



Evaluación del estudio de anticuerpos del síndrome antifosfolípídico en el Hospital de Clínicas durante 2018-2020.

Pedro Arias¹, Bruno Lenzi¹, Joaquin López¹, Carlos Macedo¹, Guillermo Maidana¹, Prof. Adj. Dr. Andrés Alallón², Asist. Dra Noelia Barone², Prof. Agda. Dra. Cecilia Canessa², Asist. Dra Alexandra Irazabal².

1:Ciclo de Metodología Científica II 2021-Facultad de Medicina- Universidad de la República, Uruguay

2: Laboratorio de Patología Clínica sector hematología-citología del Hospital de Clínicas.

CICLO DE METODOLOGÍA CIENTÍFICA II 2021 GRUPO N°94

Índice de contenidos

- Pág. 3: Resumen
- Pag 4: Resumen en ingles
- Pág.5-10: Introducción
- Pág 11: Objetivos
- Pág 12-13: Metodología
- Pag 14-20: Resultados
- Pág 21-24: Discusión
- Pág 25: Conclusiones
- Pág 26-27: Bibliografía
- Pág 28-32: Anexos

Índice de figuras

- Pag 14: Figuras 1 y 2.
- Pag 15: Figura 3
- Pag 16: Figuras 4, 5 y 6
- Pag 17: Figuras 7 y 8
- Pag 18: Figuras 9 y 10
- Pag 19: Figura 11
- Pag 20: Figuras 12 y 13
- Anexos: Tablas

Resumen

Se estudió la seroprevalencia de resultados positivos para las pruebas de anticuerpos antifosfolipídicos. Para esto se realizó un estudio de tipo descriptivo, observacional y con recolección retrospectiva de datos. El estudio se llevó a cabo en el Depto. Laboratorio de Patología Clínica sector hematología-citología del Hospital de Clínicas.

Incluyo a todos los pacientes mayores de 18 años que se les ha solicitado un panel para el diagnóstico de anticuerpos antifosfolipídicos que se atendieron en el Hospital de Clínicas durante el 1/1/2018 a 31/12/2020. A través del sistema informático del laboratorio MODULAB GOLD se recolectaron los datos del perfil de estudio para el diagnóstico de síndrome antifosfolipídico(SAF). Las variables que se analizaron son edad, sexo, procedencia de los pacientes y resultado del panel diagnóstico. No se utilizaron datos identificatorios. Se analizaron estos datos mediante gráficos de tortas, gráficas de barras, comparación de proporciones y medias. Se analizó la positividad total de cada paciente para 1,2 o 3 anticuerpos, la seroprevalencia en función de la edad y sexo , la procedencia de las solicitudes y el efecto de la pandemia en relacion al numero de solicitudes. Al igual que en bibliografía consultada se mantienen las tendencias en cuanto a la seroprevalencia en los rangos de edad y el sexo. Se comprobó que la modalidad de diagnóstico mas frecuente es a partir de un anticuerpo, así como una disminución del promedio de solicitudes mensuales en relación con el comienzo y el transcurso de la pandemia.

PALABRAS CLAVE: SAF. Síndrome Antifosfolipídico. Seroprevalencia. IL. ACA. anti B2GP1.

Summary

This study shows the seroprevalence of positive results for antiphospholipid antibodies. To show this, a descriptive, observational and with retrospective recollection of data type of study was used. The Laboratorio de Patología Clínica sector hematología-citología del Hospital de Clínicas was in charge of the study. The patients included were all above the age of 18, and all were asked a antiphospholipid diagnose panel in the Hospital de Clínicas, between the dates 1/1/2018 and 31/12/2020. Using the lab data software MODULAB GOLD, the data was collected for the diagnose of Antiphospholipid Syndrome (SAF). The variables due to analysis were: Age, sex, patient's precedence and diagnose panel results. No identificatory data was used. All data was analyzed using pie charts, bar graphs, proportion and means comparisons. Patient's positivity was analyzed for 1, 2 or 3 antibodies, age and sex seroprevalence, and precedence and effect of the pandemic in correlation to the number of panels asked. Seroprevalence in age and sex ranges tended to stay the same as in the bibliography consulted. It was proven that the one antibody modality for diagnose is the most frequent, and a decrease in monthly solicitation of panels with the beginning and the course of the pandemic.

Key words: SAF, Antiphospholipid Syndrome, Seroprevalence. IL. ACA. Anti B2GP1.

Introducción

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una entidad autoinmune caracterizada por la aparición de trombosis a nivel arterial y venosa, abortos espontáneos, entre otras comorbilidades durante el embarazo. Concomitantemente se observa la presencia de anticuerpos antifosfolípidos. Estas manifestaciones clínicas son muy frecuentes en la población general y pueden deberse a múltiples etiologías.(1)

El diagnóstico se basa en un pilar clínico y uno de laboratorio (detección de anticuerpos antifosfolípidos), por esto es que los criterios de laboratorio toman una notoriedad central en su diagnóstico.

En 1999 se realizaron los criterios de Sapporo, revisados en Sydney 2006, y las posteriores recomendaciones publicadas en 2009, 2014 y actualmente en 2020 por el subcomité de normalización científica de la International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) para el diagnóstico de SAF.(2,17)

Los marcadores de laboratorio de esta enfermedad son los anticuerpos antifosfolípidos, siendo los principales: anticuerpos anticardiolipina(ACA), inhibidor lúpico(IL) y anticuerpos anti beta2 glicoproteína 1(anti B2GP1). Estos tres anticuerpos son los que se deben solicitar siempre que exista sospecha de este síndrome(1).

En el presente trabajo se busca determinar la seroprevalencia de anticuerpos para SAF, en los usuarios del Hospital de Clínicas durante el periodo 2018-2020.

Historia

En el año 1906 se detectaron los primeros anticuerpos antifosfolípidos (AFL) o reaginas a través de ensayos usados para la evaluación de pacientes con sífilis.

En 1941 se demostró que en los ensayos utilizados para diagnóstico de sífilis contenían cardiolipina como uno de sus principales componentes, lo que genera falsos positivos crónicos, llamados luego como falsos positivos biológicos para sífilis. A su vez estos pacientes se asociaban con Lupus eritematosos sistémico (LES) y enfermedades autoinmunes. (3)

En 1952 se publicó el hallazgo de un inhibidor, evidenciado por la prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT), ensayo dependiente de fosfolípidos, en plasmas de pacientes con LES. Se le llamó anticoagulante lúpico (AL) o inhibidor lúpico (IL).

A mediados de la década del 60 ya se conocía la asociación entre AL y la trombosis y/o riesgo obstétrico. Teniendo en cuenta la asociación entre AL y Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) se pensó que los AFL tendrían especificidad contra cardiolipina y se desarrolló un

radioinmunoensayo en fase sólida con cardiolipina como antígeno, (7) rápidamente se reemplazó a un test de Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) con el fin de obtener una mayor sensibilidad en la detección de los anticuerpos.

En 1983 en vista de estas asociaciones clínicas y la presencia de ACL, Harris Hughes describió un nuevo trastorno clínico llamado síndrome anticardiolipina y luego síndrome antifosfolipídico. (6) en 1990 ya se tenía evidencia de que los AFL primeramente se unen a proteínas con alta afinidad a fosfolípidos como anti beta2 glicoproteína 1 (10).

También se demostró que la protrombina humana era el segundo antígeno a la cual estaban dirigidos estos AFL; para el año 1999 se presentaron los denominados Criterios de Sapporo, en Japón (8) donde se definieron los criterios clínicos y de laboratorio para SAF, actualizados en el consenso de Sydney 2006.

Actualmente múltiples grupos de expertos se encargan del análisis y recomendaciones de SAF (ISTH 2009), Comité Británico para Estándares Clínicos en Hematología (BCSH 2012), Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI 2014) (10)

Definición:

Como ya se menciona, el SAF, es una entidad autoinmune, caracterizada por la aparición de trombosis y abortos espontáneos, en concomitancia con la presencia de anticuerpos antifosfolipídicos positivos.

Los anticuerpos antifosfolipídicos incluyen ACA, Anti B2GP1 e IL.

De acuerdo a la presencia concomitante de un trastorno autoinmune el SAF se clasifica en primario (no asociado a otro trastorno autoinmune) o secundario (asociado a otro trastorno autoinmune).

Es una causa importante de trombofilia en adultos jóvenes, así como abortos y complicaciones obstétricas.(1)

Para su diagnóstico es necesario contar con la presencia de al menos 1 criterio clínico y 1 criterio de laboratorio, que se comentarán más adelante.

