretas, aun cuando también se pueden presentar leucopenia y/o linfopenia, hipergammaglobulinemia, y crioglobulinas y anticuerpos anti-nucleares a títulos bajos. Los depósitos inmunes a nivel de unión dermoepidérmica (“banda lúpica”), solamente se observan en biopsias de piel enferma. Dado que la exposición a la fracción ultravioleta (UV) de la luz solar incrementa las lesiones, es indispensable usar filtros o protectores solares y evitar los medicamentos y/o sustancias fotosensibilizantes (Sergio H. 2004,173-180).

Lupus eritematoso sistémico. Es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos y un infiltrado linfocitario en las lesiones de piel, riñón y otros órganos. Y en sangre periférica se han detectado linfocitos que median la producción de autoanticuerpos. Ambos podrían ser considerados factores patogénicos en la generación de las lesiones. El depósito de complejos inmunes DNA/anti-DNA en el endotelio glomerular parece jugar un papel de gran importancia en la inducción de glomerulonefritis, donde también se ha destacado la participación del complemento, citocinas y sustancias proinflamatorias en el daño a los glomérulos. En relación a los factores ambientales, se ha demostrado que la exposición a la luz solar desencadena o agrava las lesiones cutáneas en el LES, ya que éstas se presentan habitualmente en zonas expuestas al sol. La fracción ultravioleta de 290-320 nm (ultravioleta-B) induce daño al DNA de las células epidérmicas, con la probable expresión de antígenos

ocultos, que en presencia de autoanticuerpos inducen la formación de complejos inmunes in situ. Algunos de éstos quedan atrapados en la unión dermoepidérmica, observándose por inmunofluorescencia la banda lúpica característica, donde también pueden detectarse cuerpos citoides en dermis papilar, de IgG, IgM, C3 y fibrinógeno en biopsias de piel. De tal forma que la participación cutánea en el lupus es muy frecuente y las lesiones pueden ser agudas o crónicas. La lesión aguda más representativa es el eritema en alas de mariposa que corresponde a lesiones en región malar y dorso de la nariz, además de otras áreas expuestas al sol, como el cuello y los brazos. Las lesiones crónicas, son llamadas discoides y en la mayoría de los casos, representan la forma cutánea del padecimiento (Sergio H. 2004, 173-180).

ETIOPATOGENIA.

La etiología del lupus eritematoso sistémico es desconocida; sin embargo, se sabe que existe una producción variable de autoanticuerpos que, unida a factores genéticos y ambientales pueden estar implicados en su patogenia. Es probable que diferentes agentes patogénicos y etiológicos estén implicados, de ahí la heterogeneidad clínica y de laboratorio que presentan los pacientes con LES. Los factores patogénicos más invocados son los autoanticuerpos, las células B y T, los factores genéticos, hormonales y ambientales y la apoptosis. La producción de autoanticuerpos es un rasgo característico de los pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Estos anticuerpos pueden ser una pieza clave en la patogenia, una consecuencia del daño tisular o bien la huella de un agente etiológico desconocido; sin embargo, no todos

los anticuerpos son patogénicos, los que tienen capacidad para causar lesión tisular son del tipo IgG y con alta afinidad por el ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) bicatenario, que es un proceso además dependiente de la interacción entre las células B y las células T colaboradoras CD4+.

En los pacientes con LES se ha descrito la presencia de células T específicas para un autoantígeno con capacidad para inducir la producción de autoanticuerpos. Existe una mayor prevalencia de la enfermedad en familiares de pacientes que en la población normal y una mayor incidencia de alelos comunes que en un grupo control.

Se ha descrito una asociación de la enfermedad con antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus siglas en inglés): HLA-B8, HLADR3. Se ha registrado una baja incidencia de aparición de la enfermedad antes de la menarquía o después de la menopausia, pero se ha observado un aumento de agudizaciones durante el embarazo y el puerperio o asociadas al uso de anticonceptivos orales. En pacientes con LES se ha descrito una forma soluble de la proteína Fas alterada en la que falta el dominio transmembrana. La participación de agentes externos como agentes inductores puede ser importante; juegan un papel fundamental la luz ultravioleta y el virus, sobre todo los rotavirus, así como el uso de determinados fármacos como la hidralacina, la procainamida, la isoniacida, la metildopa y la clorpromacina, entre otros (Jacob, 2011,2-11).

SÍNTOMATOLOGÍA.

El patrón de afectación más frecuente es una combinación de síntomas constitucionales, junto a la afectación cutánea, musculoesquelética, hematológica y serológica, con presencia de autoanticuerpos. Sin embargo, no es infrecuente que predomine la afectación de un órgano, en especial el riñón o el sistema nervioso central. Usualmente, el patrón que domina durante los primeros años de enfermedad es el que predomina a lo largo de la evolución (Cervera, 2009, 869-874).

Los síntomas constitucionales, incluyendo la astenia, la fiebre y la pérdida de peso, están presentes en prácticamente todos los enfermos en algún momento de la evolución. La astenia es el síntoma más frecuente, y no se correlaciona directamente con otros parámetros de actividad de la enfermedad. La fiebre merece una consideración especial, ya que puede ser debida al LES (hasta en el 50% de los pacientes), pero siempre se debe descartar la posibilidad de que sea de origen infeccioso o secundaria a fármacos (Cleanthous, 2012, 465-476).

Criterios para la clasificación del lupus eritematoso sistémico SLICC- 2012):

Eritema malar: eritema fino, plano o elevado, sobre la eminencia malar que respeta los surcos nasolabiales (en alas de mariposa). **lupus cutáneo agudo.**

Criterio clínico: rash malar, lupus bulloso, necrolisis epidérmica lúpica, rash maculopapular, rash de fotosensibilidad (en ausencia de fotosensibilidad, lupus subagudo).

Fotosensibilidad: rash cutáneo resultante de una reacción anormal a la luz solar, según historia clínica o examen físico.

Lupus discoide: placas eritematosas elevadas, con queratosis periférica y taponamiento folicular que dejan cicatrices atróficas.

Criterio clínico: rash discorde, lupus hipertrófico, paniculitis lúpica, afectación mucosa, lupus tumidus, overlap lupus discorde/ liquen plano.

