

Conferma della positività nell'autoimmunità antifosfolipidica: risultati acquisiti in un anno in una coorte di 113 pazienti

Confirmation of antiphospholipid antibody positivity: a year's results in a cohort of 113 patients

S. Cuffaro, T. Del Ross, M. Tonello, A. Bontadi, S. Olivieri, E. Salvan, A. Ruffatti, L. Punzi

Cattedra e U.O.C di Reumatologia, Università di Padova

SUMMARY

Objective: To evaluate the confirmation rate of antiphospholipid antibodies (aPL), to analyze their behaviour at confirmation time, and to study the clinical value of their confirmation.

Methods: Blood samples from 380 subjects, enrolled in this study from June 1, 2007 to May 31, 2008, were tested for anti-cardiolipin (aCL) and anti-beta2glycoprotein ($\alpha\beta_2$ GPI) antibodies using an ELISA method and for Lupus anticoagulant (LA) using a series of clotting tests. The samples of the 113 subjects resulting positive at the first testing time were assayed again to confirm antiphospholipid positivity.

Results: aPL positivity was confirmed in 67 out of the 113 subjects (59.3%). Medium-high antibody levels of all, except IgM aCL, aPL/ELISA had a significantly higher confirmation rate with respect to that in subjects with low levels. The confirmation rate in the category I antibody patients (multiple positivity) was higher than that in the category II antibody subjects (single positivity). LA positivity was confirmed only when it was associated to other aPL. The cut-off of 40 GPL produced a confirmation rate equal to that resulting from a 99th percentile cut-off. Confirmation of aPL positivity made it possible for us to confirm the diagnosis of antiphospholipid syndrome (APS) in 8 out of the 113 subjects originally resulting positive (7,1%). APS clinical features were vascular thrombosis in 4 of these and pregnancy morbidity in the other 4.

Conclusions: Our data emphasize aPL positivity confirmation selectivity, and medium-high antibody levels and category I antibodies (multiple positivity) had the best confirmation rates.

Reumatismo, 2010; 62(1):51-59

INTRODUZIONE

La sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS), descritta per la prima volta venti anni fa (1), è una malattia autoimmune in cui la positività degli anticorpi antifosfolipidi (aPL) si associa a manifestazioni trombotiche (venose e/o arteriose e/o del microcircolo) e/o complicanze ostetriche ben definite. Può essere primaria (PAPS) quando si presenta in forma isolata, o secondaria, quando è as-

sociata ad un'altra malattia autoimmune. Gli attuali criteri classificativi per la sindrome da anticorpi antifosfolipidi definita, stabiliti nel corso dell'XI Congresso Internazionale sugli Anticorpi Antifosfolipidi (Sydney 2004), prevedono la conferma della positività riscontrata ad un intervallo minimo di 12 settimane, a differenza dei precedenti criteri preliminari di Sapporo che richiedevano un intervallo di 6 settimane (2). Inoltre è stato introdotto come criterio di laboratorio la positività degli anticorpi anti- β_2 glicoproteina I (α_2 GPI) ed è stata consigliata l'espressione del livello anticorpale in percentili. Il livello soglia per la positività è stato fissato arbitrariamente al 99° percentile. Solo per gli anticorpi anti-cardiolipina (aCL) il cut-off è stato posto anche in unità GPL ed MPL

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott.ssa Serena Cuffaro
Cattedra e U.O.C. di Reumatologia
Università di Padova
via Giustiniani, 2 - 35128 Padova
E-mail: serena.cuffaro@gmail.com

poiché alcuni studi (4-6) hanno dimostrato che il rischio tromboembolico aumenta in modo statisticamente significativo qualora il livello anticorpale sia superiore alle 40 unità. Oltre a ciò è stata introdotta una sottoclassificazione dei pazienti con APS nelle seguenti categorie:

I) positività a due o più tipi di aPL (in qualsiasi combinazione),

IIa) positività ai soli LA,

IIb) positività ai soli aCL,

IIc) positività ai soli a β_2 -GPI.

Infine non si dovrebbe porre diagnosi di APS se l'intervallo di tempo tra l'evento clinico ed il riscontro di positività ai test di laboratorio è superiore ai 5 anni o inferiore alle 12 settimane. Lo scopo di tutte queste modifiche è di implementare la validità dei criteri diagnostici (7).

L'esecuzione di un test di conferma, dopo il riscontro di una positività degli aPL, trae il suo valore dal fatto che non è infrequente una positività anticorpale transitoria, legata per esempio ad infezioni intercorrenti (8, 9); inoltre in circa 1/4 dei pazienti si assiste a variazioni spontanee degli aPL. L'intervallo di 12 settimane non riduce la sensibilità dei criteri (3, 10), ma conferisce peso al risultato. Tuttavia la scelta di tale intervallo di tempo rimane basata sull'opinione di esperti ed a tutt'oggi non vi sono studi di validazione (3, 11).

