

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE MEDICINA



TRABAJO TERMINAL

QUE PARA OBTENER DIPLOMA DE ESPECIALIDAD DE

MEDICINA INTEGRADA

PRESENTA:

C. JOANNA LUÍSA CALZADA ALGRÁVEZ

ASESOR DE TRABAJO TERMINAL

DR. HERAM JAMER JARAMILLO RAMÍREZ

**“DETECCIÓN DE ANTI CUERPOS ANTI CLAPTOPLASMA DEL NEUTRÓFILO
EN POBLACIÓN SANA”**

MEXICALI BAJA CALIFORNIA A ABRIL DEL 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE MEDICINA



TRABAJO TERMINAL

QUE PARA OBTENER DIPLOMA DE ESPECIALIDAD DE

MEDICINA INTEGRADA

PRESENTA:

C. JOANNA LUÍSA CALZADA ALGRÁVEZ

ASESOR DE TRABAJO TERMINAL

DR. HERAM JAMER JARAMILLO RAMÍREZ

**“DETECCIÓN DE ANTI CUERPOS ANTI CLAPLASMA DEL NEUTRÓFILO
EN POBLACIÓN SANA”**

MEXICALI BAJA CALIFORNIA A ABRIL DEL 2016

02-01-HGMXL- M g- 2014-10-12/70

INSTITUTO DE SERVICIOS DE SALUD DE BAJA CALIFORNIA

HOSPITAL GENERAL DE MEXICALI

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Dr. Caleb Cienfuegos Rascón
DIRECTOR DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICALI

MDU. María Luisa González García
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

Dr. Ignacio B. Reyes Aguila
PROFESOR DE CURSO DE MEDICINA INTEGRADA

Dr. Hiram Javier Jaramillo Ramírez
DIRECTOR DE TESIS

Dr. Arturo Landero Ruiz
ASESOR DE TESIS

Dra. Joanna Lucía Calzada Algravez
RESIDENTE DE MEDICINA INTEGRADA

02-01-HGMXL-Mlg-2014-10-12/70

ÍNDICE GENERAL

PORTADA	i
CONTRAPORTADA	iii
HOJA DE FIRMAS	v
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS	x
ABREVIATURAS	xi
RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN	3
2 MARCO TEÓRICO	5
2.1.1 Neutrófilo Concepto	5
2.1.2 ANCA Concepto e Historia	7
2.2 Antecedentes	8
2.2.1 Métodos diagnósticos de ANCA	8
2.2.2 Tipos de patrón de ANCA	10
2.2.3 Prevalencia de ANCA en población global	12
3 DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO	15
3.1 Diseño	15
3.2 Definición del universo	15
3.3 Planteamiento de problema	16
3.4 Pregunta de investigación	16
3.5 Justificación	16
3.6 Hipótesis descriptiva	18
3.6 Objetivo General	18

3.8 Objetivo Específico	18
3.9 Criterios de Inclusión	18
3.10 Criterios de Exclusión	18
3.11 Operacionalización de las variables	19
3.12 Variables de Atributo	20
3.13 Material y Métodos	20
3.14 Análisis estadístico	21
3.15 Análisis éticos y legales	21
3.16 Cronograma	22
4. RESULTADOS	24
5. CONCLUSIONES	30
6. RECOMENDACIONES	31
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	34

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1 Etapa de maduración del neutrófilo	7
Fig. 2 Patrón c-ANCA y p-ANCA por IF	9

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Causas de Neutropenia	5
Tabla 2 Causas de Neutrofilia	6
Tabla 3 Enfermedades asociadas a p-ANCA positivo	11
Tabla 4 Enfermedades asociadas a p-ANCA atípico positivo	12
Tabla 5 Enfermedades asociadas a c-ANCA positivo	12

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Sujetos estudiados por género	24
Gráfica 2. Población global total estudiada por grupos de edad	25
Gráfica 3. Grupos de edad por género masculino	25
Gráfica 4. Grupos de edad por género femenino	26
Gráfica 5. Tabaquismo por género	26
Gráfica 6. Alcoholismo por género	27
Gráfica 7. Casos positivos a ANCA en población global total estudiada	28
Gráfica 8. Casos positivos a ANCA en población de género masculino	28
Gráfica 9. Casos positivos a ANCA en población de género femenino	29

ABREVIATURAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ANCA	Anticuerpo anticitoplasma del neutrófilo
AR	Artritis Reumática
c-ANCA	Anticuerpo anticitoplasma del neutrófilo patrón citoplasmático
CU	Colitis ulcerativa
EC	Enfermedad de Chron
BI	Enfermedad Inflamatoria intestinal
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
GW	Granulomatosis de Wegener
IF	Inmunofluorescencia indirecta
IgG	Inmunoglobulina tipo G
LAMP-2	Proteína de membrana asociada a lisosomas humanos-2
LES	Lupus Eritematoso Sistémico
MPO	Mieloperoxidasa
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)
p-ANCA	Anticuerpo anticitoplasma del neutrófilo patrón perinuclear
PR3	Proteína de reserva 3
SAAF	Síndrome de Anticuerpos Antifosfátidos
MH	Virus de Inmunodeficiencia Adquirida

RESUMEN

ANTECEDENTES Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) se describieron inicialmente como marcadores serológicos que con gran especificidad diagnostican la granulomatosis de Wegener (GW). Los ANCA comprenden un grupo heterogéneo de autoanticuerpos contra enzimas presentes principalmente en los gránulos azurófilos o primarios de los granulocitos neutrófilos, pero también en monocitos y en células endoteliales. Mediante la inmunofluorescencia indirecta (IFI) se distinguen dos patrones fundamentales: citoplasmático y perinuclear. Por enzimoanálisis ha permitido comprobar que la mayor parte de c-ANCA y p-ANCA corresponden a anticuerpos dirigidos contra la proteinasa 3 y la mieloperoxidasa respectivamente. Clínicamente los anticuerpos anti-PR3 se detectan en pacientes afectados de GW mientras que los anticuerpos anti-MPO reconocen a formas idiópáticas de glomerulonefritis rápidamente progresivas con escasa o nula afectación extrarenal.

JUSTIFICACIÓN Las vasculitis mediadas por ANCA se consideran enfermedades autoinmunes cuya prevalencia ha ido en aumento afectando principalmente a la población adulta mayor y constituyen una de las principales causas de falla renal aguda y crónica, condicionando la necesidad de terapia de sustitución renal en sus diferentes modalidades de diálisis peritoneal o hemodiálisis, generando altos costos sociales y económicos y deterioran la calidad de vida del paciente.

La disposición de pruebas de detección para ANCA han supuesto un instrumento de primera utilidad con alta especificidad y sensibilidad para patologías asociadas a estos anticuerpos. Se ha estudiado la prevalencia de los ANCA en población sana, variando desde 0-5% en diferentes estudios publicados, siendo un requisito la baja prevalencia en población global para poder seguir siendo un estudio diagnóstico de gran utilidad.

OBJETIVOS Determinar la prevalencia de los ANCA en sus dos subtipos por IFI en población sana.

HIPÓTESIS DESCRIPTIVA La prevalencia de los ANCA con títulos menores a 1:16 por IFI es menor del 5% en la población sana estudiada.

METODOLOGÍA Estudio descriptivo, observacional y transversal, realizado en el Hospital General de Mexicali Baja California con población global sana que acudió de manera voluntaria al Banco de Sangre y que posterior a entrevista médica, exploración física y realización de pruebas bioquímicas se determinó que eran sanos, con edad mayor a los 18 años. Se determinó el tamaño de la muestra de 72.99 (73) personas para un 95% de confianza y de 124 pacientes para un 99% de confianza, sin embargo se incluyeron a 156 sujetos de manera continua que acudieron en los meses de Enero y Febrero del 2011.

La presencia de anti-PR3 y anti-MPO fue determinada por la combinación de resultados de inmunofluorescencia indirecta para ANCA con patrón citoplásmico (G-ANCA) y perinuclear (P-ANCA).

RESULTADOS: Se identificaron a 156 sujetos sanos, de los cuales 98 fueron mujeres (63%) y 58 hombres (27%), con una edad media de 29.29 años en el caso de los hombres y de 27.44 en mujeres. Se encontró positividad en un 2.32% para ANCA atípico en hombres y 1.92% positivo a ANCA atípico en mujeres, así como un sólo caso positivo para p-ANCA y c-ANCA (0.64%) en dos sujetos femeninos. Ninguno de los hombres presentó positividad a p-ANCA o c-ANCA.