Úlceras orales o nasofaríngeas: generalmente indoloras, observadas por un médico.

Criterio clínico: úlceras nasales, orales, palatinas, en la lengua.

Artritis: no erosiva que afecta a 2 o más articulaciones periféricas caracterizada por dolor, tumefacción o derrame.

Criterio clínico: sinovitis que afecta a 2 o más articulaciones, o dolor en 2 o más articulaciones y al menos 30 minutos de rigidez.

Serositis: pleuritis: dolor pleurítico, roce pleural o evidencia de derrame pleural.

Pericarditis: confirmada por electrocardiograma, roce o derrame pericárdico.

Criterio clínico: Dolor pleurítico, roce pleural o evidencia de derrame pleural o dolor pericárdico típico, derrame pericárdico, roce o pericarditis confirmada por ecocardiograma, en ausencia de otras causas.

Afectación renal: proteinuria persistente mayor de 0.5 gramos en orina de 24 horas.

Cilindros celulares: integrados por hematíes o hemoglobina, o de tipo granular.

Afectación neurológica: convulsiones o psicosis en ausencia de otras causas (fármacos o alteraciones metabólicas). **Neurológico. Criterio clínico:** convulsiones, psicosis, mononeuritis múltiple, mielitis, neuropatía craneal o estado confusional agudo, en ausencia de otras causas.

Alteraciones hematológicas:

Anemia hemolítica.

Criterio inmunológico: anemia hemolítica;

Leucopenia < 4.000/mm³ en al menos 2 determinaciones.

Criterio inmunológico: < 4.000/mm³ en al menos 1 determinación;

Linfopenia < 1.500/mm³ en al menos 2 determinaciones.

Criterio inmunológico: < 1.000/mm³ al menos 1 determinación;

Trombocitopenia < 100.000 plaquetas/mm³ en ausencia de fármacos inductores.

Criterio inmunológico: < 100.000.

Alteraciones inmunológicas:

Anticuerpos anti-ADN positivos a títulos elevados. **Anti-ADNAd.**

Criterio inmunológico: Niveles de anti-ADNd por encima del nivel de referencia o 2 veces el nivel de referencia si la determinación es con ELISA.

Anticuerpos anti-Sm positivos. **Anti-Sm. Criterio inmunológico:** Presencia de anti-Sm.

Anticuerpos antifosfolípidos: Anticuerpos anticardiolipina, anticoagulante lúpico, VDRL falsamente positivo mayor que 6 meses confirmada por la prueba de inmovilización del *T. pallidum* o de la absorción del anticuerpo treponémico por inmunofluorescencia.

Criterios inmunológicos:

-Antifosfolípido: Anticoagulante lúpico positivo, test falso positivo para RPR (reaginina plasmática rápida); título medio o alto para anticardiolipina o anti- β 2 glucoproteína I.

-Complemento bajo: C3, C4 bajos O CH50 bajo.

-Coombs directo: Coombs directo positivo en ausencia de anemia hemolítica.

Anticuerpos antinucleares: Positivos a títulos elevados, en cualquier momento de la enfermedad, en ausencia de fármacos que induzcan lupus. **Criterio inmunológico:** ANA por encima del nivel de referencia (A. Pérez, 2013, 1-11).

FACTORES.

Factores genéticos. Desde el punto de vista genético es probable que LES resulte de los efectos de cierto número de genes que actúan de forma adictiva.

Sin embargo, un individuo podría tener todas las variantes génicas posiblemente requeridas para desarrollar la enfermedad y aun así no hacerlo.

Factores inmunológicos. El potencial patogénico de los complejos inmunitarios depende del anticuerpo, el carácter del antígeno, la capacidad de los elementos inmunitarios para sufrir solubilización por el complemento o unirse a eritrocito y la capacidad de depuración del sistema de fagocitos mononuclear, además de otros factores, los pacientes con lupus también elaboran anticuerpos contra los antígenos de la superficie celular. Los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas recubiertos con tales anticuerpos son eliminados por la circulación a través de receptores en los macrófagos del sistema retículo-endotelial, mediante citotoxicosis mediada por complemento o citotoxicosis celular dependiente de anticuerpo, que produce anemia, leucopenia y trombocitopenia.

Factores ambientales. Entre estos cabe destacar, en primer lugar, los patógenos microbianos y en particular, los virus. La mayoría de los pacientes con LES tienen fotosensibilidad, lo que sugiere una participación de los rayos ultravioleta en la etiopatía de la enfermedad.

Se considera que las lesiones cutáneas tienen origen multi factorial. La luz ultravioleta: daña el DNA, aumenta la fijación de anti-Ro, anti-La y anti-RPN a los queratinocitos activados por la luz ultravioleta, altera el metabolismo de los fosfolípidos de la membrana celular, aumenta la liberación de IL-1 a partir de los queratinocitos cutáneos y las células de Langerhans y afecta las células T supresoras.

Factores hormonales. Se considera que los estrógenos desempeñan un papel importante en la etiología de esta enfermedad. Esto se desprende de las siguientes consideraciones: mayor incidencia femenina, disminución del predominio del sexo femenino en las épocas en que no existen unas concentraciones de estrógenos elevadas, es decir, antes de la menarquía y en la posmenopausia, agudización de la enfermedad en el puerperio o con la administración de anticonceptivos orales, los pacientes varones con síndrome de Klinefelter (genotipo XXY) y LES mantiene un perfil hormonal similar al de las mujeres con la enfermedad. (Ábida, 2011, 15-17).

PRUEBAS DE LABORATORIO.

En relación con las pruebas de laboratorio, la leuco-linfopenia y la trombopenia son hallazgos frecuentes. La velocidad de sedimentación globular (VSG) puede estar elevada (secundariamente a hipergammaglobulinemia o a la presencia de anemia), pero la proteína C reactiva (PCR) no suele presentar elevaciones muy significativas; de hecho, niveles muy elevados pueden indicar la presencia de infección, que como en otros pacientes inmunocomprometidos puede ser menos sintomática y más difícil de diagnosticar que en los inmunocompetentes. Otras pruebas diagnósticas que se deben incluir en la evaluación inicial son: análisis elemental de orina con sedimento (detección de hematuria, leucocitaria y presencia de nitritos, proteínas y cilindros), muestra de orina de 24 horas para la determinación de la proteinuria y del aclaramiento de creatinina, radiografía de tórax y un ecocardiograma basal (de utilidad para estimar la presión arterial pulmonar y descartar la presencia de lesiones valvulares). La presencia de anticuerpos es el dato más característico del LES (A. Pérez, 2013,1-11).

