

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA DE IFI-ANA FRENTE EL ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO PARA ANTÍGENOS NUCLEARES EXTRACTABLES (PERFIL ENA)

CHOQUE HUANCA Magda; SOSA TORDOYA Luis F.; PAZ GARCIA Magali N.

Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética. Instituto de Servicios de Diagnóstico e Investigación en Salud.

FCFB - UMSA

La Paz - Bolivia

e-mail. fersosa@cotas.net

RESUMEN

En el presente estudio se ha determinado la sensibilidad y especificidad de los resultados de la prueba de inmunofluorescencia indirecta que mide anticuerpos antinucleares (FANA) frente a los resultados de la prueba de ELISA que evalúa el perfil de anticuerpos anti antígenos nucleares extractables (perfil ENA). La sensibilidad encontrada fue de 70,96%, especificidad 85,87%, valores predictivos positivo y negativo de 77,88% y 80,855 respectivamente. También se determinó el grado de correlación que existe entre los resultados de ambas pruebas, para tal efecto se utilizó el índice de Kappa el cual nos indicó que existe correlación moderada (índice 0,58 $p < 0,005$) entre los resultados emitidos por ambas pruebas. Este hecho es evidente por el número de resultados falsos positivos y falsos negativos por la prueba de FANA que se han obtenido durante las gestiones del 2000 al 2006. Estos resultados nos indican que la prueba de tamizaje FANA debe ser necesariamente acompañada por pruebas de laboratorio de mayor sensibilidad y especificidad como ser perfil ENA, anti ds-DNA, etc. Esto último permitirá una mejor correlación entre el laboratorio y la clínica del paciente.

Palabras clave: Perfil ENA, anticuerpos antinucleares.

ABSTRACT

The present study has determined the sensitivity and specificity of the test results of indirect immunofluorescence that measures antinuclear antibodies (FANA) compared to the results of the ELISA test that measure antibodies anti nuclear

extractable antigens (ENA profile). The sensitivity found was 70.96%, specificity 85.87%, positive and negative predictive values of 77.88% and 80,85% respectively. We also determined the correlation degree between the results of both tests, for this purpose the Kappa index was used, which indicated that there was moderate correlation (index 0,58; $p < 0,005$) between the results emitted by both tests. This fact is evident by the number of false positive and false negative FANA test results that have been obtained among 2000 and 2006. These results indicate that FANA screening test must necessarily be accompanied by laboratory tests of greater sensitivity and specificity, such as ENA profile, anti ds-DNA, etc. The above mentioned will allow for a better correlation between the laboratory and the clinic of patient.

Key words: ENA profile, antinuclear antibodies.

INTRODUCCIÓN

Una de las propiedades fundamentales del sistema inmune es la capacidad de discriminar entre antígenos propios y no propios. Es así que los linfocitos funcionalmente competentes son capaces de reconocer y responder a antígenos extraños, pero no pueden reconocer y/o responder a antígenos propios.¹⁻⁴ Cuando se producen reacciones inmunes contra los antígenos propios se produce patologías conocidas como enfermedades autoinmunes. Estas enfermedades dan lugar a una variedad de signos y síntomas, por tanto se denota una ambigüedad de datos clínicos que puede presentar un paciente al momento de hacer la anamnesis; este hecho motiva a los profesionales de laboratorio a conocer y mejorar eficiencia de los test diagnósticos que oferta como apoyo al clínico.^{5,6}

En medicina se dice que la base de un buen diagnóstico es el estudio clínico; una buena historia clínica nunca podrá ser sustituida por estudios de laboratorio y gabinete, la reumatología no es la excepción. Lamentablemente la mayoría de las enfermedades autoinmunes se caracterizan por presentar un gran número de signos y síntomas, la valoración correcta de los análisis de laboratorio se constituye en una gran ayuda para individualizar algunas entidades. Así como también puede ser causa de errores de diagnóstico cuando los resultados se interpretan mal.⁷⁻¹⁰ En este entendido, es importante para el clínico conocer la sensibilidad y especificidad que tienen las pruebas de laboratorio, además del grado de correlación que tienen las mismas, entre ellas evitando así cometer errores innecesarios al momento de diagnosticar una entidad autoinmune, estos casos se producen comúnmente al diagnosticar Lupus.¹¹⁻¹³ FONOLLOSA y cols^{14,15} en el año 2002, señalaron que la magnitud del título del FANA es irrelevante, ya que pueden ser positivos en muchas otras enfermedades, e incluso hasta en personas sanas. Los pacientes con enfermedades del tejido conectivo tienen, habitualmente, títulos elevados, mientras que en los individuos sanos los títulos son bajos; las cantidades intermedias pueden detectarse en pacientes con conectivopatías, ancianos, embarazadas, enfermos con infecciones crónicas o con neoplasias, y también en los sujetos sanos.

