

Anticoagulante lúpico-DRVVT: ensayo del veneno de la víbora de Russell diluido

Lupus anticoagulant-DRVVT: dilute Russell's viper venom test

Código SCPC (Sociedad Colombiana de Patología Clínica): I0300. **Código CUPS (Codificación Única de Procedimientos en salud):** 902004, 902005. **Sección:** Hematología. **Nivel de complejidad:** alto. **Metodología:** veneno de víbora de Russell, mecánico. **Sinónimos:** anticoagulante lúpico, screening y confirmatorio; anticoagulante lúpico, ratio.

Definición

El anticoagulante lúpico con veneno de víbora de Russell es una prueba que se realiza en pacientes con prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activado para definir la presencia de anticoagulante lúpico y el posible diagnóstico de síndrome antifosfolípido.

Espectro clínico de aplicación

El término de anticoagulante lúpico hace referencia a un grupo heterogéneo de autoanticuerpos que interfieren con las pruebas de coagulación basadas en fosfolípidos, por lo que, característicamente, hay una prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT). Si bien, el fenómeno observado *in vitro* sugiere que los anticuerpos reconocen fosfolípidos, estos anticuerpos lo que realmente reconocen en el organismo son ciertas proteínas plasmáticas unidoras de fosfolípidos, tales como la β_2 glicoproteína I y la protrombina. Clínicamente, su presencia se asocia con riesgo de trombosis y con pérdidas fetales recurrentes, que en caso de que se presenten se relacionan con el síndrome antifosfolípido.

En los años recientes algunos organismos internacionales han propuesto guías para el estudio del anticoagulante lúpico, entre las cuales se destacan la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISHT; del inglés, *International Society for Thrombosis and Haemostasis*) en el 2009, el Comité Británico de Estándares en Hematología (BCSH; del inglés, *British Committee for Standards in Haematology*) en 2012 y el Instituto para Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI; del inglés, *Clinical and Laboratory Standards Institute*), en 2014. Aunque existen algunas diferencias entre ellas, la mayoría concuerdan en las siguientes pruebas para el estudio del anticoagulante lúpico:

- Pruebas de tamizaje: determinación de la prolongación de un tiempo de coagulación dependiente de fosfolípidos. Se puede realizar la evaluación del tiempo parcial de tromboplastina activado y los tiempos basados en venenos de víbora de Russell. Idealmente, se deberían realizar ambas pruebas como tamizaje.
- Pruebas confirmatorias: demostración de la inhibición y la prolongación dependiente de fosfolípidos. La prueba debe tener el mismo principio de la utilizada para el tamizaje. Entre estas se encuentran la prueba confirmatoria con veneno de víbora de Russell, los procesos de neutralización basados en APTT o la prueba de neutralización de fosfolípidos en fase

hexagonal basados en APTT. La prueba más idónea es la del veneno de víbora de Russell, pero, en caso que se empleen las pruebas basadas en APTT, se deben emplear reactivos que sean sensibles a la presencia del anticoagulante lúpico.

→ Prueba de mezclas: demostración del efecto inhibitorio. Se realiza el APTT del paciente mezclado con una mezcla de plasma normal, que, en caso de continuar prolongada, demostrará la inhibición debido a la presencia de los anticuerpos. Esta prueba mejora la especificidad para el diagnóstico del anticoagulante lúpico, aunque puede dar negativo en pacientes con títulos bajos.

Si bien las guías concuerdan en que se debe realizar tanto la prueba tamiz como la prueba confirmatoria, una de las principales diferencias entre ellas es si se deben realizar los tres estudios o si la prueba de mezclas es opcional. Por ejemplo, la guía británica recomienda que primero se realicen las tres, ya que la prueba de mezclas mejora la especificidad de la prueba; en contraste, para el CLSI la prueba de mezclas es opcional y sólo es recomendada en casos que el estudio tamiz y el confirmatorio no sea concluyente.

Para la prueba de tamizaje y la confirmatoria los métodos basados en veneno de víbora de Russell resultan de gran interés, ya que su positividad presenta una buena correlación con el riesgo trombótico y no se ven afectadas por alteraciones del factor de contacto ni por deficiencias o anticuerpos contra el Factor VIII.

Fundamento

En el Laboratorio Clínico Hematológico se realiza la determinación de anticoagulante lúpico con base en el veneno de víbora de Russell.

El veneno de la víbora de Russell activa directamente el Factor X, evitando el Factor VII de la vía intrínseca y los factores antihemofílicos y de contacto de la vía intrínseca. Para ello, se emplean dos reactivos, el de tamizaje y el confirmatorio, los cuales varían principalmente en la concentración de fosfolípidos. Las muestras se mezclan con ambos reactivos y se procesan por separado, determinando el tiempo que transcurrió hasta la formación del coágulo.

Control de calidad

En el Laboratorio Clínico Hematológico se aplica un control de calidad interno de primera opinión, positivo para anticoagulante lúpico, el cual se realiza cada vez que se analizan las muestras de los pacientes. Además, se realiza un control de calidad externo con el Colegio Americano de Patólogos (CAP; del inglés, *College of American Pathologists*).

Preparación del paciente y manejo de las muestras

Preparación del paciente

Las condiciones del paciente corresponden, en general, a las que aplican a todas las pruebas de coagulación, es decir, evitar dietas ricas en grasa 8 a 12 horas previas a la toma de la muestra, evitar el ejercicio físico intenso 24 horas antes, evitar el consumo de cigarrillo antes de la toma de muestra y permanecer en reposo durante 10 a 15 minutos antes de la venopunción.