Epidemiología:

La incidencia del SAF oscila entre 5 nuevos casos cada 100,000 personas por año y la prevalencia estaría alrededor de 40 a 50 casos cada 100,000 personas. El SAF es positivo en aproximadamente un 13% de los pacientes con antecedentes de accidente cerebrovascular (ACV), 11% en pacientes con infarto miocárdico, 9,5% en pacientes con trombosis venosa profunda y 6% en pacientes con comorbilidades en el embarazo. (17)

En cuanto a la distribución de esta patología, la mayoría de los estudios coinciden en que es una patología más prevalente en mujeres.(19,20,21), con una edad de presentación desde 33 a 54 años.

Fisiopatología:

Los fosfolípidos son moléculas con características anfipáticas que están constituidas por un esqueleto de glicerol, dos ácidos grasos y un enlace fosfodiéster que se une a compuestos nitrogenados como la colina, etanolamina o la serina. Los fosfolípidos se encuentran en la membrana celular formados por una sección hidrofílica y una hidrofóbica. Tienen un rol primordial en procesos de regulación metabólica para la síntesis de eicosanoides y en la coagulación.

Los anticuerpos antifosfolípidos, además de reconocer los fosfolípidos también están dirigidos contra proteínas plasmáticas, implicando una variada cantidad de antígenos.

Estos anticuerpos han sido detectados por ensayos de ELISA.

Beta2 glicoproteína I

Es una proteína que se encuentra en el plasma, capaz de adherirse a fosfolípidos como la cardiolipina, el receptor de apolipoproteína E y fosfolípidos de membrana. Se le atribuyen funciones importantes como anticoagulante natural y siendo parte del proceso de apoptosis.

Cardiolipina

Es un fosfolípido aniónico presente en la membrana mitocondrial y en bajas cantidades como proteína plasmática. Radica su importancia en procesos de oxidación de la cadena respiratoria y tiene un papel principal en la apoptosis celular.

Inhibidor lúpico

Se define como molécula capaz de aumentar tiempos de coagulación basados en fosfolípidos; hallado en estudios de pacientes con LES de donde proviene su nombre. Los estudios para evaluar la presencia de anticoagulante lúpico son: el tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), el tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (dRVVT) y raramente el tiempo de protrombina (TP). La presencia de inhibidor lúpico, es un factor de riesgo para trombosis o abortos, mayor que el representado por la positividad de anticuerpos antiB2GP1 o anticuerpos anticardiolipina, por separado.(16)

Los anticuerpos antifosfolípidos en el organismo se encuentran relacionados con procesos celulares, presentes en la muerte celular programada o apoptosis.

La cardiolipina, junto a otros fosfolípidos aniónicos que se encuentran en la mitocondria, trasladan su localización de la membrana mitocondrial hacia la superficie celular como parte del proceso apoptótico, al ser expuestos en el exterior y ser reconocidos como antígenos extraños, provocan la activación del sistema inmune.

Criterios clínicos:

Los criterios clínicos de SAF abarcan Trombosis venosa, arterial o de pequeños vasos, en cualquier localización; morbilidad obstétrica o complicaciones obstetricas (pérdidas fetales inexplicables pasada

la decima semana de gestación; partos prematuros con neonatos normales, previos a las 34 semanas de gestacion debido a eclampsia, preeclampsia severa o insuficiencia placentaria; tres abortos espontaneos o más de forma consecutiva antes de la decima semana de gestación).

Una pequeña proporción de pacientes pueden desarrollar un cuadro trombótico multisistémico (afección renal, cardiológica, neurológica) de curso muy grave denominado síndrome antifosfolípídico catastrófico.(1)

Diagnóstico de laboratorio:

Los tres anticuerpos mencionados (anti B2GP1, ACA e IL) pueden detectarse por pruebas inmunológicas(ELISA) o coagulométricas, siendo las primeras más sensibles. Debido a la heterogeneidad de los anticuerpos es posible que una prueba de positivo y otra negativo, por lo que se deben realizar pruebas para todos los anticuerpos de manera simultánea, y en algunos casos seriadas.(1)

Es preciso una selección adecuada de los pacientes, realizar extracciones adecuadas, así como una correcta validación y control de los ensayos; así como recomiendan los comités científicos, se debe realizar valores de referencia para cada laboratorio.

La búsqueda de de IL en otras poblaciones no está indicado por el aumento de la proporción de falsos positivos y la poca especificidad del test.(2)

La selección de pacientes con alta probabilidad de tener SAF está determinada por las guías ISTH y también por otros entes especializados como Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

El momento adecuado del estudio, la preparación del paciente, la toma de muestras, preparaciones de plasma, el transporte y almacenamiento son consideradas las variables preanalíticas, las guías hacen consenso en el estricto control de estas variables para el correcto diagnóstico.

Las muestras se obtienen por punción venosa directa.

Se extrae un tubo seco con gel separador para realización de Anti B2GP1 y ACA. Se realiza centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos, y de no procesarse inmediatamente se debe conservar el suero a -20° hasta su procesamiento.

Para IL las muestras deben ser recolectadas en tubos con citrato de sodio como anticoagulante, a una concentración de 3,2 % (0,109 mol/L) en una relación 9/1 (sangre/anticoagulante). Posteriormente se obtiene un plasma pobre en plaquetas (PPP) mediante doble centrifugación (velocidad 1500 g, durante 15 minutos, luego el sobrenadante a 1000 g por 10 minutos más) a temperatura ambiente (18-24°C), siempre lo antes posible y no más allá de las 4 horas de extraída la muestra.

De no ser procesado inmediatamente, el plasma resultante debe ser conservado a -20°C hasta su procesamiento

Las pruebas se realizan por métodos inmunológicos como el ELISA para ACA y Anti B2GP1, se basan en reacciones Ag-Ac mediante el uso de uno de ellos en fase sólida y otro en fase líquida. Se informa de forma cualitativa o cuantitativa.

Para diagnóstico los ACA deben tener niveles de positividad moderados a altos (>40 GPL (fosfolípidos IgG)U/mL o MPL (fosfolípidos IgM,) U/mL); para Anti B2GP1 cuando los niveles de los anticuerpos estén por encima de 40 GPL o MPL U/mL, o por encima del percentil 99.

La determinación de IL se realizó en equipo automatizado BCS/XP System (Siemens Healthineers), utilizando reactivo de LA 1 Screening/LA2 Confirm (Siemens Healthineers),. Ambos reactivos contienen Veneno de Vibora de Russell (DRVVT) el cual activa el FX de la coagulación directamente. LA 1 es DRVVT es sensible para detectar la presencia de IL, mientras que el LA2 está enriquecido en FL para confirmar la dependencia fosfolipídica del inhibidor.

Se consideró una prueba positiva cuando la muestra presentaba: prolongación en el test de screening (LA 1), no corrección de la prueba luego de la mezcla 1:1 con pool de plasma normal y posterior corrección de los tiempos tras el agregado de un exceso de FL (LA2) siendo el ratio LA1/LA2 mayor de 1.2.

La muestra se consideró negativa cuando no se prolongó la prueba de screening (LA 1) o cuando el ratio LA1/LA2 fue menor de 1.2.

Se consideró “en punto de corte” cuando el ratio fue igual a 1.2, y en ese caso se solicitó una nueva muestra en 15 días para descartar interferencias.

La detección de ACA son sensibles en el 80% al 90% de los pacientes, pero tienen baja especificidad, ya que pueden dar falsos positivos debido a la presencia de enfermedades virales, infecciosas y autoinmunes.

Existen pruebas de ELISA que utilizan el Anti B2GP1 generando mayor especificidad (82%), sensibilidad (74%).

Las pruebas de inhibidor lúpico son más específicas que las de anticuerpos antifosfolípidos, pero se recomienda realizar el estudio de estos últimos para confirmar el diagnóstico.

La ISTH, estableció los siguientes criterios para confirmar la presencia de IL: pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos prolongadas, no corrección de dichas pruebas con una mezcla de plasmas normales, corrección de la prueba tras el agregado de un exceso de fosfolípidos (demostración de la dependencia del inhibidor a los fosfolípidos), y descartar otras coagulopatías.

El IL no es un estudio de urgencia, excepto ante un síndrome antifosfolipídico catastrófico.

Debe evitarse el estudio ante cuadros trombóticos agudos, debido al aumento de un estado inflamatorio que activa el sistema de coagulación. Durante la gestación y puerperio tampoco se debería analizar ya que fisiológicamente es un estado de hipercoagulabilidad, dado por el aumento de

la síntesis de los factores participantes en la coagulación. Así mismo se desaconseja luego de una cirugía reciente, proceso infeccioso en curso o inmunización.

Siempre se debe realizar la interpretación con nueva muestra en un plazo mayor a 12 semanas para descartar interferencias.

Cabe destacar que es probable la existencia del inhibidor lúpico con otros anticuerpos o inhibidores específicos de factores de la coagulación, que al coexistir aumentan la gravedad del cuadro.

