



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO

**“CONCORDANCIA ENTRE DOS TÉCNICAS PARA LA DETECCIÓN
DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN MUESTRAS DE SUERO
EVALUADAS EN EL HOSPITAL AUGUSTO HERNANDEZ
MENDOZA DEL DISTRITO DE ICA DURANTE EL MES DE
NOVIEMBRE DEL AÑO 2015”**

AUTOR: LIZETH ROCIO CABRERA ALEJOS

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO**

ASESOR: LIC. JAIME ROSALES RIMACHE

**ICA- PERÚ
2016**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, a mis padres por su apoyo, su amor y comprensión que permanentemente me hacen sentir. Para ser profesional de bien y servir a la sociedad

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, MI MADRE, MIS PADRINOS, MI FAMILIA Y A TODAS LAS PERSONAS QUE ME APOYARON EN ESTA LARGA CARRERA, EN MI FORMACION PERSONAL Y PROFESIONAL.

RESUMEN

Objetivos. Evaluar la concordancia entre la prueba de IFI y ELISA en la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández Mendoza de Ica durante el mes de noviembre del año 2015. **Materiales y métodos.** Se diseñó un estudio observacional, analítico, prospectivo y de corte transversal, en el cual se evaluaron 112 muestras de suero criopreservadas a -80°C y que previamente fueron testeadas por la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos antinucleares, y que fueron reevaluadas por la prueba de inmunofluorescencia indirecta. **Resultados.** El 29.5% de los sueros evaluados tuvieron reacción positiva para la presencia de anticuerpos antinucleares por la prueba de ELISA, mientras que el 53.6% fueron positivos para la prueba de IFI. Al análisis de asociación, se observaron que los resultados entre ambas pruebas tuvieron diferencias estadísticamente muy significativas ($p < 0.001$; chi cuadrado a un nivel de confianza del 95%), mientras que la correlación entre las mismas fue de 0.602. El análisis de concordancia entre ambas pruebas fue del 53.2%, el cual es un valor moderado. Por otra parte, se evaluó la performance de la prueba de ELISA comparado con la IFI, obteniéndose una especificidad y sensibilidad del 100%, y 55% respectivamente y, valor predictivo positivo y negativo de 100% y 65.8% respectivamente. **Conclusiones.** La prueba de ELISA tiene un nivel de concordancia moderada con respecto a la prueba de IFI en la detección de anticuerpos antinucleares.

Palabras clave: *Concordancia, Anticuerpos antinucleares, ELISA, IFI*

ABSTRACT

Objectives. To evaluate the correlation between ELISA and IFA test in the determination of antinuclear antibodies in serum samples evaluated in the Augusto Hernandez Mendoza Ica Hospital during November 2015. **Materials and methods.** An observational, analytical, prospective and cross-sectional study in which 112 serum samples cryopreserved at -70°C and were previously tested by ELISA for the detection of antinuclear antibodies were evaluated, and were reevaluated designed by indirect immunofluorescence test. **Results.** 29.5% of the sera tested were positive reaction for the presence of antinuclear antibodies by ELISA, while 53.6% were positive for the IFA test. The association analysis, they found that the results of both tests were statistically highly significant ($p < 0.001$; chi square with a confidence level of 95%), whereas the correlation between them was 0.602. The analysis of concordance between the two tests was 53.2%, which is a moderate value. Moreover, the performance of the ELISA compared to the IFI was evaluated, yielding a specificity and sensitivity of 100% and 55% respectively, positive and negative predictive value of 100% and 65.8% respectively. **Conclusions.** ELISA has a moderate level of agreement regarding the IFA test for the detection of antinuclear antibodies.

Key words: *Concordance, antinuclear antibodies, ELISA, IFI.*

TABLA DE CONTENIDOS

Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Tabla de contenidos	v
Listado de tablas	vii
Abreviaturas	viii
Introducción	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	3
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Delimitación de la investigación	5
1.3. Formulación del problema	5
1.4. Objetivo de la investigación	6
1.5. Hipótesis de la investigación	7
1.6. Variables e indicadores	8
1.7. Justificación e importancia de la investigación	8
1.8. Diseño de la investigación	9
1.9. Población y muestra de la investigación	10
1.10. Técnicas para el procesamiento y análisis de los datos	12
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	15
2.1. Antecedentes de la investigación	15
2.2. Bases teóricas	16
CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	30
3.1. Resultados	30
3.2. Discusión de resultados	35
3.3. Conclusiones	39
3.4. Recomendaciones	40

BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	42
Anexo 01: Operacionalización de variables	43
Anexo 02: Matriz de consistencia	44
Anexo 03: Ficha de recolección de datos	46
Anexo 07: Tablas	47

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 01. Resultados de la prueba de ELISA	70
Tabla 02. Resultados de la prueba de IFI	70
Tabla 03. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón de plasma nuclear	71
	71
Tabla 04. Resultados de la prueba de IFI – según patrón de plasma nuclear	71
	71
Tabla 05. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón nucleolar	72
	72
Tabla 06. Resultados de la prueba de IFI –según patrón nucleolar	72
	72
Tabla 07. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón de huso mitótico	72
	72
Tabla 08. Resultados de la prueba de IFI –según patrón de huso mitótico	73
	73
Tabla 09. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón citoplasmático	73
	73
Tabla 10. Resultados de la prueba de IFI –según patrón citoplasmático	73
	73
Tabla 11. Pruebas de normalidad	74
	74
Tabla 12. Contingencia Resultado_ELISA * Resultado_IFI	74
	74
Tabla 13. Pruebas de chi-cuadrado	74
	74
Tabla 14. Medidas simétricas	75
	75
Tabla 15. Capacidad predictiva de la prueba de ELISA vs IFI	75
	75

LISTADO DE ABREVIATURAS

- ❖ **ANA:** Anticuerpos antinucleares
- ❖ **ELISA:** Inmunoensayo ligado a enzima
- ❖ **IFI:** Inmunofluorescencia indirecta
- ❖ **LES:** Lupus eritematoso sistémica
- ❖ **DS:** Desviación estándar
- ❖ **K:** Índice Kappa
- ❖ **r:** Coeficiente de correlación de Pearson
- ❖ **p:** Probabilidad

INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos antinucleares son anticuerpos que están dirigidos contra antígenos propios de la célula , estos antígenos pueden ser de origen nuclear o citoplasmático razón por la cual muchos de los investigadores han planteado que el nombre de los anticuerpos antinucleares debe ser cambiado por anticuerpos anticelulares, esto indica que desde sus inicios los anticuerpos antinucleares ha sido un tema controversial tal es así que en la actualidad se pueden usar dos métodos diferentes para su screening.

Por un lado tenemos a la Inmunofluorescencia que destaca por su alta sensibilidad y por el otro lado el ELISA cuya fortaleza es la especificidad.

Muchos opinan que la determinación de estos anticuerpos antinucleares debería empezar por la inmunofluorescencia, mientras que otros ponen al ELISA como prueba de monitoreo.

Esta investigación pretende comparar los resultados obtenidos en los diferentes métodos y de esta forma determinar que metodología es la más indicada para ser usada como monitoreo en estos tipos de anticuerpos.

El siguiente trabajo de investigación estará dividido en V capítulos. En el capítulo I se mencionará el planteamiento del problema que es la concordancia en la determinación de anticuerpos antinucleares en los resultados de inmunofluorescencia y ELISA en los pacientes del Hospital Augusto Hernández Mendoza del año 2015.

El plan de la investigación está estructurado en cinco capítulos:

El primer capítulo: planteamiento del problema, donde se aborda la descripción del problema, las delimitaciones, formulación y justificación de la investigación, así

como los objetivos de la misma. El segundo capítulo está dedicado al desarrollo de los antecedentes y las bases teóricas que sustentan el trabajo. En el tercer capítulo se plantean la hipótesis y se operacionalizan las variables. A continuación se desarrolla el cuarto capítulo que describe la metodología del plan de tesis. Finalmente se consigna el quinto capítulo sobre la administración del siguiente proyecto de investigación y la bibliografía consultada.

Esta investigación será de tipo descriptivo comparativo, este diseño parte de la consideración de dos o más investigaciones descriptivas simples, en la cual se recolecta información relevante con respecto a un mismo fenómeno y luego comparar los datos recogidos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

En la determinación de anticuerpos antinucleares los métodos de inmunofluorescencia son los que manejan mejor la característica de sensibilidad tal es así que con este método la sensibilidad alcanzada es del 100% teniendo en cuenta que dentro de ellos también podemos encontrar resultados falsos positivos, lo que ocurre menos con la metodología de ELISA, pero el inconveniente de este último es que la sensibilidad no llega al 100% y deja escapar algunos verdaderos positivos.

Una de las ventajas de la inmunofluorescencia sobre los ELISAs es que los antígenos además de estar en su estado nativo se encuentran en mayor cantidad y variedad debido a que las células se encuentran

en diferentes fases de división celular incluyendo la interfase, lo que no se obtiene con los ELISA en el cual los antígenos son péptidos sintéticos y se encuentran en cantidad limitada y solo con una variedad de 10 antígenos.

Si bien es cierto la inmunofluorescencia presenta buena sensibilidad para el monitoreo de anticuerpos antinucleares su especificidad es menor comparada a los métodos de ELISA, además el costo por prueba es menor con esta última metodología.