Además, se debe indagar si el paciente toma anticoagulantes orales, en cuyo caso, se debe suspender temporalmente el medicamento y esperar una semana para tomar la muestra. Si el paciente toma medicamentos antiplaquetarios no es necesaria su suspensión.

Tipo de muestra

La medición de la actividad de antitrombina se realiza en plasma citratado, obtenido a partir de sangre total anticoagulada con citrato de sodio al 3,2% (tubo tapa azul).

Para la toma de la muestra se recomienda el uso de agujas de calibre intermedio (19 a 21), agotar por completo el vacío del tubo, tomar siempre el tubo citratado antes que los tubos con cualquier aditivo o anticoagulante y mezclar adecuadamente la muestra inmediatamente después de su obtención.

Manejo y conservación de las muestras

Las muestras se deben centrifugar a 2000-2500 g por 15 minutos, a temperatura ambiente. El plasma se debe separar tan pronto como sea posible, ya que en sangre total el anticoagulante lúpico tiene una estabilidad de cuatro horas. El plasma, luego de estar centrifugado y separado en un tubo secundario, es estable por ocho horas cuando se conserva a temperatura ambiente, es decir, entre 15 °C y 25 °C grados. Además, para la determinación del anticoagulante lúpico, se debe confirmar que el recuento de plaquetas en plasma no sea mayor que 10.000/ μ L.

En caso que se requiera transportar la muestra desde una sede periférica hasta la sede principal de laboratorio, se recomienda enviar el plasma ya separado y adecuadamente marcado si no se puede garantizar el transporte y la separación de la muestra en menos de cuatro horas contadas a partir de la venopunción. En caso de que se transporte sangre total se recomienda centrifugar la muestra en la sede donde se realizó la toma de la muestra, conservar el tubo en posición vertical durante el desplazamiento, conservándolo a temperatura ambiente (entre 15 °C y 25 °C), y recentrifugar antes del procesamiento.

Para el almacenamiento de muestras por períodos mayores a ocho horas el plasma separado se debe congelar en ultracongeladores que garanticen como mínimo una temperatura de -20 °C, a la cual la muestra es estable por un mes. Para descongelar la muestra antes de su procesamiento el plasma se debe someter a choque térmico, es decir, colocar en baño maría a 37 °C por cinco minutos o hasta que se observe el descongelamiento total de la muestra.

Valores esperados

De acuerdo con los lineamientos internacionales, específicamente los del CLSI, se deben calcular ciertas proporciones, conocidas como ratios, para la correcta interpretación de la prueba. Para ello, cada laboratorio debe establecer un valor de referencia para el anticoagulante lúpico tamiz y otro para el confirmatorio (con el uso de percentil 97,5) y la media de este valor sería empleada para el cálculo, como se expresa a continuación:

De esta manera, un ratio menor que 1,2 (1,15) se considera anticoagulante lúpico negativo y, de acuerdo con el valor obtenido, se pueden obtener tres niveles de positividad (débil, moderado, fuerte).

Los resultados esperados de la prueba de la determinación de anticoagulante lúpico basados en veneno de víbora de Russel son:

- Menor de 1,2: negativo
- Entre 1,2 y 1,5: positivo débil
- Entre 1,5 y 2,0: moderadamente positivo
- Mayor de 2,0: fuertemente positivo

Interpretación de resultados

En caso de un resultado positivo para anticoagulante lúpico en un paciente con historia de trombosis o de pérdidas fetales recurrentes se sugiere correlacionar con los resultados de la detección de anticuerpos anti-cardiolipina I y anti-β2 glicoproteína I para establecer si el paciente presenta un síndrome antifosfolípido.

Es importante resaltar que el anticoagulante lúpico puede ser un hallazgo transitorio en pacientes con enfermedades autoinmunes, con algunas infecciones (p. ej. la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana) o por el efecto de algunos medicamentos (p. ej. procainamida, hidralazina, quinina, quinidina, isoniazida y algunos medicamentos antipsicóticos), sin representar aumento del riesgo cardiovascular; por ello, se recomienda que en caso de obtener un resultado positivo, la prueba se repita transcurridas doce semanas contadas a partir de la venopunción inicial para confirmar el hallazgo.

Interferentes y limitaciones

En caso que el paciente esté consumiendo algún anticoagulante, entre ellos los antagonistas de la vitamina K y la heparina no fraccionada, la prueba se debe repetir una semana después de detener el consumo de los medicamentos. Si los niveles de heparina son menores que 1 U/mL no interfieren con la prueba.

Observaciones adicionales

La determinación de anticoagulante lúpico está incluida en el portafolio de servicios del Laboratorio Clínico Hematológico, Medellín Colombia, y hace parte del Plan Obligatorio de Salud.

Bibliografía

Adcock Funk DM, Lippi G, Favaloro EJ. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38: 576-585.

CLSI. Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline. CLSI document H60-A. Pensilvania, Estados Unidos: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory reporting of hemostasis assays: the final post-analytical opportunity to reduce errors of clinical diagnosis in hemostasis? *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 309-321.

Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M. Guidelines on the investigation and management of antiphospho-

lipid syndrome. *Br J Haematol* 2012; 157: 47-58.

Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Lima-Oliveira G, Guidi GC, Favaloro EJ. Quality standards for sample collection in coagulation testing. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38: 565-575.

Moore GW. Commonalities and contrasts in recent guidelines for lupus anticoagulant detection. *Int J Lab Hematol* 2014; 36: 364-373.

Tcoag Ireland Ltd. TriniCLOTTM Lupus Screen/TriniCLOTTM Lupus Confirm. Bray, Irlanda. 2011. Disponible: <http://www.medica-tec.com/arg/files/TI1604-TI1605%20LUPUS%20Screen%20-%20Confirm%20ES.pdf>.