Nel nostro lavoro abbiamo valutato la percentuale di conferma della positività alla seconda determinazione e abbiamo analizzato il comportamento degli aPL al test di conferma in relazione al livello anticorpale (definito basso se compreso tra 95°-99° percentile e medio-alto se > al 99° percentile), alla categoria (I versus II), al tipo di anticorpo (categoria I

versus IIa, IIb, IIc) ed al tipo di cut-off (40 unità GPL versus 99° percentile). Infine è stata osservata la prevalenza della APS nel campione generale.

PAZIENTI E METODI

Il campione studiato era costituito da 380 soggetti afferiti all'Ambulatorio dell'U.O.S. di "Immunopatologia delle Malattie Reumatiche" dell'Università degli Studi di Padova tra il 1° giugno 2007 e il 31 maggio 2008. Le caratteristiche cliniche e demografiche del campione sono riportate in tabella I; sono stati esclusi dallo studio tutti i pazienti con un profilo anticorpale già noto. Oltre all'esecuzione di un prelievo di sangue per la ricerca degli aPL è stata raccolta l'anamnesi fisiologica, familiare e patologica volta ad evidenziare eventuali malattie note o sospette, storia di trombosi, presenza di una patologia ostetrica e terapia in atto. La storia ostetrica di abortività interessava 151 donne, cioè il 68,6% delle donne fertili (in un sub-campione di 220 donne). L'anamnesi è risultata positiva per trombosi, sia venose, che arteriose che del microcircolo, in 51 pazienti (13,4%).

La ricerca degli aPL è risultata positiva in 123 pazienti (32,4%) aventi un'età media di 41,8 anni \pm 12,8 deviazioni standard (DS); 115 donne (93,5%) ed 8 uomini (6,5%). I pazienti affetti da una malattia autoimmune diversa dalla APS sono risultati 37 (30,1%). Una storia anamnestica positiva per abortività è stata riscontrata in 49 donne, cioè nel 72,1% delle donne in una sub-coorte di 68 donne fertili: 14 (20,6%) presentavano i criteri classificativi della APS.

Tabella I - Caratteristiche cliniche e demografiche.

	Campione di 380 soggetti	Coorte di 123 soggetti
Età media \pm DS (range)	42 anni \pm 12,5 DS (16-84 anni)	41 anni \pm 11,8 DS (17-81 anni)
	Numero pazienti (%)	Numero pazienti (%)
Sesso: femminile	359 (94,5%)	115 (93,5%)
maschile	21 (5,5%)	8 (6,5%)
Altre malattie autoimmuni [^]	130 (32%)	37 (30,1%)
Abortività [°] :	151 (68,6%)	49 (72,1%)
con i criteri ostetrici della APS	46 (20,9%)	14 (20,6%)
con storia ostetrica "atipica" ^{**}	105 (47,7%)	35 (51,5%)
Storia di trombosi vascolari	51 (13,4%)	18 (14,6%)

[^]Diverse dalla APS. ^{**}Atipica: non rientra nei criteri classificativi della APS[3] ad es. una o due perdite fetali dopo la 10ª settimana gestazionale, distacco di placenta, gestosi, morte endouterina, ritardo di crescita intrauterina (IUGR), gravidanza extrauterina. [°]I dati si riferiscono ad un sub-campione di donne che hanno avuto esperienza di gravidanza. [§]Si raggruppano le trombosi venose, arteriose e del microcircolo.

Dei 123 soggetti selezionati hanno eseguito il prelievo di conferma alla distanza richiesta 113 pazienti (91,9%) (Tab. I).

Gli aCL e gli aβ₂GPI sono stati determinati mediante l'utilizzo di test ELISA in accordo con i requisiti minimi proposti dal Forum Europeo sugli aPL (12, 13). I LA sono stati ricercati mediante due tests di screening in accordo con le Raccomandazioni accettate a livello internazionale: il tempo del veleno di vipera di Russell con fosfolipidi diluiti ed il tempo di tromboplastina parziale attivata con fosfolipidi diluiti (14).

Tutte le analisi statistiche sono state realizzate utilizzando la versione 14.0 del software Statistical Package for Social Science (Chicago, IL, USA). Sono stati utilizzati i test del Chi quadrato, il test di Mann-Whitney, il test di Fisher ed il test di Mc Nemar. Ci si è avvalsi di un livello di significatività del 5%.

RISULTATI

All'interno della coorte di 113 soggetti il 59,3% ha confermato la positività per almeno un aPL (67 soggetti). La percentuale di positivi sul totale di 380 esaminati è scesa dal 32,4% del primo prelievo al 18,1% del prelievo di conferma. Per ciascun aPL è stata valutata la percentuale di conferma alla seconda determinazione (Tab. II e Fig. 1).

Anche se non sono possibili confronti statistici, si può osservare che gli aCL IgG hanno mostrato una percentuale di conferma superiore agli altri aPL.

La distribuzione delle conferme è stata valutata in relazione al livello anticorpale del primo prelievo per ciascun aPL (Tab. III e Fig. 2).