Anticuerpos antinucleares (ANA).

Los anticuerpos antinucleares (de aquí en adelante ANA) son inmunoglobulinas que se unen a epitopes (sitios específicos) de moléculas de ADN ARN unidas o no a proteínas, o bien solo a proteínas individuales, de localización nuclear, nucleolar y/o citoplasmica. Los determinantes antigénicos, por tanto, pueden corresponder a componentes de la cromatina, a partículas de ribonucleoproteínas (RPN) o a proteínas no asociadas con el ADN o el ARN. Todos estos componentes son “dianas” potenciales en las enfermedades autoinmunes. En la actualidad los ANA son utiles clínicamente como marcadores de enfermedades autoinmunes. Su presencia o ausencia influye en la seguridad del diagnóstico; sin embargo, la relación entre autoanticuerpos y las manifestaciones clínicas es, en muchos casos, confusa.

Aunque la presencia de ANA es una de las características importantes de esta enfermedad, en aproximadamente un 5% de los pacientes lúpicos no se detectan estos anticuerpos en ningún momento de su evolución. Los estudios más amplios de pacientes con LES indican que los pacientes sin ANA presentan con más frecuencia lesiones cutáneas discoide (Front, 2003, 3-13).

ANA por aglutinación con partículas de látex.

la aglutinación de partículas cubiertas por antígenos a través de anticuerpos reactivos es uno de los ensayos inmunológicos de mayor reconocimiento desde mucho tiempo. Aun cuando su realización es muy sencilla, todos los ensayos de aglutinación cuentan con la limitación de únicamente ser semicuantitativos.

Las pruebas de aglutinación que buscan la presencia de un anticuerpo depende de la disponibilidad de al menos una partícula que se encuentre cubierta por un antígeno apropiado. En las pruebas de aglutinación con látex. Las partículas de látex se cubren ya sea con un antígeno o un anticuerpo definido. (Parslow, 2002, 247-254).

Con el desarrollo de las nuevas tecnologías se ha podido identificar un gran número de autoanticuerpos, inicialmente descritos como marcadores de diferentes enfermedades autoinmunes y posteriormente utilizados para estudiar y caracterizar diferentes moléculas esenciales para la función y el crecimiento celular.

Desde el punto de vista del diagnóstico, los autoanticuerpos más importantes por identificar son los anticuerpos antinucleares (ANA), puesto que la prueba resulta positiva en más del 90% de las pacientes, casi siempre al principio de los síntomas. (Parslow, 2002, 247-254).

ANA por inmunofluorescencia indirecta.

La inmunofluorescencia es una técnica de inmunomarcación que hace uso de anticuerpos unidos químicamente a una sustancia fluorescente para demostrar la presencia de una determinada molécula.

La inmunofluorescencia secundaria, o indirecta (también conocida por sus siglas IFI) hace uso de dos anticuerpos; el anticuerpo primario es el que reconoce y se une a la molécula diana, mientras que el secundario que es el que se encuentra marcado con el fluoróforo, reconoce al primario y se une a él. Esta técnica es un poco más compleja que la IFD, requiere más pasos y es más posible que sufra interferencias, pero en contrapartida es mucho más flexible que una técnica directa y debido a que es posible que un anticuerpo primario una a más de un anticuerpo secundario, implica un efecto de amplificación que también aumenta la sensibilidad de la técnica. Esta técnica es posible, debido a que los anticuerpos constan de dos partes, una región variable (que es la que reconoce al antígeno) y una región constante (que es la reconocida por el anticuerpo secundario).

Es posible que existan varios anticuerpos que reconozcan diferentes antígenos (es decir que tengan diferentes regiones variables) pero que compartan la misma región constante. Todos estos anticuerpos con diferentes especificidades pueden ser reconocidos a su vez por un único anticuerpo secundario que reconozca la región constante. Esto ahorra el esfuerzo técnico y el costo de modificar cada uno de los anticuerpos primarios para acarrear el fluoróforo. (Javier,2010).

Patrones de ANA detectados mediante inmunofluorescencia indirecta.

A continuación, se describen las características de los patrones que con mayor frecuencia se detectan por IFI en células HEp-2 en sueros de pacientes con enfermedades autoinmunes (Javier,2010).

Patrón homogéneo: se caracteriza por una tinción homogénea en el núcleo, cuya intensidad puede variar dependiendo de la concentración de los anticuerpos presentes en el suero. La placa de la cromatina en células en división puede estar teñida de manera compacta, delineada o difusa y los nucléolos pueden o no estar teñidos.

Patrón periférico: se caracteriza por tinción regular alrededor del núcleo; el centro de este patrón muestra menos tinción. La placa de la cromatina se tiñe de forma delineada o compacta

Patrón moteado fino: este se caracteriza por tinción del núcleo con gránulos finos o gruesos, los nucléolos no se tiñen, así como tampoco se tiñe la placa de la cromatina en células en división. Esta definición de los patrones moteado grueso y fino es más fácil de entender e interpretar. Además, tiene sustento en la diferencia de reactividades que muestran los sueros que dan los patrones.

Los patrones de ANA que se observan con mayor frecuencia son los moteados, tanto fino como grueso. La descripción de estos patrones ha generado confusión, en el sentido de que varios autores definen el patrón moteado grueso como aquel en el que

el núcleo se observa teñido con gránulos gruesos y el patrón moteado fino lo definen como núcleo teñido con gránulos finos. No hay problema cuando los gránulos son muy gruesos o muy finos, en puntos intermedios la interpretación es subjetiva. Nuestra propuesta es que el patrón moteado grueso se debe definir como tinción en el núcleo con gránulos finos o gruesos, los nucléolos están teñidos y la placa de la cromatina en células en división no se tiñe, es decir, no hay reconocimiento de los componentes de la cromatina.