CONCLUSIONES: No se encontró ninguna relación de la presencia de los ANCA con el género de la población estudiada y se documentó una incidencia menor al 5% como en otras series publicadas, lo que apoya a que la baja incidencia en la determinación de ANCA en sujetos sanos, permitiendo que se siga considerando como un elemento diagnóstico de gran especificidad y sensibilidad para patologías autoinmunes asociadas a dichos ANCA.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes son un grupo de trastornos que se presentan cuando el sistema inmunitario ataca y lesiona tejidos previamente sanos en lugar de proteger al cuerpo de sustancias o agentes nocivos conocidos como antígenos a partir de anticuerpos.¹

En los trastornos autoinmunes hay un error en la discriminación por parte de los anticuerpos hacia los diversos antígenos, condicionando lesión de uno o varios tejidos sanos como vasos sanguíneos, tejido conectivo, glándulas, articulaciones o músculo.¹

Los anticuerpos antineutrofílicos pertenecen a un grupo de inmunoglobulinas tipo G orientado contra enzimas presentes en neutrófilos, monocitos y células endoteliales, lo que los relaciona con enfermedades autoinmunes tipo vasculitis.³⁻⁵

Se ha descrito la presencia de los anticuerpos antineutrofílicos en múltiples enfermedades como Granulomatosis de Wegener, cistitis ulcerativa y enfermedad de Crohn; artritis reumatoidea y otras enfermedades hepáticas como hepatitis autoinmune tipo 1, cirrosis biliar primaria y síndrome de Felty.^{8,10}

Es indispensable que la prevalencia global local en personas sanas de los anticuerpos antineutrofílicos sea igual o menor al 5% lo que permitiría que se siguiera considerando una prueba diagnóstica de alta sensibilidad y especificidad.^(3,4,9)

Este trabajo de investigación tiene el propósito de presentar la prevalencia de los anticuerpos antineutrofílicos en población mexicana del alcoholismo, lo que permitirá elevar la referencia poblacional del sitio

geográfico que deseamos estudiar ya que estudios epidemiológicos sugieren que la ocurrencia de las vasculitis y otras enfermedades asociadas a ANCA puede variar por regiones; implicando esta relación con factores ambientales o genéticos.^{3,4,11}

Gracias a la identificación de la prevalencia global local de los ANCA, podremos tener una base para poder generar más estudios de investigación donde se indiquen principalmente enfermedades inmunitarias que afectan a población adulta.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Marco Teórico

2.1.1 Neutrófilo Concepto

Los neutrófilos son células que pertenecen a la línea hematopoyética mieloide siendo producidos solamente en la médula ósea en cantidad necesaria para que se lleven a cabo las funciones fisiológicas pero también como reserva celular almacenada en la médula que puede ser movilizada en caso de presentarse una reacción inflamación o infección.⁸

El aumento del número de neutrófilos de la sangre se denomina *neutrofilia*, mientras que su disminución se denomina *neutropenia* (tabla 1 y 2) y la presencia de elementos celulares inmaduros se denomina *desplazamiento a la izquierda*.⁹

Tabla 1. Causas de Neutropenia

Menor producción
a) Farmacoducida: Anquilantes, anticonvulsivos, antipsicóticos, diuréticos, etc
b) Enfermedades hematológicas: Leopática, neutropenia cídica, aplásica
c) Invasión tumoral, mielofibrosis
d) Deficiencia nutricional de vitamina B12 y ácido fólico
e) Infecciones: Tuberculosis, SIDA, Salmonelosis, Brucelosis, Tularemia, Mononucleosis.
Destrucción periférica
a) Anticuerpos anti neutrófilos
b) Granulomatosis de Wegener
c) Trastornos autoinmunes
d) Fármacos como haptenos
Transitoria
a) Invasión bacteriana sobreaguda
b) Hemodilisis
c) Circulación extracorporeal

Los neutrófilos y los monocitos proceden de células progenitoras pluripotenciales bajo la influencia de las citocinas y de los factores estimuladores de colonias. La fase proliferativa del metamielocito dura alrededor de una semana, mismo tiempo que se ocupa para llevarse a cabo la fase madurativa del metamielocito

al neutrófilo maduro. El mieloblasto es la primera célula precursora reconocible que evoluciona a *promielocito* formándose en su interior gránulos lisosómicos denominados *gránulos azurófilos* o *primarios*.^{8,9}

Tabla 2. Causas de Neutrofilia

Neutrofilia Primaria	Neutrofilia hereditaria Crónica idiopática Anomalia de Pelger-Huet Leucemia crónica mieloide Enfermedades mieloproliferativas Enfermedad mieloproliferativa familiar Síndrome de Down Deficiencia en la adhesión leucocitaria Síndrome Muckle-Wells y Síndrome autoinflamatorio frío familiar
Neutrofilia Secundaria	Tabaquismo Infección aguda Inflamación crónica Neutrofilia por estrés Glucocorticoides

Los gránulos primarios contienen hidrolasas, elastasa, mieloperoxidasa, catepsina G, proteínas catiónicas y proteína bactericida importantes para la destrucción de las bacterias gramnegativas. Los gránulos azurófilos también contienen *defensinas*, una familia de polipéptidos ricos en cisteína que ejercen una importante actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos y ciertos virus.^{8,9}

El promielocito se divide dando lugar al *mielocito*, una célula responsable de la síntesis de los *gránulos específicos* o *secundarios* que contienen elementos específicos como lactoferrina, proteínas de fijación de la vitamina B₁₂, componentes de membrana de la oxidasa de NADPH necesarios para la producción de peróxido de hidrógeno, histaminasa y receptores de ciertos factores quimiotácticos y de factores que facilitan la adherencia, así como receptores para el componente de la membrana basal denominado laminina y otros receptores capaces de reconocer anticuerpos, factores de complemento entre otros.

Los gránulos secundarios no contienen hidrolasas ácidas su formación durante la mielopoiesis está controlada por la proteína κ de unión a CCAAT o

intensificadora. Estos gránulos son fácilmente liberados hacia el espacio extracelular y su movilización es importante para regular la reacción inflamatoria.^{8,9}

Durante las fases finales de la maduración del metanielocito alcanza la fase de neutrófilo en banda con núcleo en forma de "U". A medida que madura la célula en banda, su núcleo presenta un aspecto lobulado siendo lo normal la presencia de 2 a 5 segmentos.^{8,9}

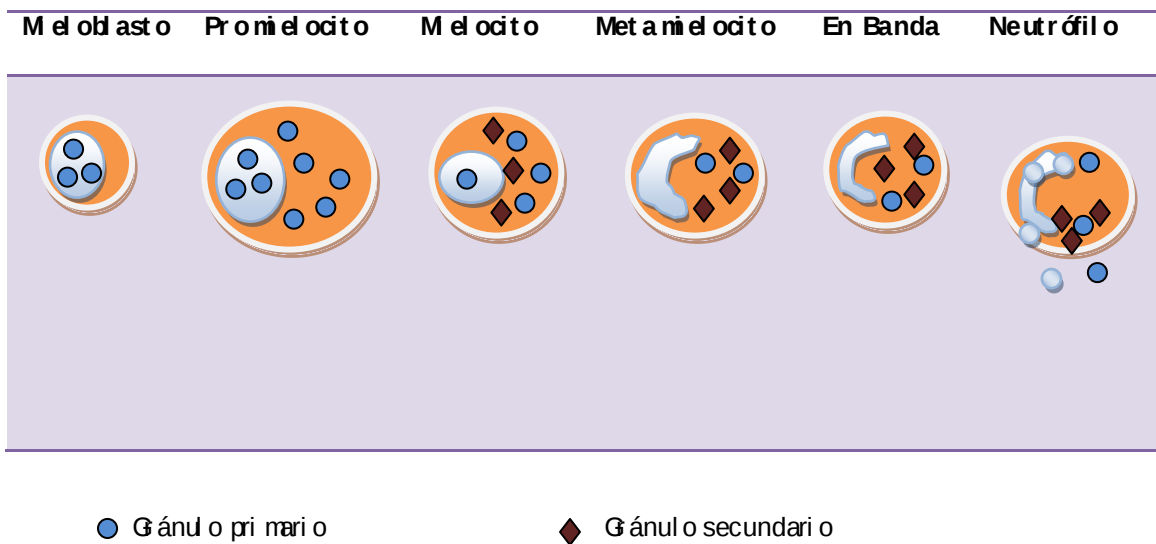


Figura 1. Etapas de maduración del neutrófilo

2.1.2 ANCA Concepto e Historia

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) comprenden un grupo heterogéneo de autoanticuerpos de tipo inmunoglobulina tipo G (IgG) dirigidos contra enzimas presentes en los gránulos azurófilicos o primarios del neutrófilo, de los lisosomas de los monocitos y en las células endoteliales.^{2,3,4}

Han pasado muchos años para identificar la asociación de ciertas patologías con la presencia de los ANCA. Los primeros reportes sobre su descubrimiento datan de 1982 cuando Davies y cols. describen a los ANCA en 8 pacientes con diagnóstico de vasculitis necrosante sistémica y glomerulonefritis necrosante focal. Posteriormente en 1984 Hall y cols. identificaron los ANCA en 4 pacientes

con vasculitis y glomerulonefritis necrosante. Es en 1985 cuando Gross y cols. confirmaron la alta sensibilidad de los ANCA para Granulomatosis de Wegener (GW) teniendo una relación directa entre las concentraciones séricas y la actividad clínica de dicha enfermedad.²