Tratamiento:

El tratamiento del SAF con anticoagulantes es considerado individual para cada paciente teniendo en cuenta la presencia o no de una patología subyacente asociada. Como medidas generales se deben tratar todos los factores de potencial riesgo cardiovascular y trombogénicos, evitar el uso de anticonceptivos orales, terapia estrogénica sustitutiva y moduladores selectivos de receptores estrogénicos.

Objetivos

Objetivo General

Estudiar la prevalencia de resultados positivos para las pruebas de anticuerpos antifosfolípidicos.

Objetivos específicos:

- Evaluar la necesidad de indicación de los tres estudios diagnósticos del síndrome.
- Determinar la seroprevalencia de los diferentes anticuerpos: anti B2GP1, IL y ACA
- Determinar la seroprevalencia según edad, sexo y procedencia
- Evaluar el impacto de la pandemia COVID19 en el número de estudios solicitados para diagnóstico de SAF.

Metodología

Se recolectarán los datos de perfil de estudio para diagnóstico de SAF a través del sistema informático de laboratorio (MODULAB GOLD). Las variables que se relevaron fueron el resultado del panel diagnóstico ya mencionado, edad, sexo y procedencia de los pacientes.

No se utilizaron nombres u otros datos identificatorios.

Para el agrupamiento y análisis de los datos se utilizó el programa excel ,para el análisis de la varianza, las medias, los valores de p, y el cálculo de los estadísticos.

Criterios de inclusión: Pacientes mayores de 18 años que se le haya indicado panel diagnóstico para SAF en el periodo desde el 1/1/ 2018 hasta el 31/12/2020

Criterios de exclusión: Se excluyeron aquellos pacientes en los cuales las muestras enviadas no cumplieron con los criterios para ser aceptadas para su procesamiento en el laboratorio.(Ver anexos)

Se agruparon todos los datos en tablas para seroprevalencia, edad, sexo y procedencia.

Todo esto fue presentado en gráficas de barras apiladas.

Se realizaron asociaciones entre la seroprevalencia y variables como edad y sexo. Se usaron test de asociación como chi cuadrado o comparación de medias muestrales.

Para demostrar la necesidad de pedir los tres test diagnósticos, Se demostró que existe una población de pacientes que solo dieron positivo a uno de los test, por lo que se requiere que el panel se pida de forma completa para evitar el subdiagnóstico. Esto se hizo separando las solicitudes según la presencia de 1, 2 o 3 anticuerpos positivos en el diagnóstico, y observando la proporción de solicitudes que solo dan positivo a un anticuerpo.

Para evaluar el impacto de la Pandemia covid 19 se comparó la media de solicitudes de test diagnósticos a lo largo del tiempo, 2019/2020 y observando si a partir de la declaración de la pandemia en nuestro país (13 de marzo de 2020) la presencia de una disminución en las medias mensuales de solicitudes .

Aspectos éticos:

Como es una investigación sobre una base de datos de muestras biológicas y siguiendo la normativa vigente la presente investigación fue presentada y aprobada ante el comité de ética de la investigación del hospital de clínicas, previo al inicio de la recolección y análisis de datos.

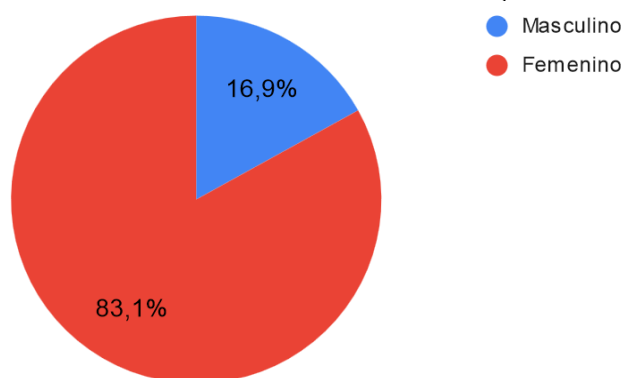
Resultados

En este estudio participaron 1216 pacientes, obtenidos como ya se mencionó de una base de datos del servicio de laboratorio del Hospital de Clínicas. A partir de esta base de datos se extrajeron y procesaron los siguientes datos:

Distribucion de las solicitudes realizadas según sexo.

La mayoría de los pacientes de este estudio fueron de sexo femenino, representando un 83.1% de las solicitudes, frente a los hombres que representan el 16.9%. (Ver Tabla 1, anexos)

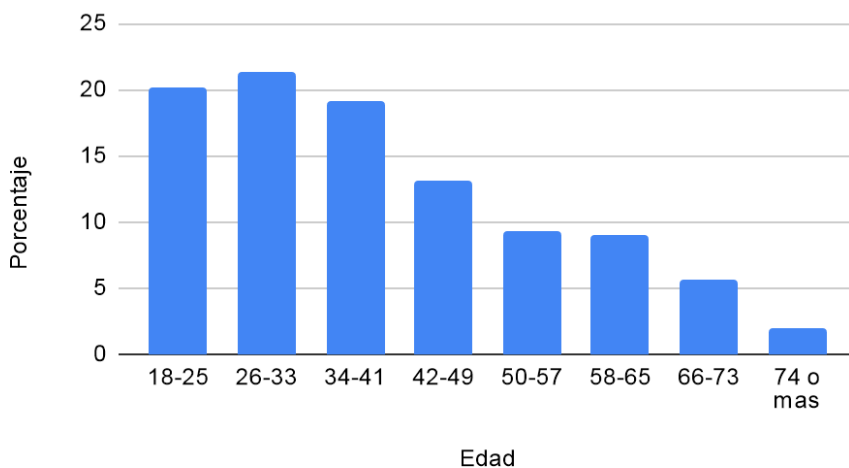
Figura 1. Distribucion de las solicitudes realizadas por sexo



Distribución de las solicitudes realizadas según edad.

Se establecieron marcas de clase para la edad, con intervalos que abarcan 8 años. El rango de edad fue de 18-90 años. El promedio de edad fue 40 años con una desviación estándar de 15.6 años. La moda fue de 29 años. La mayoría de los pacientes se distribuyó en el rango de 26 a 33 años(21.3%), seguido de 18 a 25 años(20.2%), 34 a 41 años(19.1%), 42 a 49 años(13.1%), 50 a 57 años(9.2%), 58 a 65 años(9.0%) , 66 a 73 años(5.6%), 74 o más(2.0%). (Ver Tabla 2, anexos).