Patrón centromérico: tiene como características que los núcleos se tiñen con puntos finos distribuidos de manera homogénea en el nucleoplasma de las células en interfase. La tinción en las células en división muestra un punteado fino localizado en la placa de la cromatina.

Patrón nucleolar: tiene como característica una tinción intensa de los nucleolos. La placa de la cromatina en las células en división se tiñe de manera difusa debido a reactividad cruzada de los anticuerpos dirigidos contra los RNA nucleolares con el ADN de la cromatina.

Patrón de la lámina nuclear o laminar: es aquel en el que se observa tinción concentrada alrededor del núcleo y no se extiende hacia el citoplasma. A diferencia del patrón periférico, la placa de la cromatina en las células en división es negativa.

Patrón centriolar: se identifica por la tinción intensa de los centriolos en células en división. Las estructuras teñidas se pueden identificar desde la fase G2, donde se ven dos puntos muy juntos, y en metafase, donde se localizan en los polos de la célula. Cuando se tiñen los centriolos, los filamentos del huso acromático y las células en interfase tienen un patrón moteado fino. El patrón se define como NuMA-1 (del inglés, nuclear mitotic apparatus). La tinción de los centriolos y del huso mitótico sin tinción del nucleoplasma en células en interfase se define como NuMA-2 (Javier, 2010).

Patrones citoplásmicos: identificados en células HEp-2, se describen a continuación los más frecuentes. El patrón citoplásmico se define como tinción homogénea que cubre todo el citoplasma. El patrón mitocondrial se caracteriza por una tinción granular en hileras punteadas que rodean al núcleo y se extienden hacia el citoplasma sin cubrirlo por completo (Javier, 2010)

Existe un predominio del Sexo femenino en un 94% y un rango de edad entre 18 y 78 años con una media de 38 años. La artralgia y pérdida de peso son las manifestaciones más comunes 44 y 62 respectivamente. Solo un 59% de los pacientes cumplía con criterios de lupus eritematosos sistémico. La prueba de anticuerpo antinuclear es la más frecuentemente alterada en un 82%. (Zúñiga, 2012, 11-17).

DIAGNÓSTICO.

Si un médico general, médico familiar o no especialista sospecha o diagnostica un Lupus Eritematoso Sistémico, debe derivarlo al reumatólogo o especialista (Ministerio,

2013,9-12). El reumatólogo debería constituirse como el médico tratante o de cabecera del paciente con LES; debe confirmar el diagnóstico, evaluar la actividad y severidad de la enfermedad, realizar plan terapéutico, coordinar con otros especialistas y hacer el seguimiento del paciente (Ministerio, 2013,9-12).

V. DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Experimental, sincrónica, prospectiva y analítica.

Población: La población estuvo constituida por el total de pacientes confirmados con lupus eritematoso sistémico en el Hospital Nacional Rosales durante los meses de marzo a junio del año 2018.

Muestra: La muestra se obtuvo a través de un muestreo por conveniencia, considerando el orden de llegada de las muestras de sangre al laboratorio hasta completar un número de 100 pacientes.

Unidad de análisis:

Expedientes clínicos y muestras de suero de pacientes con LES los cuales fueron procesados mediante técnicas de laboratorio.

Criterios de inclusión

- ❖ Pacientes referidos por diagnósticos de LES, por la especialidad de reumatología.
- ❖ Pacientes que consulten en los meses de marzo a junio
- ❖ Mayores de 12 años
- ❖ Pacientes que cumplen los criterios clínicos para el diagnóstico de LES

Criterios de exclusión

- ❖ Pacientes con estudio incompleto, que aún no se haya confirmado diagnóstico.
- ❖ Pacientes menores de 12 años.

Fuente y procedimientos de obtención de datos

Los datos de la investigación se obtuvieron de los expedientes clínicos en donde se verifico que los pacientes tuvieran un diagnóstico de LES. Así mismo también se recopiló información de los resultados obtenidos con las pruebas realizadas a pacientes con LES en el área de serología de dicho Hospital, previo a la autorización de la Dirección y el Departamento de investigación y el comité de ética del Hospital Nacional Rosales.

Para los procedimientos técnicos se emplearon 2 métodos, el primero es la determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta con el **kit de Innova Diagnostics (NOVA lite HEp-2)**, (Ver anexo 3) el cual consta de 50 pruebas, este consiste en la determinación semicuantitativa de anticuerpos antinucleares utilizando suero humano.

En este método, las muestras en estudio se incuban con un sustrato y posteriormente se lavan para eliminar los anticuerpos que no han reaccionado, luego se incuban nuevamente con un conjugado específico marcado con fluoresceína; al final se realiza otro lavado para eliminar el reactivo que no se ha enlazado. Cuando se observa al microscopio de fluorescencia, las muestras positivas para autoanticuerpos mostrarán

una fluorescencia de color verde manzana en las áreas de la célula o del núcleo donde se ha enlazado el autoanticuerpo.

El segundo método es la determinación de anticuerpos antinucleares por aglutinación con partículas de látex con el kit de **SLE látex test de HUMAN**, (Ver anexo 4) el cual costa de 50 pruebas y al igual que la prueba anterior nos proporciona un dato semicuantitativo el cual nos permitirá comparar ambos métodos.

Consideraciones éticas

El presente informe de investigación fue sometido a evaluación por el comité local de ética del Hospital Nacional Rosales a fin de verificar su apego a las consideraciones bioéticas que existen a nivel nacional e internacional para los estudios de investigación en salud. Así mismo no se realizó consentimiento informado ya que solo se utilizaron fuentes documentales de expedientes clínicos y pruebas de laboratorio. Además, se respetaron los principios de confidencialidad ya que las historias clínicas fueron procesadas de acuerdo a un registro numérico para proteger su identidad y la información obtenida fue utilizada estricta y exclusivamente para los fines del estudio.