En diferentes centros hospitalarios se emplean diferentes métodos de monitoreo para la determinación de anticuerpos antinucleares sin que exista un protocolo definido en el inicio del estudio de estos anticuerpos.

Los anticuerpos antinucleares (ANAs) son anticuerpos producidos por el organismo que en lugar de estar dirigidos al bloqueo de bacterias, parásitos, hongos o virus como el resto de los anticuerpos, lo hacen contra nuestros propios tejidos por lo que genéricamente se les denomina autoanticuerpos. Están específicamente dirigidos contra antígenos del núcleo y citoplasma. Aisladamente, sin la compañía de algún síntoma, los ANAs no son diagnósticos de ninguna enfermedad. Sin embargo, en compañía de síntomas clínicos o analíticos, su positividad colabora al diagnóstico de ciertas enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, el síndrome Sjögren, la esclerodermia, la polimiositis, la enfermedad mixta del tejido conectivo y la artritis reumatoide. Ante la detección de ANAs positivos es esencial la valoración especializada por un reumatólogo.

Hoy en día no se cuenta con un protocolo adecuado para la determinación de anticuerpos antinucleares por eso se ve la necesidad de plantear un estudio de concordancia.

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. Delimitación Social

El estudio se realizó sobre el análisis de muestras de suero criopreservadas (-80°C), para la identificación de anticuerpos antinucleares por las técnicas de Inmunofluorescencia indirecta y ELISA.

1.2.2. Delimitación Espacial

El ámbito formal del estudio para realizar la ejecución del mismo, fue en el área de inmunología del laboratorio clínico del Hospital Augusto Hernández Mendoza del Distrito de Ica

1.2.3. Delimitación Temporal

Según el tiempo del estudio, la ejecución del trabajo de investigación se realizó durante el mes de noviembre del año 2015.

1.2.4. Delimitación contextual

El área general del conocimiento corresponde al campo de Ciencias de la Salud, y se enmarcó en el área de inmunología, delimitándose en la línea de investigación asociado a enfermedades autoinmunes.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1. Problema principal

¿Cuál es la concordancia entre la prueba de IFI y ELISA en la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández de Ica durante el mes de Noviembre del año 2015?

1.3.2. Problemas secundarios

¿Cuál es la sensibilidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?

¿Cuál es la especificidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?

¿Cuál es el valor predictivo positivo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?

¿Cuál es el valor predictivo negativo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar la concordancia entre la prueba de IFI y ELISA en la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández Mendoza de Ica durante el mes de noviembre del año 2015.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la sensibilidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero

- Determinar la especificidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero
- Determinar el valor predictivo positivo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero
- Determinar el valor predictivo negativo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero

1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1. Hipótesis general

El método de ELISA tiene concordancia estadísticamente significativa con el método IFI, en relación a los resultados obtenidos en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández de Ica en el año 2015.

1.5.2. Hipótesis específicas

- La sensibilidad del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero.
- La especificidad del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero
- El valor predictivo positivo del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero

- El valor predictivo negativo del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero

1.6. VARIABLES

1.6.1. Variable independiente

Anticuerpos Antinucleares

- Detección mediante IFI
- Detección mediante ELISA

1.6.2. Operacionalización de variables.

De acuerdo al estudio planteado y a la identificación de las variables, para cada una de éstas se han determinado sus indicadores. **Ver Anexo 01.**

1.7. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Considerando que en los actuales algoritmos para el diagnóstico de algunas enfermedades autoinmunes tales como enfermedades mixtas del tejido conectivo, esclerodermia, síndrome de Sjorgen, polimiositis y dermatomiositis, entre otros, requieren de los resultados de las pruebas de Inmunofluorescencia indirecta para la valoración de los anticuerpos antinucleares (ANA). Sin embargo, esta técnica requiere de equipamiento e insumos que en muchas oportunidades no están al alcance de los establecimientos de salud, salvo excepción en algunos de nivel IV. Por ende, es importante contar con métodos que permitan servir de tamizaje o monitoreo para la valoración de los ANA de forma rápida y confiable. La prueba de ELISA para cualificar ANA es una opción interesante a considerar, pero para ello hay que demostrar estadísticamente su concordancia con la prueba estándar de oro como es la IFI, y además evaluar que no existan diferencias significativas en los resultados obtenidos tanto para muestras positivas como negativas.

1.8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1.8.1. Tipo de investigación

– **Según la manipulación de la variable**

Estudio observacional: Implica que no hubo manipulación de la variable independiente. Se diseñó un estudio donde se observó los resultados obtenidos por 2 técnicas para la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero, y se evaluó si existe concordancia entre ellos sin diferencias significativas.

– **Según la fuente de toma de datos**

Prospectivo: La fuente de recolección de datos se realizó durante el mes de noviembre sobre muestras de suero que previamente ya han sido evaluadas por el método ELISA durante todo el año 2015 y que han sido criopreservadas en el laboratorio. Dichas muestras fueron atemperadas para realizar los ensayos de IFI para la detección de anticuerpos antinucleares.

– **Según el número de mediciones**

Transversal: Las variables fueron medidas en una ocasión, empleando 2 técnicas para valorar anticuerpos antinucleares.

– **Según el número de variables o analizar**

Analítica: Debido a que las variables fueron sometidas a un análisis univariado (Para definir su distribución de resultados mediante el análisis de medidas de tendencia central y percentiles) y bivariado (Mediante la prueba de concordancia kappa y de contraste de hipótesis entre los resultados obtenidos por las 2 técnicas) en el Hospital Augusto Hernández Mendoza del Distrito de Ica, durante el mes de noviembre del año 2015.

1.8.2. Nivel de Investigación

Nivel Analítico: Con el objetivo de establecer la concordancia y contrastar diferencias estadísticamente significativas entre dos métodos para la valoración de anticuerpos antinucleares.

1.8.3. Diseño:

Se ha diseñado un estudio observacional, analítico, prospectivo y de corte transversal.

1.9. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.9.1. Población

Definición del Universo:

Estará constituido por todas las muestras de suero criopreservadas durante el año 2015 y evaluadas previamente mediante la técnica ELISA para la determinación de anticuerpos antinucleares, en el área de inmunología del laboratorio clínico del Hospital Augusto Hernández Mendoza del Distrito de Ica.

Criterios de Exclusión:

- Sueros contaminados o que no se encontraran en buenas condiciones de almacenamiento, como viales abiertos, con presencia de turbidez o que hubiesen sido descongelados previamente. etc.;
- Viales con cantidades inferiores a lo requerido para el ensayo IFI.
- Viales con identificación inadecuada, y viales que habían sido utilizados como sueros controles (positivos y negativos) para la técnica de IFI.
- Sueros de pacientes menores a 18 años de edad y que no pertenezcan al Hospital Augusto Hernández Mendoza.

1.9.2. Técnica de muestreo

Determinación del tamaño de la muestra

El muestreo será aleatorio simple probabilístico y estará supeditado a completar con la muestra obtenida mediante el siguiente cálculo estadístico:

Estime o determine los valores siguientes :			Estimado
1. Margen de error deseado para estimar la media:	ξ	=====>	0.05
2. Varianza estimada para la variables en estudio:	σ^2	=====>	0.1
3. Tamaño de la Población:	N	=====>	400
4. Nivel de Confianza :	(1- α)	=====>	95%
Información de resultados y verificación:			
Valor de Z para el Nivel de Confianza elegido	$Z(1-\alpha/2)$		1.960
Valor del margen de error deseado:			0.05
Varianza en la variable en estudio			0.100
Tamaño de muestra preliminar (n')			
Tamaño de muestra preliminar :	$n' = Z^2(1-\alpha/2) \sigma^2 / \xi^2$		154
Tamaño de muestra definitivo al conocer el tamaño de la población: (N)			
Tamaño de muestra definitivo :	$n = n' / [1 + n'/N]$		112

Por ende se evaluarán **112 muestras de suero** que serán escogidos de manera aleatoria de la seroteca del área de inmunología del Laboratorio Clínico del Hospital Augusto Hernández Mendoza del Distrito de Ica.

Los datos obtenidos de las pruebas de ELISA e IFI en la determinación de anticuerpos antinucleares en suero, se ingresarán a una base de datos usando el paquete estadístico “IBM SPSS Versión 19.0”.

Elección de los miembros de la muestra

La selección de las muestras de suero será basada en los criterios de elegibilidad y condiciones pre-analíticas requeridas para cada ensayo.