2.2 Antecedentes

2.2.1 Métodos diagnósticos de ANCA

En 1988 Falk y Jennette, evaluaron la especificidad antigénica de los ANCA, identificando los anticuerpos por inmunofluorescencia indirecta (IFI) en 27 de 37 pacientes estudiados con diagnósticos de glomerulonefritis extracapilar y necrosante idiopática limitada a riñón o con extensión hacia arteritis sistémica, no encontrando diferencia en la incidencia de autoanticuerpos entre ambos grupos de pacientes. Nels y cols. en 1989 identificaron por Western Blot al antígeno responsable del título por IFI producida por los autoanticuerpos IgG resultando una proteína de serina (proteína 3 – PR3).⁽²⁾

Esto fue confirmado por ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) usando lisato como antígeno, identificando dos tipos de autoanticuerpos, denominados c-ANCA (ver figura 2) sin reactividad con mieloperoxidasa produciendo inmunotinción citoplasmática difusa directamente contra la PR3 de los gránulos azurófilos y p-ANCA cuyos anticuerpos presentan reactividad con mieloperoxidasa (MPO) produciendo inmunotinción perinuclear de neutrófilos fijados con etanol, relacionándolo con enfermedades como síndrome de Churg-Strauss, poliarteritis nodosa con involucro visceral, con una especificidad de hasta un 99% para vasculitis^{2,10} necrosantes. Recientemente se ha descubierto autoanticuerpos contra LAMP-2 (proteína de membrana asociada a lisosomas humanos-2) que se han documentado presentes tanto en c-ANCA como en p-ANCA.¹¹

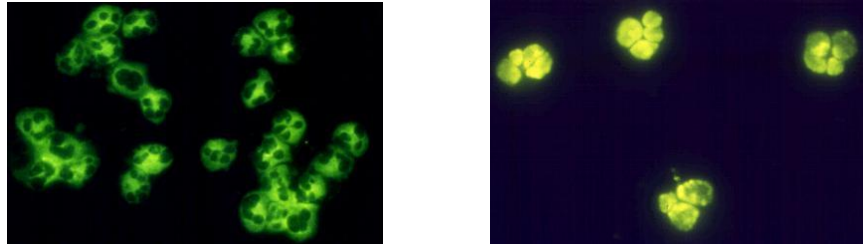


Figura 2. En la primera imagen se observa patrón C-ANCA y en la segunda imagen P-ANCA por medio de IF.

A partir de los años 90 y actualmente, se ha aceptado la relación de ANCA con múltiples enfermedades,⁵ siendo positivos en el 84% de los pacientes con enfermedad erosiva primaria, 86% en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) relacionándose hasta en un 50% con pacientes con colitis ulcerativa y en un 25% con enfermedad de Crohn; 17% en artritis reumatoidea (AR) y en otras enfermedades hepáticas como hepatitis autoinmune tipo 1,^{2,10,12} cirrosis biliar primaria (hasta en un 30%) y síndrome de Felty, siendo la presentación más común la p-ANCA (perinuclear) aunque se observó que no había relación con la actividad, extensión o respuesta al tratamiento de dichas enfermedades.^{5,6}

En 1992 se publicó por Kallenberg et al la presencia de p-ANCA en 5% de población sana control, lo que dejaba en duda la alta especificidad que se le otorgaba a los ANCA.¹⁰

Se han involucrado a varios mecanismos que inducen y generan persistencia de la respuesta inmune a través de ANCA, como el estímulo ambiental (exposición a sílice, drogas o agentes microbianos), disregulación en la expresión del gen de las proteínas de gránulos, mimetismo autoantigénico, regulación aberrante de las células T, entre otros.¹¹

2.2.2 Tipos de patrón de ANCA

Existen varios patrones predominantes en la IF que se describen como p-ANCA atípico o c-ANCA (citoplasmático), debido a la diferencia en la interpretación en el laboratorio que ejecuta dichas pruebas y a los cambios en la permeabilidad de las proteínas que están implicadas, pero lo que se deja en claro es que la presencia de ANCA independientemente de su patrón se correlaciona con la presencia de una enfermedad más no con su actividad clínica o severidad de la enfermedad, constituyendo una herramienta diagnóstica pero no para la decisión de cambio de terapéutica.²

Las principales áreas médicas donde se ha visto mayor utilidad de la determinación de ANCA es en Reumatología y Nefrología. De acuerdo a la *American College of Rheumatology* (ACR) para definir GW se ha incluido a los ANCA como criterio diagnóstico con una sensibilidad del 28% y una especificidad del 96% sin embargo durante un meta-análisis realizado por Rao y cols. se concluyó que la sensibilidad era del 34-92% con especificidad del 88 al 100%. Actualmente se acepta que los ANCA son marcadores con alta especificidad y sensibilidad para GW presentes incluso en un 90% con GW extensa, 75% de los pacientes con GW sin involvement renal y en un 40-50% de pacientes con síndromes asociados a vasculitis como poliarteritis microscópica.

2,10

Medina y cols. investigadores mexicanos publicaron la relación existente entre la presencia de ANCA y lepra. De 64 pacientes incluidos en el estudio 38 tenían lepra lepromatosa, de los cuales el 21% tenían p-ANCA y el 6% c-ANCA. De 6 pacientes con lepra limitrofe 16% tenían patrón p-ANCA y aquellos con lepra tuberculóide eran negativos para ANCA. Lo relevante de este estudio fue incluir a la lepra lepromatosa y limitrofe dentro de la lista de patologías relacionadas con ANCA.²

Tabla 3 Enfermedades asociadas a p-ANCA positiva

Enfermedad	Porcentaje
Artritis reumatoide con síndrome de Felty	90-100
Colangitis esclerosante primaria	60-85
Colitis ulcerativa	60-75
Hepatitis crónica autoinmune	60-70
Artritis reumatoidea con vasculitis	50-70
Cirrosis biliar primaria	30-40
Lupus eritematoso sistémico	25
Artritis reumatoidea no complicada	20-40
Espondilitis anquilosante	10-20
Poliartritis crónica juvenil	10-20
Artritis psoriásica	10-20
Enfermedad de Crohn	10-20
Síndrome de Sjögren	26
Pacientes sanos	5

En el consenso del *International Group for Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies* llevado a cabo en 1999 se establecieron cuatro distintos patrones de ANCA, descritos como c-ANCA, c-ANCA atípico, p-ANCA y ANCA atípico, y se recomendó que se realizara la determinación por ELISA de la reactividad frente al a PR3 y MPO (Ver tabla 3, 4 y 5) ²

Tabla 4 Enfermedades asociadas a p-ANCA atípico positivo

Enfermedad	Porcentaje
Hepatitis autoinmune tipo 1	65 %
Colangitis primaria esclerosante	-
Enfermedad inflamatoria intestinal	-

Tabla 5 Enfermedades asociadas a c-ANCA positivo

Enfermedad	Porcentaje
Granulomatosis de Wegener	98
Poliangitis microscópica	70
Síndrome de Churg Strauss	50
Vasculitis granulomatosa (Behçet)	33.3
Vasculitis no predefinida	26.6
Pacientes sanos	-

En el reporte laboratorio del patrón identificado, es importante comentar que el *International Consensus Statement* distingue entre c-ANCA y c-ANCA atípico, ya

que en este último no hay granulocitos citoplasmáticos o accentuación intralobulillar central⁵ y esta diferencia aplica también al hecho de que c-ANCA generalmente muestra reacción con PR3 mientras que c-ANCA atípico tiene especificidad por proteínas que se incrementan por permeabilidad inducidas por bacterias, lo que podría explicar la presencia de c-ANCA positivo en infecciones crónicas como individuos portadores de VIH serotípicos, absceso hepático amebiano, aunque hay que sospechar vasculitis concomitante. El, pacientes con sepsis e inducida con afectación reumatológica.^{3,7}

En el 2003 se publicó un *addendum* a este consenso sobre los lineamientos de control de calidad y recomendaciones para las pruebas de detección de ANCA, siendo útiles para realizar diagnóstico y monitoreo de actividad inflamatoria en las vasculitis de pequeños vasos como es el caso de la GW, piodangitis microscópica y su variante limitada a riñón conocida también como glomerulonefritis *pauci-inmune* y el síndrome de Churg-Strauss, estableciendo que la combinación de IF y de ELISA para la correcta detección de PR3 y MPO.⁵