Dos biomarcadores muy útiles y ampliamente solicitados por los médicos son: determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta (FANA) y determinación de antígenos nucleares extractables (perfil ENA). Al momento de hacer la correlación de los resultados en el laboratorio se había visto que en muchos casos no había correlación entre los resultados de las dos pruebas, lo cual nos llevó a hacer la siguiente interrogante: ¿Cuál será el grado de correlación los resultados de la prueba de FANA frente a los resultados del perfil ENA en la población de pacientes atendidos en SELADIS, entre las gestiones 2000 al 2006?. En respuesta a la interrogante, nos propusimos determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba de FANA frente al perfil ENA, determinar el grado de correlación que existe entre ambas.

MÉTODOS

Población de método

Este estudio fue de tipo observacional, descriptivo y se tomó como población en estudio a 301 pacientes que provenían de diferentes centros médicos de la ciudad de La Paz y que acudieron al laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética del instituto SELADIS, durante las gestiones 2000 a 2006, cuyo diagnóstico a descartar eran enfermedades autoinmunes, como ser: lupus, esclerodermia, polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Sjögren y enfermedad mixta del tejido conectivo. Por lo tanto, se incluyeron aquellos pacientes que entre el menú de pruebas solicitadas tenían perfil ENA y FANA, sin importar la edad, sexo y procedencia. El análisis de los resultados se realizó con ayuda del paquete estadístico SPSS 15,0.

RESULTADOS

Para determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba FANA frente a los resultados emitidos por la prueba perfil ENA se tomó como muestra 301 pacientes, de los cuales 124 eran positivos para alguno de los marcadores evaluados por el perfil ENA y 177 eran negativos al perfil ENA.

De los 124 pacientes con ENA positivo, 88 fueron positivos por FANA y 36 fueron falsos negativos, lo cual permitió determinar que la sensibilidad del FANA frente al perfil ENA era del 70,96%.

De los 177 pacientes ENA negativo, 152 fueron negativos por FANA y 25 resultaron ser falsos positivos, por lo tanto, se determinó que el FANA frente al perfil ENA tiene una especificidad del 85,87%, siendo los valores predictivos positivo y negativo de 77, 88% y 80,85% respectivamente. El análisis de la concordancia de los resultados emitidos por ambos métodos mediante el índice de Kappa resultó en un valor de 0,58, lo que según la escala de valores para este índice con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,005$) significa que es moderada.



		Perfil ENA		TOTAL
		Positivo	Negativo	
FANA	Positivo	88	25	113
	Negativo	36	152	188
TOTAL		124	177	301

Tabla 1. Resultados obtenidos por ambos métodos de diagnóstico laboratorial.

También se determinó la sensibilidad que tiene la prueba de FANA frente a cada uno de los marcadores de laboratorio evaluados en el perfil ENA. De los 124 casos positivos para perfil ENA, 25 eran

positivos para Sm, 18 para RNP, 24 para Jo-1, 21 para Scl-70, 28 para SS-A y 8 para SS-B. La sensibilidad encontrada para cada uno de estos marcadores del perfil ENA se muestra en la Tabla 2.

Perfil ENA	FANA			Sensibilidad
	Positivo	Negativo	TOTAL	
Sm	22	3	25	88,22%
RNP	11	7	18	61,11%
Jo-1	16	8	24	66,67%
Scl-70	13	8	21	61,90%
SS-A	20	8	28	71,43%
SS-B	6	2	8	75,00%
TOTAL	88	36	124	70,96%

Tabla 2. Resultados verdaderos positivos y falsos negativos para cada uno de los antígenos nucleares extractables evaluados en el perfil ENA.