1.10. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1.10.1. Instrumentos

IFI: Es un ensayo de inmunofluorescencia indirecta destinado a detectar autoanticuerpos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos en suero humano. La prueba sirve para el diagnóstico diferencial de enfermedades reumáticas sistémicas como el lupus eritematoso sistémico, enfermedades mixtas del tejido conectivo, esclerodermia, síndrome de Sjorgen, polimiositis y dermatomiositis. Esta prueba será realizada según lo indicado en el inserto de trabajo para la marca AESKI.DIAGNOSTICS, el cual emplea el método AESKUSLIDES ANA-HEp-2. La lectura de los IFI se realizarán en el microscopio de fluorescencia marca olympus modelo cx41. (Web: <http://www.aesku.com/index.php/aeskuslides/aeskuslides-autoimmunity/aeskuslides-ana-hep-2-cells>)

ELISA: Es un inmunoensayo en fase sólida para la detección cualitativa y combinada de anticuerpos Ig G contra células HEp2 en suero humano. Cada pocillo está revestido con células HEp2 lisadas. El test detecta de modo colectivo, en cada pocillo, los ANA totales contra el ADN de doble cadena (dsDNA), histonas, SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, snRNP/Sm, Scl-70, PM-Scl, Jo-1 y antígenos centroméricos junto con sueros positivos para el test de IFI con HEp2. Esta prueba será realizada según lo indicado en el inserto de trabajo para la marca AESKI.DIAGNOSTICS, el cual emplea el método AESKULISA ANA-HEp-2. La lectura de los ELISA se realizará en un lector marca sunrise – tecan. (Web: <http://www.aesku.com/index.php/aeskulisa/aeskulisa-autoimmunity/aeskulisa-rheumatology/41-aeskulnisa-3115-ana-hep2>)

1.10.2. Técnicas para el procesamiento y análisis de los datos

Las técnicas para el procesamiento de datos comprendieron las siguientes etapas:

Obtención de datos

Fueron obtenidos a partir del llenado de la ficha de recolección de datos durante el muestreo microbiológico, y después de haber concluido con el cultivo microbiológico primario y secundario para el aislamiento e identificación de los microorganismos; las cuales también fueron registrados en la ficha indicada.

Clasificación de datos

En esta etapa se dio inicio al procesamiento de los datos con el propósito de crear la base de datos en un paquete estadístico a fin de facilitar su análisis, el procedimiento tuvo carácter exhaustivo y excluyente para discriminar datos incongruentes e incompletos. Cabe señalar que de acuerdo a los resultados de la prueba IFI, estos fueron clasificados como positivos (títulos $> 1/80$) y negativos (título $< 1/80$); y del mismo modo para la prueba de ELISA, donde fueron clasificados como negativos (< 0.9), indeterminados ($0.9-1.1$) y positivos (> 1.1).

Codificación

Se procedió asignar o conceder valores a las categorías que se pueden tener, para poder otorgar un puntaje a cada variable y facilitar la descripción correspondiente. Esta codificación estuvo incluida en la ficha de recolección de datos, así como en la base de datos del paquete estadístico.

Tabulación de datos

La información fue ingresada en el paquete estadístico SPSS versión 19, en columna las variables y en filas los casos con el propósito de consolidar y totalizar en cifras a los resultados obtenidos, y generar

información a través de los valores representativos y de estas el conocimiento para facilitar su posterior análisis e interpretación.

a. Técnicas de análisis e interpretación de datos

En esta parte se realizó un análisis univariado para las variables edad y sexo a fin de conocer el comportamiento de su distribución.

- Para variables categóricas (como los resultados de la proteinuria) se describieron en frecuencia absoluta (N) y frecuencia relativa (%).
- Los gráficos fueron de sectores si son menos de cuatro categorías y en barras si estas superan las cuatro categorías.
- Para variables numéricas se describieron con medidas de tendencia central (media, mediana, moda y cuartiles) y la dispersión (desviación estándar y distribución por percentiles en los puntos 25, 50 y 75 con un intervalo de confianza al 95%), siempre y cuando la variable siga distribución normal la misma que se verificará empleando la prueba estadística de Shapiro-Wilk ó Kolmogorov-Smirnov.
- Los gráficos según se trate la escala de medición fueron en histogramas, diagrama de caja y bigotes, barras.
- El análisis de concordancia y discordancia se realizará mediante la evaluación del índice kappa considerando como significativo una $p < 0.05$.
- El análisis de asociación entre las variables dependientes e independientes para el caso de las variables categóricas (nominales y ordinales) será evaluado por la prueba del Chi cuadrado (Paramétrica o no paramétrica, dependiendo de la distribución normal de los datos).
- El análisis de los datos permitió recoger información en el visor de resultados del paquete estadístico IBM SPSS versión 19, la misma que se exportó a una hoja de Word para darle el formato de redacción científica a los cuadros que luego se trasladó a una hoja Excel para la construcción final de los gráficos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

“Patricia Benítez et al (2011) realizaron una investigación que tuvo por objetivo evaluar el desempeño de un LIA comercial en el suero de pacientes y compararlo con la determinación de anticuerpos antinucleares por IF” y “describir del perfil de los autoanticuerpos detectados por las dos pruebas”. Seleccionaron 72 pacientes consecutivos, con sospecha de enfermedad autoinmune. Las muestras fueron procesadas de forma paralela por ambos métodos, el inmunoensayo en línea (LIA) y el método tradicional de inmunofluorescencia indirecta, y posteriormente se buscó si había concordancia entre los resultados obtenidos en ambas pruebas. Se concluyó que hubo baja concordancia entre las dos pruebas, menor

que la reportada en la literatura (90%), el cual pudo deberse a la baja probabilidad pre-test de los pacientes incluidos para el estudio.”

“Jiménez et al (2010) valoraron la concordancia de los resultados entre los métodos IFI y ELISA, así como la sensibilidad y especificidad de estos en la determinación de los ANAs. La población estuvo conformada por 144 pacientes a los cuales se les tomo muestras de sangre para hallar la determinación de anticuerpos antinucleares en el suero. Para el método de inmunofluorescencia se trabajó con una dilución inicial del suero de 1/80, y para el ELISA se trabajó con suero sin dilución. Los análisis estadísticos se realizaron a través de comparación de los resultados por el método Kappa y se aplicaron fórmulas para hallar la sensibilidad y especificidad en cada método. Se concluye que los resultados del índice Kappa indican un alto grado de concordancia moderado que garantiza la implantación del cribado de ANA por ELISA en nuestra rutina en combinación con el método de IFI. El método de IFI es más sensible pero menos específico que el ELISA. El método de ELISA es más específico si queremos descartar la presencia o no de conectivopatías al detectar un elevado número de verdaderos negativos y con una sensibilidad aceptable.”

2.2. BASES TEÓRICAS

2.1.1. Anticuerpos antinucleares (ANAs)

Los ANA son inmunoglobulinas que reaccionan contra diferentes componentes autólogos nucleares (v. g. ADNcd, SSA/Ro, proteínas del centrómero, etc.) y citoplásmicos (v. g. aminoacilRNAsintetasa o Jo-1, mitocondrias, etc.). Estos últimos, no obstante, son antígenos citoplásmicos y los anticuerpos que los reconocen son referidos también como ANAs. Si bien existe controversia en relación a si es correcto o no llamar a los patrones citoplásmicos como ANA para simplificar la forma de referirse a los autoanticuerpos que reconocen

antígenos ubicuos del núcleo o citoplasma sin importar su ubicación, nos referiremos a ellos como ANA. Existe una propuesta interesante que sugiere que se llamen anticuerpos «anticelulares» (Dr. Ignacio García de la Torre, comunicación personal, Jornadas Médicas de Actualización en Enfermedades Autoinmunes, junio de 2009, México DF), pero requiere ser aceptado en consenso internacional. Desde la perspectiva de laboratorio, los anticuerpos que reconocen antígenos en ambos compartimentos son detectados en un solo sustrato antigénico (células HEp-2) y ambos se reportan como ANA (patrón nuclear y citoplásmico).

Por otra parte, la identificación de los antígenos reconocidos por los ANA fue originalmente estudiada purificando proteínas nucleares mediante técnicas de extracción con soluciones salinas; de ahí surgió el nombre de antígenos extraíbles del núcleo o mejor conocidos como ENA (del inglés, extractable nuclear antigens), de los cuales existen más de 100 antígenos conocidos. Sin embargo, los más estudiados y mejor caracterizados son: SSA/SSB, RNP-U1/Sm, Sm, Scl70 y Jo-1.

Las enfermedades autoinmunes son un grupo de desórdenes ocasionados por un mal funcionamiento del sistema inmunológico, haciendo que las proteínas que se encargan de nuestras defensas reaccionen contra tejidos del propio individuo.

“La autoinmunidad es una condición de respuesta inmunológica anómala frente a uno o varios antígenos propios. Se caracteriza por una pérdida de tolerancia inmune. Una respuesta autoinmune persistente desencadena una lesión tisular y alteración de la homeostasis que da lugar a la enfermedad autoinmune. Mientras la autoinmunidad es un fenómeno fisiológico, la enfermedad autoinmune es un síndrome clínico, caracterizado por la activación de las células de T o de las células de B, o ambas, que conducen a daño tisular (patología)”¹.

Estas enfermedades se pueden dividir en dos grupos generales:

- Órgano específico; donde los anticuerpos atacan específicamente a un órgano
- Órgano no específico (o sistémico); donde los anticuerpos atacan múltiples órganos o sistemas.

Estas enfermedades autoinmunes si bien es cierto tiene una prevalencia del 5% de la población general, en los últimos años se ha ido ligeramente incrementando posiblemente a factores como el continuo estrés, la contaminación ambiental entre otros.