VI. RESULTADOS

Tabla N° 1

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA ANA POR AGLUTINACIÓN CON PARTÍCULAS DE LÁTEX			
	LES	NO LES	TOTAL
POSITIVO	14	3	17
NEGATIVO	2	81	83
TOTAL	16	84	100

Fuentes: Pruebas de laboratorio y expedientes clínicos del HNR

Sensibilidad: $\frac{14}{14+2} \times 100 = 87\%$

Especificidad: $\frac{81}{81+3} \times 100 = 96\%$

Análisis: La **tabla N° 1** nos muestra que la prueba anticuerpos antinucleares por aglutinación con partículas de látex presentó una sensibilidad del 87% y una especificidad 96 %.

Tabla N° 2

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA ANA POR INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA			
	LES	NO LES	TOTAL
POSITIVO	15	53	68
NEGATIVO	1	31	32
TOTAL	16	84	100

Fuentes: Pruebas de laboratorio y expedientes clínicos del HNR

Sensibilidad: $\frac{15}{15+1} \times 100 = 94 \%$

Especificidad: $\frac{31}{31+53} \times 100 = 37 \%$

Análisis: La tabla N° 2 nos muestra que la prueba anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta presentó una sensibilidad del 94% y una especificidad 37% demostrando ser una prueba con una mayor probabilidad de dar reacciones cruzadas con otras enfermedades autoinmunes.

Tabla N° 3
ÍNDICE DE CONCORDANCIA DE KAPPA DE COHEN

	AGLUTINACIÓN CON PARTÍCULAS DE LÁTEX		
IFI	Positivo	negativo	<u>TOTAL</u>
positivo	15	53	68
negativo	1	31	32
<u>TOTAL</u>	16	84	100

Fuentes: Pruebas de laboratorio y expedientes clínicos del HNR

$$pCo = 0.46$$

$$pCe A = 10.88$$

$$pCe D = 26.88$$

$$Pe = 0.38$$

$$pCo - pCe = 0.08$$

Fórmula:

$$K = \frac{0.08}{0.38} = 0.21 = \mathbf{21\%}$$

Análisis: El análisis de la concordancia de los resultados emitidos por ambos métodos mediante el índice de Kappa resultó en un valor de 0.21 (21%) lo que según la escala de valores indica un índice de concordancia bajo.

VII. DISCUSIÓN

En nuestro país, según investigaciones científicas realizadas por la asociación de reumatólogos de El Salvador, existen más de 3,000 casos atendidos por enfermedades reumáticas y de estos aproximadamente 242 han sido confirmados como Lupus Eritematoso Sistémico, de los cuales el 90% de los casos son del sexo femenino.

En la mayoría de casos, la falta de recursos y la similitud en las manifestaciones clínicas de estas enfermedades reumáticas tales como artritis reumatoide, esclerosis múltiple, hipertiroidismo, hipotiroidismo hacen que el diagnóstico para LES sea aún más difícil, esto obliga a buscar alternativas de diagnóstico viables desde el punto de vista técnico y económico. Así, basados en que existe esta reacción cruzada, surge la idea de utilizar técnicas innovadoras como la Inmunofluorescencia Indirecta para el diagnóstico de LES.

Es por esta razón que el presente informe realizó un análisis de la sensibilidad y especificidad de la prueba de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta considerada como una prueba innovadora y vanguardista, comparada con una prueba de aglutinación con partículas de látex considerada como una prueba convencional.

El estudio se realizó en el Hospital Nacional Rosales con un total de 100 pacientes, un porcentaje de ellos con diagnóstico de LES que nos ayudaron a establecer la sensibilidad de dichas pruebas y otro porcentaje con pacientes negativos a lupus que nos ayudaron a determinar la especificidad de dichas pruebas.

Para la validación interna de cada tiraje se utilizaron sueros comerciales de cada kit tanto positivos como negativos y para su validación externa se utilizó un pool de suero de pacientes confirmados con diagnóstico de LES

Una vez procesados los sueros de pacientes, los datos obtenidos fueron tabulados en tablas simples 2 x 2 con el fin de organizar la información para su posterior análisis.

En el cuadro N° 1 se muestran los sueros procesados por el método de aglutinación con partículas de látex el cual muestra que de 16 pacientes verdaderos positivos 2 de ellos se presentaron como falsos negativos.

En base a estos datos se calculó la sensibilidad y especificidad de dicha prueba, los cuales, demuestran que este método tiene un 87% de sensibilidad y un 96% de especificidad.

Comparando esta investigación con datos de Human Diagnostics que reporta un valor de especificidad del 98% cuando se empleó el test de aglutinación, concuerda con el nivel de especificidad del 96% definido en el presente estudio.

En el cuadro N° 2 se muestran los resultados de sueros procesados por el método de Inmunofluorescencia indirecta el cual muestra que, de 68 sueros positivos para LES, 53 de estos son falsos positivos.

En base a estos datos se calculó la sensibilidad y especificidad de dicha prueba, los cuales, demuestran que este método tiene un 94% de sensibilidad, pero un 37% de especificidad. Haciendo evidente la reacción cruzada con otras enfermedades autoinmunes.

Por último, para determinar el grado de correlación entre los resultados de las pruebas de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia y la prueba de aglutinación por partículas de látex se utilizó el índice de concordancia de Kappa de Cohen, ya que este es un recurso estadístico útil cuando se trata de medir el grado de concordancia entre varios métodos diagnósticos.

Los valores de kappa varían de 0 a 1. Mientras más alto sea el valor de kappa, más fuerte será la concordancia. En este sentido, cuando se dice que:

- Kappa = 0.76 (concordancia alta)
- Kappa = 0.51 a 0.75 (concordancia media alta)
- Kappa = 0.26 a 0.50 (concordancia media baja)
- Kappa = 0 \geq 0.25 (concordancia baja)

El análisis de correlación de los resultados de la prueba ANA por el método de aglutinación con partículas de látex frente al perfil IFI indica que es de nivel bajo, con un índice de kappa de 21%

En la tabla N° 3 se muestra que de 68 muestras positivas por la técnica de IFI, 53 de ellas dieron falso positivo; y de 32 muestras negativas para la técnica de látex 1 de ellas dio falso positivo por método de IFI.

Con los resultados del presente estudio se demuestra que la técnica de aglutinación por partículas de látex, por tener una alta especificidad puede ser considerada como prueba de tamizaje, debiéndose acompañar con una prueba de mayor sensibilidad como IFI. El valor que tiene la técnica de IFI radica en la presencia de un determinado patrón fluorescente que puede orientar al médico hacia una enfermedad autoinmune más específica.