Al evaluar cuales son los patrones fluorescentes que se encuentran como característica de cada uno de los marcadores evaluados en el perfil ENA

se encontró que el patrón fluorescente difuso es el más frecuente, exceptuando el antígeno Sm (Smith) en el cual el patrón característico era el periférico.

Perfil ENA	Patrones de FANA			
	Difuso	Periférico	Granular	Nucleolar
Sm	27%	59%	9%	5%
RNP	36%	9%	36%	18%
Jo-1	44%	19%	31%	6%
Scl-70	46%	15%	31%	8%
SS-A	50%	20%	30%	0%
SS-B	67%	0%	33%	0%

Tabla 3. Porcentajes de positividad de FANA encontrados para los distintos patrones fluorescentes frente a los antígenos nucleares extractables evaluados en el perfil ENA.

DISCUSIÓN

La determinación de FANA como prueba de tamizaje para el diagnóstico o descarte de enfermedades autoinmunes es una de las solicitudes más frecuentes realizadas al laboratorio clínico. Sin embargo, estos anticuerpos se presentan en diversas condiciones, sean estas clínicas o no clínicas.¹⁶ Por tanto, es necesario conocer cual es el valor diagnóstico de la prueba de FANA.

En este estudio se ha determinado que el FANA que utiliza como sustrato la línea celular "BHK-21" tiene una sensibilidad del 70,96% y una especificidad del 85,87% frente a los resultados obtenidos por la prueba de ELISA que evalúa al perfil ENA.

En un estudio similar Kokuina y Cols. (17) han determinado que FANA tiene una sensibilidad y una especificidad de 97% y 43% respectivamente.

Campos y Cols.,¹⁸ ha reportado una sensibilidad del 76% para la prueba de FANA con relación a las diferentes enfermedades reumáticas que se evalúan en el perfil ENA.

En la Tabla 2 se muestra la sensibilidad obtenida de la prueba de FANA para cada uno de los antígenos del perfil ENA, se evidencia que para el antígeno Sm se tiene un elevado número de resultados verdaderos positivos (22/25). Similar hallazgo se tiene para el anti SS-B que evalúa la presencia de Síndrome de Sjögren "SS" (6/8), aunque el número de muestras evaluadas para este marcador es estadísticamente bajo.

La sensibilidad conocida del FANA para el SS varía del 40 al 70%. (18-20) Existen diversos estudios que reportan que el patrón fluorescente más encontrado en las enfermedades autoinmunes evaluadas en el perfil ENA es el homogéneo. En nuestro estudio, en el caso particular del anti-Sm fue el patrón fluorescente periférico y para el resto, de los antígenos ENA, el patrón fluorescente más encontrado fue el difuso, seguido por el patrón granular. (Tabla 3).

Un hallazgo importante de mencionar es que en el diagnóstico de rutina del FANA, los patrones fluorescentes van asociados, por lo general se presentan juntos difuso y periférico o difuso y granular, raras veces se ven otras asociaciones de patrones fluorescentes.



También se encontró que en el 83% de los resultados falsos positivos, el patrón fluorescente encontrado correspondía al patrón difuso. El criterio fundamental para el diagnóstico de una patología reumática autoinmune es la valoración clínica, ya que los anticuerpos antinucleares están presentes en muchas condiciones inmunológicas y no cuentan con una sensibilidad y especificidad elevada.