Per gli aCL IgG, gli aβ₂GPI IgG e gli aβ₂GPI IgM la percentuale di conferma dei livelli medio-alti è risultata significativamente più elevata rispetto ai livelli bassi con p rispettivamente uguale a 0,046, 0,011 e 0,011. Per gli aCL IgM invece la percentuale di conferma dei livelli medio-alti non è risultata significativamente più elevata.

Ad ulteriore verifica dei risultati ottenuti, è stato eseguito un successivo confronto fra i pazienti positivi al secondo prelievo dopo averli suddivisi in due gruppi sulla base del comportamento alla conferma:

- gruppo A: livello anticorpale >99° percentile alla conferma;
- gruppo B: livello anticorpale ≤99° percentile alla conferma.

In termini di percentile medio al primo prelievo è emersa una differenza significativa tra coloro che alla conferma superano il 99° percentile (gruppo A) e coloro che non lo raggiungono (gruppo B) (Tab. IV e Fig. 3). Ciò vale per gli aCL IgG (p=0,043) e gli a₂GPI sia IgG (p=0,008) che IgM (p=0,003). Per gli aCL IgM la differenza in termini di percentile medio non è risultata significativa.

Abbiamo studiato il comportamento alla conferma della categoria II e I, che abbiamo suddiviso in "duplice" o "triplice" in base alla positività per 2 o 3 tipi anticorpali.

La distribuzione dei profili anticorpali alla conferma è illustrata in Tabella V.

Tabella II - Percentuali di conferma per ciascun aPL.

	LA		aCL IgG		aCL IgM		aβ ₂ GPI IgG		aβ ₂ GPI IgM	
	1°	2°	1°	2°	1°	2°	1°	2°	1°	2°
Prelievo	19	6	37	17	35	12	30	11	54	20
% di conferma	31,6%		45,5%		34,3%		36,7%		37,1%	

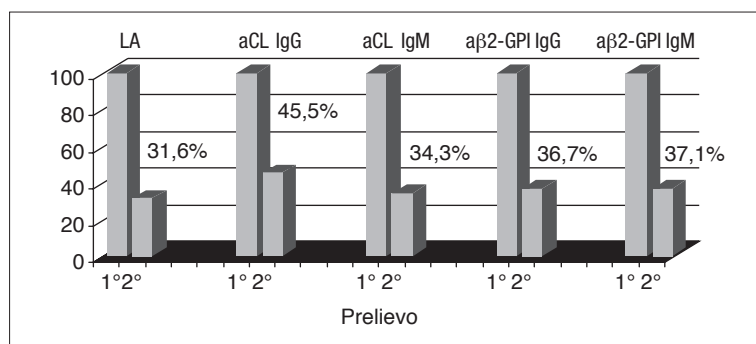


Figura 1 - Percentuali di conferma per ciascun aPL.

Per entrambe le categorie la tendenza a mantenere il profilo di partenza è risultata significativamente superiore ($p=0,000$) rispetto alla tendenza al cambio di categoria (Fig. 4): la categoria II si conferma nel 39,5% dei casi e cambia categoria nel 6,6%; il profilo duplice si mantiene nel 46,9% dei casi e cambia categoria nel 31,3%; la triplice positività si conferma nell'80% e cambia categoria nel 20%. La categoria II si negativizza al secondo prelievo nel 53,9% dei casi, il profilo duplice nel 21,9% dei casi ed il profilo triplice nello 0% dei casi.

La capacità di conferma dei LA posti in categoria I, vale a dire presenti in associazione con altri aPL, è risultata statisticamente superiore alla capacità di conferma dei LA positivi singolarmente (categoria IIa) con $p=0,01$ (Tab. VI).

Invece la capacità di conferma degli aCL posti in

categoria I non è risultata statisticamente superiore alla capacità di conferma degli aCL positivi singolarmente (categoria IIb) (Tab. VI). Analogamente la capacità di conferma degli a₂GPI posti in categoria I non è risultata statisticamente superiore alla capacità di conferma degli a₂GPI positivi singolarmente (categoria IIc) (Tab. VI).

Abbiamo analizzato la capacità di conferma in relazione al cut-off per gli aCL IgG. La capacità di conferma di titoli anticorpali >40 unità GPL è risultata statisticamente significativa ($p=0,000$), così come la capacità di conferma di titoli superiori al 99° percentile ($p=0,000$) (Tab. VII).