VIII. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en el presente informe, bajo la interpretación del análisis de los resultados podemos concluir lo siguiente:

- La prueba de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta presentó una sensibilidad del 94% y una especificidad del 37%.
- La prueba de anticuerpos antinucleares por el método de aglutinación con partículas de látex presentó una sensibilidad del 87% y una especificidad del 96%.
- La prueba de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta y aglutinación con partículas de látex presentan una correlación del 21%, lo cual indica que no existe concordancia ya que ambas pruebas difieren en su sensibilidad y especificidad.

IX. RECOMENDACIONES

Al Ministerio de Salud Pública:

Mejorar la vigilancia epidemiológica de los casos que se presenten.

Equipar los hospitales de tercer nivel con instrumentos e insumos de trabajo modernos y más eficientes que ayuden a brindar resultados de calidad, garantizando el diagnóstico oportuno del paciente, así como la implementación de capacitaciones para los profesionales de la salud.

A los profesionales de laboratorio clínico:

Reforzar los conocimientos teóricos y prácticos con respecto a las pruebas que se realizan, con énfasis en las pruebas inmunológicas, para garantizar resultados confiables y de calidad que apoyen al médico especialista en el diagnóstico, ya que la evolución de la enfermedad cada vez representa un reto en su identificación.

Al médico especialista:

Capacitar a otros médicos no especializados que puedan contribuir en la identificación de las sintomatologías que presente el paciente en conjunto de los resultados de laboratorio, para el tratamiento oportuno.

A las enfermeras:

Realizar la adecuada recolección de la muestra del paciente y que esté debidamente identificado, para evitar cualquier confusión con la información del paciente.

A los pacientes:

Acudir a un centro de salud ante cualquier anomalía en su salud, que no se auto medicen, ya que pueden empeorar y agravar su estado de salud.

Acatar cualquier indicación médica y cumplir con sus exámenes de laboratorio que permitan el diagnóstico ante cualquier enfermedad e intervenir a tiempo.

A la Universidad de El Salvador:

Capacitar mejor a los estudiantes, brindándoles información actualizada, organizando congresos sobre los métodos de laboratorio encaminados en la inmunología y la genética, para formar profesionales competentes con los nuevos retos en el sector de salud.

A los estudiantes:

Continuar el presente estudio con una población mayor, así mismo encaminar la investigación en la concientización de la importancia de contar con mayores y mejores recursos de trabajo en el laboratorio clínico que ayuden al pronóstico, diagnóstico y tratamiento al paciente con LES u otras enfermedades autoinmunes.

REFERENCIAS.

- Ábida S. Flores, Fernando J. Sánchez. 2011. Comparación de sensibilidad entre los métodos de anticuerpos antinucleares por aglutinación con látex y células LE en pacientes diagnosticados con Lupus Eritematoso Sistémico atendidos en el hospital Zacamil de enero a junio de 2011. Pág., 15-17.
- Pérez Gómez, L. Ruiz Gutiérrez, H. Moruno Cruz, A.I. Sánchez Atrio y E. Cuende Quintana. 2013. Lupus eritematoso sistémico (I). Servicio de Enfermedades del Sistema Inmune. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. España. 1-11.
- Argueta J. Alberto. 2017. Metodología de la investigación. Guía para abordar los problemas de salud. Ciudad universitaria, El salvador. Material mimeografiado. Pág. 45-67.
- Cervera R, Khamashta MA, Hughes GRV. 2009. The Euro-lupus project: epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe. *Lupus.*; 18(10).869-874.
- Cleanthous S, Tyagi M, Isenberg DA, Newman SP.(2012). What do we know about self-reported fatigue in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 21(5). 465-476.
- Dr. Witjal Manuel Bermúdez Marrero, Dra. Yanelis Vizcaino Luna, Dr. William Alejandro Bermúdez Marrero. Lupus eritematoso sistémico. [Http://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2017/mec171n.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2017/mec171n.pdf)
Artículo de revisión. *Acta Médica del Centro / Vol. 11 No.1. 2017. 1-18.*

- Front, J. Espinosa, G. Cervera, R. E. Ingelmo, M. Enfermedades sistémicas autoinmunes. lupus eritematoso sistémico
<http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/65/1491/57/1v65n1491a13052760pdf001.pdf>. Artículo de revisión. 2003. 3-13.
- Jacob and Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3239336/pdf/ar3349.pdf>. *Arthritis Research & Therapy* 13. 2011, 228. 2-11.
- Javier Cabiedes; Carlos A. Nuñez-Alvarez. Anticuerpos Antinucleares. Laboratorio de Inmunología, departamento de inmunología y reumatología, instituto nacional de ciencias médicas y nutrición salvador zubiran.
<http://www.reumatologiaclinica.org/es/anticuerposantinucleares/articulo/S1699258X09002435/> México D.F. 2010.
- Leticia Cedillo Barrón, Moisés López González y Benito Gutiérrez Castañeda. 2015. Que es y cómo funciona el sistema inmune.
http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/66_2/PDF/Sistema_Inmune.pdf. Ciencia. 2-4.
- Mario Cesar, Salinas Carmona. 2010. La inmunología en la salud y la enfermedad. Primera edición editorial Medica Panamericana. Capitulo 12. 136-146.
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. 2013. Lupus Eritematoso Sistémico. Guía de Práctica Clínica (Adopción LES chilena). www.salud.gob.ec Quito: Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Normalización-MSP. 9-12.
- Parslow, Tristram G.; Stites, Daniel P.; Terr, Abba I. E. Imboden, John B. 2002. Inmunología básica y clínica. Decimá edición. México, D.F. Editorial El Manual moderno. 247-254.
- Sergio h. Sánchez-Rodríguez, Gerardo E. Barajas-vásquez, Elena D. Ramírez-Alvarado, Alejandra Moreno-García, Olga Y. Barbosa-Cisneros. (2004). Lupus

Eritematoso: enfermedad autoinmune sistémica y órganos específicos.
[Http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2004/bio043e.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2004/bio043e.pdf). Rev. Biomed
15.173-180.