La importancia y complicación en el estado del paciente que la padece hace que los métodos de determinación de estos anticuerpos sean cada vez más sencillos aunque no necesariamente económicos, por lo tanto elaborar un conjunto de pasos y procedimientos que deben seguirse ordenadamente hacen que los resultados en la investigación sean eficientes y ayuden al clínico en el diagnóstico final. “Bajo la denominación genérica de Anticuerpos Antinucleares ó ANA se agrupan los autoanticuerpos dirigidos frente a antígenos del núcleo celular, aunque con la misma denominación se definen con frecuencia a algunos que reconocen antígenos de localización citoplasmática, agrupados en los antígenos extraíbles del núcleo (ENA)”¹.

Los anticuerpos antinucleares (ANA) se presentan en muchas enfermedades reumáticas, y su determinación proporciona una valiosa información sobre su patogenia, clasificación, actividad del proceso, evolución y pronóstico. Para la detección de ANA hay muchas pruebas sensibles, reproducibles y cuantitativas (doble difusión, hemaglutinación, ELISA, RIA) pero las más usada es la inmunofluorescencia indirecta. La determinación de anticuerpos antinucleares (ANA) por inmunofluorescencia es una técnica cuantitativa y sensible, que hoy en día es el método más utilizado para

detectar anticuerpos contra antígenos tisulares por inmunofluorescencia indirecta².

En inmunofluorescencia indirecta se detectan más de 60 antígenos nucleares y citoplasmáticos, pero se requiere de ciertas técnicas para que el estudio sea específico. Según Bielsa Masdeu A. Algunos laboratorios de diagnóstico utilizan como la única técnica de monitoreo a ELISA con sólo 5 a 10 antígenos, los cuales van a variar según la casa comercial, que además disponen de varios kits con diferentes autoanticuerpos. "Se ha de insistir en que sólo cabe afirmar que un suero no tiene anticuerpos anti-nucleares cuando ha sido analizado con técnicas que utilicen núcleos, entre las que la IFI sigue siendo la referencia"¹.

No es una enfermedad rara pero afecta primordialmente a mujeres en edad reproductiva, su causa es desconocida y multifactorial.

Las manifestaciones clínicas son variables entre ellas tenemos:

- Compromiso del estado general como piel, articulaciones, riñones, pulmones, etc. Puede afectar cualquier órgano pero eso varía de paciente a paciente.
- Complicaciones derivadas del tratamiento inmunosupresor: mayor susceptibilidad a infecciones⁴.

Para ciertas enfermedades autoinmunes hay patrones que me van a guiar el tipo de enfermedad.

La asociación de muchos autoanticuerpos en un mismo paciente afecta al patrón de IFI según los antígenos reconocidos y el título de cada uno de ellos.

"Los Ac anti-Ro, anti-DNAse y anti-sintetasas pueden ser negativos en algunos sustratos, de forma que una IFI negativa podría ser un falso negativo. En tales circunstancias, conviene proseguir la búsqueda de

ANA por las posibles implicaciones diagnósticas (criterio de LES, HAI) y clínicas (bloqueo cardiaco congénito en el caso del anti-Ro, síndrome antisintetasa en el caso de anti-Jo1) que puede conllevar”¹.

Otra técnica utilizada para la detección de ANA es el ELISA, en el cual las placas de poliestireno son recubiertas con macerados (principalmente núcleos) de las líneas celulares HEp-2 o HeLa. En este caso, la especificidad es mínima ya que si se obtiene un resultado positivo no se sabe el o los autoantígenos que están dando la positividad o reactividad. Por el contrario, los patrones obtenidos en células HEp-2 permiten sospechar la especificidad de los ANA. Por ejemplo, el patrón homogéneo sugiere reactividad contra antígenos de la cromatina (nucleosomas, ADNcd, ADNcs y/o histonas); el patrón centromérico sugiere reactividad contra las proteínas del centrómero CENP-A, CENP-B, CENP-C, etc.

Es importante resaltar que en los ELISA de tercera y cuarta generación, las placas están sensibilizadas con antígenos purificados o recombinantes. Estos últimos presentan un reducido número de epítomos. Lo anterior implica que se debe ser muy cauto al interpretar los resultados del tamizado inicial y en la confirmación mediante otras técnicas más sensibles y específicas. Un ejemplo de lo anterior es cuando el suero de un paciente da un patrón centromérico mediante IFI en células HEp-2 y el ELISA que detecta actividad anti-CENP-B resulta negativo. Lo anterior se explica porque en las células HEp-2 están presentes todos los antígenos que componen los centrómeros (CENP-A, B, C, D, E y F) y en el ELISA el único antígeno que está presente es la proteína CENP-B”⁵.

“Solid phase ELISA is the most widely used test to detect dsDNA antibodies. It is cheap, easily automated and is quantifiable.”⁶

2.1.1.1. Clasificación de los ANA

En circulación pueden estar presentes tres tipos de ANA. Uno de ellos está presente en todos los individuos a títulos relativamente bajos y forman parte del repertorio de los ANA naturales. Por ello, es importante establecer valores de referencia ajustados a las poblaciones étnicas que los van a usar como referencia. En un trabajo realizado en el 2005 mostramos la importancia de establecer los valores normales de ANA tomando en cuenta el grupo étnico, el patrón observado y los títulos de los anticuerpos. Un segundo tipo de ANA son los que se producen como resultado de procesos infecciosos. En este sentido, los ANA cuyo origen son los procesos infecciosos no se asocian a manifestaciones clínicas de enfermedad autoinmune y sus títulos bajan en cuanto se resuelve el proceso infeccioso que les dio origen. El tercer tipo es el de los ANA autoinmunes, los cuales reflejan la pérdida de la tolerancia inmunológica y su origen es multifactorial. Su producción depende de carga genética, medio ambiente, cambios hormonales, etc.

2.1.1.2. Técnicas utilizadas para la detección de ANA

El sustrato utilizado para la detección de los ANA es muy importante, ya que existen antígenos cuya concentración en las células de los tejidos es muy baja en contraste con lo que sucede en las células HEp-2, que por ser una línea celular epitelial su concentración está aumentada. Otra característica de estas células es que tienen más de 46 cromosomas, más de dos nucléolos y, por ser células muy activas metabólicamente, tienen una gran cantidad de mitocondrias. Sin embargo, es importante confirmar la especificidad de los autoanticuerpos detectados mediante ELISA, EIT o técnicas con sensibilidad y especificidad similar o mayores.

Otra técnica utilizada para la detección de ANA es el ELISA, en el cual las placas de poliestireno son recubiertas con macerados (principalmente núcleos) de las líneas celulares HEp-2 o HeLa. En este

caso, la especificidad es mínima ya que si se obtiene un resultado positivo no se sabe el o los autoantígenos que están dando la positividad o reactividad. Por el contrario, los patrones obtenidos en células HEp-2 permiten sospechar la especificidad de los ANA. Por ejemplo, el patrón homogéneo sugiere reactividad contra antígenos de la cromatina (nucleosomas, ADNcd, ADNcs y/o histonas); el patrón centromérico sugiere reactividad contra las proteínas del centrómero CENP-A, CENP-B, CENP-C, etc.

2.1.1.3. Utilidad clínica de los ANA

La determinación de estos autoanticuerpos es muy útil e importante en las enfermedades reumáticas sistémicas autoinmunes, por lo cual los médicos utilizan la prueba de ANA para evaluar la probabilidad que un paciente determinado tiene algún tipo de enfermedad autoinmune. Dentro del grupo de estas enfermedades tenemos:

- Lupus Eritematoso Sistémico
- Síndrome de Sjögren
- Esclerosis Sistémica (incluyendo el Síndrome de Crest)
- Polimiosistis
- Dermatomiositis
- Artritis Reumatoide

Se debe tener en cuenta que uno de los problemas con ANAs es que más del 20% de la población tiene títulos medios o bajos de anticuerpos antinucleares (es decir, 1:40 - 1:400), particularmente las personas mayores de 50 años. “Es importante tener en cuenta que los anticuerpos antinucleares se encuentran positivos en cerca del 45% de la población normal, por ello los resultados se deben correlacionar con el cuadro clínico del paciente ya que por sí solos no constituyen diagnóstico”¹

Estos anticuerpos también pueden aparecer de forma transitoria después de una enfermedad, pero suelen desaparecer después de resolverse el problema.

La prueba de anticuerpos antinucleares (ANA) es un examen utilizado para detectar la presencia de autoanticuerpos que se dirigen hacia los antígenos ubicados en el núcleo o citoplasma de la célula. Los resultados de la prueba de ANA por sí sola no son diagnóstico de una enfermedad autoinmune, para esto el paciente también debe tener la evidencia clínica de la enfermedad. Debido a que muchos de los síntomas en un estadio temprano de las enfermedades autoinmunes son inespecíficos, los resultados de la prueba de ANA y el posterior seguimiento de las pruebas son piezas claves para hacer el diagnóstico correcto.

2.1.1.4. Enfermedades Reumáticas Sistémicas Autoinmunes

2.1.1.4.1. Lupus Eritematoso Sistémico:

Enfermedad sistémica que se caracteriza por la asociación de alteraciones inmunológicas con cambios anatomopatológicos que afectan varios órganos. Las principales características se refieren al exantema y la artritis, así como alteraciones renales, pulmonares, cardiacas y neurológicas. Se detectan gran variedad de autoanticuerpos séricos. La afectación cutánea es muy frecuente en el LE (la segunda en frecuencia, después de los síntomas musculoesqueléticos), y se clasifica en específica e inespecífica. La afectación cutánea específica comprende el eritema malar, o una erupción más generalizada, lesiones anulares o papulares escamosas (psoriasiformes o pitiriasiformes) de LE subagudo, lesiones de lupus eritematoso crónico cutáneo (discoide, hipertrófico, profundo), erupción ampollosa del LES y lesiones cutáneas del LE neonatal. Las lesiones inespecíficas comprenden la alopecia no

cicatricial, telangiectasias, livedoreticularis, purpura palpable y eritema periungueal.