Figura 2. Distribucion de las solicitudes realizadas por edad

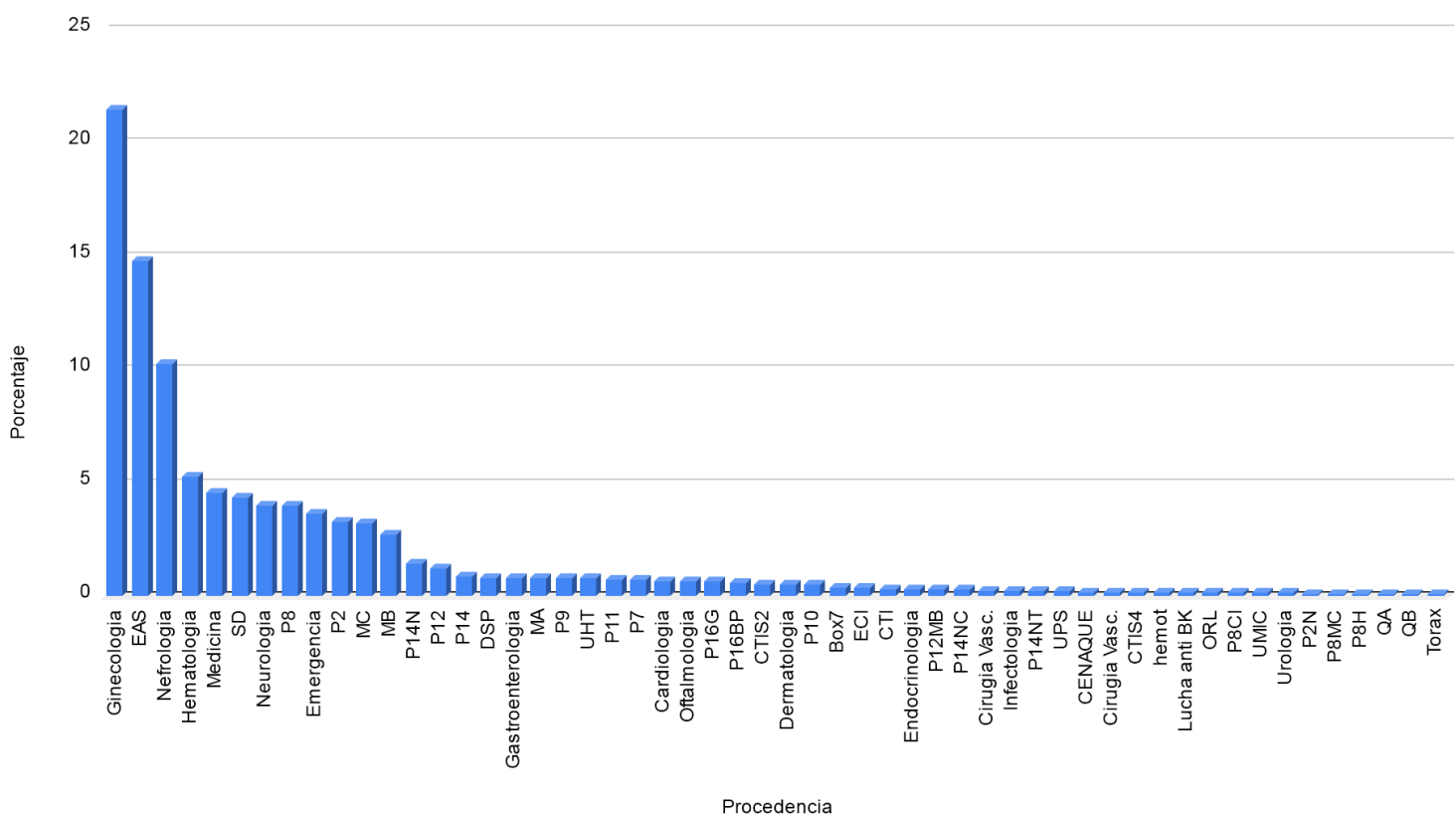


Distribución de las solicitudes según servicio de procedencia

Se analizó la procedencia de las solicitudes según el servicio de procedencia dentro del Hospital. En función de esto se observó que más de la mitad de los pacientes provienen de 4 servicios: ginecología(21.4%), EAS(Servicio de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas, 14.8%), Nefrología(10.2%) y Hematología(5.2%), en ese orden. (Ver Tabla 3, anexos).

En cuanto a los pacientes positivos para el síndrome según su procedencia se observó que más de la mitad de los pacientes positivos provienen de 5 servicios: EAS, Hematología, Nefrología, Medicina y Ginecología en ese orden.

Figura 3. Distribucion de las solicitudes realizadas segun servicio de procedencia



Resultados del test de anticuerpos antifosfolipídicos

Se cuantificó el número de test positivos, negativos y no solicitados para los tres anticuerpos solicitados: IL, ACA y anti B2GP1. El IL tiene la particularidad que podía arrojar resultados en punto de corte y que requieren repetir el estudio, generando categorías para estos resultados.(Ver Tabla 4, anexos). Se generaron gráficas de barras para los tres anticuerpos:

Figura 4. Resultados para la solicitud de IL

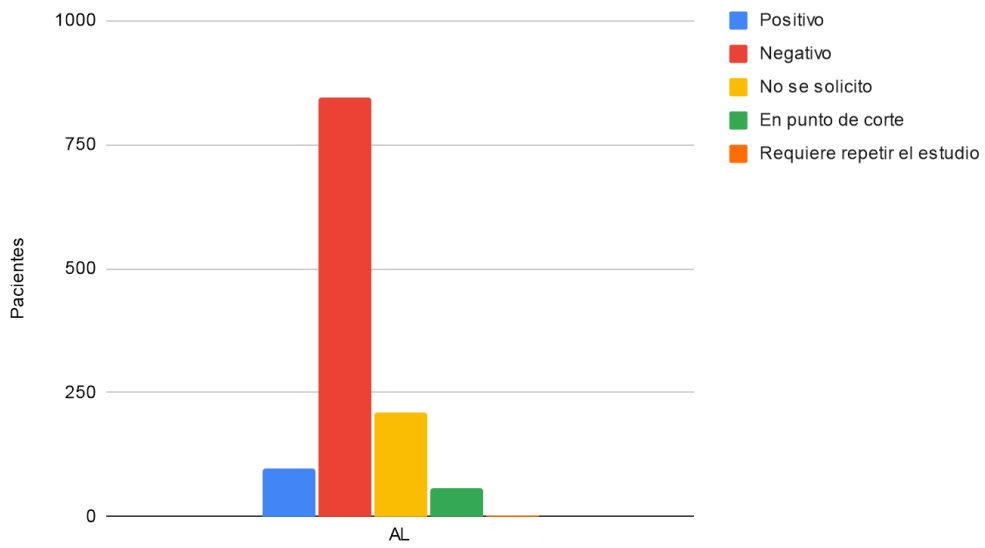


Figura 5. Resultados para la solicitud de anti B2GP1

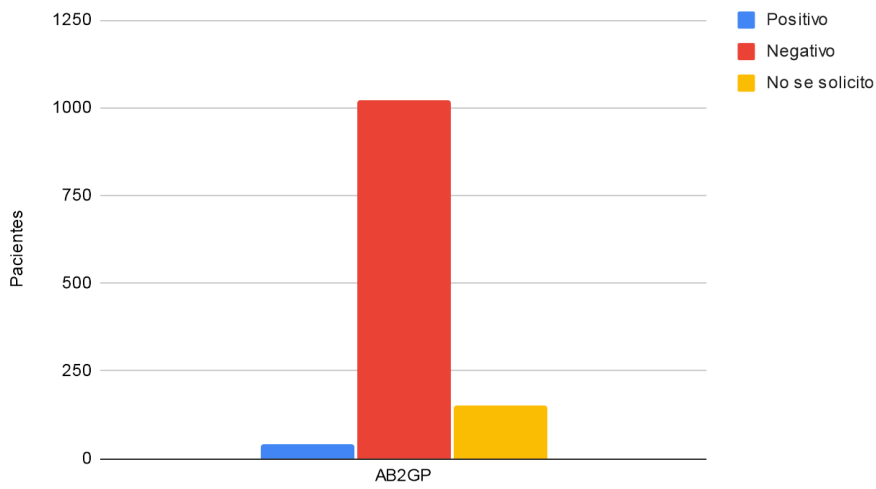
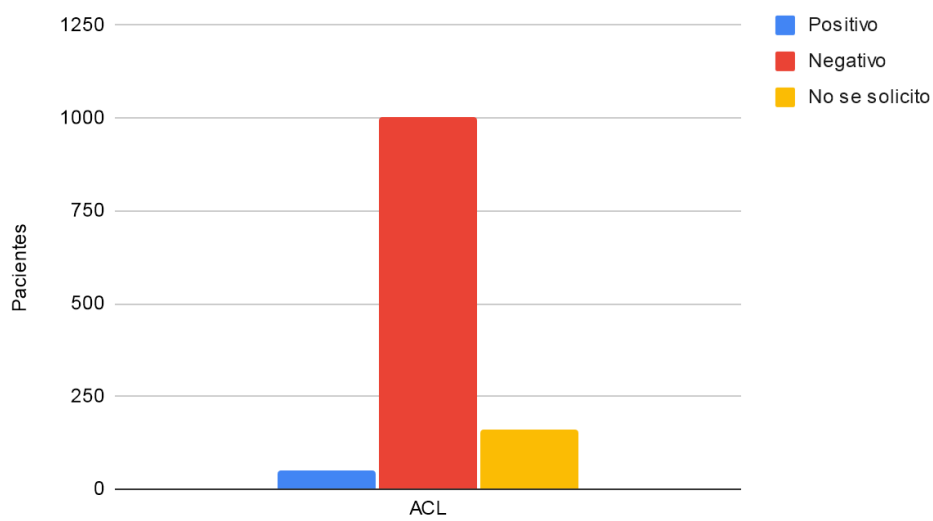


Figura 6. Resultados para la solicitud de ACA



Seroprevalencia según sexo

En base a la distribución por sexo previamente realizada, se cruzaron estos datos con la seroprevalencia para cada sexo. (Ver Tabla 5, anexos).

Para comparar la prevalencia de los anticuerpos antifosfolipídicos en función del sexo se usaron gráficos de tortas para ACA, IL y Anti B2GP1.

Se realizó un test de chi cuadrado para comprobar si existía asociación entre el sexo y la seroprevalencia, usando un alfa de 0.05. Con un valor p menor a 0.005 se corroboró la existencia de asociación entre sexo y seroprevalencia.