Successivamente è stata confrontata la sensibilità del cut-off a 40 unità GPL versus 99° percentile (che corrisponde a 17,4 unità GPL). Il cut-off al 99° percentile ha individuato un numero significativamente maggiore di soggetti positivi alla prima

Tabella III - Conferma della positività degli aCL e degli a₂GPI in base ai livelli.

		aCL	IgG	aCL	IgM	a ₂ GPI	IgG	a ₂ GPI	IgM	
Prelievo		1°	2°	1°	2°	1°	2°	1°	2°	
Livello	Basso (95-99° perc.)	N° paz.	14	3	11	3	9	0	26	4
	% di conferma		21,4%		27,3%		0%		15,4%	
	Medio-alto (>99° perc)	N° paz.	23	14	24	9	21	11	28	16
	% di conferma		60,8%		37,5%		52,4%		57,1%	

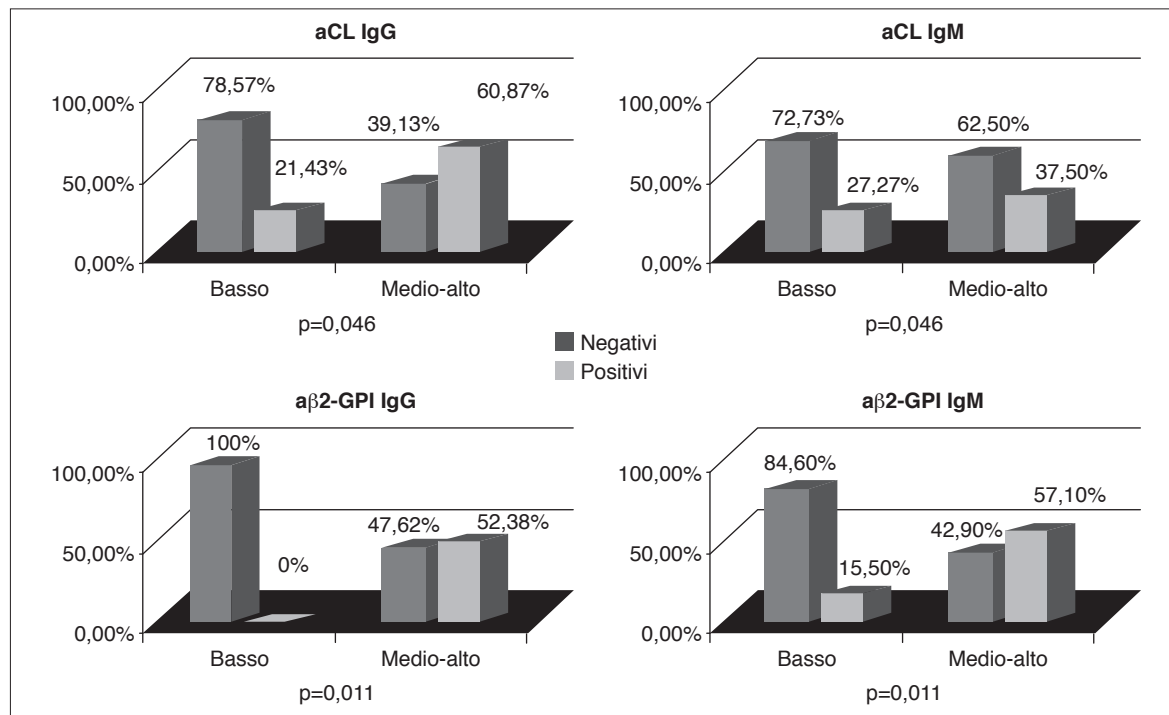


Figura 2 - Conferma della positività degli aCL e degli a₂GPI in base ai livelli.

Tabella IV - Percentile medio alla prima determinazione nei gruppi A e B.

		aCL G	aCL M	aβ2GPI G	aβ2GPI M
Percentile medio	Gruppo A	98,53	98,67	99	98,65
	Gruppo B	97,75	98,26	97,89	97,82
		p=0,043	n.s.	p=0,008	p=0,003
Gruppo A: pazienti con livello anticorpale >99° percentile alla conferma; Gruppo B: pazienti con livello anticorpale ≤99° percentile alla conferma					

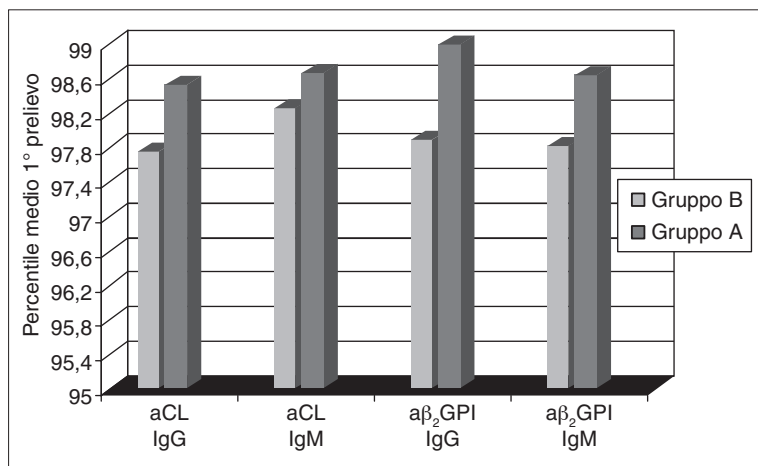


Figura 3 - Percentile medio al primo prelievo nei gruppi A e B. Gruppo A: pazienti con livello anticorpale >99° percentile alla conferma; Gruppo B: pazienti con livello anticorpale ≤99° percentile alla conferma.

(p=0,000) ed alla seconda (p=0,000) determinazione, risultando più sensibile per la determinazione degli aCL IgG.