2.2.3 Prevalencia de ANCA en población global

El *International Group for Consensus Statement on Testing and Reporting of Anti-neutrophil Cyttoplasmic Antibodies* especifica en sus recomendaciones que el punto de corte para detección de positividad deberá ser determinado usando muestras de suero de pacientes de grupo de edad y género con algún proceso inflamatorio no asociado a ANCA, lo que permite reflejar la referencia poblacional del sitio geográfico que se desea estudiar e induce para definir la prevalencia de los anticuerpos en la población normal de dicha área geográfica,^{2,3,5} ya que estudios epidemiológicos sugieren que la ocurrencia de las vasculitis asociadas a ANCA puede variar por regiones; tal como se ha observado que GW es más frecuente en el norte de Europa, piodangitis microscópica más frecuente en el sur de Europa. Esto puede relacionarse con factores ambientales o genéticos, aunque aún no se ha descrito por completo dicha relación.¹³

Dentro de la utilidad diagnóstica de la determinación de ANCA debemos de conocer el valor predictivo positivo de la prueba, considerado como el porcentaje de pacientes positivos que tienen la enfermedad $[\text{verdaderos positivos} \div (\text{verdaderos positivos} + \text{falsos positivos}) \times 100]$ mientras que el valor predictivo negativo es el porcentaje de pacientes negativos que no tienen la enfermedad $(\text{verdaderos negativos} \div (\text{verdaderos negativos} + \text{falsos negativos}) \times 100)$. El valor predictivo positivo de los ANCA está determinado por la sensibilidad y especificidad de la prueba, pero también por la prevalencia de síntomas y signos en pacientes enfermos que en pacientes sanos a quienes se les realiza la prueba diagnóstica. Esto es muy importante puesto que puede haber pacientes con resultados positivos, pero dependerá de la experiencia de quien solicite dichas pruebas para otorgarle un valor *pretest* a aquellos pacientes con datos clínicos compatibles con enfermedades asociadas a ANCA positivo.¹⁴

En diferentes series publicadas han detectado ANCA positivo en población sana en un 5% Cardelli en 1999 y Guerrero en 2002 documentaron el 0% de prevalencia en controles sanos con un rango de edad de 27 a 59 años; mientras que Moscardi en 1997 un 1.8% (0.7% cANCA y 1.1% p-ANCA) en ancianos residentes de Buenos Aires.^{3,7,10}

Merkel et al en 1995 describió la prevalencia de ANCA en un estudio diagnóstico, controlado, con cohorte a 5 años en pacientes con enfermedad del tejido conectivo en el Hospital General de Massachusetts, EUA, donde se incluyeron 419 pacientes con alguno de los siguientes diagnósticos: artritis reumatoidea, LES, esclerosis múltiple, miositis inflamatoria, síndrome de Sjögren, SAAF y 200 donadores de sangre y 52 pacientes con antecedente conocido de vasculitis, los cuales sirvieron como sujetos control. Se reportó que ningún c-ANCA fue detectado ni en el grupo de estudio ni en el de control, sin embargo p-ANCA fue detectado en más del 30% en el grupo de pacientes con LES, aunque menos común (0-5%) en los demás grupos de estudio. Mientras que los ANCA atípicos fueron más comunes en todos los grupos con una prevalencia del 11-39%. Se

determinó que cuando se combina IF con ELISA para la detección de ANCA se obtiene hasta una especificidad para vasculitis del 99.5%¹⁵

Papo y cols. en 1998¹⁶ realizaron un estudio de prevalencia y utilidad diagnóstica de los ANCA por IF en pacientes con EI en Tarragona, comparando pacientes con diagnóstico de Colitis ulcerativa (CU), Enfermedad de Crohn (EC) y sanos, de 156 sueros analizados se encontró que el 65% de los pacientes con CU tenían ANCA positivos, 12% de pacientes con EC y 2.5% de los controles, con una especificidad del 88% y sensibilidad del 65% para detección de CUI o que permitía establecer un diagnóstico diferencial entre ambas enfermedades inflamatorias intestinales.^{15, 16}

En el 2001 Brissón y cols. demostraron una prevalencia global del 2.8% de ANCA positivo de 450 sueros de sujetos sanos, de los cuales predominó p-ANCA sobre c-ANCA en un 100%³ En todas las series publicadas se ha demostrado menos del 5% de prevalencia en población global, esta baja prevalencia de los ANCA es un requisito para seguir considerándolos como elemento diagnóstico de las patologías ya comentadas previamente.

3. DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO

3.1 Diseño

El Hospital General de Mexicali es una institución de segundo nivel de atención médica, el cual cuenta con el departamento de Banco de Sangre, donde se atiende a población que desea de manera voluntaria realizar donación de sangre. A su ingreso se realizó una entrevista y exploración física, así como pruebas biológicas para poder determinar que el paciente es sano y capaz de ser donador.

Tipo de estudio: Descriptivo, prospectivo y observacional

Lugar: hospital General de Mexicali

Objeto de estudio: personas sanas que acudan al banco de sangre del HGM y que cumplan con los criterios de inclusión.

3.2 Definición de universo

Tipo de muestreo: Probabilístico

Para estimar el tamaño de muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{z^2 pq}{B^2}$$

Donde n=tamaño de la muestra, $z=1.96$ para el 95% de confianza, 2.56 para el 99% de confianza, p =la frecuencia esperada del factor a estudiar (5), $q=1-p$ (95), B =la precisión o error permitido, obteniendo con el 95% de confianza un total de 72.99 pacientes y con un 99% de confianza de 124 pacientes.

Se incluyeron en el estudio a 156 personas sanas de manera continua que acudieron al banco de sangre del Hospital General de Mexicali para donación voluntaria de sangre que cumplan con los criterios de inclusión.

3.3 Planteamiento de problema

Las enfermedades autoinmunes son producidas por una alteración en el funcionamiento correcto del sistema inmunológico, que si bien se conoce poco sobre ellas, su presencia implica un alto costo tanto al paciente como al sector médico y farmacológico, debido a que se tratan de enfermedades crónico degenerativas, incurables en su mayoría y progresivas. Sin embargo su detección oportuna permite introducir tratamientos adecuados que disminuyan su progresión y sobre todo el impacto en la calidad de vida del paciente.

Las vasculitis mediadas por los anticuerpos antitoplasma de neutrófilo (ANCA) se consideran enfermedades autoinmunes cuya prevalencia ha ido en aumento afectando principalmente a la población adulta mayor y constituyendo una de las principales causas de falla renal aguda.

Se ha estudiado la prevalencia de los ANCA en población sana, variando desde 0-5% en diferentes estudios publicados, siendo requisito la baja prevalencia en población global para poder seguir siendo un estudio diagnóstico de gran utilidad, es así como surge la inquietud de conocer la prevalencia de ANCA en población Mexicana, en específico de la localidad ya que se ha documentado también que la prevalencia puede variar por situación geográfica.

3.4 Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de detección de anticuerpos antitoplasma del neutrófilo en la población sana estudiada?

3.5 Justificación

Dentro de las enfermedades más frecuentes del adolescente, adulto y adulto mayor; se enlistan las neoplasias, enfermedades crónico degenerativas, infecciones contagiosas agudas y crónicas, urgencias médico legales y las relacionadas a salud mental y adicciones.

Las enfermedades autoinmunes son producidas por una alteración en el funcionamiento correcto del sistema inmunológico, cuya presencia implica un alto costo económico tanto al paciente, al sector médico y farmacológico, ya que se incluyen en el grupo de enfermedades crónico degenerativas, siendo en su mayoría sostenidamente enfermedades no curables que progresan en su mayoría a la discapacidad del paciente; sin embargo su detección oportuna permite proponer e instalar tratamientos adecuados con la capacidad de disminuir su progresión y sobre todo generar impacto positivo en la calidad de vida del paciente.

Las vasculitis mediadas por ANCA se consideran enfermedades autoinmunes cuya prevalencia ha ido en aumento afectando principalmente a la población adulta mayor y constituyendo una de las principales causas de falla renal aguda, condicionando la necesidad de terapia de sustitución renal en sus diferentes modalidades de diálisis peritoneal o hemodiálisis.

La disposición de pruebas de detección para ANCA han supuesto un instrumento de primera utilidad con alta especificidad y sensibilidad para patológicas asociadas a estos anticuerpos. Se ha estudiado la prevalencia de los ANCA en población sana, variando desde 0-5% en diferentes estudios publicados, siendo un requisito la baja prevalencia en población global para poder seguir siendo un estudio diagnóstico de gran utilidad.

Como médicos integristas tenemos la responsabilidad y obligación de saber identificar enfermedades autoinmunes que están afectando a nuestra población con el fin de realizar diagnósticos oportunos y adecuados, así como la referencia al servicio de medicina especializada del segundo o tercer nivel de acuerdo a las necesidades del paciente, ofreciéndole la oportunidad de un abordaje terapéutico integral.

3.6 Hipótesis Descriptiva

La frecuencia de detección de anticuerpos antitoplasma del neutrófilo con títulos menores a 1:16 por inmunofluorescencia indirecta es menor del 5% en la población sana estudiada.