Figura 7. Distribución por sexo para resultados positivos de IL

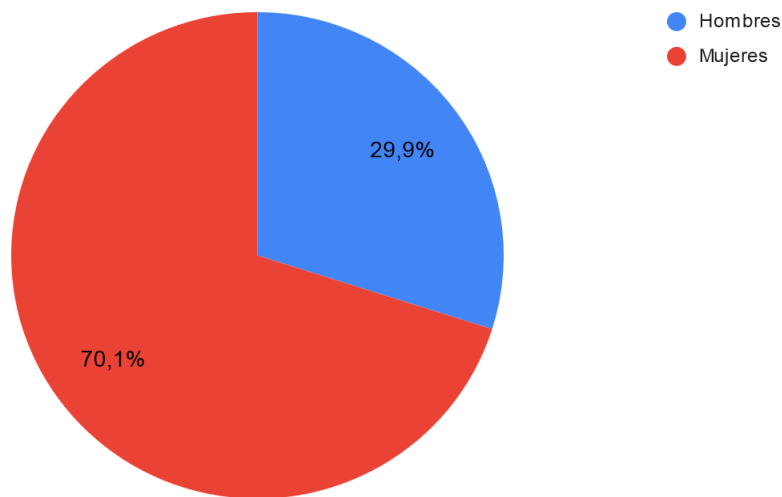


Figura 8. Distribución por sexo para resultados positivos de anti B2GP1

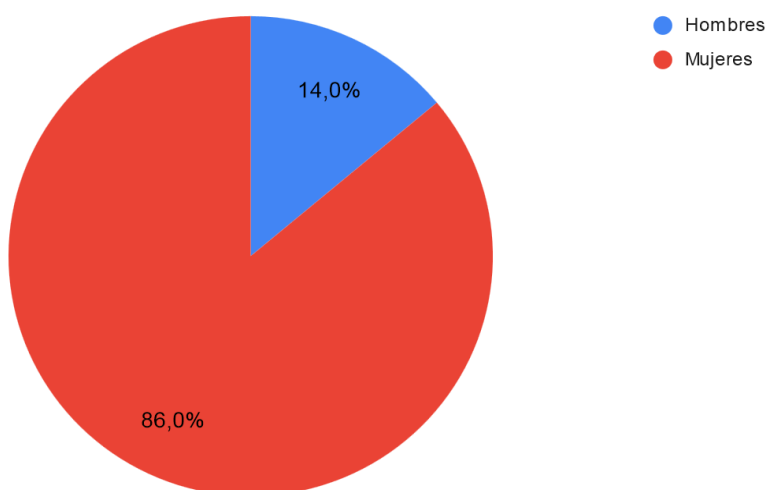
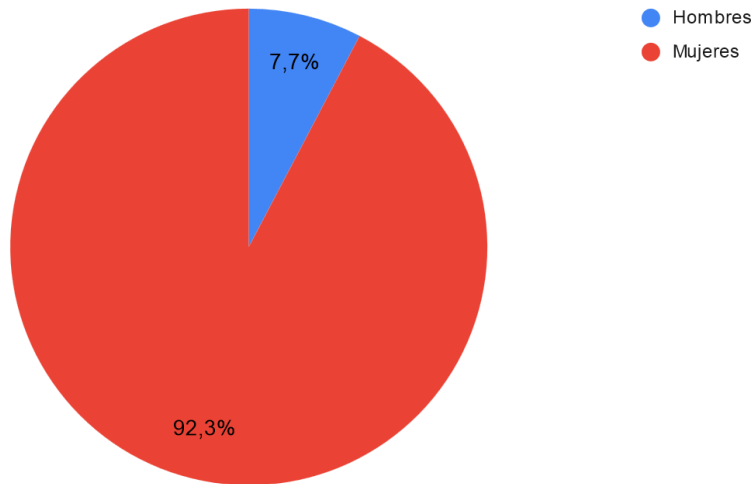


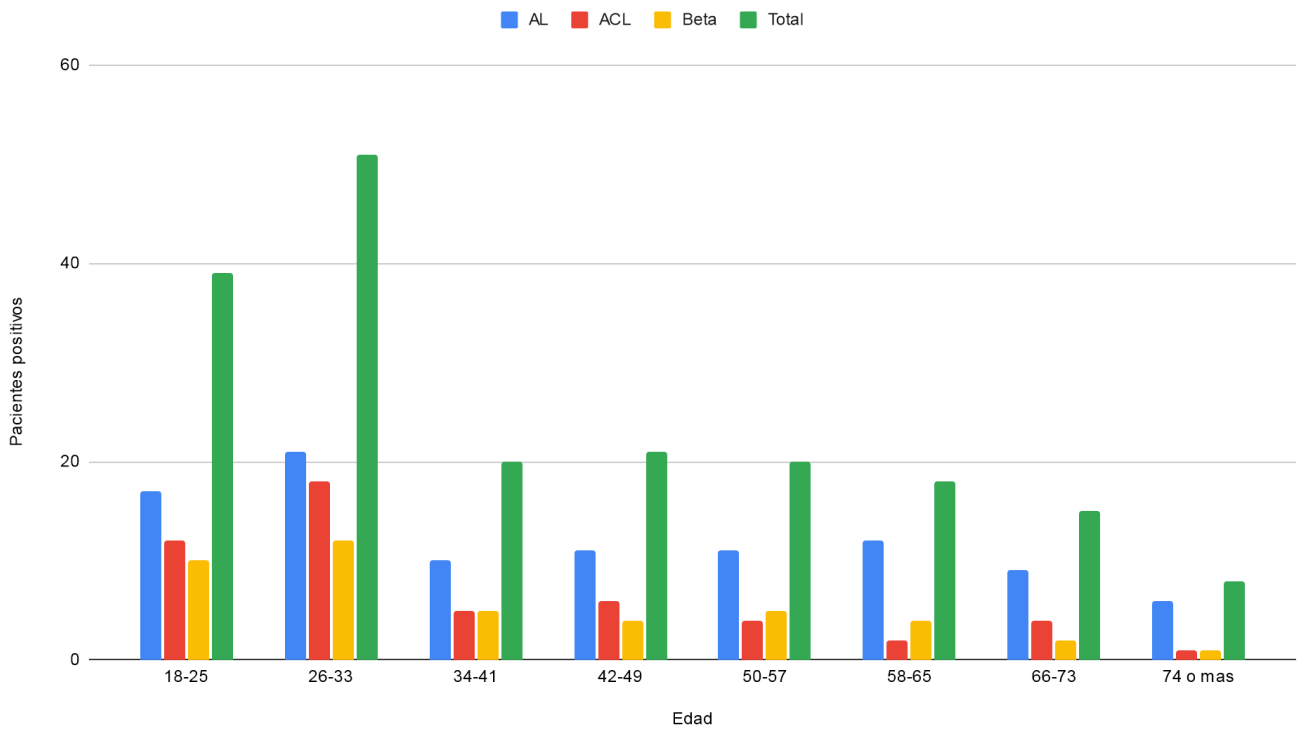
Figura 9. Distribucion por sexo para resultados positivos de ACA



Seroprevalencia según edad

En base a la distribución por edad previamente realizada, se cruzaron estos datos con la seroprevalencia para cada grupo etario. El rango de edad de 26 a 33 años fue el que más prevalencia presentó con un total de 51 positivos los cuales se dividieron en: 21 positivos para el IL , 18 ACA , 12 anti B2GP1(Ver Tabla 6, anexos).

Figura 10. Distribucion de seroprevalencia por edad

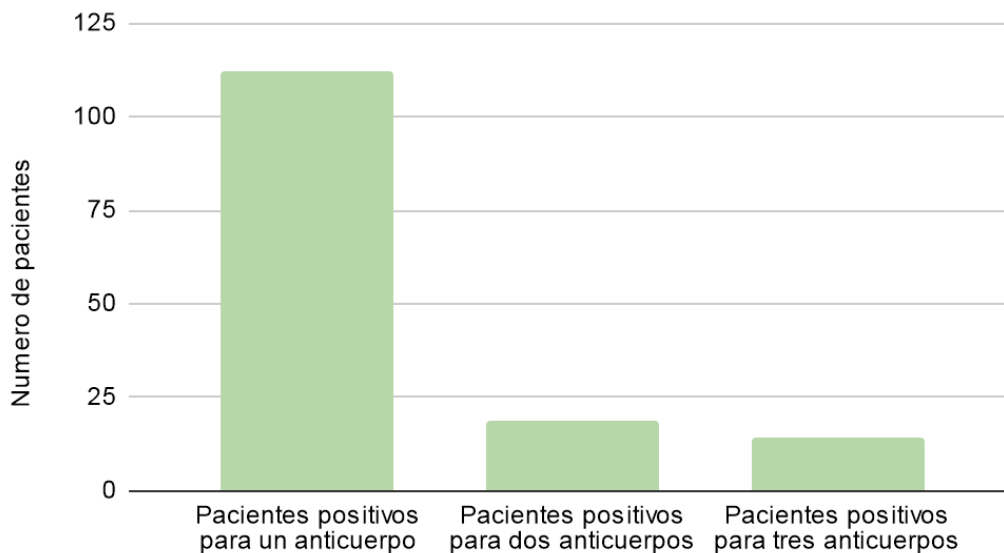


Pacientes positivos según número de anticuerpos

Se tomaron todos los pacientes positivos para algún anticuerpo, y se los dividió según la cantidad de anticuerpos para los que dieron positivo: uno, dos o tres, independientemente de qué anticuerpos sean los positivos. Se observó que el 77 % fue positivo para 1 anticuerpo contabilizando un total de 112 positivos. Para dos anticuerpos hubo 19 positivos y para tres anticuerpos 14 positivos.(Ver Tabla 7, anexos).