“La evaluación de los ANA se lleva a cabo por inmunofluorescencia (método capaz de detectar el 95 – 100% de los casos de LES). Los patrones de fluorescencia de los ANA pueden ser de cinco tipos: homogéneo o difuso, periférico, moteado, nucleolar y centromérico, en función del tipo de antígeno nuclear reconocido. De ellos, el homogéneo es el que más frecuentemente se asocia al LES; aunque es la fluorescencia periférica la que confirma el diagnóstico.”⁷

2.1.1.4.2. Síndrome de Sjögren

La tríada clásica consiste en queratoconjuntivitis sicca (sequedad ocular), xerostomía (sequedad de boca) y artritis reumatoide u otras conectivopatías. Más frecuente en mujeres, en el laboratorio se detectan ANA positivos y positividad para los anticuerpos Ro/SSA y La/SSB en el síndrome primario. Las mucosas y glándulas exocrinas muestran un infiltrado linfocítico denso y luego, una fibrosis considerable. La evolución es crónica pero en algunos casos evoluciona a linfoma.

2.1.1.4.3. Esclerodermia sistémica

Dermatosis crónica generalizada y progresiva que se caracteriza por un endurecimiento e inmovilidad progresiva difusa de la piel afectada, con afectación visceral, en particular de los pulmones, esófago, riñones y corazón. Se puede acompañar de calcinosis, fenómeno de Raynaud y telangiectasias (síndrome de CREST).

2.1.1.4.4. Síndrome de CREST

El síndrome CREST es una forma de esclerosis sistémica cutánea, cuyo nombre es el acrónimo en inglés de los signos clínicos distintivos del síndrome: Calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad Esofágica, Esclerodactilia y Telangiectasia.

Calcinosis: Depósito de cristales de hidroxapatita o fosfato cálcico en la piel, en el tejido celular subcutáneo o en el tejido muscular subyacente. Puede ser focal o difusa, sintomática o asintomática, y la calcificación se puede producir después de una lesión cutánea o puede ser secundaria a alteraciones del tejido conectivo o metabólicas.

Fenómeno de Raynaud: Palidez y frío paroxísticos en las extremidades, habitualmente precipitados por el frío y seguidos por cianosis e hiperemia arterial. Este fenómeno puede ser secundario a un gran número de enfermedades subyacentes. La enfermedad de Raynaud es el término que se utiliza para describir aquellos casos no asociados a otras patologías.

- ✓ Dismotilidad
Esofágica: es un trastorno en el movimiento del esófago que impide el tránsito del alimento desde la cavidad bucal hasta el estómago produciendo dolor al ingerir los alimentos.
- ✓ Esclerodactilia: Afección esclerodérmica
De los dedos que consiste en un endurecimiento de la piel y un adelgazamiento de los dedos; posteriormente pueden ulcerarse y perder progresivamente la movilidad, los síntomas pueden ser, la piel de los dedos se endurece y brilla, hay dificultad al flexionar o extender los dedos, la piel y los tejidos que rodean una articulación se estiran y endurecen
- ✓ Telangiectasias
Dilatación permanente de los vasos sanguíneos preexistentes (capilares, arteriolas, vénulas) creando pequeñas lesiones focales rojas, habitualmente en piel o membranas mucosas. La lesión se puede presentar como una línea fina o gruesa o como un punto o pápula con extremidades radiales.
- ✓ Dermatomiositis

Enfermedad inflamatoria crónica que afecta a la piel y al músculo esquelético. Su etiología es desconocida. Si no existe afectación cutánea se denomina polimiositis a la afectación muscular exclusiva. A la clínica de debilidad muscular con dolor y posterior evolución a atrofia, se añaden los signos cutáneos como: pápulas de Gottron que son pápulas eritemato congestivas, aplanadas en las superficies de extensión de los espacios interfalángicos, signo de Gottron, que consiste en un eritema violáceo simétrico, a veces con edema, sobre las articulaciones del dorso de las manos, codos, rodillas y tobillos. Otros signos cutáneos característicos son el edema heliotropo periorbital, telangiectasias periungueales y lesiones de poiquilodermia en áreas fotoexpuestas principalmente. El diagnóstico se basa en la clínica muscular y las lesiones cutáneas, la elevación de las enzimas musculares, un EMG de miopatía, biopsia muscular con datos de miopatía inflamatoria, RM compatible y autoanticuerpos circulantes, siendo el más común el anti-Jo-1. Es una enfermedad grave.

- ✓ Artritis reumatoide
Enfermedad sistémica crónica, inicialmente articular, marcada por los cambios inflamatorios en las membranas sinoviales y las estructuras articulares, con degeneración fibrinosa difusa de las fibras de colágeno en los tejidos mesenquimatosos, y por la atrofia y rarefacción del hueso.
“El patrón moteado es común en artritis, esclerodermia y síndrome de Sjögren. El nucleolar aparece también en estas dos últimas enfermedades. En cualquier caso la interpretación de los resultados debe hacerse con cautela.”¹

2.1.1.5. ¿Cuál es su significado clínico?

Su interpretación puede tener un significado distinto según la edad y el sexo del paciente. La prevalencia de AAN en la población general

aumenta con la edad. Se sabe que el 18% de las personas mayores de 60 años puede presentar valores bajos sin que ello tenga ninguna significación clínica.

Por otra parte, los AAN positivos pueden orientarnos inicialmente a distintas entidades si tenemos en cuenta la edad del paciente: en la infancia nos orientarían hacia una dermatomiositis/polimiositis (DM/PM), en personas entre los 15 y los 40 años pensaremos en primer lugar en un lupus eritematoso sistémico (LES), y entre los 40 y los 60 años, en un síndrome de Sjögren (SS) o en la esclerosis sistémica. Respecto al sexo, hay una mayor prevalencia de todas las enfermedades autoinmunes sistémicas en la mujer, salvo en el caso de la DM/PM para-neoplásica, que predomina sobre todo en varones mayores de 50 años con neoplasias de pulmón, próstata o colon.

2.2. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS:

Anticuerpo: Los anticuerpos son moléculas de naturaleza proteínica, producidos por los linfocitos B, ante cualquier sustancia extraña (antígeno) capaz de desencadenar la respuesta inmune.

Autoinmunidad: Las células y anticuerpos del sistema inmunitario atacan las mismas células que deberían proteger; es decir, las células del propio cuerpo.

Inmunofluorescencia: Método en el cual el anticuerpo que detecta el analito (ANA) está marcado con una sustancia fluorescente que generalmente es el isotiocianato de fluoresceína.

ELISA: Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una

enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color o algún otro tipo.

Células Hep 2: Las células Hep-2 de cada pocillo son una mezcla de células en reposo (interfase) no mitóticas y en varias fases de la mitosis.

Métodos inmunológicos: Los métodos inmunológicos o inmunoensayos son métodos analíticos basados en la reacción Antígeno- Anticuerpo (Ag-Ac). Se entiende como antígeno (Ag) cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cualquiera de los componentes sistema inmunitario que protege al organismo de una amplia variedad de agentes infecciosos.

Estudios de Concordancia: Los estudios de concordancia abarcan una amplia gama de diseños relacionados entre sí que se utilizan principalmente para evaluar el grado de acuerdo entre los clínicos al interpretar pruebas diagnósticas, o la exactitud con que estas pruebas orientan hacia un diagnóstico correcto.

Sensibilidad: Se refiere a la capacidad de una prueba o de un examen para catalogar a los enfermos como enfermos. Es decir determina la proporción de sujetos con la enfermedad que tienen una prueba positiva para la enfermedad.

Especificidad: Se refiere a la capacidad de una prueba o de un examen para catalogar a los sanos como sanos. Es decir determina la proporción de sujetos sin la enfermedad que tienen una prueba negativa para la enfermedad.

Valor predictivo positivo: El valor predictivo positivo (VPP) se define como la probabilidad de la enfermedad en un paciente con un resultado positivo (anormal)

Valor predictivo negativo: El valor predictivo negativo (VPN) se define como la probabilidad de no tener la enfermedad cuando el resultado de la prueba es negativo (normal).

CAPÍTULO III

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

RESULTADOS

El presente estudio de investigación tuvo por objetivo evaluar la concordancia entre la prueba de IFI y ELISA en la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández Mendoza de Ica durante el mes de Noviembre del año 2015, para el cual se utilizaron 112 muestras de suero que estuvieron preservadas en congelación a -20°C y fueron previamente evaluadas mediante la prueba de ELISA. Dichas muestras fueron atemperadas para ser evaluadas por la prueba de IFI y ser comparadas estadísticamente con los resultados de la prueba de ELISA.