- Zúñiga J, Yau A, Lalyre A, Arjona G. Manifestaciones clínicas en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico. Hospital Santo Tomás. Panamá, Enero 2008- Diciembre 2010. Rev méd cient. 2012; volumen 25(1):11-17.
http://www.revistamedicocientifica.org/index.php/rmc/article/viewFile/340/pdf_37

ANEXO 1**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA PRUEBA DE ANA POR
AGLUTINACIÓN CON PARTÍCULAS DE LÁTEX.****Numero correlativo:** _____**Edad del paciente:** _____**Sexo del paciente:** F M **Establecimiento de salud procedente:**
_____**Diagnóstico del paciente:**
_____**Resultado de la prueba:** _____

ANEXO 2**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA PRUEBA DE ANA POR
INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.****Numero correlativo:** _____**Edad del paciente:** _____**Sexo del paciente:** F M **Establecimiento de salud procedente:**
_____**Diagnóstico del paciente:**
_____**Resultado de la prueba:** _____

ANEXO 3

SLE LATEX TEST

Prueba en lámina de aglutinación en látex para la detección de anticuerpos antinucleicos asociados con el lupus eritematoso sistémico (LES)

Presentación del estuche

REF	40031	20 Determinaciones	Estuche completo
	40030	50 Determinaciones	Estuche completo

IVD

Uso previsto

El lupus eritematoso sistémico (LES) se clasifica como el prototipo de una enfermedad autoinmune severa, involucrando una gran variedad de tejidos y asociado con una gran variedad de anticuerpos en la circulación. En LES, en la mayoría de los casos, se detectan anticuerpos anti-nucleicos (ANA) que se dirijan contra la desoxirribonucleoproteína (DNP) y diferentes otros componentes nucleares extraíbles^{1,2}, así como contra el ácido desoxirribonucleico nativo (n-DNA). Los órganos más afectados son, en orden decreciente: articulaciones, piel, riñones, sistema nervioso central, corazón y pulmones.

Los ANA pueden ser del tipo IgG, IgM o IgA y se detectan en el 95% de los pacientes con LES activo no tratado. Como se indica en las notas, los ANA no son totalmente específicos a LES^{1,2} pero en los enfermedades mencionadas, los títulos son mucho más bajos que en el LES^{3,4}.

Los anticuerpos hacia DNP que se detectan con la prueba HUMAN son los ANA más frecuentes en el LES. Se detectaron en más del 90% de los pacientes con LES⁷. El ensayo se destina al uso profesional y debe efectuarse solamente por personal de laboratorio formado.

Principio

El SLE LATEX TEST provee un medio de detección de anti-DNP en suero humano. El reactivo de látex LES es una suspensión tamponada estabilizada de partículas de látex de poliestireno que se recubieron de DNP. Cuando el reactivo de látex se mezcla con el suero que contiene anticuerpos hacia DNP se produce una aglutinación. Empleando diluciones de la muestra reactiva del paciente, el título anti-DNP puede determinarse.

Contenido, reactivos, composición

LR	20 o 50 Reactivo de látex LES (tapa blanca) Suspensión de partículas de látex de poliestireno, recubiertas de desoxirribonucleoproteína (timo de ternero). Azida de sodio	0,095 %
PC	0,5 ml Control positivo (tapa roja) Control líquido, listo para usar con anticuerpos hacia desoxirribonucleoproteína (humana) suficiente para desarrollar una aglutinación. Azida de sodio	0,095 %
NC	1,0 ml Control negativo (tapa verde) Control líquido, listo para usar, no reactivo con LR . Azida de sodio	0,095 %

1 Lámina con 6 áreas

Estabilidad

LR, **PC** y **NC** son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se almacenan a 2...8°C.

¡No congele los reactivos!

Muestras

Utilice suero fresco.

Almacenaje hasta 48 horas a 2...8°C.

Procedimiento

Lleve **LR**, **PC**, **NC** y los sueros a temperatura ambiente y mezcle el reactivo de látex suavemente antes de realizar el ensayo. No caliente los reactivos en un baño de agua.

A. Determinación cualitativa

Coloque en áreas separados de la lámina.			
	Suero	PC	NC
Suero	30 µl	---	---
PC	---	1 gota	---
NC	---	---	1 gota
LR	1 gota	1 gota	1 gota

Mezcle con diferentes palillos y esparza el fluido sobre toda la superficie de las áreas.

Suavemente incline y rote la lámina por un (1) minuto y verifique si se produce aglutinación.

B. Determinación semicuantitativa

Diluya 250 µl de muestra con 250 µl de NaCl (9 g/l) (Dilución no. 1) y proceda de acuerdo al siguiente esquema:

Dil. no.	1	2	3	4	5	6
Transfiera		250 µl 1	250 µl 2	250 µl 3	250 µl 4	250 µl 5
NaCl		250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
Título	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64

Continue la prueba como se describe en A empleando cada dilución como muestra.

Interpretación, control de calidad

A. Determinación cualitativa

PC y **NC** deben absolutamente analizarse con cada serie y compararse con las muestras para distinguir una posible granulación de una aglutinación.

La prueba se considera negativa cuando no se observa ninguna diferencia en la aglutinación entre la muestra y **NC**.

PC y sueros positivos deben demostrar una aglutinación distinta dentro de 1 minuto.

Una aglutinación indica la presencia de anticuerpos anti-nucleicos (específicamente anti-DNP) en un nivel que se encuentra normalmente en pacientes con LES.

B. Determinación semicuantitativa

El título de anticuerpos anti-nucleicos (anti-DNP) corresponde al valor recíproco de la dilución la más alta que muestra un resultado positivo.

Características de la ejecución

Las características de la ejecución de esta prueba pueden consultarse en el informe de verificación, accesible vía:

www.human.de/data/gb/vr/lx-sle.pdf

www.human-de.com/data/gb/vr/lx-sle.pdf

Si no puede acceder a las características de la ejecución vía internet, póngase en contacto con su distribuidor local quien se las proporcionará sin costo alguno.