En función de estos resultados se realizó un test Z de comparación de proporciones, con un alfa de 0.05, planteando como hipótesis nula que las proporciones de estas subpoblaciones eran idénticas. En todos los casos se rechaza la hipótesis nula: entre pacientes positivos para uno y dos anticuerpos(valor p menor a 0.0003); entre pacientes positivos para uno y tres anticuerpos(valor p menor a 0.0003) y entre pacientes positivos para dos y tres anticuerpos(valor p de 0.017).

Figura 11. Pacientes positivos para uno, dos o tres anticuerpos



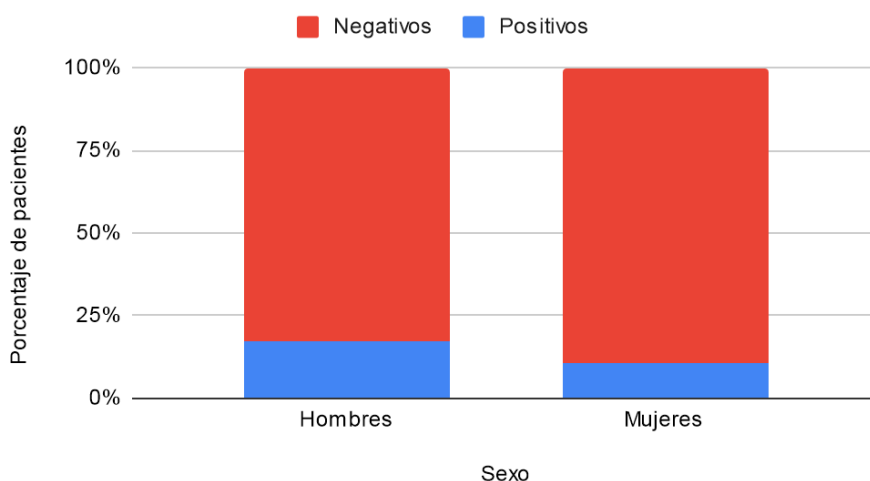
Pacientes positivos para cualquier anticuerpo según sexo.

Se cruzaron todos aquellos pacientes positivos para cualquier anticuerpo con el total de pacientes testeados según su sexo. (Ver tabla 8, anexos).

Del total de las solicitudes para el sexo masculino el 16% presento anticuerpos positivos. Para el sexo femenino del total de solicitudes el 11 % presento anticuerpos positivos.

Estas proporciones se compararon utilizando un test Z de comparación de proporciones con un alfa de 0.05. Se obtuvo que estas proporciones son significativamente diferentes con un valor p de 0.014.

Figura 12 . Porcentaje de pacientes positivos para SAF segun sexo.

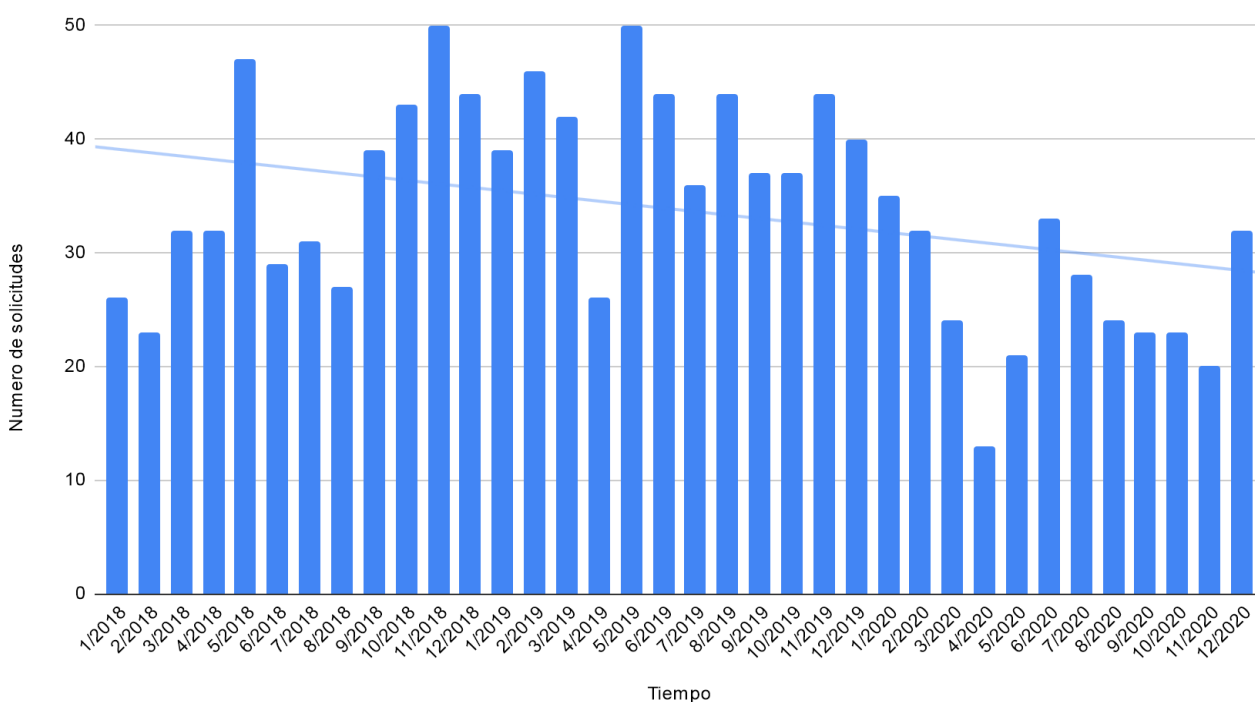


Diferencias entre las solicitudes pre y durante el ciclo de la pandemia hasta diciembre del 2020.

Finalmente se dividió el número de solicitudes por el mes en el que fueron realizadas. (Ver Tabla 9, anexos). Luego se construyó una gráfica y se buscó comprobar si a partir del inicio de la pandemia de COVID19(Marzo de 2020) hubo una caída significativa en el número de solicitudes por mes para el diagnóstico de SAF.

Usando la t de student para comparación de medias con muestras relacionadas, se llegó a la conclusión que la media de las solicitudes pre-pandemia fue mayor a la media de la solicitud durante la pandemia teniendo en cuenta el ciclo entre marzo de 2019 y diciembre del 2020(valor p de 0.0002)

Figura 13. Solicitudes mensuales para SAF durante el periodo 2018-2020



Discusión

A nuestro conocimiento, son escasos los trabajos realizados acerca de la seroprevalencia y capacidad diagnóstica de SAF en nuestro país.

El único antecedente que encontramos es un estudio realizado en nuestro país en el año 2006 de Otero et al, que tomó una población de mujeres que habían presentado problemas obstétricos como pérdidas de embarazo, óbitos, restricción de crecimiento uterino o trastornos de hemodinamia placentaria y les realizó los diferentes test para determinar la presencia de anticuerpos antifosfolipídicos: anticuerpos anticardiolipina, inhibidor lúpico y otros anticuerpos antifosfolipídicos agrupados en un reactivo llamado APA (cardiolipinas, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, fosfatidilcolina, y ácido fosfatídico).

Este estudio encontró que la capacidad de diagnóstico del síndrome varía en función de la cantidad de test utilizados: se calculó una pérdida del 10% de diagnósticos al usar ACA solos frente a utilizar ACA y APA.

Este estudio no encontró aporte diagnóstico del IL dado que los resultados positivos de este test se daban siempre de forma concomitante con APA o ACA. Sin embargo remarcaron la importancia de este test dado que afecta el pronóstico por su asociación a colagenopatías.(13)

En nuestro estudio planteamos como hipótesis que existe una variabilidad en la seroprevalencia que hace necesaria una solicitud completa del panel de anticuerpos antifosfolipídicos para evitar el subdiagnóstico.

La distribución de sexo entre los participantes de este estudio fue ampliamente desigual a favor del sexo femenino. Esto era algo esperable dado que desde la bibliografía ya se reporta que es una patología más frecuente en el sexo femenino(19,20,21). También tiene relación con una de las principales manifestaciones clínicas de este síndrome, los abortos a repetición. Esto también se evidencia en función del servicio de procedencia de los pacientes, donde el servicio de ginecología ocupa el primer lugar en frecuencia. Si bien no se realizó un análisis clínico de los criterios por los cuales se indicó el test de anticuerpos antifosfolipídicos, sería un planteo razonable asumir que la mayoría de las pacientes provenientes de ginecología se les indica este estudio por abortos frecuentes.