3.7 Objetivo General

Determinar la frecuencia de detección de anticuerpos antitoplasma del neutrófilo por inmunofluorescencia indirecta en población sana.

3.8 Objetivo Específico

Identificar las características demográficas de los sujetos estudiados.

3.9 Criterios de Inclusión

- a) Personas mayores de 18 años de edad.
- b) No describir por género.
- c) Originarios de Baja California, México.
- d) Que acudan al banco de sangre del Hospital General de Mexicali para donación voluntaria de sangre y que cumplan con los criterios de inclusión que especifica el banco de sangre.

3.10 Criterios de Exclusión

- a) Presencia de tatuajes o ser usuarios de drogas.
- b) Antecedente conocido o diagnóstico médico de las siguientes patologías o condiciones:
 - a. Uso de fármacos (hidralazina, propiltiuracil, alopurinol)
 - b. Diagnóstico de cáncer
 - c. Infección por Hepatitis B, C, VIH, tuberculosis, endocarditis subaguda bacteriana.

- d. Vasculitis secundaria –artritis reumatoidea, Lupus eritematoso sistémico, Síndrome de Sjögren, enfermedad de tejido conectivo
 - e. Enfermedad de Behçet, arteritis de Takayasu, arteritis de células gigantes, enfermedad de Kawasaki, crioglobulinemia mixta, púrpura de Henoch Schönlein, enfermedad con anticuerpos anti membrana basal glomerular.
 - f. Sarcoidosis y otras enfermedades granulomatosas no vasculares.
- c) No aceptar las condiciones establecidas en la carta de consentimiento informado.
- d) No aceptar participación en el estudio.

3.11 Operacionalización de las variables

Variab le	Ti po de variab le	Defi ni ción conceptual	For ma de medi ción	Defi ni ción operacional
Sexo	Independ erte	Se refiere a la división del género humano	Dic tónica	Femeni no Masculi no
Edad	Independ erte	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	No mi nal	Expresada en años de acuerdo a los siguientes grupos: • 18 a 20 años • 21 a 30 años • 31 a 40 años • 40 ó más años
Tabaquismo	Independ erte	Enfermedad crónica sistémica que pertenece al conjunto de adicciones que un sujeto experimenta por el tabaco.	Dic tónica	S No
Alcoholismo	Independ erte	Padeamiento que genera la necesidad de	Dic tónica	S No

		ingerir alcohol, existiendo una dependencia física del mismo, sin importar la cantidad ingerida		
ANCA	Independiente	Determinación de anticuerpos antitopasma del neutrófilo por IF	Cuantitativa	Valor de título obtenido

3.12 Variable de Atributo

Sexo, edad, antecedentes de tabaquismo y alcoholismo en los sujetos investigados, así como la determinación de ANCA

3.13 Material y Métodos

Fase 1. Al inicio del estudio se dio una plática informativa a todos aquellos participantes que cumplieron con los criterios de inclusión explicándoles los objetivos del estudio y se les entregó la carta de consentimiento informado la cual posterior a leerla y aceptar participar en el estudio firmaron y se quedaron con una copia

1. Instrumentos de Medición

- Questionario Específico para esta investigación. Questionario anónimo desarrollado para este estudio que recabó información sobre datos personales del sujeto de estudio
- Pruebas bioquímicas para cuantificación de anticuerpos antitopasma de neutrófilo sérico por medio de inmunofluorescencia indirecta (IF).

Fase 2

2. Procedimientos

- Cuantificación de anticuerpos antitopasma de neutrófilo sérico por medio de IF: Una vez obtenida la muestra de sangre venosa de 5 ml aproximadamente, se

mantuvo en reposo por 30 minutos y se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos, posteriormente se mantuvo el suero en congelación a -5 grados centígrados, hasta el momento de ser procesado por IF. Se consideró como valor de referencia negativo cuando se obtuvieron títulos menores de 1:16, y se corroboró por ELISA⁽¹⁶⁾

3.14 Análisis estadístico

Se organizó la información obtenida de los cuestionarios y pruebas de cuantificación de ANCA en una base de datos para codificarlos y proceder a someterlos a diversas pruebas estadísticas.

Se calcularon medidas descriptivas de tendencia central como media, mediana y moda y de dispersión o variabilidad tales como varianza y desviación estándar provenientes del cuestionario sociodemográfico como los datos de género, edad, hábitos de adicciones o toxicománias y estado de salud, así como realización de gráficas permitiendo con esto establecer una comparación de los sujetos de estudio, sin embargo por los resultados obtenidos no fue posible aplicar otras pruebas estadísticas.

3.15 Análisis éticos y legales

En base al Código de Nuremberg, documento donde se plasman los fundamentos bioéticos de la investigación y experimentación médica; así como bajo la aprobación de la Ley General de Salud en México¹⁸ se estipula el consentimiento informado para la utilización de los sujetos de estudio para esta investigación cumpliendo con los requerimientos básicos para su validación. El cual se sometió a la evaluación y valoración del protocolo por el Comité de Ética e Investigación de la Universidad Autónoma de Baja California y del Hospital General de Mexicali.

Se entregó el formato de consentimiento informado al sujeto de estudio partícipe de la investigación, el cual posterior a leerlo y estar de acuerdo, firmó para poder ser inducido.

En dicho formato se describió la información básica de la investigación, tal como el objetivo del estudio, la metodología empleada, los beneficios del estudio, la adscripción del carácter voluntario de su participación y la posibilidad de retirarse en cualquier momento del estudio, el compromiso de confidencialidad y el nombre de los investigadores responsables del estudio y el modo de comunicarse con ellos.

En el caso de los sujetos que presentaron positividad a cualquiera de los subtipos de ANCA, se les informó vía telefónica y se valoraron por los médicos especialistas investigadores para realizar el protocolo de estudio de enfermedades autoinmunes y en caso de que lo requirieran iniciar tratamiento.

No hubo conflicto de interés, puesto que los gastos de la investigación fueron absorbidos en su totalidad por el equipo de investigadores.

3.16 Cronograma

<i>Acción</i>	<i>Ago- Sep</i>	<i>Oct- Nov</i>	<i>Ene- Feb</i>	<i>Mar- Abr</i>	<i>May- Jun</i>
<i>Investigación previa a la redacción del anteproyecto</i>					
<i>Identificación con el asesor y planeación del proyecto</i>					
<i>Revisar antecedentes y actualización de información publicada</i>					
<i>Definir el problema y localizar problemas, así como redacción de la justificación</i>					
<i>Determinar y definir los objetivos generales y específicos</i>					
<i>Identificar la hipótesis o supuesto de investigación</i>					
<i>Plataforma informativa a los sujetos de estudio</i>					
<i>Entrega y contestación de Cuestionarios</i>					
<i>Obtención de muestra de sangre venosa</i>					

<i>Análisis de los cuestionarios</i>					
<i>Vaciado de datos obtenidos de los cuestionarios en una base de datos electrónica</i>					
<i>Procesamiento de las muestras séricas</i>					
<i>Realización del análisis estadístico</i>					
<i>Redacción del apartado de resultados, conclusión y discusión</i>					
<i>Revisión de Tesis y</i> <i>Presentación de Tesis Final</i>					

4 RESULTADOS

Se identificaron a 156 sujetos sanos, de los cuales 98 fueron mujeres (63%) y 58 hombres (37%), con una edad media de 29.29 años en el caso de los hombres y de 27.44 en mujeres.