Infine nel campione di 380 soggetti sono stati registrati: 51 casi di trombosi (13,4%), venose o arteriose o del microcircolo e 46 donne con una storia ostetrica in accordo con i criteri clinici di Sid-

ney (20,9% delle donne con esperienza di gravidanza). Sono stati diagnosticati 8 casi di APS: 4 (7,8%) pazienti con trombosi su 51 hanno avuto la diagnosi di APS e 4 (8,7%) donne su 46 con i criteri ostetrici hanno avuto la diagnosi di APS (Fig. 12). Inoltre sono stati individuati 59 (88%) aPL carriers (Fig. 5).

Tabella V - Distribuzione dei profili anticorpali alla conferma.

Profilo prima misurazione			Esito seconda misurazione		
		N. paz.	Conferma profilo	Diverso profilo	Negativo
Categoria II	Singolo	76	30 (39,5%)	5 (6,6%)	41 (53,9%)
	Duplici	32	15 (46,9%)	10 (31,3%)	7 (21,9%)
Categoria I	Triplice	5	4 (80%)	1 (20%)	0 (0%)

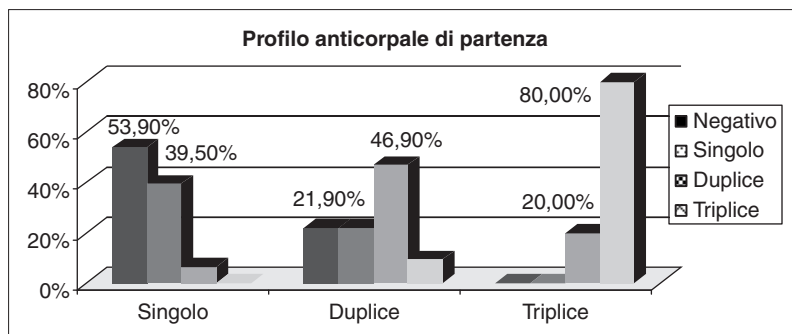


Figura 4 - Distribuzione dei profili anticorpali alla conferma.

Tabella VI - Capacità di conferma di ciascun aPL in categoria I e II.

	LA		aCL		a β 2GPI	
	N.	%	N.	%	N.	%
Categoria I 1° prelievo	0/9	0%	15/22	36,6%	6/11	28,6%
Categoria II 1° prelievo	6/10	100%	9/19	63,4%	5/10	71,4%
Analisi statistica (p)	p=0,01		n.s.		n.s.	

Tabella VII - Capacità di conferma degli aCL IgG per i due cut-off.

aCL G	Cut-off	
	>40 u GPL	>99° percentile
1° prelievo	9 (100%)	23 (100%)
2° prelievo	6 (66,7%)	14 (60,7%)
Analisi Statistica (p)	p=0,000	p=0,000

DISCUSSIONE

È stata riscontrata la conferma della positività degli aPL nel 59,3% dei casi. Infatti nella coorte dei 113 soggetti positivi alla prima determinazione 67 si sono confermati tali a distanza di almeno 12 settimane. La percentuale di positività sul totale dei 380 casi esaminati è scesa così dal 32,4% del primo riscontro al 18,1% del prelievo di conferma.

Questi risultati mettono in luce il ruolo importante del test di conferma che ha individuato circa il 40% di positività transitorie. La letteratura fornisce dati di confronto limitati al riguardo (8, 15).

Lo studio condotto da Male et al. (15) considera una coorte di 58 soggetti giovani (età media 14,5 anni) affetti da LES, classificati come “transitoriamente positivi” se positivi agli aPL solo alla prima determinazione o “persistentemente positivi”, se gli aPL venivano confermati a distanza di almeno 3 mesi. Le positività persistenti sono risultate del 71% per i LA; del 34% per gli aCL IgG e del 60% per gli aCL IgM; del 50% per gli a₂GPI IgG e del 76% per gli a₂GPI IgM. Nel nostro studio i LA si sono confermati positivi al secondo test nel 31,6% dei casi; gli aCL IgG ed IgM si sono confermati rispettivamente nel 45,5% e nel 34,3% dei casi; gli a β ₂GPI IgG ed IgM si sono confermati rispettivamente nel 36,7% e nel 37,1% dei casi. Rispetto allo studio di Male et al. (15) le percentuali di conferma nella nostra coorte sono state più basse per tutti gli aPL. La diversità potrebbero essere legate alle caratteristiche del campione: Male et al. (15) hanno considerato solo soggetti giovani affetti da LES ed aventi un'età media di 14,5 anni, inferiore a quella della nostra corte (età media di 41 anni). Inoltre la soglia di positività considerata è stata diversa: anzi-

ché il cut-off in percentili, Male et al. (15) hanno utilizzato la media dei valori +3 deviazioni standard rispetto ad un gruppo di soggetti di controllo.

Il secondo studio con cui ci siamo confrontati è stato condotto su 418 pazienti affetti da LES o da APS associata al LES. Questo lavoro di Danowski et al. (8) aveva come scopo la valutazione degli a₂GPI in termini di prevalenza e di associazioni cliniche. In un campione di 138 soggetti risultati positivi alla prima determinazione, solo 34 (25%) si sono confermati positivi dopo 3 mesi. Anche in questo caso non c'è stata concordanza di risultati rispetto al nostro studio. Differenze sostanziali tra i due studi sono risultate: la composizione del campione, comprendente esclusivamente pazienti affetti da LES o da APS associata al LES; la casistica costituita da gruppi etnici diversi; l'espressione dei risultati in unità arbitrarie, senza precisazione del cut-off. I raffronti possibili sono stati eseguiti con gli unici studi che la Letteratura mette a disposizione, le cui casistiche ed i metodi di laboratorio erano diversi dai nostri. Il nostro studio si pone quindi come un contributo originale basato su una casistica non selezionata, variamente composta e svolto in accordo con i recenti criteri classificativi della APS (3).

I nostri risultati hanno dimostrato che i livelli superiori al 99° percentile avevano una percentuale di conferma significativamente più elevata rispetto a quelli posti tra 95°-99° percentile. Ciò è risultato valido per tutti gli aPL/ELISA ad eccezione degli aCL IgM. Inoltre il percentile medio al primo prelievo del gruppo di pazienti che raggiungevano il 99° percentile alla conferma era significativamente più alto del percentile medio del gruppo di pazienti che non lo raggiungevano. Questi risultati sembrano indicare una scarsa probabilità dei livelli bassi di superare il 99° percentile alla conferma e di divenire quindi utili per la diagnosi. La diversa capacità di conferma in relazione al livello di partenza potrebbe avere un importante risvolto clinico pratico; infatti ne potrebbe scaturire l'indicazione a non eseguire la determinazione di conferma se al primo test viene riscontrata una bassa positività tra il 95° ed il 99° percentile. Naturalmen-

te questa affermazione non andrebbe applicata ai pazienti con storia clinica di eventi trombotici o di manifestazioni ostetriche tipiche della APS. In assenza di studi di validazione del cut-off per gli aPL/ELISA, i nostri risultati supportano il valore della scelta del cut-off al 99° percentile proposta dal Consensus di Sidney. Quanto esposto finora non vale per gli aCL IgM: la probabilità di conferma dei livelli medio-alti non è stata significativamente superiore a quella dei livelli bassi. In uno studio che valuta la prevalenza degli aCL IgM in 982 donatori di sangue e in 159 soggetti ultrasensantenni, Budd et al (16) propongono di considerare una "zona indeterminata" compresa tra il 95° ed il 99° percentile, per la quale raccomandano di eseguire la conferma della positività. Il nostro studio invece ha mostrato che non c'è diversità di comportamento al prelievo di conferma fra i livelli bassi e quelli medio-alti.

Oggi alcuni Autori (17) propongono l'eliminazione degli aCL dai criteri diagnostici per la loro dubbia associazione con eventi trombotici (15, 17). Inserendoci nel dibattito attuale sul valore degli aCL come criterio di laboratorio per l'APS, i nostri risultati sembrano piuttosto in sintonia con la recente proposta di Swadzba et al. (18) che ritengono prematura l'eliminazione degli aCL dai criteri, e consigliano piuttosto di valutare il solo isotipo IgG come un fattore predittivo di trombosi (3). Sembra altresì interessante l'osservazione di Pengo et al. (19) che propongono di considerare gli aCL M solo quando presenti in associazione ai LA o agli a₂GPI, al fine di ridurre le false positività.

I nostri risultati hanno mostrato che la categoria individuata alla prima determinazione si conferma in modo significativo sia che si tratti della categoria I (positività multipla) che della categoria II (positività singola). Oltre a ciò la percentuale di conferma del profilo aumenta in modo crescente passando dalla singola alla duplice fino alla triplice positività. È un dato che va a confermare l'interesse crescente nei confronti della positività multipla rispetto alla singola, tanto più che il nostro studio ha mostrato nella categoria II (positività singola) una frequenza di negativizzazione maggiore alla conferma rispetto alla categoria I (53,9% versus 39,5%). La capacità di conferma dei LA posti nell'ambito di una positività multipla (categoria I) è risultata statisticamente maggiore rispetto ai LA in categoria IIa (singola positività ai LA). Questa differenza di comportamento non è emersa per gli aCL e per gli aβ₂GPI il cui comportamento alla conferma è indipendente dalla categoria di appar-

tenenza. Questi risultati rinforzano il valore del test di conferma per la categoria IIa (positività isolata dei LA).

I nostri risultati attestano al 66,7% la capacità di conferma con l'utilizzo del cut-off a 40 unità GPL, avvicinandosi ai risultati di Erkan et al. (20) nel cui studio si ha una percentuale di conferma del 75%. È doveroso però segnalare che Erkan et al. (20) hanno valutato complessivamente gli aCL di isotipo IgG, IgA ed IgM ed hanno studiato l'andamento degli anticorpi in tempi successivi al prelievo di conferma. Per quanto riguarda il confronto tra il cut-off al 99° percentile e quello a 40 unità GPL, i nostri risultati non hanno mostrato una differenza significativa di percentuale di conferma al secondo prelievo (60,7% versus 66,7%). Tuttavia la probabilità di identificare soggetti positivi per il cut-off al 99° percentile è statisticamente maggiore rispetto a quella per il cut-off a 40 unità GPL. Questi risultati confermano quelli di uno studio recente (21) volto a validare gli attuali criteri di laboratorio per gli aCL IgG, verificando l'effetto dei due cut-off sulla classificazione della APS. Gli Autori concludevano che la soglia di positività al 99° percentile sembrava più sensibile del cut-off a 40 unità GPL, soprattutto nel valorizzare i pazienti positivi solo per aCL ed affetti esclusivamente dalla forma ostetrica dell'APS. Dal momento che la capacità diagnostica del cut-off al 99° percentile è apparsa significativamente superiore a quella delle 40 unità GPL e che la capacità di conferma dei due cut-off era sovrapponibile, si potrebbe ipotizzare l'uso esclusivo del cut-off in percentili.

Infine, dal punto di vista clinico il nostro studio ha mostrato una bassa prevalenza della APS nel campione studiato. In particolare è stata posta diagnosi di APS soltanto nell'8,7% dei pazienti con progressa trombosi e nel 7,8% delle donne con una storia ostetrica secondo i criteri clinici di Sidney (3). Il disegno del nostro studio, che raggruppa trombosi venose, arteriose e del microcircolo, selezionate in accordo ai criteri classificativi di Sidney (3), non ha consentito confronti con i pochissimi altri studi che hanno stimato la prevalenza dell'APS in pazienti con eventi trombotici. Per quanto riguarda le sindromi ostetriche il dato riscontrato può essere confrontato con lo studio condotto nel 1999 da Ruffatti A.T. et al. (22) in un campione di 644 donne con una storia ostetrica di perdite fetali da causa sconosciuta. Nel 15,37% di esse è stata posta diagnosi di APS ostetrica secondo i criteri proposti nel 1996 da Branch et al. (23). La minor prevalenza riscontrata nel nostro studio po-

trebbe dipendere dalla composizione del nostro campione, costituito da donne che soddisfacevano i criteri clinici di Sidney per l'APS ostetrica molto più restrittivi rispetto a quelli Branch et al. (23). Parallelamente alla diagnosi di APS è stato possibile individuare 59 (15,5%) aPL carriers, la cui positività anticorpale non si associa ad una qualsivoglia manifestazione clinica della APS. Gli aPL carriers possono sviluppare eventi trombotici, soprattutto se si associano altri fattori di rischio. Uno studio multicentrico retrospettivo (24) condotto su 370 pazienti ha evidenziato che l'ipertensione ed un titolo aCL IgG superiore alle 20 unità GPL risultano predittori indipendenti di trombosi. In questi soggetti, la profilassi eseguita sia in modo continuativo che nei periodi ad alto rischio riduce fortemente l'incidenza di eventi trombotici. Altri studi (25, 26) sottolineano l'importanza di eliminare i fattori di rischio modificabili e di eseguire un'adeguata profilassi antitrombotica nei periodi ad altro rischio.

Alla luce di quanto esposto si può concludere che la scelta del cut-off al 99° percentile è valida per gli aPL/ELISA ad esclusione degli aCL M, il cui ruolo è tutt'oggi oggetto di dibattito. Inoltre, rispetto alla positività singola, quella multipla presenta una maggiore tendenza a confermarsi nel tempo; dai dati della letteratura (27) quest'ultima risulta associata alle forme cliniche più severe di APS. La capacità di conferma per i livelli superiori al 99° percentile e alle 40 unità GPL è sovrapponibile, ma poiché il primo cut-off offre una maggiore sensibilità diagnostica potrebbe essere ragionevole utilizzare come unico cut-off ELISA il 99° percentile. Nel nostro campione l'APS è stata diagnosticata in un'esigua percentuale di pazienti. Questi dati, pur basandosi su un campione numericamente ristretto, da un lato potrebbero suggerire la rarità della APS, dall'altro evidenziano con discreta frequenza degli aPL carriers, che in futuro potrebbero manifestare i segni ed i sintomi della malattia.

RIASSUNTO

Per verificare utilità e valore del test di conferma della positività antifosfolipidica, abbiamo valutato la percentuale di conferma degli aPL e il loro comportamento alla conferma in 113 soggetti confermati positivi, selezionati da un campione di partenza di 380 soggetti. I nostri dati sottolineano l'importanza del prelievo di conferma data la percentuale discreta di positività transitorie (circa 40%). In particolare la positività dei Lupus Anticoagulants tende a non confermarsi quando isolata. Inoltre i livelli medio-alti degli anticorpi anti-cardiolipina IgG e degli anti-a₂glicoproteinaI IgG ed IgM e la categoria I (positività multipla) hanno mostrato la migliore capacità di conferma.

Parole chiave - Anticorpi antifosfolipidi, sindrome da anticorpi antifosfolipidi, persistenza degli anticorpi antifosfolipidi, criteri di classificazione della sindrome da anticorpi antifosfolipidi.

Key words - *Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome, persistent antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome classification criteria.*

BIBLIOGRAFIA

- Hughes GRV, Harris EN, Gharavi EN. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986; 13: 486-9.
- Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1309-11.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi M, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
- Levine SR, Salowich-Palm, Sawaya KL, Perry M, Spencer HJ, Winkler HJ, et al. IgG anticardiolipin antibody titer >40 GPL and the risk of subsequent thrombo-occlusive events and death. A prospective cohort study. *Stroke* 1997; 28: 1660-65.
- Galli M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: do test patterns identify the patients' risk? *Thromb Res* 2004; 114: 597-601.
- Finazzi G, Brancaccio V, Moia M, Ciaverella N, Mazzucconi MG, Schinco PC, et al. Natural history and risk factors for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies: a four-year prospective study from the Italian Registry. *Am J Med* 1996; 100: 530-36.
- Bobba RS, Johnson SR, Davis AM. A review of the Sapporo and revised Sapporo criteria for the classification of antiphospholipid syndrome. Where do the Revised Sapporo Criteria add value? *J Rheumatol* 2007; 34: 1522-27.
- Danowski A, Kickler TS, Petri M. Anti-β₂-glycoprotein I: prevalence, clinical correlation, and importance

- of persistent positivity in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2006; 33: 1775-79.
9. Wisloff F, Jacobsen EM, Liestol S. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Thromb Res* 2002; 108: 263-71.
 10. Triplett DA. Antiphospholipid antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 1424-9.
 11. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Euro-Phospholipid Project Group. Antiphospholipid syndrome. Clinical and immunological manifestation and patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1019-27.
 12. Tincani A, Allegrì F, Balestrieri G, Reber G, Sanmarco M, Meroni P, et al. Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Res* 2004; 114: 553-58.
 13. Reber G, Tincani A, Sanmarco M, de Moerloose P, Boffa MC. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. Proposals for the measurement of anti-beta2-glycoprotein I antibodies. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1860-62.
 14. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1185-90.
 15. Male C, Foulon D, Hoogendoorn H, Vegh P, Silverman E, David M, et al. Predictive value of persistent versus transient antiphospholipid antibody subtypes for the risk of thrombotic events in pediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Blood* 2005; 106: 4152-8.
 16. Budd R, Harley E, Quarshie A, Henderson V, Harris EN, Pierangeli SS. A re-appraisal of the normal cut-off assignment for anticardiolipin IgM tests. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2210-2214.
 17. Galli M, Reger G, De Moerloose P, de Groot PG. Invitation to a debate on the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 399-401.
 18. Swadzba J, Musial J. More on: the debate on antiphospholipid syndrome classification criteria. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (3): 501-2.
 19. Pengo V. A contribution to the debate on the laboratory criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1048-9.
 20. Erkan D, Derksen JM, Japlan V, Sammaritano L, Pierangeli SS, Roubey R, et al. Real world experience with antiphospholipid antibody tests: how stable are results over time? *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1321-25.
 21. Ruffatti A, Olivieri S, Tonello M, Bortolati M, Bison E, Salvan E, et al. Influence of different IgG anticardiolipin antibody cut-off values on antiphospholipid syndrome classification. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1693-6.
 22. Ruffatti A.T., Polonia P, Fais G, Spadaro M, Tonello M, Rapizzi E, et al. Prevalenza e caratteristiche dell'impegno ostetrico da anticorpi antifosfolipidi: studio su una casistica di 644 pazienti. *Bollettino della Società Italiana di Medicina Perinatale* 1999; 1: 25-31.
 23. Branch DW, Silver RM. Criteria for antiphospholipid syndrome: early pregnancy loss, foetal loss, or recurrent pregnancy loss? *Lupus* 1996; 5: 409-13.
 24. Ruffatti A, Del Ross T, Ciprian M, Nuzzo M, Rampudda M, Bertero MT, et al. Risk factors for a first thrombotic event in antiphospholipid antibody carriers. A multicentre, retrospective follow-up study. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 397-9.
 25. Erkan D, Leibowitz E, Berman J, Lockshin MD. Perioperative medical management of antiphospholipid syndrome: hospital for special surgery experience, review of literature, and recommendations. *J Rheumatol* 2002; 29: 843-9.
 26. Girón-González JA, García del Río E, Rodríguez C, Rodríguez-Martorell J, Serrano A. Antiphospholipid syndrome and asymptomatic carriers of antiphospholipid antibodies: prospective analysis of 404 individuals. *J Rheumatol* 2004; 31: 1560-7.
 27. Ruffatti A, Tonello M, Cavazzana A, Bagatella P, Pengo V. Laboratory classification categories and pregnancy outcome in patients with primary antiphospholipid syndrome prescribed antithrombotic therapy. *Thromb Res* 2009; 123 (3): 482-7.