En cuanto a la edad, se observó un promedio en la solicitud del test de 40 años, con un desvío estándar de 15.6 años y una moda de 29 años. Esto también se corrobora con la bibliografía consultada, donde la edad de diagnóstico más frecuente de esta patología va desde los 33 hasta los 54 años.

La procedencia de los pacientes fue enormemente diversa, con más de 50 servicios diferentes que solicitaron test para esta patología en el Hospital de Clínicas. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes provienen de Ginecología, EAS, Nefrología y Hematología, en ese orden. Esta tendencia puede explicarse en función de la sintomatología típica del síndrome como patología obstétrica o trombosis arteriales y venosas, así como su asociación a otras enfermedades autoinmunes.

Dentro de la procedencia también se analizó su relación con pacientes positivos, destacándose que más de la mitad de ellos provenían de EAS, Hematología, Nefrología, Medicina y Ginecología en ese orden.

En los resultados del test de anticuerpos antifosfolípidicos se evaluó resultados positivos, negativos y no solicitados para cada uno de los tres anticuerpos sobre la base de las 1216 solicitudes del estudio.

Para IL se observó un 8% de los test positivos, 70% negativos y en 17% de los pacientes el test no fue solicitado. Este test también tiene la particularidad que podría arrojar resultados en punto de corte y que requieren repetición del estudio, siendo 4% y <1% respectivamente. De los tres anticuerpos testeados el inhibidor lúpico es el que mostró una mayor frecuencia absoluta de resultados positivos, lo cual es acorde a la bibliografía(15,21). Sin embargo también es el test con mayor frecuencia absoluta de estudio no solicitado, por lo que sería necesaria una comparación de proporciones contemplando estos aspectos para realizar esta aseveración con fundamento.

Para ACA se observaron un 4% de los test positivos, 83% de los test negativos y el test no se solicitó en 13% de los pacientes.

Para anti B2GP1 un 4% de los test fueron positivos, un 84% fueron negativos y no se solicitó el test en el 12% de los pacientes.

En cuanto a la seroprevalencia según sexo se analizaron los resultados para cada test según el sexo de los pacientes.

En cuanto a IL se observó una relación de positivos de 7:3 entre mujeres/hombres. Esta brecha entre sexos aumentó para los anticuerpos anticardiolipina(9.3:0.7) y anti beta2 glicoproteína(8.6:1.4). En función de esta brecha se realizó un test de asociación de chi cuadrado para comprobar asociación entre seroprevalencia y sexo, el cual arrojó una asociación significativa($p < 0.005$). Sería interesante seguir en esta línea y analizar si la diferencia de proporciones entre los diferentes anticuerpos es significativa, y más interesante aún si estas diferencias se pudieran explicar en base a algún tipo de dimorfismo sexual como la influencia hormonal.

Luego se analizó la seroprevalencia en función de la edad de los pacientes positivos. Como mencionamos anteriormente el promedio es de 40 años, con un desvío de 15.6 y una moda de 29 años. La seroprevalencia pareciera imitar esta distribución, por lo que sería interesante la realización de regresiones para establecer una relación entre estos parámetros.

A partir de aquí pasamos el foco desde los test positivos (seroprevalencia) a los pacientes. Dividimos los pacientes positivos en aquellos solo positivos para un anticuerpo, dos o tres, en cualquier combinación. En función de esto observamos una gran proporción de pacientes que eran positivos a un solo anticuerpo (77%). Siendo este uno de los puntos fundamentales de nuestro trabajo, mediante una comparación de proporciones se demostró que esta subpoblación de pacientes positivos únicamente a un anticuerpo era significativamente diferente de las demás subpoblaciones ($p < 0.003$). De este análisis se desprende entonces que la modalidad de diagnóstico más frecuente para este síndrome es a partir de un único test positivo. Sería interesante profundizar en este análisis y observar dentro de esta subpoblación, cual es el anticuerpo que más frecuentemente se presenta como único positivo, teniendo como antecedente el estudio de Otero et al (13) que encontró en esta situación al anticoagulante lúpico como el anticuerpo que más frecuentemente se presenta solo.

El siguiente análisis sigue centrado en los pacientes positivos, pero ahora en función del sexo. Se agruparon los pacientes positivos en función del sexo, y se observó que del número total de pacientes en el estudio, divididos por sexo, la proporción de hombres positivos era mayor a la de mujeres. Este dato fue corroborado como significativo mediante una comparación de proporciones ($p < 0.003$). Ahora bien, estos resultados parecerían contradecir lo que se obtuvo del análisis de seroprevalencia en función de sexo, donde se vio que la mayoría de los resultados positivos correspondían a pacientes de sexo femenino. Si bien esto parece una contradicción no lo es, dado que si tomamos solo el número de pacientes positivos veremos que de los 145 pacientes positivos, 110 corresponden a mujeres (Ver Tabla 8, anexos).

Sin embargo, del total de mujeres testeadas, solo un 11% dio positivo, en contraste al 16% de hombres positivos de todos los hombres testeados. Esto seguramente tiene que ver con la distribución desigual de pacientes según sexo, como fue analizado al principio de la discusión. Volvemos a plantear que esto puede tener que ver con que uno de los principales signos clínicos del síndrome es la patología obstétrica, orientados también por el hecho de que la mayoría de los pacientes de este estudio provienen del servicio de ginecología. Sin embargo como se comentó, dentro de los pacientes positivos al síndrome el servicio de ginecología pasa del primero al quinto lugar en frecuencia, por lo que se podría sugerir que el elemento clínico de abortos a repetición no sea tan específico como sensible para el planteo diagnóstico. Sería interesante poner a prueba esta última hipótesis con futuros estudios.

Finalmente, se analizó el impacto de la pandemia en el número de solicitudes, comparándose el periodo de marzo a diciembre de 2019 con el mismo periodo de 2020 mediante T de Student para comparación de medias con muestra relacionada.

Se encuentra que la media de las solicitudes fueron menores durante el primer año de la pandemia 2020 en comparación con el año anterior 2019 acorde a lo esperado y sucedido en otros servicios debido a las restricciones, los protocolos y la disminución de la movilidad. No contamos con una comparación en cuanto a la variación de la positividad, lo que podría evidenciar un aumento en el subdiagnóstico.

También se debe recalcar que tenemos el valor absoluto de las solicitudes y no su proporción en función de los pacientes atendidos en el hospital, por lo que se debe tener en cuenta esto a la hora de interpretar estos resultados.

Conclusiones

Como principales conclusiones de este trabajo destacamos la gran proporción de pacientes que fueron positivos solo a un anticuerpo(77%) lo que nos da la pauta de que la modalidad de diagnóstico de SAF mas frecuente fue a partir de un único test positivo. En función de esto planteamos como fuerte recomendación que se soliciten los tres test cuando se sospeche el diagnóstico de SAF en un paciente.

Como vimos, la mayoría de pacientes positivos corresponden al sexo femenino, pero la tasa de positividad por sexo fue mayor en sexo masculino, lo que nos lleva a pensar si los signos clinicos en el sexo femenino no son suficieniente especificos como en hombres.

Finalmente se observa un descenso en las solicitudes del test en el año 2020, lo que puede haber implicado algún grado de subdiagnóstico con motivo de una menor consulta en la situación de pandemia. Sería interesante evaluar la incidencia de este síndrome y sus consecuencias en este año y los siguientes.

Bibliografía

- 1: Farreras-Rozman. Medicina Interna. Ed 18.
- 2: Adamczuk Y, Annetta E, Bertolaccini M.L, Blanco A.N, Duboseq C, Mainetti G, Martinuzzo M, Remotti L, Rossi E, Scazziota A. Highlights of the Antiphospholipid Antibodies Workshop. XIII Argentine Congress on Haemostasis and Thrombosis (CAHT Group)
- 3: Forastiero R. Antigen specificity of antiphospholipid syndrome-related antiphospholipid antibodies. The Open AutoimmunityJournal. 2010, 2:21-27.
- 4: Conley C.L, Hartmann R.C. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulants in patients with disseminated lupus erythematosus. J Clin Invest 1952; 31: 621-2.
- 5: Laurell A.B, Nilsson I.M. Hypergammaglobulinemia, circulating anticoagulant and biological false positive Wasserman reaction: a study of two cases. J Lab Clin Med 1957; 49: 694-707
- 6: Hughes, GRV. The antiphospholipid syndrome. Ten years on. Lancet 1993; 342: 341-4.
- 7: Harris EN. The Second International Anticardiolipin Standardization Workshop / The Kingston Antiphospholipid Antibody Study (KAPS) group. Am J Clin Pathol 1990; 94: 476-84.
- 8: Wilson W, Gharavi A, Koike T, Lockshin M, Branch W, Piette J et al. International consensus statement on the preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. ArthritisRheum.1999,42:1309-1311
- 9: Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006,4:295-306.
- 10: Forastiero R. Tópicos especiales en la enfermedad Tromboembólica venosa - síndrome antifosfolípido. Actualización y nuevas pruebas diagnósticas. Instituto de Medicina Traslacional, Trasplante y Bioingeniería (IMeTTyB), Universidad Favaloro-CONICET
- 11: Pengo V, Tripodi A, Reber G et al. On behalf of the Scientific and Standardization Committee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid- dependent antibodies.