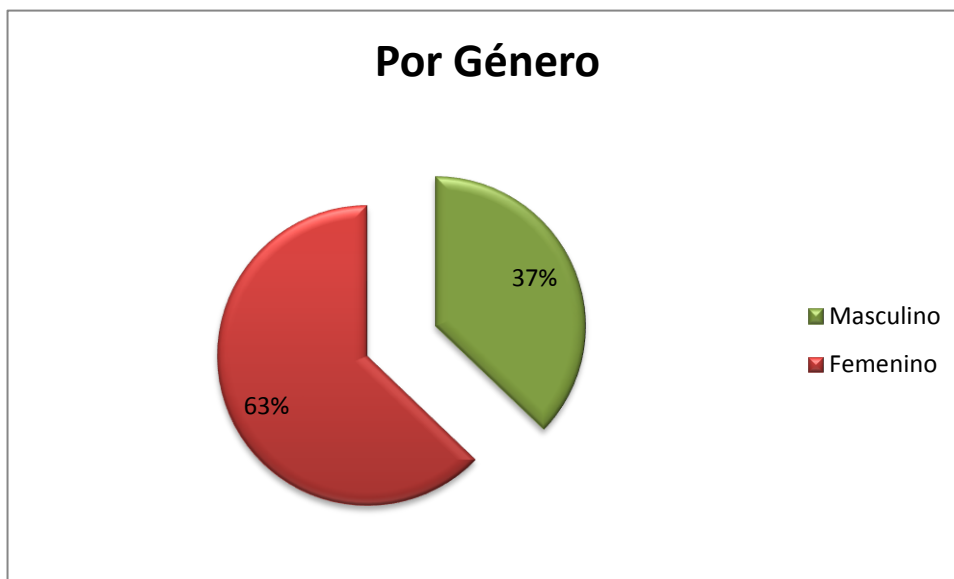
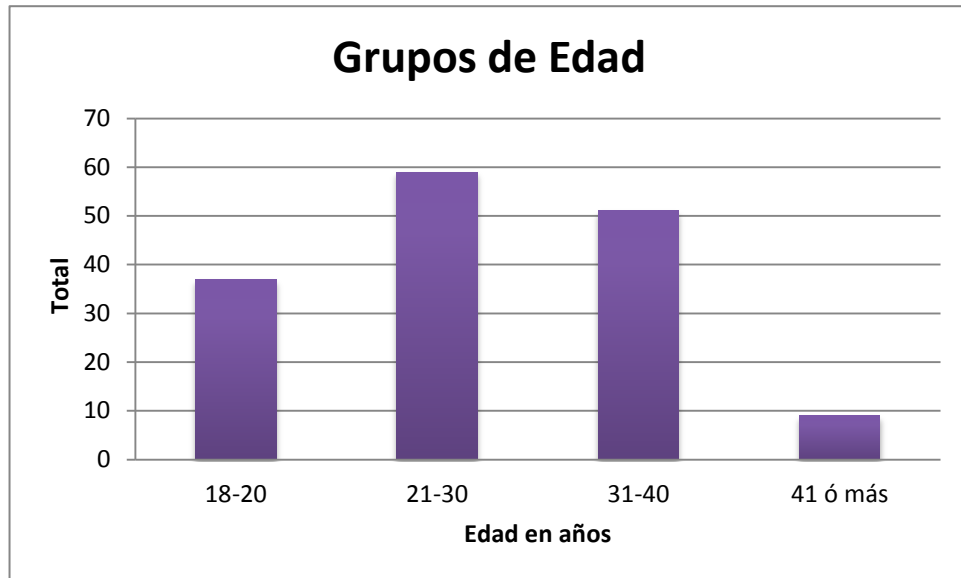


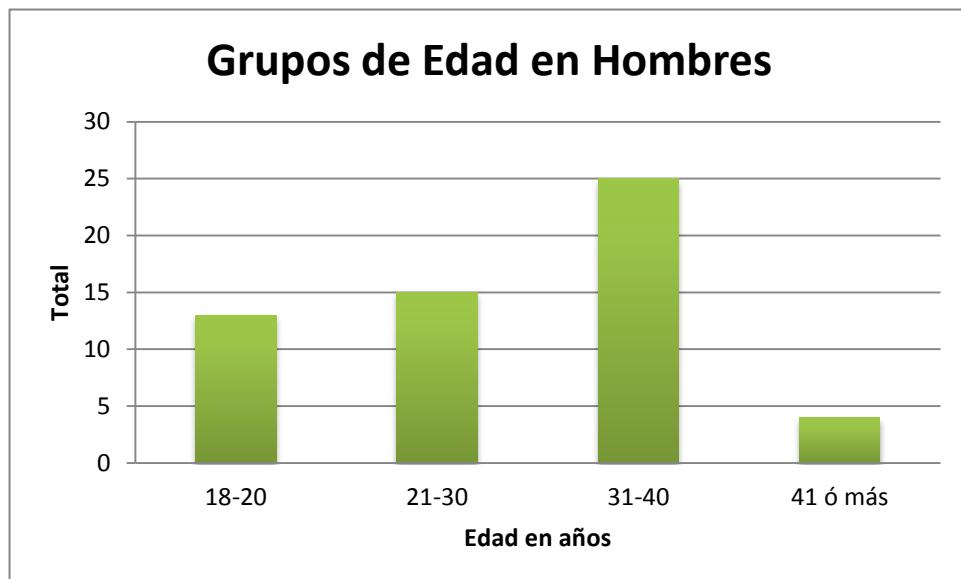
Gráfico 1. Sujetos estudiados por género.

Se observó que por grupos de edad el 23.71% correspondía a una edad entre los 18 y 20 años, 37.82% entre los 21 y 30 años, el 32.69% entre los 31 y 40 años de edad y tan sólo un 5.7% se ubicó entre el grupo de 41 años y más. Esto es importante porque se registró una asistencia de más del 70% de sujetos sanos entre los 21 y 40 años de edad, población económicamente activa y más susceptible a enfermedades crónico degenerativas asociadas a enfermedades autoinmunes.

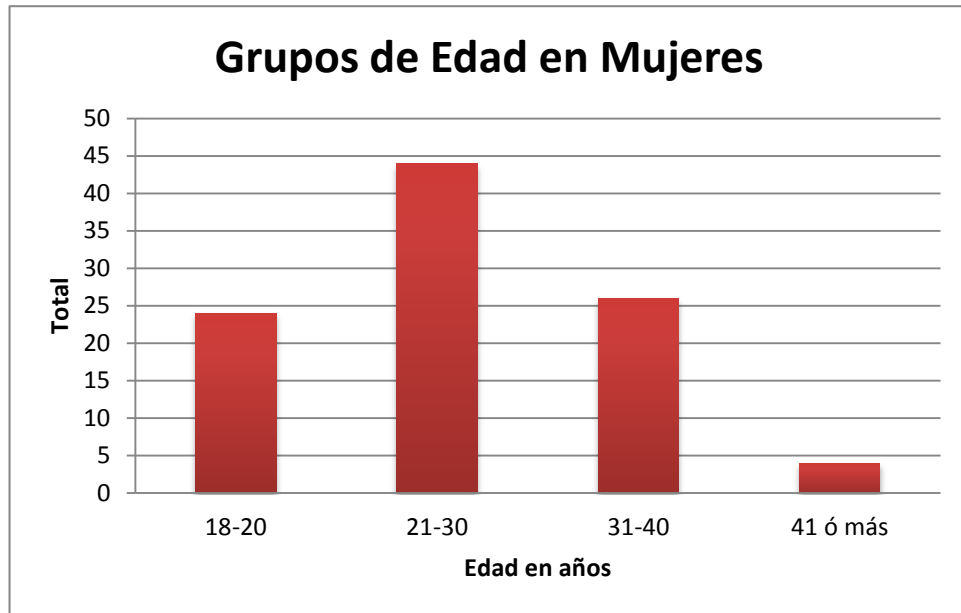


Gráfica 2. Población global total estudiada por grupos de edad.

Este mismo patrón de asistencia por grupos de edad se observó en ambos géneros, tal como se puede apreciar en las siguientes dos gráficas.

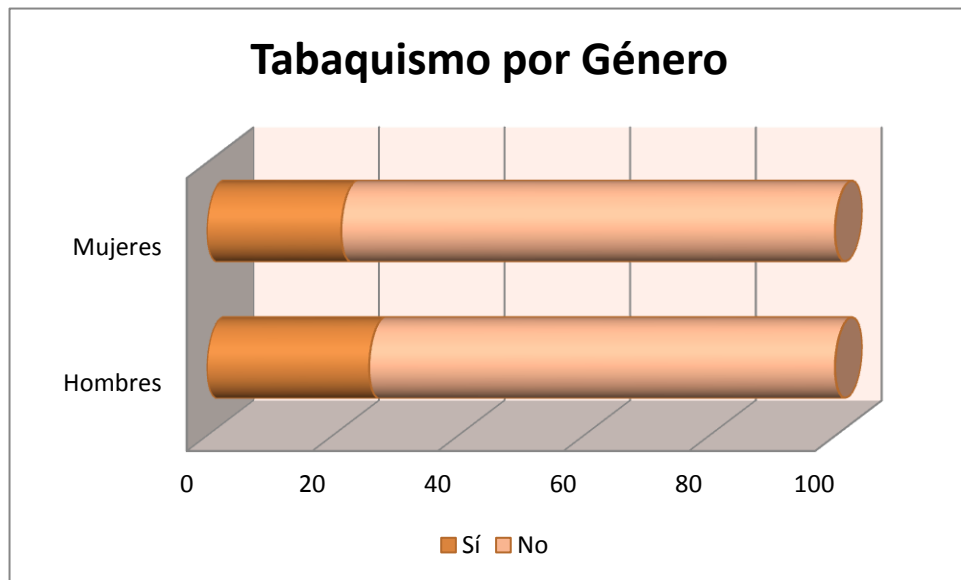


Gráfica 3. Grupos de edad por género masculino.



Gráfica 4 Grupos de edad por género femenino.