Notas

- El suero de pacientes con escleroderma, artritis reumatoide, dermatomiositis y una variedad de enfermedades del tejido conectivo puede dar aglutinación en la prueba LES en lámina.^{3,4}
- Un cambio del título en muestras serieles del mismo paciente no debe corresponder a un cambio del estado de la enfermedad.
- Utilice láminas limpias y secas previamente enjuagadas con agua destilada.
- LR**, **PC** y **NC** contienen azida de sodio como agente preservante (0,095%). No ingiera. Evite el contacto con la piel y membranas mucosas.
- Todos los reactivos de origen humano han sido probados para HBsAg y anticuerpos de VHC y VIH y se encontraron ser no reactivos. Sin embargo, a pesar de estos resultados negativos, deben tratarse como material potencialmente infeccioso.
- Como es el caso en todos los métodos diagnósticos, el diagnóstico final no debe hacerse con los resultados de la prueba únicamente, sino debe basarse en la correlación de los resultados con otros hallazgos clínicos.

Literatura

- Hahn B.H., In: Clinical Immunology (Parker, C.W. ed.), Philadelphia, PA: Saunders W.B. Co. 1, Chapter 19 (1980)
- Reichlin M., In: Principles of Immunological Diagnosis in Medicine (F. Migrom et al., ed.), Philadelphia, PA: Lea & Febiger, Chapter 55 (1981)
- Blomgren, S.E., Semin. Hematol. 10, 345 (1973)
- Rothfield N.F., In: Manual of Clinical Immunology (Rose, N.R. and Friedman, H. ed.), American Society for Microbiology, Washington, DC., Chapter 85 (1976)
- Nakamura R.M., Lab. Med. 6, 11 (1975)
- Notman D. D. et al., Ann. Int. Med. 83, 464-469 (1975)
- Miescher P.A. and Riethmuller, D., Semin. Hematol. 2:1, 1-28 (1965)

LX-SLE INF 4003001 E 06-2016-23



Human

ANEXO 4

PROCEDIMIENTO PARA ANA POR INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

Muestra requerida: Suero

No deben utilizarse muestras contaminadas, tratadas por calor o que contengan partículas visibles. Deben asimismo evitarse las muestras lipémicas o hemolizadas. Tras la recolección de las muestras de sangre, el suero debe ser separado del coágulo.

En la técnica de inmunofluorescencia indirecta, las muestras se incuban con un sustrato de antígenos y posteriormente se lavan para eliminar los anticuerpos que no han reaccionado. El sustrato se incubaba con un conjugado específico marcado con fluoresceína y posteriormente se lava para eliminar el reactivo que no se ha enlazado. Cuando se observan a través de un microscopio de fluorescencia, las muestras positivas para autoanticuerpos mostrarán una fluorescencia de color verde manzana en las áreas de la célula o del núcleo donde se ha enlazado el autoanticuerpo.

Antes de iniciar:

1. Llevar todos reactivos y muestras a la temperatura ambiente (20-26°C) y agitar.
2. Diluya el concentrado de PBS II: **IMPORTANTE:** Diluya el concentrado de PBS II a 1:40 añadiendo el contenido de la botella de concentrado de PBS II a 975mL de agua destilada o desionizada y mezcle completamente. El tampón de PBS II se utiliza para diluir las muestras de pacientes y como tampón de lavado. El tampón diluido puede almacenarse un máximo de 4 semanas a una temperatura de 2-8C.
3. Diluya las Muestras de los Pacientes:
 - a. Screening Inicial: Diluya las muestras de los pacientes a 1:40 con un tampón de PBS II diluido (esto es, añada 50L de suero a 1.95mL del tampón de PBS II).
 - b. Titulación: Realice series de diluciones dobles a partir de la dilución inicial de screening para todas las muestras positivas con el tampón de PBS II diluido (p. ej. 1:80, 1:160,... 1:2560).

Procedimiento de Ensayo

1. **Preparación de los portaobjetos con sustrato:** Espere a que el portaobjetos con sustrato alcance la temperatura ambiente antes de extraerlo de su funda. Etiquételo y colóquelo en una cámara húmeda adecuada. Añada 1 gota (20-25L) de control positivo y negativo sin diluir en los pocillos 1 y 2 respectivamente. Añada 1 gota (20-25L) de la muestra del paciente diluido a los pocillos restantes.

2. **Incubación del portaobjetos:** Incube el portaobjetos durante 30 + 5 minutos en una cámara húmeda (una servilleta de papel humedecida colocada plana en el fondo de un recipiente cerrado de plástico o cristal le permitirá mantener las condiciones de humedad adecuadas). **No permita que el substrato se seque durante el procedimiento de ensayo.**

3. **Lavado de los portaobjetos:** Tras la incubación, utilice un frasco de lavado o una pipeta para lavar suavemente el suero con el tampón de PBS II diluido. Oriente el portaobjetos y el chorro del tampón PBS II de forma que le permita evitar, en la medida de lo posible, que la solución pase por encima de varios pocillos a la vez. **Evite dirigir el chorro directamente sobre los pocillos para que no se dañe el substrato.** Si es requerido, ponga los portaobjetos en un tarro de Coplin del almacenador intermediario diluido de PBS II por hasta 5 minutos.

4. **Adición de conjugado fluorescente:** Expulse el exceso de tampón PBS II. Sitúe el portaobjetos de nuevo en la cámara húmeda y cubra **inmediatamente** cada pocillo con una gota de conjugado fluorescente. Incube los portaobjetos durante otros 30 + 5 minutos.

5. **Lavado de los portaobjetos:** Repita el paso 3.

6. **Cubreobjetos:** Los procedimientos para los cubreobjetos varían de un laboratorio a otro; sin embargo, recomendamos el siguiente procedimiento:
 - a. Sitúe un cubreobjetos en una toallita de papel.
 - b. Aplique el medio de montaje siguiendo una línea continua en el borde inferior del cubreobjetos.
 - c. Elimine el exceso de tampón PBS II y ponga en contacto del borde inferior del portaobjetos con el borde del cubreobjetos. Deje caer suavemente el portaobjetos sobre el cubreobjetos de forma que el medio de montaje fluya hacia el borde superior del portaobjetos sin que se formen burbujas de aire ni se queden atrapadas.