Update of the Guidelines for Lupus Anticoagulant detection. J Thromb Haemost. 2009, 7:1737-1740.

12: V. Pengo, A. Tripodi, G. Reber, H. Rand, T.L. Ortel, M. Galli, P.G. de Groot. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection.

13: A.M. Otero, D. Attarian, E. Ponsá, R. Pou, E. Storch, E. De Lisa, I. Sevrini, C. Carrizo. Dificultades y controversias en el diagnóstico biológico de los síndromes antifosfolipídicos del embarazo. Revista médica del Uruguay, 2006. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/rmu/v22n2/v22n2a07.pdf>

14: Escobar Martínez, M. Síndrome antifosfolipídico: generalidades y diagnóstico.

15: Cervera, R. (2017). Antiphospholipid syndrome. Thrombosis Research, 151, S43–S47.

16: J.A. Castellano Cuesta, A. Pérez Torres, A. Blanes Gallego, C. Carbonell Bio, R. Sánchez Roy, E. Monzó Castellano, F López Chuliá, E. Gimeno Carpio, E. Esteban Esteban. Cap 7: Síndrome Antifosfolipídico, Enfermedades reumáticas: Actualización SVR. Portada SVR.psd

17: Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D., W Brey R.L., Cervera R. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006; 4: 295-306

18: OPS. Sistema de gestión de calidad del laboratorio. 2016

19: Jae-Joon Hwang, Seo-Hee Shin, Ye-Jee Kim, Yeon-Mok Oh, Sang-Do Lee, Yee Hyung Kim, Cheon Woong Choi, and Jae Seung Lee. Epidemiology of Antiphospholipid Syndrome in Korea: a Nationwide Population-based Study. Journal of Korean Medical Science. 2019

20: Ali Duarte-García, Michael M. Pham, Cynthia S. Crowson, Shreyasee Amin, Kevin G. Moder, Rajiv K. Pruthi, Kenneth J. Warrington, Eric L. Matteson. The Epidemiology of Antiphospholipid Syndrome. A Population-Based Study. 2019

21: Orlando Esteban Quintana Quiros. Epidemiología de los pacientes con síndrome antifosfolípido valorados en la consulta externa de reumatología del hospital San Juan de Dios desde abril de 2018 hasta abril de 2019. Universidad de Costa Rica. 2019

Anexos

Criterios de rechazo de muestras: Muestra sin etiquetar, tubo/recipiente roto o con fugas, información insuficiente del paciente, no coincidencia entre los datos del tubo y la hoja de petición del análisis, muestra hemolizada, muestras enviadas en recipientes no adecuados, volumen de muestra insuficiente, transporte de la muestra inadecuado, tanto por tiempo como por condiciones del mismo.
(18)

Tablas de datos

Tabla 1. Distribución de las solicitudes realizadas según sexo.

Sexo	Porcentaje	Frecuencia absoluta
Masculino	16.9	206)
Femenino	83.1	1010

Tabla 2. Distribución de las solicitudes realizadas según edad

Edad	Porcentaje	Frecuencia absoluta
18-25	20,23026316	246
26-33	21,38157895	260
34-41	19,16118421	233
42-49	13,15789474	160
50-57	9,292763158	113
58-65	9,046052632	110
66-73	5,674342105	69
74 o mas	2,055921053	25

Tabla 3. Distribución de las solicitudes realizadas según procedencia.

Procedencia	Porcentaje	Frecuencia absoluta
Ginecología	21,46381579	261
EAS	14,80263158	180
Nefrología	10,27960526	125
Hematología	5,263157895	64
Medicina	4,605263158	56
SD	4,358552632	53
Neurología	4,029605263	49
P8	4,029605263	49

Emergencia	3,618421053	44
P2	3,289473684	40
MC	3,207236842	39
MB	2,713815789	33
P14N	1,480263158	18
P12	1,233552632	15
P14	0,9046052632	11
DSP	0,8223684211	10
Gastroenterología	0,8223684211	10
MA	0,8223684211	10
P9	0,8223684211	10
UHT	0,8223684211	10
P11	0,7401315789	9
P7	0,7401315789	9
Cardiología	0,6578947368	8
Oftalmología	0,6578947368	8
P16G	0,6578947368	8
P16BP	0,5756578947	7
CTIS2	0,4934210526	6
Dermatología	0,4934210526	6
P10	0,4934210526	6
Box7	0,4111842105	5
ECl	0,4111842105	5
CTI	0,3289473684	4
Endocrinología	0,3289473684	4
P12MB	0,3289473684	4
P14NC	0,3289473684	4
Cirugia Vasc.	0,2467105263	3
Infectología	0,2467105263	3
P14NT	0,2467105263	3
UPS	0,2467105263	3
CENAQUE	0,1644736842	2
Cirugia Vasc.	0,1644736842	2
CTIS4	0,1644736842	2
hemot	0,1644736842	2
Lucha anti BK	0,1644736842	2
ORL	0,1644736842	2

P8CI	0,1644736842	2
UMIC	0,1644736842	2
Urología	0,1644736842	2
P2N	0,08223684211	1
P8MC	0,08223684211	1
P8H	0,08223684211	1
QA	0,08223684211	1
QB	0,08223684211	1
Tórax	0,08223684211	1

Tabla 4. Resultados del test de anticuerpos antifosfolipídicos.

Anticuerpos	Positivo	Negativo	No se solicitó	En punto de corte	Requiere repetir el estudio	Total
IL	97(8%)	846(70%)	211(17%)	59(4%)	3(<1%)	1216
ACA	52(4%)	1003(83%)	161(13%)	0	0	1216
Anti B2GP1	43(4%)	1020(84%)	153(12%)	0	0	1216

Tabla 5. Seroprevalencia según sexo

Seroprevalencia según sexo	Hombres	Mujeres	Total
IL	29(29.9%)	68(70.1%)	97
ACA	4(7.7%)	48(92.3%)	52
Anti B2GP1	6(14.0%)	37(86.0%)	43
Total	39	153	192

Tabla 6. Seroprevalencia según edad.

Seroprevalencia según edad	18-25	26-33	34-41	42-49	50-57	58-65	66-73	74 o más	Total
IL	17	21	10	11	11	12	9	6	97
ACA	12	18	5	6	4	2	4	1	52
Anti B2GP1	10	12	5	4	5	4	2	1	43
Total	39	51	20	21	20	18	15	8	192

Tabla 7. Pacientes positivos según número de anticuerpos

	Frecuencia	Porcentaje
Pacientes positivos para un anticuerpo	112	77
Pacientes positivos para dos anticuerpos	19	13
Pacientes positivos para tres anticuerpos	14	10
Total de pacientes positivos	145	100

Tabla 8. Pacientes positivos para cualquier anticuerpo según sexo.

Pacientes positivos para cualquier anticuerpo segun sexo			
	Hombres	Mujeres	Total
Positivos	35	110	145
Negativos	171	900	1071
Total	206	1010	1216
Proporción	0.16	0.11	0.12

Tabla 9. Solicitudes de testeo por mes entre 2018-2020.

Solicitudes:	
Mes/año	Frecuencia
1/2018	26
2/2018	23
3/2018	32
4/2018	32
5/2018	47
6/2018	29
7/2018	31
8/2018	27
9/2018	39
10/2018	43
11/2018	50
12/2018	44
1/2019	39
2/2019	46
3/2019	42
4/2019	26
5/2019	50
6/2019	44

7/2019	36
8/2019	44
9/2019	37
10/2019	37
11/2019	44
12/2019	40
1/2020	35
2/2020	32
3/2020	24
4/2020	13
5/2020	21
6/2020	33
7/2020	28
8/2020	24
9/2020	23
10/2020	23
11/2020	20
12/2020	32

Cronograma tentativo trimestral.

Marzo-Abril-Mayo

Presentación.

Entrega del plan de trabajo.

Comienzo del marco teórico.

Junio-Julio- Agosto

Entrega del protocolo de investigación

Aval del comité para la recolección de datos.

Avance en marco teórico y metodología.

Recolección de datos.

Comienzo de la tabulación de datos.

Visita presencial al de Patología Clínica sector hematología-citología del Hospital de Clínicas.

Septiembre-Octubre-Noviembre.

Reunión con tutores de métodos.

Procesamiento de datos.

Conclusiones finales.

Entrega final de la investigación