Finalmente, el análisis de correlación de los resultados de la prueba FANA frente al perfil ENA indica que es de nivel moderado, con un índice de kappa de 0,58 ($p < 0,005$), en la tabla 1 se muestra que de 124 muestras positivas al perfil ENA 36 de ellas dieron FANA falso negativo,; y de 177 muestras negativas para perfil ENA 25 dieron Falso positivo por FANA. Estos resultados son diferentes a los reportados por García y cols.,(21) que encontraron un 100% de concordancia entre FANA en el marcador RNP evaluado por ENA. Con los resultados del presente estudio se demuestra que la prueba FANA, por tener una sensibilidad y especificidad limitada, además de una correlación de grado moderado con la prueba perfil ENA, debe ser considerada como prueba de tamizaje, debiéndose acompañar con una prueba de mayor valor diagnóstico (perfil ENA, anti-ds-DNA). El valor que tiene la prueba radica en que la presencia de un determinado patrón fluorescente puede orientar al clínico hacia alguna enfermedad autoinmune.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gutiérrez M. Autoinmunidad y HLA. Rev. Clínica y Reumatología 2004; 19 (6):381-396.
2. Palomo I, Ferreira A, Roseblatt M, Sepúlveda C y Vergara U. (Eds). Fundamentos de Inmunología Básica y Clínica. Editorial Universidad de Talca, 2002.
3. Miret C, Espinosa G, Cervera R, Font J. Lupus Eritematoso Sistémico. Medicina Integral 1997; 29:237-253.
4. Iañez, E. Regulación y Tolerancia. En: Curso De Inmunología General: Autoinmunidad Universidad de Granada-España. 1999.
5. Stites D, Terr A. Inmunología Básica y Clínica. 10 Edición Editorial El Manual Moderno, México DF - 2002.
6. Abbas L. Inmunología Celular y Molecular. Edición. Ed. Saunders-Elsevier. 2004
7. Estadísticas, Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética 2004. Instituto SELADIS-FCFB-UMSA.
8. Kokuina E, Chico K, Estevez M, Perez D, Gutierrez A, Cruz C. Utilización y valor predictivo de la determinación de anticuerpos antinucleares en un Hospital de Referencia Nacional de Salud Rev. Cubana Med. 2006; 45(3).
9. Fonollosa P, Labrador H, Viladerll M. Anticuerpos antinucleares en la Práctica Clínica. Servicio de Medicina Interna Hospital Universitario Vall D'hebron. Barcelona. España. Diciembre 2002. Vol 9 (10). P. 711 - 718.
10. Colica, Maria Victoria. Mecanismos Patogénicos De Autoinmunidad. En: Base Celulares y Moleculares del Sistema Inmune 2005 P. 1-22.
11. Amich S, Salve M, Prieto S. Autoinmunidad. En: Laboratorio de Inmunología . 1 Ed. New Yrk 1994; P.123-144.
12. Cotran S, Kurmar V, Collins T. Patología Estructural y Funcional. 1999. 6 Ed. Madrid.
13. Institut Ferran De Reumatología, Enfermedad Mixta Del Tejido Conectivo 2006. Disponible en: <http://www.emtc.htm>
14. Lupus Eritematoso Sistémico 2000. Disponible en: <http://www.iladiba.com/lupus eritematoso sistémico.htm>
15. Pub Med. Inmunología. Enfermedades autoinmunes sistémicas 2006. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?DB=pubmed>
16. Dra. Elena Kokuina, Dra. Araceli Chico, Dr. Miguel Estévez, Dr. Dionisio Pérez, Dra. Ángela Gutiérrez y Dr. Celso Cruz. Utilización y valor predictivo de la determinación de anticuerpos antinucleares en un Hospital de Referencia Nacional de Salud. Ciudad de la Habana July-Sept. 2006. Rev cubana med ;45 (.3).
17. Marlen Campos , Laura Barzuna, Pedro Carrillo y Carlos Vives. Autoanticuerpos en pacientes con enfermedad autoinmune en el Hospital Nacional de Niños. San José 2002. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) 37 P.1-2.

18. Carlos A. Javier- Zepeda. Anticuerpos Anti nucleares. Una familia diversa. Rev Med Hond 2002; 70. P. 189-193.
19. Pilar Brito M, Manuel Ramos Md, Bove A, Vargas A, et al : Predictors Of Morbity And Mortality In Patients With Syndrome Sjogren´S Prymari Departament Of Autoimmune Disease And Unit Stadistic Of University Of Barcelona. 2006. Estudio Prospectivo De Cohorte. (Tesis Doctoral): Universidad de Barcelona.
20. Solans R, Labrador M, Bosch J. Etiopatogenia Del Síndrome Sjogren. Med Clin (Barc) 2001:116. P. 750-755.
21. Ciudad Luis, García Luis, Huamanchumo Roberto, Soto Cármen, Berrocal Alfredo y Calvo Armando. Enfermedad mixta de Tejido Conectivo en el Hospital Nacional Cayetano Heredia. Med Clin 2002:11, P. 125-129.