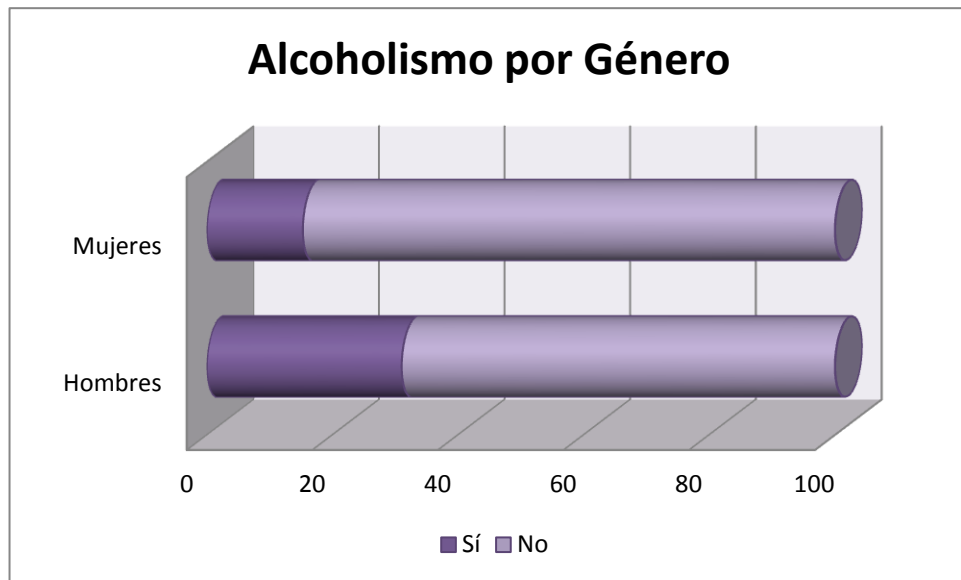
Se observó que el 21.42% de las mujeres y 25.86% de los hombres tenían tabaquismo positivo, no existiendo ninguna diferencia significativa por género.



Gráfica 5 Tabaquismo por Género

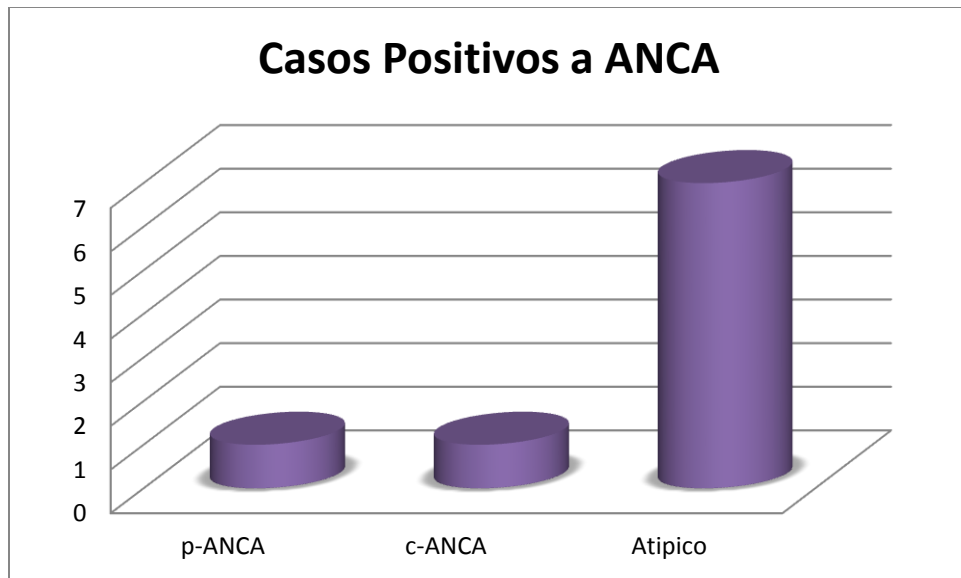
En cuanto al consumo de alcohol, el 15.3% de las mujeres declararon consumir más de 500ml de cerveza a la semana, el resto comentó el consumo de menos

de esta cantidad o incluso de manera muy ocasional. En cuanto al género masculino una tercera parte (31.03%) aceptó el consumo de alcohol en la misma proporción. Sin embargo no hubo una relación entre ambos hábitos con la determinación de ANCA



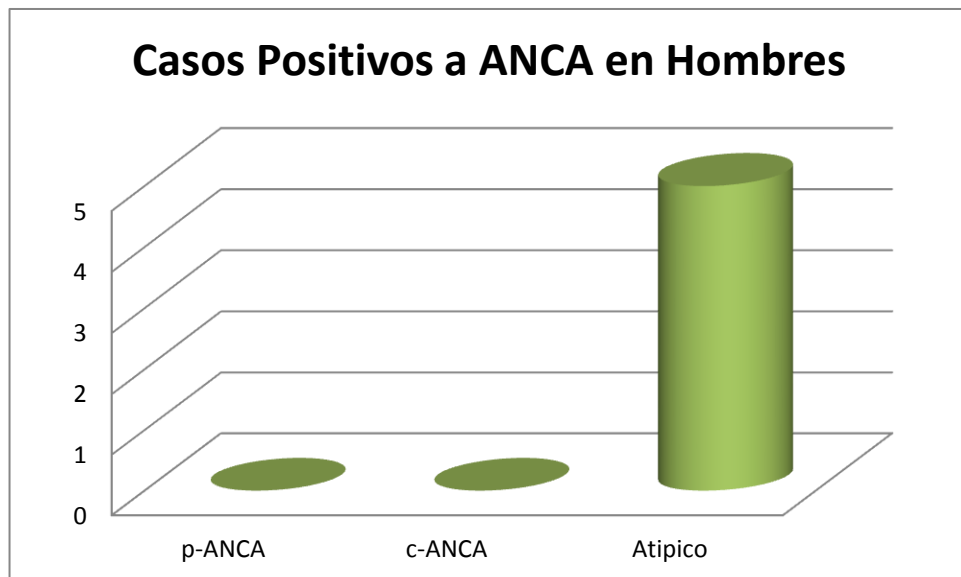
Gráfica 6 Alcoholismo por Género

En la población global total que se estudió se encontró positividad para ANCA en 9 sujetos, que corresponde al 5.79% sin embargo a la hora de identificar los subtipos de patrones de ANCA se observó que un solo sujeto mostró positividad para p-ANCA (0.64%) y c-ANCA y 7 casos positivos para atípico o indeterminado que equivale al 4.48%



Gráfica 7. Casos positivos a ANCA en población global total estudiada.

En la descripción de casos positivos por género, en el caso de los hombres ninguno de los sujetos presentó positividad a p-ANCA o c-ANCA, sin embargo si hubo 5 casos registrados para ANCA atípico o indeterminado representando el 8.62 %



Gráfica 8. Casos positivos a ANCA en población de género masculino.

En el caso de las mujeres uno los sujetos presentó positividad a c-ANCA (0.64%), y un solo caso para p-ANCA (0.64%), 2 casos registrados para ANCA atípico o indeterminado representando el 2.04%

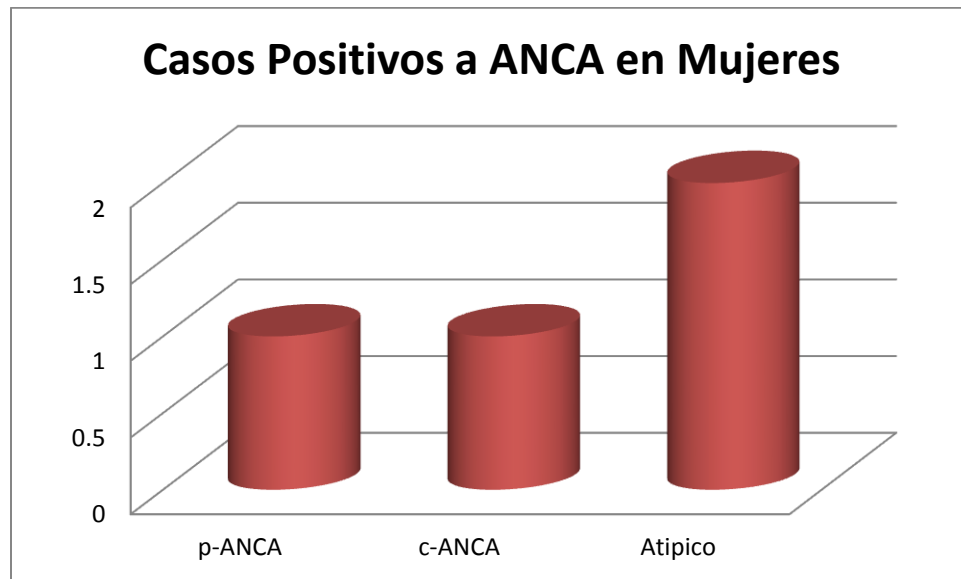


Gráfico 9. Casos positivos a ANCA en población de género femenino.