Las muestras de suero congeladas fueron procesadas nuevamente mediante la prueba del IFI con una diferencia de tiempo respecto a la prueba basal (ELISA) de 156.7 ± 84.3 días (rango: 18-282 días). Cabe señalar que según la interpretación

de los resultados obtenidos por la prueba de ELISA, se consideró como resultado positivo aquellas muestras que tuvieran una absorbancia mayor a 1.1; resultado indeterminado aquellas con absorbancia entre 0.9 y 1.1; y finalmente resultado negativo aquellas con absorbancia menores a 0.9.

En la Tabla 01 se muestra los resultados obtenidos por la prueba de ELISA y se aprecia que el 29.5% de los sueros evaluados tuvieron reacción positiva para la presencia de anticuerpos antinucleares. Además, la absorbancia media fue de 0.927 ± 1.201 (rango: 0.127 - 7.032).

En la Tabla 02 se muestra los resultados obtenidos por la prueba de IFI, observándose que el 53.6% de los sueros ya evaluados por la prueba de ELISA, tuvieron reacción positiva. Cabe señalar que se consideró como resultado positivo para la prueba de IFI en la detección a anticuerpos antinucleares, a aquellas muestras de suero que emitieron fluorescencia con títulos mayores o iguales a 80, en cualquier de los patrones evaluados (patrón de membrana nuclear, plasma nuclear, nucleolar, huso mitótico y citoplasmático). Para el caso de la evaluación del patrón de membrana nuclear no se observó emisión de fluorescencia y por ende no se procedió a realizar diluciones seriadas ni título calculado; siendo todos los resultados negativos para dicho patrón.

En la Tabla 03 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cuantitativa del patrón de plasma nuclear; evidenciándose que el 39.3% de los sueros testeados emitieron fluorescencia a un título mayor o igual a 80; considerándose como resultado positivo. El rango de títulos para este patrón fue desde 80 hasta 20480, siendo el más frecuente 10240 con un 8.9% del total. Además, el título promedio de los sueros evaluados fue de 1785.5 ± 4066.6 .

En la Tabla 04 se muestra los resultados de la prueba IFI considerando la evaluación cualitativa del patrón de plasma nuclear. Se aprecia que la categoría de evaluación más frecuente fue el moteado fino de los núcleos celulares (26.8%), seguido del patrón nuclear moteado grueso (7.1%). El resto de categorías en la

lectura en microscopía de fluorescencia no sobrepaso el 1% del total de sueros evaluados.

En la Tabla 05 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cuantitativa del patrón nucleolar, evidenciándose que el 1.8% de los sueros testeados emitieron fluorescencia a un título mayor o igual a 80; considerándose como resultado positivo, siendo solo dos los casos hallados con títulos de 80 y 640. Además, el título promedio de los sueros evaluados fue de 6.43 ± 60.88 .

En la Tabla 06 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cualitativa del patrón nucleolar, los dos únicos casos positivos tuvieron un patrón nucleolar homogéneo.

En la Tabla 07 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cuantitativa del patrón de huso mitótico, evidenciándose que el 2.7% de los sueros testeados emitieron fluorescencia a un título mayor o igual a 80; considerándose como resultado positivo, siendo 3 los casos positivos de los cuales dos tuvieron un título de 10240 y la muestra restante de 5120. El título promedio de los sueros evaluados fue de 228.57 ± 1439.7 .

En la Tabla 08 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cualitativa del patrón de huso mitótico, los tres casos positivos tuvieron un patrón de los polos del huso (NuMA).

En la Tabla 09 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cuantitativa del patrón citoplasmático; evidenciándose que el 17.9% de los sueros testeados emitieron fluorescencia a un título mayor o igual a 80; considerándose como resultado positivo. El rango de títulos para este patrón fue desde 80 hasta 10240, siendo el más frecuente 80 con un 8.0% del total. Además, el título promedio de los sueros evaluados fue de 332.1 ± 1527.6 .

En la Tabla 10 se muestra los resultados de la prueba de IFI considerando la evaluación cualitativa del patrón citoplasmático, evidenciándose que la categoría más frecuente fue el patrón mitocondrial (13.4%), seguido del patrón citoplasmático difuso (3.6%) y un solo caso con patrón de actina.

En la Tabla 11 se muestra los resultados de las pruebas de normalidad de datos para las variables de estudio. Se evidencia que todas las variables siguen una distribución normal. La normalidad de los datos fue evaluada con las pruebas de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov con un nivel de confianza del 95% y se consideró como distribución normal aquellas variables que tuvieron una probabilidad menor a 0.05. Estos datos fueron cruciales para poder utilizar correctamente las pruebas de concordancia, asociación y correlación estadística (pruebas de hipótesis o estadística inferencial) entre las variables de interés, ya que en la mayoría de los casos se utilizará las tablas de contingencia 2x2 y la estimación del índice kappa, prueba del chi-cuadrado paramétrico y el coeficiente de correlación de Pearson.

En la Tabla 12 se muestra la contingencia de los resultados obtenidos por la prueba de ELISA e IFI, como base para el cálculo de las pruebas de contraste de hipótesis.

En la Tabla 13 se observa la prueba de chi-cuadrado de Pearson como contraste de hipótesis, la cual fue corregida como el estadístico exacto de Fisher, obteniéndose una probabilidad (p-value) menor a 0.001 para un análisis a dos colas a un nivel de confianza del 95%; por lo que se afirma que la cuantificación de anticuerpos antinucleares obtenidos por el método de ELISA son estadísticamente diferentes a los obtenidos por el método de IFI.

En la Tabla 14 se observa el valor obtenido según la correlación de Pearson, siendo 0.602, el cual implica que existe una relación moderada y directamente proporcional entre los resultados obtenidos por el método ELISA e IFI, mientras

que el nivel de concordancia entre ambas pruebas es de 0.532 (53.2%) al análisis del índice Kappa, el cual demuestra que los resultados no son similares.

En la Tabla 15 se muestran los parámetros que permiten evaluar la capacidad predictiva de la prueba de ELISA en comparación con la IFI. Se aprecia que la sensibilidad de la prueba de ELISA es del 55% IC95 (41.7-67.7%), siendo este valor bajo comparado al método IFI, y el cual se evidencia al haber algunas muestras de suero que siendo positivas a la prueba IFI, tuvieron resultados negativos a la prueba de ELISA. La especificidad de la prueba de ELISA fue del 100%, por lo que se afirma que el método tiene la capacidad para detectar realmente los anticuerpos antinucleares sin efecto de interferentes.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las enfermedades autoinmunes de origen inflamatorio pueden causar anormalidades en los resultados de las pruebas generales de evaluación inicial por el laboratorio. Los hallazgos característicos pueden incluir por ejemplo, anemia normocítica normocrómica, indicando cronicidad o severidad de la enfermedad; la leucopenia y la trombocitopenia son comunes en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES); y en la hepatitis autoinmune se observa un incremento en los niveles de las transaminasas y bilirrubina, aunque estas anormalidades también se pueden presentar cuando hay toxicidad por medicamentos. Las pruebas de coagulación, tales como el tiempo parcial de tromboplastina, el tiempo de protrombina, o ambos, que no corrigen con las mezclas, sugieren un inhibidor de la coagulación, como se encuentra en el síndrome antifosfolípido. La hipercalcemia se puede encontrar en el 30% de los pacientes con sarcoidosis. Un incremento en las enzimas musculares como la creatinquinasa, la transaminasa glutámico pirúvica y oxalacética pueden encontrarse en miopatías inflamatorias autoinmunes como son la dermatomiositis, la polimiositis y la miositis por cuerpos de inclusión. Las proteínas séricas son de gran ayuda para la evaluación de los niveles de inmunoglobulinas. El uroanálisis se usa para evaluar el daño renal (nefritis intersticial y glomerulonefritis) y puede mostrar proteinuria, hematuria o sedimentos activos. Muchas otras enfermedades, tales como la nefropatía diabética, la hipertensión pobremente controlada o las infecciones, pueden tener resultados similares, pero cuando se sospecha una enfermedad autoinmune, estos resultados son alarmas diagnósticas importantes.

Ante lo descrito anteriormente, es fundamental la valoración de los anticuerpos antinucleares (ANA) los cuales son los más representativos, pero sin embargo no confirma el diagnóstico de enfermedad autoinmune, más que un resultado positivo por serología; razón por la cual es necesaria la presencia de signos y síntomas apropiados que ayudan a corroborar el diagnóstico.

Cuando el resultado del estudio inicial para ANA es negativo y no se reúnen los criterios clínicos necesarios para hacer un diagnóstico, se puede descartar la posibilidad de enfermedad autoinmune sistémica. Sin embargo, en algunas

enfermedades autoinmunes, como por ejemplo, la artritis reumatoide seronegativa, las formas iniciales de la esclerodermia y la dermatomiositis, pueden cursar con ANA negativos. De igual forma, en algunos pacientes con LES, los ANA negativos por IFI, pueden estar asociados con manifestaciones clínicas tales como fotosensibilidad, rash cutáneo, bloqueo cardíaco congénito y en general, con una forma más leve de enfermedad sistémica. La detección por el laboratorio de los ANA en este grupo de pacientes aporta un elemento útil, pues en muchos casos permite acortar el tiempo del diagnóstico y del inicio del tratamiento.

Se han utilizado diferentes métodos para detectar los ANA, entre los más utilizados se encuentran los métodos inmunoenzimáticos por ser costo-efectivos.

Los resultados de los autoanticuerpos por IFI se reportan por título y patrón. Los títulos de los anticuerpos antinucleares son usados para hacer diagnóstico, pero no deben usarse como monitoreo de la actividad de la enfermedad. Por lo general, títulos altos representan verdaderos positivos, títulos por encima de 1:80 se consideran positivos y deben requerir otros métodos confirmatorios del diagnóstico. En muchos laboratorios, los títulos de 1:40 o menores son equívocos o inespecíficos; sin embargo, existen excepciones tales como: 1) en niños un resultado de ANA de 1:40 o aun de 1:20 puede ser críticamente importante, y se requieren más estudios; 2) algunos autoantígenos están en baja concentración o son fácilmente eliminados durante el desarrollo de la prueba; y, 3) el punto de corte depende de los laboratorios individuales, de la técnica y del equipo. Un resultado positivo de ANA permite a su vez determinar el blanco intracelular de los anticuerpos. Los patrones más comúnmente reportados son el patrón homogéneo o difuso, el periférico y el moteado. Un patrón de ANA específico en individuos sanos puede ser predictivo del desarrollo futuro de la enfermedad. El objetivo principal de este estudio fue determinar la concordancia en la detección de ANA entre los dos tipos de pruebas (IFI y ELISA).

Se encontró una concordancia del 53.2% entre los resultados de ambas pruebas, un valor más bajo que lo reportado en la literatura, con valores que oscilan entre 70 y 90%; esto podría explicarse porque en todos los estudios donde se

comparan las dos metodologías, se incluyen solo pacientes ANA positivos, por lo tanto la probabilidad de obtener un resultado positivo por ELISA es mucho mayor, lo que a su vez tiene como resultado una concordancia de las dos pruebas más alta. Los sueros incluidos en el presente estudio no fueron seleccionados previamente con una prueba de ANA positiva por IFI, así estos pacientes podrían tener una baja probabilidad pre-test, lo que podría explicar el porcentaje menor de concordancia obtenido en este estudio.

La variabilidad encontrada entre los resultados de las pruebas por IFI y ELISA puede deberse a varios factores, entre ellos: 1) la localización de los antígenos: cuando los antígenos están en el citoplasma, la fluorescencia obtenida por la detección de los anticuerpos antinucleares es baja o ausente, debido a que esta prueba detecta específicamente anticuerpos antinucleares; 2) la naturaleza de los antígenos y anticuerpos empleados en los métodos basados en la reacción antígeno-anticuerpo; 3) el estado inmune del paciente: la declinación de los niveles de anticuerpos en pacientes inmunosuprimidos o deprimidos puede generar falsos negativos; y 4) la densidad de las moléculas: cuando hay una baja densidad de los antígenos nucleares expresados en las células Hep-2, el antígeno puede ser lavado o solubilizado, lo que reduce la sensibilidad para su detección por IFI.

Entre los parámetros calculados para establecer la concordancia entre las dos pruebas antes mencionadas, se encuentra el índice kappa, que indica el grado de acuerdo existente por encima del esperado al azar descrito por Landis y Koch; se encontró que el coeficiente de kappa de concordancia obtenido entre las pruebas de inmunofluorescencia indirecta y ELISA fue de 0,532 (IC95 0,439 - 0,630), valor que, según los márgenes para estimar el grado de acuerdo en función del índice kappa descrito por Landis y Koch, se interpreta como un grado de acuerdo moderado.

El método de referencia para la determinación de anticuerpos antinucleares es la técnica de IFI. Sin embargo, en el presente estudio no se tomó esta prueba como método de referencia, solamente se quiso establecer el grado de concordancia

entre las dos técnicas (IFI y ELISA), por lo que es una evaluación de concordancia de consistencia.

El porcentaje de muestras discordantes en este estudio comparativo se pudo deber a reacciones cruzadas, tales como la presencia de factor reumatoideo y otras proteínas de reacción en fase aguda. Sin embargo, no se tienen pruebas exactas de estas interferencias, por lo que se sugiere volver a procesar estas muestras por un tercer método diagnóstico.

Es importante tener presente que no es posible establecer una relación directa entre los títulos de ANA presentes en una muestra de suero y determinados por el método de IFI, y los títulos que se encuentran en esa misma muestra y determinados por la técnica ELISA, ya que esta última determina los anticuerpos presentes en el suero, pero no sus niveles. Dichos anticuerpos están en función de la afinidad y la concentración, de tal forma que una muestra que contenga anticuerpos de alta afinidad en baja concentración, puede presentar la misma absorbancia que una muestra con anticuerpos de baja afinidad pero con alta concentración, por lo que la técnica ELISA indirecta no proporciona información cuantitativa como sí ocurre con la técnica de IFI, en la que es posible determinar los títulos de anticuerpos presentes en una muestra ya que se hacen diluciones seriadas de la misma.

Finalmente, se puede mencionar que los resultados obtenidos permitirán que los laboratorios de los diferentes establecimientos de salud del país puedan cumplir con la determinación de anticuerpos antinucleares como prueba diagnóstica en el tamizaje de enfermedades autoinmunes, principalmente artritis reumatoide y LES, cuando no se cuente con la infraestructura necesaria para la técnica de IFI, teniendo en cuenta que la de ELISA está fundamentada en el grado de afinidad de anticuerpos por un antígeno determinado y no mide su concentración real en una muestra de suero, como lo hace la técnica de IFI.

CONCLUSIONES

- La concordancia entre las pruebas de IFI y ELISA para la detección de anticuerpos antinucleares es moderada.
- Los resultados obtenidos para la detección de anticuerpos antinucleares por ambas técnicas presentan diferencias estadísticamente significativas.
- La detección de anticuerpos antinucleares por la prueba de ELISA tiene una especificidad del 100.0%.
- La detección de anticuerpos antinucleares por la prueba de ELISA tiene una sensibilidad del 55.0%.
- La detección de anticuerpos antinucleares por la prueba de ELISA tiene un valor predictivo positivo del 100%.
- La detección de anticuerpos antinucleares por la prueba de ELISA tiene un valor predictivo negativo del 65.8%.

RECOMENDACIONES

- Ampliar el estudio utilizando exclusivamente sueros de pacientes que tengan un diagnóstico confirmatorio de enfermedad autoinmune, a fin de valorar el título y los puntos de corte para las pruebas de IFI y ELISA, respectivamente, y por tipo de enfermedad.
- Considerar la aplicación de pruebas para valorar los subtipos de anticuerpos antinucleares tales como anti-ds-ADN, anti-Sm, anti-histona, anti-snRNP70, anti-Scl 70, anticentrómero, SS-A, SS-B, Jo-1, entre otros; a fin de tener un diagnóstico confirmatorio de enfermedad autoinmune.
- Considerar el posible efecto de los interferentes (proteínas de reacción en fase aguda, hemólisis, ictericia, lipemia, hipoglobulinemias, entre otros) en las pruebas de ELISA e IFI para la valoración de los anticuerpos antinucleares.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Ma José López García, Aurora Urbano Felices, Marta Cárdenas Povedano, Antonia Osuna Molina, Ana Ma Lendínez Ramírez.** Manual de laboratorio en las enfermedades autoinmunes sistémicas, España. OmniaScience, 2012. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=8494023497>
2. **Díaz Portillo J, Fernández del Barrio T, Paredes Salido F.** Aspectos Básicos de Bioquímica clínica, Madrid, 1997. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=847978282X>
3. **Bielsa Masdeu A.** Autoanticuerpos. Guía rápida, 1a Edición, Vasco, Editorial Osakidetza, 2009. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=8489342415>
4. **Cabiedes Javier.** Reumatología clínica. México. 2010
5. **Whittas, Richard. Clunie, Gavin. Hall Frances, et al.** Oxford University Press. New York, 2009.
6. **Alvarado Bestene Jaime.** Introducción a la clínica, Bogotá, 2003. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=9586835693>
7. **Villena Arnaiz A, Regueiro J, López Larrea C.** Inmunología, Madrid, 1995. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=8474915503>

ANEXOS

ANEXO 01: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	VALOR FINAL	ESCALA	TECN. E INSTRUM.
Anticuerpos antinucleares (ANA)	Valoración de la presencia o ausencia de ANA en muestras de suero, así como la evaluación de los patrones de lectura en fluorescencia	Evaluación microscópica del patrón de membrana nuclear	Resultado negativo: Título < 80* Resultado positivo: Título > 80*	Nominal categórica	IFI
		Evaluación microscópica del patrón de plasma nuclear			
Evaluación microscópica del patrón nucleolar					
Evaluación microscópica del patrón del huso mitótico					
	Valoración de la presencia o ausencia de ANA en muestras de suero	Lectura de la absorbancia	Resultado negativo: < 0.9 Resultado indeterminado: 0.9 - 1.1 Resultado positivo: > 1.1	Nominal categórica	ELISA

*Los títulos considerados son en base a la evaluación de muestras de suero obtenidas de personas adultas.

ANEXO 02: MATRÍZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: CONCORDANCIA ENTRE DOS TÉCNICAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN MUESTRAS DE SUERO EVALUADAS EN EL HOSPITAL AUGUSTO HERNANDEZ MENDOZA DEL DISTRITO DE ICA DURANTE EL MES DE NOVIEMBRE DEL AÑO 2015

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	INSTRUMENTOS
<p>General: ¿Cuál es la concordancia entre la prueba de IFI y ELISA en la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández de Ica durante el mes de Noviembre del año 2015?</p> <p>Específico: ¿Cuál es la sensibilidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?</p> <p>¿Cuál es la especificidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?</p> <p>¿Cuál es el valor predictivo positivo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los</p>	<p>General: Evaluar la concordancia entre la prueba de IFI y ELISA en la determinación de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández Mendoza de Ica durante el mes de Noviembre del año 2015.</p> <p>Específico: Determinar la sensibilidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p> <p>Determinar la especificidad de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p> <p>Determinar el valor predictivo positivo de la prueba del ELISA</p>	<p>General: El método de ELISA tiene concordancia estadísticamente significativa con el método IFI, en relación a los resultados obtenidos en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero evaluadas en el Hospital Augusto Hernández de Ica durante el mes de Noviembre del año 2015.</p> <p>Específico: La sensibilidad del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero.</p> <p>La especificidad del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p> <p>El valor predictivo positivo del método de</p>	<p>Anticuerpos antinucleares</p>	<p>Inmunofluorescencia indirecta (IFI)</p> <p>Inmunoensayo ligado a enzima (ELISA)</p>

<p>resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?</p> <p>¿Cuál es el valor predictivo negativo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero?</p>	<p>comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p> <p>Determinar el valor predictivo negativo de la prueba del ELISA comparada con la IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p>	<p>ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p> <p>El valor predictivo negativo del método de ELISA es igual estadísticamente al método IFI, en relación a los resultados en la valoración de anticuerpos antinucleares en muestras de suero</p>		
--	--	--	--	--

ANEXO 04: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

I. RESULTADOS DE ELISA E IFI PARA LA DETECCIÓN DE ANA

ID Muestra	ELISA			IFI – Patrones de lectura										
	Fecha del examen	Resultado de la DO*	Resultado final	Fecha del examen	Membrana nuclear		Plasma nuclear		Nucleolar		Huso mitótico		Citoplasmático	
					Resultado del Título	Resultado final	Resultado del Título	Resultado final	Resultado del Título	Resultado final	Resultado del Título	Resultado final	Resultado del Título	Resultado final

*D.O.: Densidad óptica o absorbancia

II. PATRONES DE LECTURA EN IFI (Marque con una “X” si presenta alguno de los siguientes patrones)

Membrana nuclear		Huso mitótico	
Tinción ligera de la membrana nuclear		Patrón de centriolos (centrosomas)	
Patrón de tinción interrumpida de la membrana del núcleo celular		Patrón de los polos del huso (NuMA)	
Plasma nuclear		Patrón de las fibras del huso	
Patrón de núcleo celular homogéneo		Patrón del cuerpo medio (MSA-2)	
Tinción moteada del núcleo celular		Patrón C-F	
Patrón nuclear moteado grande (matriz nuclear)		Citoplasmático	
Patrón nuclear moteado grueso		Moteado fino del citoplasma	
Moteado fino de los núcleos celulares		Patrón citoplasmático difuso	
Patrón granular semejante a Scl 70		Patrón mitocondrial	
Núcleos celulares moteados plemórficos		Patrón lisosómico	
Patrón centrómero		Patrón de Golgi	
Puntos (dots) nucleares múltiples		Patrón de actina	
Puntos nucleares “colled”		Patrón de vimentina	
Nucleolar			
Patrón nucleolar homogéneo			
Patrón nucleolar grumoso			
Patrón nucleolar interrumpido			

ANEXO N° 05: TABLAS

5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Tabla 01. Resultados de la prueba de ELISA

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Positivo	33	29,5	29,5	29,5
Negativo	79	70,5	70,5	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 02. Resultados de la prueba de IFI

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Positivo	60	53,6	53,6	53,6
Negativo	52	46,4	46,4	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 03. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón de plasma nuclear

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
0	68	60,7	60,7	60,7
80	7	6,3	6,3	67,0
160	2	1,8	1,8	68,8
320	5	4,5	4,5	73,2
640	3	2,7	2,7	75,9
1280	5	4,5	4,5	80,4
2540	1	,9	,9	81,3
2560	4	3,6	3,6	84,8
5120	4	3,6	3,6	88,4
10240	10	8,9	8,9	97,3
12560	1	,9	,9	98,2
20480	2	1,8	1,8	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 04. Resultados de la prueba de IFI – según patrón de plasma nuclear

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	67	59,8	59,8	59,8
Patrón de núcleo celular homogéneo	1	,9	,9	60,7
Patrón nuclear moteado fino denso	1	,9	,9	61,6
Patrón nuclear moteado grueso	8	7,1	7,1	68,8
Moteado fino de los núcleos celulares	30	26,8	26,8	95,5
Patrón centrómero	1	,9	,9	96,4
Puntos nucleares "colled"	4	3,6	3,6	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 05. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón nucleolar

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	110	98,2	98,2	98,2
80	1	,9	,9	99,1
640	1	,9	,9	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 06. Resultados de la prueba de IFI –según patrón nucleolar

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	110	98,2	98,2	98,2
Patrón nucleolar homogéneo	2	1,8	1,8	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 07. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón de huso mitótico

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	109	97,3	97,3	97,3
5120	1	,9	,9	98,2
10240	2	1,8	1,8	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 08. Resultados de la prueba de IFI –según patrón de huso mitótico

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	109	97,3	97,3	97,3
Patrón de los polos del huso (NuMA)	3	2,7	2,7	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 09. Resultados de la prueba de IFI – Título según patrón citoplasmático

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
0	92	82,1	82,1	82,1
80	9	8,0	8,0	90,2
160	2	1,8	1,8	92,0
320	1	,9	,9	92,9
640	2	1,8	1,8	94,6
1280	1	,9	,9	95,5
2560	1	,9	,9	96,4
5120	2	1,8	1,8	98,2
10240	2	1,8	1,8	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

Tabla 10. Resultados de la prueba de IFI –según patrón citoplasmático

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Sin resultado	7	6,3	6,3	6,3
Negativo	85	75,9	75,9	82,1
Patrón citoplasmático difuso	4	3,6	3,6	85,7
Patrón mitocondrial	15	13,4	13,4	99,1
Patrón de actina	1	,9	,9	100,0
Total	112	100,0	100,0	

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

5.2. PRUEBAS DE NORMALIDAD

Tabla 11. Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Fecha_ELISA	,198	112	,000	,888	112	,000
DO_ELISA	,342	112	,000	,662	112	,000
Resultado_ELISA	,445	112	,000	,572	112	,000
Resultado_IFI	,359	112	,000	,635	112	,000
Plasma nuclear titulo	,373	112	,000	,504	112	,000
Plasma nuclear final	,371	112	,000	,705	112	,000
Nucleolar titulo	,524	112	,000	,082	112	,000
Nucleolar final	,536	112	,000	,113	112	,000
Huso mitótico titulo	,536	112	,000	,146	112	,000
Huso mitótico final	,539	112	,000	,149	112	,000
Citoplasmático titulo	,467	112	,000	,226	112	,000
Citoplasmático final	,468	112	,000	,589	112	,000
Diferencia_prueba_IFI	,198	112	,000	,888	112	,000
a. Corrección de la significación de Lilliefors b. Fecha_IFI es una constante y se ha desestimado. c. Membrana nuclear título es una constante y se ha desestimado. d. Membrana nuclear final es una constante y se ha desestimado.						

Fuente: Laboratorio de Inmunología del Hospital Augusto Hernández de Ica, Noviembre 2015

5.3. ESTADÍSTICA INFERENCIAL (CONTRASTE DE HIPÓTESIS)

Tabla 12. Contingencia Resultado_ELISA * Resultado_IFI

		Resultado IFI		Total
		Positivo	Negativo	
Resultado ELISA	Positivo	33	0	33
	Negativo	27	52	79
Total		60	52	112

Tabla 13. Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	40,547 ^a	1	,000		
Corrección por continuidad ^b	37,944	1	,000		
Razón de verosimilitudes	53,225	1	,000		
Estadístico exacto de Fisher				,000	,000
Asociación lineal por lineal	40,185	1	,000		
N de casos válidos	112				

a. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 15.32.
b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Tabla 14. Medidas simétricas

		Valor	Error típ. asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Intervalo por intervalo	R de Pearson	,602	,053	7,901	,000 ^c
Ordinal por ordinal	Correlación de Spearman	,602	,053	7,901	,000 ^c
Medida de concordancia	Kappa	,532	,069	6,368	,000
N de casos válidos		112			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.
b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.
c. Basada en la aproximación normal.

Tabla 15. Capacidad predictiva de la prueba de ELISA vs IFI

		95 % I.C.	
		Límite inferior	Límite superior
Prevalencia de la enfermedad	53.57%	43.93%	62.96%
Pacientes correctamente diagnosticados	75.89%	66.72%	83.25%
Sensibilidad	55.00%	41.69%	67.67%
Especificidad	100.00%	91.43%	99.82%
Valor predictivo positivo	100.00%	87.02%	99.72%
Valor predictivo negativo	65.82%	54.20%	75.89%