No se encontró ninguna relación de la presencia de los ANCA con el género de la población estudiada y se documentó una incidencia menor al 5% como en otras series publicadas, lo que apoya a que la baja incidencia en la determinación de ANCA en sujetos sanos, permite que se siga considerando como un elemento diagnóstico de gran especificidad y sensibilidad para patologías autoinmunes asociadas a dichos ANCA.

Sobre los sujetos que tuvieron positividad a los ANCA en general, se les notificó vía telefónica y se les realizaron estudios complementarios para definir la presencia o ausencia de enfermedad autoinmune. Del caso de la paciente con c-ANCA positivo no se encontró presencia de enfermedad autoinmune, renal o metabólica. En el caso de la paciente con p-ANCA positivo, solo se documentó un proceso infeccioso de vías urinarias, para lo cual se empleó antibiótico terapéutico y posteriormente se realizaron de nuevo pruebas de detección de ANCA,

reportándose negativo a p-ANCA. El resto de los 7 sujetos que presentaron positividad a p-ANCA atípica, solo se pudo documentar enfermedad inflamatoria intestinal en dos de ellos, con los demás sujetos no se pudo comprobar la presencia de enfermedad gastrointestinal, hepática, reumatológica o renal. Sin embargo se les hará procedimiento de detección de tuberculosis pulmonar de manera intencionada al habitar en zona endémica y tratarse de una enfermedad inflamatoria crónica que se ha asociado en poca proporción con la positividad de ANCA, al no haber una mejor manera de justificar su detección.

5. CONCLUSIONES

Los anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo constituyen un heterogéneo grupo de autoanticuerpos específicos contra antígenos localizados en varias células como en neutrófilos, monocitos y células endoteliales. En muchas publicaciones se ha podido comprobar su gran importancia como prueba diagnóstica en diversas enfermedades autoinmunes, principalmente en vasculitis sistémicas.

El subtipo de c-ANCA se ha relacionado a vasculitis, sugiriendo incluso la presencia de granulomatosis de Wegener, ya que como se describe en las guías de Reumatología el 100% de los pacientes con dicha enfermedad en fase activa muestran positividad a estos anticuerpos. Sin embargo no es en la única patología donde podemos encontrar a los c-ANCA, ya que también se encuentran presentes en enfermedades del sistema digestivo como en abscesos hepáticos u otros pacientes con serología positiva a M H.

Si bien se ha demostrado positividad de c-ANCA en sepsis y otros procesos infecciosos agudos, esto es infrecuente, y si éste es el caso se sugiere la búsqueda intencionada de enfermedad vascular concomitante.

El subtipo de p-ANCA no se ha podido relacionar de manera directa a una enfermedad en específico, pero sí a diversos grupos de enfermedades

sistémicas –excepto vasculitis– como es el caso de síndrome de intestino irritable, artritis reumatoidea, enfermedad de Crohn o incluso infecciones agudas.

En esta investigación no se detectó la presencia de c-ANCA en ninguno de los sujetos varones analizados, sólo en una paciente mujer representando el 0.64% así pues también se presentó el 0.64% de positividad equivalente a un solo caso para p-ANCA en el grupo de mujeres, coincidiendo con otras publicaciones donde se describe una baja prevalencia en población global sana, permitiendo que se continúe considerando una prueba diagnóstica adecuada. Llama la atención la detección de ANCA subtipo indeterminado o atípico en población global de hasta un 4.48% sin embargo como se comentó dentro del marco teórico es el subtipo más común con una prevalencia del 11 al 39% en diversos estudios previos, no relacionado con ninguna patología en específico.

No se encontró ninguna relación entre la positividad de los ANCAS y el grupo de edad ni el antecedente de tabaquismo o alcoholismo.

7. RECOMENDACIONES

Con los resultados obtenidos en esta investigación, no recomendamos la realización de tamizaje a población general para detección de ANCA, ya que se mantiene por debajo de la prevalencia internacional, siendo inespecífica para patología autoinmune. Sin embargo sí recomendamos su realización ante la sospecha de enfermedad reumatólica como granulomatosis de Wegener o vasculitis como prueba diagnóstica, valor de referencia basal y de seguimiento, y grado de severidad, al ser una prueba accesible y de bajo costo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schultz DR, Tozman EC. Antineutrophil cytoplasmic antibodies: major autoantigens, pathophysiology, and disease associations. *Semin Arthritis Rheum* 1995; Dec; 25(3):143-59.
2. Deriss L Hasper. Eds Harrison. Principios de medicina interna. Ed 16. McGraw-Hill.
3. Camargo, Juan Pablo, Cantillo Jorge de Jesús. Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA): desde su descubrimiento hasta su difusión. *Revista colombiana de reumatología* vol 15 no 2, junio 2008. pp 103-115.
4. Brisson, Cecilia María; Banzaco, Ráido Daniel y cols. Anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA): prevalencia en población sana de Santa Fe. *Revista FABI Q B* 2001, vol 5, 155-157.
5. Salazar Madrigal, Kenneth. Granulomatosis de Wegener y vasculitis asociadas con anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica* LXV 2008; 583: 175-177.
6. Kallenberg CG, Mulder AH, Tervaert JW. Antineutrophil cytoplasmic antibodies: a still-growing class of autoantibodies in inflammatory disorders. *Am J Med.* 1992 Dec; 93 (6): 675-682.
7. Jennette J. Charles, et al. Pathogenesis of antineutrophil cytoplasmic autoantibody vasculitis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20: 230-270.
8. Judy Savig, Wayne Dimech et al. Addendum to the international consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 312-318.
9. Zauli D, Ghetti S, Grassi A, Descovich C, Cassari F, Ballardini G, Muratori L, Bianchi Fb. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1997; 25(5): 1105.
10. Sergent J, et al. Medical knowledge self assessment program 2ed. Chapultepec, México, Intersistemas; 2000.
11. Guerrero Ana, Villacusa Rinaldo. Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA): una herramienta importante en el diagnóstico de las vasculitis. *Instituto de Hematología e Inmunología* 2002; 18(3).

12. Wálts, Richard, Lane Suzanne, et al. Development and validation of a consensus methodology for the classification of the ANCA-associated vasculitides and polyarteritis nodosa for epidemiological studies. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 222-227.
13. Jennette J. Charles, et al. Diagnostic predictive value of ANCA serology. *Kidney International*. 1998; 53: 796-798.
14. Papo Michel, Quer J. Carlos, et al. Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en la enfermedad inflamatoria del intestino. *Medicina d'íria (Barc)* 1998; 110: 11-15.
15. Merkel PA, Pdisson RP, Chang Y, Skates SJ, Niles JL. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue disease. *Ann Intern Med*. 1997 Jun 1; 126(11): 866-73.
16. Hauschild S, Schmitt Wh, et al. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. *Adv Exp Med Biol*. 1993; 336: 245.
17. Mendoza-Romo Má; Nava-Zárte N. Aspectos éticos y legales del consentimiento informado en la práctica e investigación médica. *Gaceta médica de México*. 2003; 139: 2.

ANEXOS

- a. Consentimiento informado
- c. Cuestionario sociodemográfico

ANEXO A CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Folia _____

Mexicali B G a _____ 2011

Por _____ medio _____ de _____ la _____ presente, yo _____ autorizo a participar en el protocolo de investigación titulado: "PREVALENCIA DE LOS ANCA EN POBLACION SANA", cuyos investigadores responsables son HIRAM JAVIER JARAMILLO RAMIREZ y JOANNA LUCIA CALZADA ALGRAVEZ.

Estoy enterado que el objetivo del estudio es identificar la prevalencia de los anticuerpos anti toxoplasma del neutrófilo en suero.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en permitir que se obtenga una muestra de sangre venosa (5ml) para su análisis, no generando ningún gasto económico para mí.

Se me ha informado también que gracias a mi participación en el estudio podré contribuir a que se amplíe el conocimiento sobre el tema de la investigación.

Los investigadores responsables se han comprometido a dar me información oportuna así como a responder y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

Los investigadores responsables me han dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial y anónima.

FIRMA DEL PARTICIPANTE

ANEXO B CUESTIONARIO ESPECÍFICO

Firma _____

Es de su mayor interés para esta investigación que conteste honestamente todos los datos que se le piden a continuación, recordándole que toda la información que usted nos brinde será confidencial y anónima para fines estadísticos.

Datos Personales

Nombre: _____

Edad: _____ Género: Masculino ____ Femenino ____ Edo. Civil _____

Dirección: _____

Teléfono (casa): _____ Teléfono celular _____ Nextel: _____

Fuma? S ____ No ____.

En caso de responder "S" indicar el número de cigarrillos que consume a la semana. _____

¿Ingiere usted bebidas alcohólicas? S ____ No ____.

En Caso de responder "si" indicar el número de bebidas y el tipo de bebida alcohólica que se consume a la semana: _____

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN