

VALOR DE LA PRUEBA DE LA FIJACION DEL LATEX EN EL DIAGNOSTICO DE LA ARTRITIS REUMATOIDEA *

ISAIAS SPILBERG KOLKER

INTRODUCCION

Es un hecho conocido que el diagnóstico de la Artritis Reumatoidea en la práctica clínica se convierte, a menudo, en un complejo y molesto problema. Esta verdad fué bien ilustrada cuando la Asociación Americana de Reumatología creyó necesaria la creación del comité encargado de la redacción de un Criterio Diagnóstico (12, 5). Este comité, encabezado por el Dr. Marion Ropes de Boston, llevó a cabo su difícil tarea, pero todavía se sintió obligado a registrar un conjunto de 11 criterios, de los cuales 5 podían permitir un "diagnóstico definitivo". Diagnósticos menos ciertos fueron permitidos con menos criterios, y las categorías de "Artritis Reumatoidea Probable" y "Artritis Reumatoidea Posible" reveló más bien, patéticamente, una debilidad y falta de certeza en el diagnóstico de enfermedades reumáticas en general y de la Artritis Reumatoidea específicamente. Los esfuerzos del Comité han sido ya reconocidos por ser de valor inestimable pero no dejan duda de la gran necesidad del diagnóstico de laboratorio como ayuda, pruebas que son simples, practicables y con resultados de certeza a un nivel significativamente estadístico.

Se han hecho numerosas investigaciones con el fin de crear pruebas para el diagnóstico diferencial de las diversas enfermedades del Colágeno, contando actualmente con tres importantes métodos de in-

* Tesis presentada por el autor para optar el título de Bachiller en Medicina, en mayo de 1963, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos,

vestigación: la biopsia del tejido conjuntivo, el examen del Signo de Hargraves (célula L.E.) y diversas reacciones serológicas.

Indudablemente, no siempre es posible hacer un diagnóstico veraz de la enfermedad colágena por el examen microscópico del tejido conjuntivo obtenido por biopsia. La dificultad estriba en que diferentes agentes pueden producir alteraciones más o menos similares (17). Tampoco se han obtenido resultados concluyentes con la tinción específica del tejido conjuntivo en las enfermedades del colágeno (17).

Ha sido bien demostrado (17) que el Signo de Hargraves (células L.E.) no es específico del Lupus Eritematoso Diseminado, se le observa con frecuencia en la Artritis Reumatoidea y se considera que 13% de estos pacientes presentan las células L.E. (3).

En la hora actual se puede decir que las técnicas designadas para demostrar la presencia de Factores Aglutinantes en la sangre, son los más valiosos e interesantes de las diversas reacciones serológicas que han sido probadas en las enfermedades colágenas y en especial en la Artritis Reumatoidea. En la Sesión de Junio, 1961 de la "Asociación Americana de Reumatismo", Jacques M. Singer, M. D. y Charles M. Plotz M. D. de New York reportaron la ingeniosa adaptación del latex poliestireno para la determinación de las sustancias aglutinantes presentes en el suero de pacientes con Artritis Reumatoidea, al que llamaron "Prueba de Fijación del Latex" (14).

Es propósito del siguiente trabajo, investigar la positividad de la prueba de Singer y Plotz en la población artrítico-reumatoidea de nuestro país, así como en otras Colagenopatías, en enfermedades no relacionadas con la Artritis Reumatoidea, en parientes de enfermos con esta afección, y la incidencia de pruebas positivas en normales. Se busca, además, la relación existente entre la positividad de la Prueba con la antigüedad del proceso, el Grado Radiológico, la Capacidad Funcional, el tenor de Gamma Globulina en sangre, la Velocidad de Sedimentación eritrocítica, y el empleo de corticoesteroides o terapéutica en general.

MÉTODOS SEROLÓGICOS EN LA ARTRITIS REUMATOIDEA

La actividad aglutinante del suero de pacientes con Artritis Reumatoidea fué por primera vez reconocido por Cecil, Nicholls y Stainsby en 1930, quienes estaban interesados en la posible relación del Estreptococo en la etiología de la Artritis Reumatoidea (3,10,20,23), sin embargo, se vió que también lo hacía el pneumococo no capsulado (Dawson

1932, Wallis 1946) el *Enterococo* (Olhagen 1947) y el *Estafilococo aureus* (Oker-Blum 1949). La diversidad de organismos que pueden aglutinarse con el suero de pacientes con Artritis Reumatoidea sugirió que la actividad aglutinante del suero reumatoideo no estaba relacionada con una aglutinina bacteriana específica, sino con un factor aglutinante inespecífico (23).

Sin embargo, algunos investigadores (Nicholls 1931, McEwen 1936) estudiaron la aglutinación del *Estreptococo Hemolítico* como un procedimiento diagnóstico en la Artritis Reumatoidea con alentadores resultados. Su uso no se ha generalizado por ser técnicamente difícil de realizar, la ocurrencia de aglutinaciones dudosas y su baja positividad, del orden del 50% (23).

En 1946, Wallis observó que un número de sueros aglutinaban no solamente *Estreptococos Hemolíticos* y *Pneumococos*, sino también partículas de colodión, aunque esto no sucedía en la mayoría de los sueros probados. Una relación entre la aglutinación de partículas de colodión y la aglutinación *Estreptococcica* fué demostrada por el hecho de que la actividad aglutinante del suero reumatoideo sobre la partícula de colodión era consistentemente reducida por la prior absorción con el *Estreptococo Hemolítico*, y viceversa. La significancia de este trabajo estriba en el hecho de que enfatizó la no especificidad del cuerpo usado en el sistema de aglutinación y estimuló la experimentación en partículas inertes para sacar a luz la reacción de aglutinación (23).

Los primeros trabajos sobre la utilización de glóbulos rojos sensibilizados de carnero (HCS) fueron realizados por Waaler en 1940, pero este avance pasó inadvertido hasta que Rose y colaboradores describieron más tarde en 1948 independientemente, una aglutinación diferencial de hematíes de carnero comparando los títulos de aglutinina sérica para eritrocitos de carnero normales y sensibilizados. Se consideró que un gran título diferencial era específico de Artritis Reumatoidea. Ellos reportaron una sensibilidad entre 30 y 65% con este método (23, 10).

En 1952 Heller y Winblad demostraron que la adición del suero de carnero al suero reumatoideo (S.E.A. Test) resultaba en una potenciación de la actividad aglutinante del suero reumatoideo. Ellos reportaron que este método tenía un 85% de positividad, posteriormente Jacobson encontró que solamente el 62% daba un resultado positivo (3, 7).

En 1954 Svartz y Schlossmann introdujeron la prueba de aglutinación de glóbulos rojos de carnero previamente sensibilizados con fracciones de globulina en frío, reportando una positividad de 85% (17), Ziff y Hass en 1956 usando euglobulina, encontraron una positividad de alrededor de 90%, pero una incidencia de 13% de falsos positivos (23, 3).

Epstein y Heller, Hohnson y Ragan en 1956 demostraron la capacidad del factor aglutinante del suero reumatoideo para combinarse con gamma globulina agregada (F 11), que se traduce en la formación de un precipitado cuando se le añade a suero reumatoideo, usando glóbulos rojos de carnero tratados con ácido tánico. Esta prueba da una positividad de 69% teniendo la ventaja de que, cuando la prueba es positiva, el título es usualmente alto (2,3,10,23).

En 1956 Ziff y colaboradores señalaron que si bien la fracción euglobulínica del suero humano normal es capaz de inhibir la aglutinación de hemáties de carnero sensibilizados por suero reumatoideo que se sabe es positivo, la fracción euglobulínica del suero de pacientes de Artritis Reumatoidea no es capaz de producir inhibición. Se postuló que la inhibición por la euglobulina normal dependía de una inhibición por competencia entre la globulina gamma (Fracción 11 de Cohn) en la fracción euglobulínica con el factor aglutinante del suero reumatoideo positivo (Factor Reumatoideo) haciendo que no quede disponible para la reacción con glóbulos de carnero sensibilizados. En contraste, la fracción euglobulínica del paciente con Artritis Reumatoidea contiene suficiente factor reumatoideo para reaccionar con su propia gamma globulina y hacer que no quede disponible para la inhibición. Esta prueba de inhibición fué reportada por Ziff y colaboradores de tener una efectividad de 98% y un 4% de falsos positivos. Las dificultades de elaboración de esta prueba, según su propio autor, la relegan al uso exclusivo de investigación (3, 10, 20).

La demostración de que los eritrocitos de carnero tratados con ácido pueden ser sensibilizados por gamma globulina sugirió que un factor esencial del fenómeno de aglutinación era una reacción entre un constituyente de la gamma globulina absorbida en la superficie de la célula y el Factor Reumatoideo, sobre esta base Singer y Plotz (1956) concibieron la Prueba de Fijación de Latex que consiste en la aglutinación de partículas de latex poliestireno con el agregado de gamma globulina humana y suero reumatoideo, en la que el latex actúa como un transportador inerte (Figura N^o 1).



Tomado de A. Hall (3)

Figura Nº 1. Representación esquemática del Test de F. de Latex.

Cuando los monómeros vinil son dispersados en agua y polimerizados por un catalizador aprovechable, se producen pequeñas esferas de polímeros como una suspensión coloidal en agua, negativamente cargadas, y que se comportan como coloides liofóbicos. El reactante es absorbido en la superficie de la partícula y el transportador puede entonces aglutinar en presencia de los Factores Reumatoideos para rendir una evidencia visible de la reacción (2). Inicialmente Singer y Plotz obtuvieron un 71% de efectividad (14), posteriormente N. Rothermich obtuvo 84.2% (13). Rheins y colaboradores (1957) usando menor cantidad de reactivos y una partícula de latex de mayores dimensiones lograron simplificar la prueba, obteniendo porcentajes de positividad semejantes a los obtenidos con el método original de Singer y Plotz (11).

Los sistemas de pruebas usados para determinar el Factor Reumatoideo, en un principio y en la actualidad, se resumen en el Cuadro Nº 1.

EL FACTOR REUMATOIDEO

El descubrimiento más característico de laboratorio en la Artritis Reumatoidea es, indudablemente, la ocurrencia en el suero, fluido articular y tejidos de los pacientes, del "Factor Reumatoideo", nombre propuesto por la Profesora Nana Svartz (18) en el Congreso Panamericano de Reumatología de Río de Janeiro, realizado en 1955, para designar a la sustancia, o sustancias, responsables del fenómeno de aglutinación observado por diferentes investigadores.

Estudios recientes han demostrado que se trata de macroglobulinas de gran peso molecular (alrededor de 900,000), que tienen la capacidad de reaccionar con moléculas de gamma globulina de peso molecular más reducido (alrededor de 160,000), (22). En la electroforesis en papel siguen la rápida migración de las gamma globulinas (4, 17, 18, 19), teniendo un cociente de ultracentrifugación de 19S (Svedberg), pudiendo encontrarse en el suero en esta forma, o como un componente más pesado, de sedimentación aproximada de 22S (6), en este último estado parece existir como un complejo, unido a la gamma globulina normal 7S (Fig. Nº2). Cuando el complejo se desintegra mediante fraccionamiento con úrea o ácido clorhídrico, se obtienen dos fragmentos, uno de los cuales es un componente no reactivo 7S, y el otro un componente 19S con toda la actividad del material original 22S, una desintegración ulterior del componente 19S hace desaparecer toda actividad (3).

Cuadro N° 1 Sistemas de pruebas para determinar el factor Reumatoideo

Estado del Factor	Partícula	Material
Sistemas sensibilizados in-munes:		
Suero	Hematíes de carnero	Amboceptor de conejo
Suero	Hematíes Humanos grupo O	Suero de conejo anti O
Suero	Hematíes Humanos RH+	Anticuerpos Humanos Rh
Suero	Hematíes de carnero cubiertos con polisacárido de bacilo pneumónico	Anticuerpo de conejo anti-polisacárido pneumónico
Suero	Brucella	Anticuerpos incompletos de Brucella
Suero	Estreptococo Beta Hemolítico	Anticuerpos anti-estreprocócicos
Suero	Precipitado albúminaantialbúmina de huevo	Anticuerpo de conejo albúmina-antialbúmina de huevo
Euglobulina	Hematíes de carnero	Amboceptor de conejo
Sistemas de Partículas revestidas:		
Suero	Hematíes de carnero tratados con ácido tánico	Fracción Humana II
Suero	Partículas de Latex	Fracción Humana II
Suero	Partículas de Bentonita	Fracción Humana II
Euglobulina	Partículas de Latex	Fracción Humana II
Sistema de Inhibición:		
Se añade a la Euglobulina una prueba positiva conocida de Latex o de Waaler y Rose.		

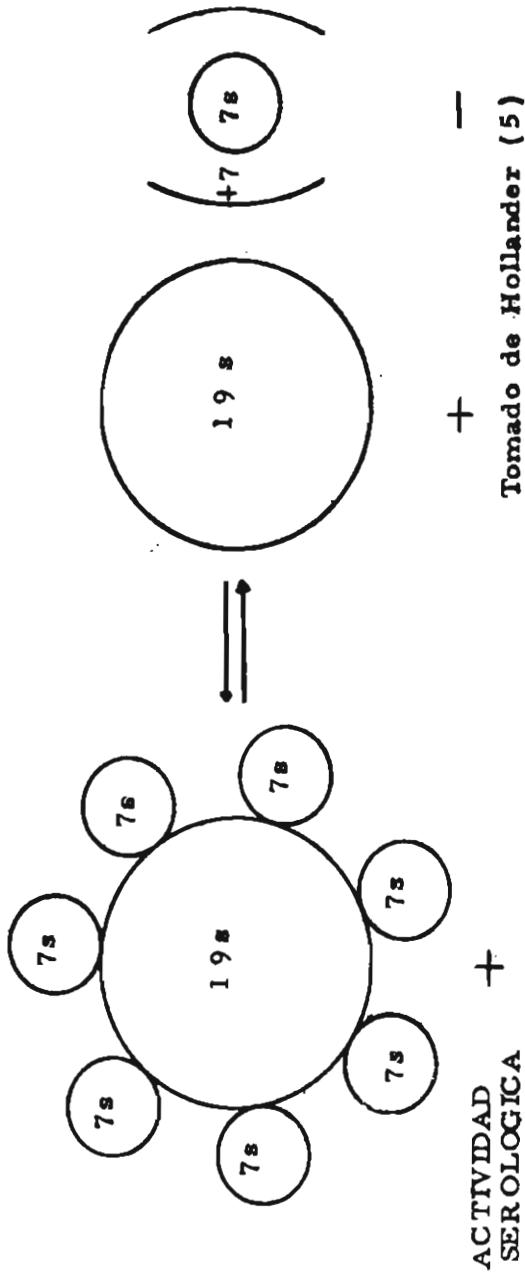


Figura Nº 2. Representación esquemática de la interacción reversible del Factor Reumatoides 19s con la gamma globulina 7s para formar el complejo 22s.

Recientemente, R. Heimer, E. Schwartz y R. Freyberg (4) han reportado la presencia de 5 macroglobulinas inusuales en el suero de un paciente con Artritis Reumatoidea, con constantes de sedimentación del 9S, 7S, 27S, 19S, 5S, 22S y 17.5S. Las tres primeras macroglobulinas reaccionaron con las pruebas serológicas empleando hematíes de conejo sensibilizados como con la prueba de Fijación del Latex, en cambio las dos últimas sólo lo hicieron con la prueba del Latex. La heterogeneidad de factores reumatoideos parece ser una característica de individuos con Artritis Reumatoidea.

El Factor Reumatoideo es estable a la temperatura de 60°C durante 60 minutos, su reacción con la gamma globulina fija el complemento y puede ser absorbido por precipitados inmunes como el de albúmina-anti-albúmina de huevo (3). Es estable entre los pH 4 y 11 y resiste el tratamiento enzimático con tripsina o papaína (10). Su contenido en carbohidratos es de alrededor de 9% en la electroforesis en zona (19).

Utilizando gamma globulina conjugada con Isocianato de Fluoresceína, Mellors y colaboradores (8), lograron localizar el posible lugar de origen de los Factores Reumatoideos en los Plasmocitos de las membranas sinoviales, en las células centro-germinales y células plasmointernodulares de los ganglios linfáticos. El establece que hay por lo menos dos factores reumatoideos celulares, el uno, más abundante, es detectado sólo con agregado fluorescente, el otro con complejo inmunofluorescente tanto como con agregado fluorescente. Los Plasmocitos forman ya sea uno u otro factor o ambos simultáneamente.

El hecho de que los anticuerpos conocidos, como el heterófilo, isoa-glutininas A y B, el de grupo sanguíneo, aglutininas Rh, aglutininas en frío y algunos anticuerpos de Wassermann también son globulinas gamma 19S, ha sugerido que el Factor Reumatoideo sea un anticuerpo; debido a que reacciona con globulina gamma normal 7S ha planteado el problema de que pueda ser un autoanticuerpo (3, 20).

Diversos estudios para aclarar el rol y significado del Factor Reumatoideo se están realizando, sin resultados concluyentes hasta el momento.

Svartz. (18) ha logrado elevar el nivel de las precipitinas en conejos a quienes inyectó el Factor Reumatoideo, sin embargo, las transfusiones repetidas de grandes cantidades de Factor Reumatoideo hechas por Harris y Vaughan (3) a voluntarios humanos no ha producido síntomas ni lesiones específicas. Las personas normales y los enfermos con otros procesos cuyos sueros contienen Factor Reumatoideo no han presentado tampoco lesiones reumatoideas (3, 6). Abruzzo y

Christian han producido un material que no puede distinguirse del Factor Reumatoideo inyectando conejos con *E. Coli* cultivado en medios sin proteína, en ellos no se descubrió signo alguno de inflamación articular (3).

La Dra. Svartz (17) postula que se trata de un metabolito derivado probablemente del agente causal, hasta ahora desconocido, de la Artritis Reumatoidea. Si esto es verdad el Factor Reumatoideo presentaría cambios en su titulación durante el curso de la enfermedad, y esto para la mayoría de los investigadores no ocurre (23).

El Factor Reumatoideo está presente en el Suero de la mayoría de los pacientes con Artritis Reumatoideas, pero no en todos; no es, por lo tanto, una condición "Sine qua non" de la enfermedad. No es un factor patogénico primario ya que se le ha reconcido en pacientes sin Artritis Reumatoidea y viceversa (3, 6, 10, 13, 15, 21, 23).

El Dr. Vaughan (21) sostiene que el Factor Reumatoideo representaría parte de un patrón normal de reacción del cuerpo a ciertos tipos de agresión. La idea de que el Factor Reumatoideo es simplemente una expresión de un tipo de respuesta del organismo, que no representa, pues, ni un agente primario nocivo ni una falla metabólica, ha cobrado inusitada importancia. Una delineación de las clases de agresión que puedan llevar a este tipo de respuesta serológica puede ser de sumo interés en nuestra comprensión futura de la causa de la Artritis Reumatoidea.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó la Prueba de Fijación del Latex, de Singer y Plotz, en 80 sueros de pacientes normales pertenecientes a cadetes de la Escuela Naval del Perú, 12 familiares en primer grado de pacientes con Artritis Reumatoideas, éstos no presentaban sintomatología actual ni historia artrítica; y en 97 sueros de pacientes, con los siguientes diagnósticos comprobados:

Artritis Reumatoidea

Fueron investigados 55 casos, 2 hombres y 53 mujeres, en quienes se aplicó el Criterio Diagnóstico de la Asociación Americana de Reumatismo (12). Están incluidos casos activos e inactivos, tratados y no tratados, de cualquier estadio o grado, ya sea que respondan o no, o lo hagan en forma parcial al tratamiento. La Espondilitis Reumatoidea fue excluida.

Los casos fueron clasificados por su Estadío Radiológico y Capacidad Funcional, según las clasificaciones de Steinbroker (Cuadro N° 2).

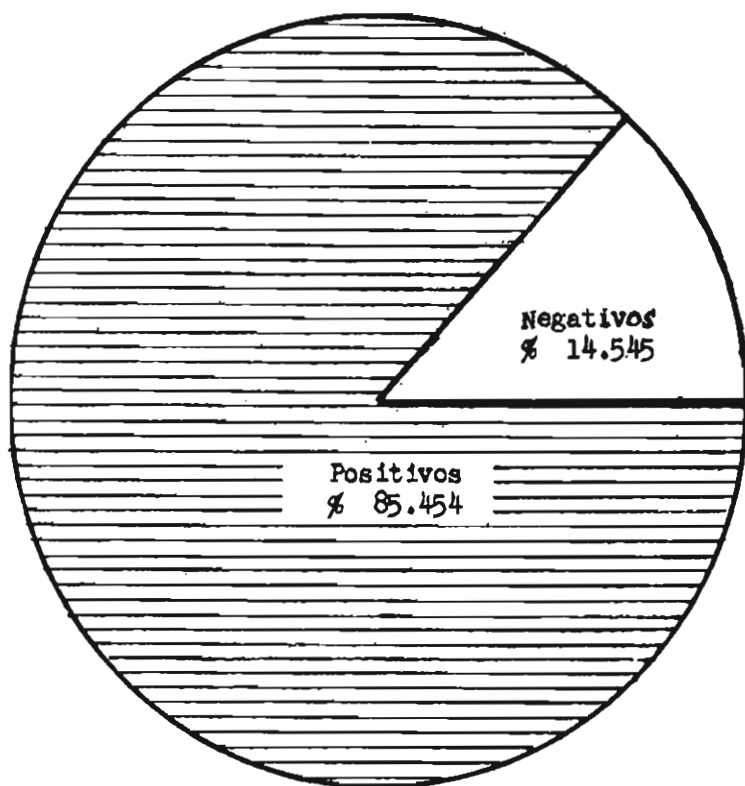
Otras Colagenosis

Se consideran 27 casos estudiados, con los siguientes diagnósticos:

Lupus Eritematoso Sistémico. En este grupo de 17 casos sólo han sido considerados los pacientes con un cuadro clínico bien establecido y con fenómeno L. E. positivo en sangre periférica. No se han considerado pacientes con Artritis Reumatoidea en este grupo.

Esclerodermia. Fueron considerados 9 casos, clínica y anatomopatológicamente diagnosticados.

Dermatomiositis. Se consideró un solo caso, clínica y anatomopatológicamente diagnosticado.



Figuro No. 3. Prueba de Fijación del Latex en pacientes con Artritis Reumatoidea.

Cuadro Nº 2 Clasificación de Steinbroker del curso de la Artritis Reumatoidea**GRADOS****I Precoz**

- ° a) Ausencia radiológica de cambios destructivos.
- b) Puede haber osteoporosis.

II Moderado

- ° a) Puede haber osteoporosis acompañada o no de ligera destrucción cartilaginosa.
- ° b) No hay deformación articular, aunque puede haber limitación articular.
- c) Atrofia muscular adyacente.
- d) Lesiones extraarticulares como nódulos, tenosinovitis pueden estar presentes.

III Severo

- ° a) Hay osteoporosis con evidencia de destrucción cartilaginosa y ósea.
- ° b) Deformación articular: Subluxación, desviación cubital o hiperextensión sin fibrosis o anquilosis ósea.
- c) Atrofia muscular extensión.
- d) Lesiones extraarticulares como nódulos, tenosinovitis pueden estar presentes.

IV Terminal

- ° a) Fibrosis o anquilosis ósea.
- b) El resto igual al grado III.

(NOTA) La clasificación se hace de acuerdo al estado de la peor articulación.

Los criterios precedidos de un asterisco son los que deben estar presentes para permitir la clasificación del paciente en un estadio o grado particular.

Clasificación de Steinbroker de la Capacidad Funcional**GRADOS****I Completa**

Puede realizar todas las obligaciones usuales sin restricciones.

II Adecuada actividad normal.

Limitación del movimiento en una o más articulaciones.

III Limitación

Poca o ninguna actividad en relación con las ocupaciones usuales.

IV Incapacidad grande o total.

Confinado a una silla de ruedas, poco o ningún cuidado propio.

Miscelánea

Bajo este título se engloban 15 pacientes con entidades diversas en quienes se practicó la prueba (Cuadro Nº 12).

De los 55 sueros reumatoideos, 35 pertenecen a pacientes internados en el Hospital Arzobispo Loayza entre los meses de Noviembre 1962 y Marzo de 1963, 11 a pacientes de la consulta externa del mismo hospital y 9 a pacientes particulares gentilmente proporcionados por los Drs. Benjamín Alhalel y Carlos Subauste.

De los 42 sueros restantes, todos, salvo un caso de Mieloma Múltiple estudiado en el Hospital Daniel A. Carrión del Callao, pertenecen a pacientes internados en el Hospital Arzobispo Loayza entre los meses indicados.

Procedimiento

Se utilizó el método original de Singer y Plo'z (14), empleándose los reactivos preparados por la Casa Comercial Difco Laboratories, Michigan, U. S. A.

REACTIVOS

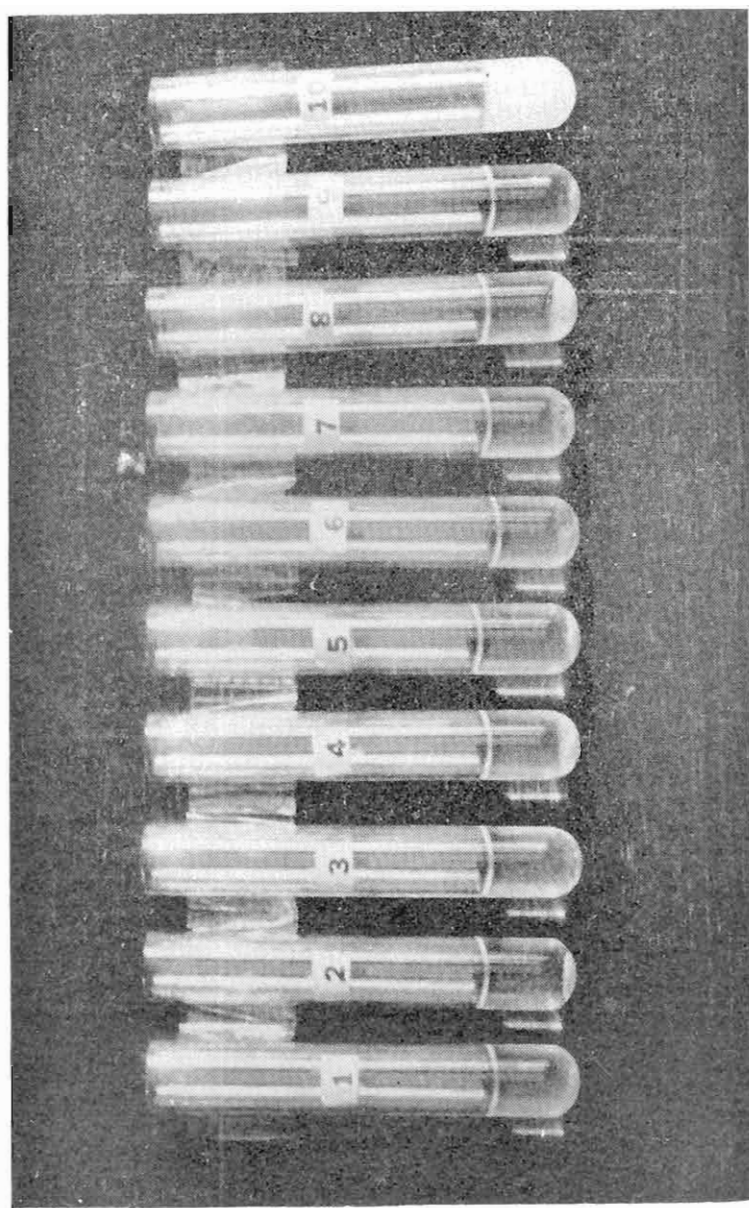
Latex.— Partículas de Latex Poliestireno, de un diámetro uniforme de 0.81 micrón, en una suspensión conteniendo 11% de material sólido en agua destilada.

Gamma Globulina Humana.— Una solución al 0.5% de Plasma Fracción II liofilizada en borato Buffer.

Borato-Salino Buffer.— 50 ml. de una solución 0.1 molar de ácido bórico y 5.9 ml. de 0.1 molar de NaOH, mezclados con 44.1 ml. de agua destilada, ajustándose el pH exactamente a 8.2. A cada 100 ml. de Borato Buffer se agregó 0.85 gr. de cloruro de sodio.

PROCEDIMIENTO

- 1) invertir la solución de Latex para obtener una suspensión uniforme.
- 2) Transferir exactamente 0.1 ml. de suspensión de Latex a 10 ml. de borato buffer al que se ha agregado 0.5 ml. de Plasma Fracción II
- 3) Poner los tubos (12 mm X 75 mm) en un bastidor y rotular de 1 hasta el 10.
- 4) Agregar 1.9 de borato buffer al tubo 1 y 1 ml. a los tubos 2 hasta el 10.
- 5) Agregar 0.1 ml. de suero en test al primer tubo y mezclar a fondo.
- 6) Transferir 1 ml. de solución del tubo 1 al tubo 2 y mezclar a fondo.
- 7) Transferir 1 ml. de solución del tubo 2 al tubo 3 y mezclar, después continuar las diluciones hasta el tubo 9.



Típica Reacción positiva de lo Prueba de Fijación del Latex en el suero de un paciente con Artritis Reumatoidea. Del tubo No. 1 al No. 9, diluciones progresivas de 1:20 a 1:5120; el tubo No. 10 es el control.

8) Remover 1 ml. de tubo 9 y descartar. Cada tubo contiene ahora un total de 1 ml. de solución con diluciones de suero de 1:20 a 1:5120. El tubo 10 es un control de Latex-Plasma Fracción II buffer.

9) Agregar 1 ml. de Latex-Plasma Fracción II y buffer como es descrito en paso 2 a cada tubo.

10) Mover los tubos fuertemente para obtener una suspensión igual en cada uno e incubarlos en agua a 56°C por un baño de 1 hora y media.

11) Centrifugar los tubos incubados a 2,300 R.P.M. por 3 minutos.

12) Suavemente mover los tubos y leer la aglutinación a simple vista. Aglutinación de las diluciones de 1:20 o más después de la centrifugación es considerado un test positivo. El último suero en dilución que muestra evidencias de aglutinación es considerado el punto final del análisis volumétrico. La intensidad de la reacción se valoró de 1 a 4 cruces.

En el dosaje de Gamma Globulina se usó la técnica de Wolfson y Cohn, y en la determinación de la Velocidad de Sedimentación eritrocítica los métodos de Cutler, Westergren y Wintrobe, determinaciones realizadas en los laboratorios del Hospital Arzobispo Loayza.

RESULTADOS

Artritis Reumatoidea

De los 55 pacientes en quienes se practicó la Prueba de Fijación de Latex, 47 de ellos (85.45%) rindieron una prueba positiva y 8 (14.545%) dieron un resultado negativo (Cuadro Nº 3). Los pacientes con prueba del Latex negativa estaban comprendidos en los siguientes Grados, según el Criterio Diagnóstico de la Asociación Americana de Reumatismo (1):6 dentro del Grado "Definido", uno dentro del Grado "Posible", y el restante en el Grado "Probable".

Cuadro Nº 3 Positividad del test del latex en los grupos estudiados

	TOTAL	POSITIVOS	NEGATIVOS	%	χ^2	p
Artritis Reumatoidea	55	47	8	85.454	93.30	< 0.001
Otras Colagenosis	27	5	22	18.518	6.36	< 0.02
Misceláneas	15	1	14	6.666	0.27	< 0.70
Familiares de Artritis reumatoideas	12	3	9	25.000	7.77	< 0.01
Normales	30	3	27	3.333		

NOTA.— Las comparaciones estadísticas fueron realizadas con el grupo de Normales.

La comparación de la positividad de la prueba entre el grupo de Normales y el de Artríticos reumatoideos mostró un gran significado estadístico ($p < 0.001$).

Relación de la positividad de la prueba con la duración y el progreso de la enfermedad.

La incidencia de las pruebas positivas se incrementan con la mayor antigüedad del proceso, a mayor tiempo de evolución mayor es la probabilidad de que el Test resulte positivo, sin ser este concepto de un carácter categórico (Cuadro N° 4).

Cuadro N° 4

0-1 AÑO		1-3 AÑOS		3-5 AÑOS		5 AÑOS Y MAS	
TOTAL	POSITIVOS	TOTAL	POSITIVOS	TOTAL	POSITIVOS	TOTAL	POSITIVOS
12	8	15	13	8	7	20	19
66.666 %		86.666 %		87.500 %		95.000 %	

Relación con la Terapéutica

El uso de corticoesteroides parece no inferir en la positividad de la Prueba (Cuadro N° 5), ni, en general, el hecho de que el paciente esté recibiendo tratamiento medicamentoso con una semana de anterior-

Cuadro N° 5 Relación entre el uso de corticoesteroides y la positividad de la prueba

	TOTAL	POSITIVOS	NEGATIVOS	% POSITIVOS
Pacientes que recibieron corticoesteroides	30	27	3	90.000
Pacientes que no recibieron corticoesteroides	25	20	5	88.888
				$\chi^2 = 1.116$ $p = < 0.3$

idad a la toma de la muestra de suero (Cuadro N° 6). Las fórmulas estadísticas aplicadas indican que las pequeñas diferencias encontradas no poseen significado.

Cuadro Nº 6 Relación entre el empleo de terapéutica y la positividad de la prueba

	TOTAL	POSITIVOS	NEGATIVOS	% POSITIVOS
Con Terapéutica	15	12	3	80.000
Sin Terapéutica	40	35	5	87.500
				$\chi^2: 0.50$ $p < 0.5$

Relación con la velocidad de sedimentación y dosaje de gamma globulinas

No se observó relación entre el aumento de la velocidad de sedimentación y la positividad del test (Cuadro Nº 7), como tampoco con el aumento de gamma globulinas (Cuadro Nº 8). Las fórmulas estadísticas aplicadas revelan que las diferencias encontradas no poseen significado.

Se hace la salvedad que en la determinación de la velocidad de sedimentación se usaron 3 métodos diferentes.

Cuadro Nº 7 Relación entre velocidad de sedimentación y positividad de la prueba

TEST	TOTAL	V.S. ACELERADA	V.S. NORMAL	% V.S. ACELERADA
Positivo	44	38	6	66.363
Negativo	8	5	3	63.333
				$\chi^2: 2.71$ $p < 0.1$

Cuadro Nº 8 Relación entre dosaje de gamma globulina y positividad de la prueba

	TOTAL	GAMMA GLOBULINA NORMAL O ELEVADA	GAMMA GLOBULINA ELEVADA	% GAMMA GLOB. ELEVADA
Positivo	40	16	24	50.000
Negativo	6	4	2	33.333
				$\chi^2: 1.50$ $p < 0.3$

Relación con el grado radiológico y el de capacidad funcional

La más elevada cantidad de casos negativos se observó en los pacientes con Grado Radiológico I (Cuadro N° 9). No se obtuvo ningún resultado en la correlación que se hizo entre la positividad de la prueba y la capacidad funcional, debido a que ésta está más en relación con la terapia instituida que con la evolución de la enfermedad, falsando así los resultados.

Cuadro N° 9 Relación entre grado radiológico y positividad de la prueba

GRADO I		GRADO II		GRADO III		GRADO IV	
TOTAL POSITIVOS		TOTAL POSITIVOS		TOTAL POSITIVOS		TOTAL POSITIVOS	
15	10	12	12	23	20	5	5
66.666 %		100.000 %		86.956 %		100.000 %	

Cuadro N° 10 Número de pruebas positivas según el grado de dilución la prueba

DILUCION	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
No. CASOS	0	0	1	2	4	2	8	5	25
1:5120:	53.212 %								
1:1280 + 1:5120:	80.851 %								

Otras collagenosis

De los 27 enfermos estudiados, en 5 se obtuvo un Test positivo (18.518%), resultando éste negativo en 22 (Cuadro N° 3). Las enfermedades estudiadas se especifican en el (Cuadro N° 11). Los títulos

Cuadro N° 11

ENFERMEDAD	TOTAL	POSITIVOS	NEGATIVOS	POSITIVOS %	χ^2	p
L.E.S.	17	3	14	17.647	4.68	< 0.05
Esclerodermia	9	2	7	22.222	5.13	< 0.05
Dermatomiositis	1	0	1			

obtenidos y la intensidad de la prueba fueron siempre bajos (Cuadro N° 13). La comparación entre el grupo de Normales y éste y con L. E.S. y Esclerodermia fueron estadísticamente significativos.

Misceláneas

En este grupo de enfermedades diversas se realizó la prueba en 15 casos, siendo el Test positivo sólo en uno (6.666%), con un título e intensidad bajos, (Cuadro N° 12).

La comparación estadística realizada con el grupo de normales, no dió un resultado significativo ($p < 0.70$).

Cuadro N° 12 Resultados del test en diversas enfermedades (misceláneas)

ENFERMEDAD	TOTAL	POSI	NEGATIVO	TITULO	INTENSIDAD
Espondilitis Brucelósica	1	0	1		
Osteoartrrosis Pre senil	2	0	2		
Espondilitis Reumatoidea	1	0	1		
Artritis Gonocócica	1	0	1		
Brucellosis	1	0	1		
Enfermedad de Whipple	1	0	1		
Criofibrinopenemia	1	1	0	1:320	2 /
Pleurésia TBC	2	0	2		
Mieloma Múltiple	1	0	1		
Policitemia de Altura	1	0	1		
Glomérulo Nefritis D.C.	1	0	1		
Amigdalitis Crónica	1	0	1		
Osteoartritis TBC	1	0	1		

Familiares de pacientes con artritis reumatoidea.

Se realizó la prueba en 12 familiares en primer grado, obteniéndose un Test positivo en 3 casos (25.000%), siendo los títulos y la intensidad de la prueba bajos, salvo un caso (Cuadro N° 13).

La comparación de la positividad de la prueba con el grupo de normales demostró un gran significado estadístico ($p < 0.01$).

Normales

En este grupo, de 80 sujetos investigados, se encontró positiva la prueba en 3 (3.333%), siendo los títulos obtenidos y la intensidad de las pruebas bajos (Cuadro N° 13).

Cuadro N° 13 Casos con test Falso-Positivo

Enfermedad	Título	Intensidad
1. Esclerodermia	1:80	1 +
2. "	1:80	1 +
3. L. E. S.	1:40	2 +
4. "	1:160	1 +
5. "	1:160	1 +
6. Criofibrinogenemia	1:320	2 +
7. Normal	1:160	2 +
8. "	1:80	2 +
9. "	1:20	1 +
10. Hija de A. R.	1:160	1 +
11. Hermana de A. R.	1:5120	2 +
12. Padre de A. R.	1:320	2 +

COMENTARIO

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son semejantes a los descritos por otros investigadores (1, 3, 10, 13, 15, 18, 19). La prueba muestra ser de gran valor práctico en el diagnóstico de la Artritis Reumatoidea, aún en sus más precoces estadios. Si bien es verdad que la sensibilidad de la prueba se incrementa con la antigüedad del proceso, muestra ser de gran ayuda en el diagnóstico precoz, así Jacobson y col (7), citan dos casos en que obtuvieron tests positivos en el primer día de enfermedad y en el presente trabajo se incluye en la casuística una paciente en quien, anamnesis repetidas indicaron que la sintomatología se había iniciado hacía sólo 4 días, resultando la prueba positiva con un título de 1:1280 y con una intensidad de 4 +.

Se observa que, generalmente, los títulos y la intensidad más altos se obtienen en pacientes que exhiben una enfermedad más activa, esto, sin ser categórico puede servir de cierta ayuda pronóstica.

Es común observar en los sueros positivos que los tubos con diluciones intermedias presentan una mayor reactividad que las primeras o últimas diluciones, como si la obtativización de la reacción máxima del suero no dependiera de la mayor concentración del Factor Reumatoideo en éste, sino de una concentración adecuada ideal y, probable-

mente, otros factores. Este fenómeno, ya descrito por Rheins (11), no ha sido objeto, hasta el momento, de una explicación.

Cuando en un paciente con Artritis Reumatoidea el test va a ser positivo, este resultado no variará por el hecho de que se esté o no empleando corticoesteroides o terapia en general, Svartz (17) señala que "la sustancia responsable del fenómeno de aglutinación en la Artritis Reumatoidea no es afectada por la Cortisona, sea in vivo o in vitro". Parece que la prueba estaría más en relación con el sustrato profundo de la enfermedad que con los simples cambios inflamatorios o fluctuantes de su evolución, sustrato éste al que el efecto del corticoesteroide no alcanza.

Sería de esperarse que en los pacientes con Artritis Reumatoidea la incidencia de pruebas positivas sea mayor en los que tienen gamma globulinas elevadas que en las que poseen bajas o normales, sin embargo, esto no sucede así, siendo la incidencia semejante. Tampoco existe relación alguna con la Velocidad de Sedimentación.

Casi todos los investigadores reportan un porcentaje semejante de test negativos para determinar el Factor Reumatoideo en los pacientes con Artritis Reumatoidea; aún con diferentes métodos este porcentaje casi no varía. Este hecho aleja la posibilidad de que las pruebas negativas en enfermos con Artritis Reumatoidea bien catalogados se deba a un error de técnica, indicando más bien que sería consecuencia de una falta de sensibilidad de los Tests con que contamos actualmente.

El problema contrario, las pruebas falsos positivas son más difíciles de explicar. El Dr. Artur Hall (3) en un estudio detallado comprueba que algunos pacientes que niegan síntomas presentes o pasados de enfermedad reumática, señalaron la artritis como su principal molestia en exámenes efectuados dos o doce años antes. En estos pacientes, concluye, el problema es de una "memoria negativa falsa", más que de una "prueba positiva falsa". Además, es posible que la Artritis Reumatoidea pueda existir como una enfermedad subclínica, en la cual, la presencia del Factor Reumatoideo nos esté dando el diagnóstico.

Otro tipo de pacientes tienen pruebas positivas cuando está perfectamente establecido que nunca han sufrido, o sufren, de Artritis Reumatoidea, casi siempre estos enfermos se encuentran entre los que padecen de enfermedad del Colágeno, enfermedades Hepáticas, Kala-Azar, Sarcoidosis, Lepra, Sífilis, y Tuberculosis Pulmonar (3), encontrándose la mayor incidencia en las enfermedades del Colágeno, agregándose así una similitud serológica a las muchas existentes entre este grupo de enfermedades,

No se sabe en la actualidad si estos pacientes con test falso positivo producen un Factor Reumatoide u otra proteína 19S reactiva. Svartz (17) encuentra diferencias en el comportamiento químico entre el Factor Reumatoideo y el Factor Aglutinante del L. E. S., por otro lado, Howell (6) no encuentra diferencias entre la gamma globulina 19S procedente de enfermos hepáticos y el Factor Reumatoideo.

En el presente estudio, todos los casos, salvo uno, con prueba falso positiva dieron títulos e intensidades bajas a diferencia de los Enfermos con Artritis Reumatoidea en los cuales, cuando una prueba va a ser positiva, ésta generalmente será de un título elevado y de una intensidad grande.

Es conocido el hecho de que la Artritis Reumatoidea es una enfermedad familiar, y el hecho de encontrar en los familiares de enfermos con esta enfermedad una incidencia de pruebas positivas mucho más elevada que en los sujetos normales, no hace más que reafirmar este conocimiento. Parece que en ellos el hallazgo del Factor Reumatoideo indicaría una predisposición a padecer la enfermedad, o quizá, la presencia de un estado subclínico de Artritis Reumatoidea.

Es interesante anotar que solo la Crio-fibrinogenemia dio un resultado positivo entre todas las enfermedades no colágenas de la casuística presentada, sabemos que en esta enfermedad se encuentra una crioaglutinina identificada como una gamma globulina 19S (3, 20), a la cual podriamos responsabilizar de este resultado.

CONCLUSIONES

Se realizó la Prueba de Fijación del Latex, de Singer y Plotz, en 177 sueros de igual número de sujetos con los siguientes diagnósticos: 55 Artríticos Reumatoideos en quienes, además, se determinó su Grado Radiológico, el tenor de Gamma Globulina en sangre y la Velocidad de Sedimentación eritrocítica, 17 Lupus Eritematosos Sistémicos, 9 Esclerodermias y una Dermatomiositis englobados bajo el título de "Otras Cclagenosis", 15 Misceláneas, 12 Familiares de pacientes con Artritis Reumatoidea, y 80 Normales. De los resultados obtenidos se desprenden las siguientes conclusiones:

1. La Prueba de Fijación del Latex es de gran valor práctico en la ayuda diagnóstica de la Artritis Reumatoidea, ya que su alto índice de positividad, 85.454%, en pacientes clínicamente sospechables de padecer la enfermedad es evidente.

2. La incidencia de las pruebas positivas, con el Test de Fijación del Latex, se incrementa con la antigüedad del proceso artrítico reumatoideo, guardando cierta relación con el grado ascendente del compromiso radiológico.

3. El uso de Corticoesteroides, o de terapia en general, en la Artritis Reumatoidea, no altera el resultado de la Prueba de Singer y Plotz.

4. La Prueba de Fijación del Latex no muestra relación alguna entre su índice de positividad y el tenor de Gamma Globulina en sangre y la Velocidad de Sedimentación eritrocítica en los pacientes con Artritis Reumatoidea.

5. Entre los pacientes no artríticos reumatoideos, el porcentaje más alto de positividad, 18.518%, con la Prueba de Fijación del Latex, se alcanzó en el grupo titulado "Otras Colagenosis".

6. La Prueba de Fijación del Latex arrojó un porcentaje de 25.000% entre los familiares en primer grado de pacientes con Artritis Reumatoidea.

7. La Prueba de Fijación del Latex dio un porcentaje de 3.333% entre el grupo de sujetos normales.

8. Los títulos alcanzados con la Prueba de Fijación del Latex en los pacientes con Artritis Reumatoidea fueron generalmente elevados, a diferencia de los títulos generalmente bajos en las pruebas denominadas falso-positivas.

BIBLIOGRAFIA

1. Arón, M. E., Vargues, R. et Lechevalier, L.: La Reaction au Latex. Application a l'étude du 1,1150 Serums, La Presse Medicale, 2:54-56, 1961.
2. Aste-Salazar, Humberto. Recientes Avances de las Pruebas de Laboratorio en la Fiebre Reumática y Artritis Reumatoidea. Trabajo presentado en la 157va. reunión del Viernes Médico, 1962.
3. Hall, Arthur P., M. D.: Pruebas Serológicas en la Artritis Reumatoidea, Clin. Med. Nort., 1161-1196 Sept. 1961.
4. Heimer, Ralph, Ph. D., Schwartz, Edith, R., A. M., and Freyberg, Richard, H., M. D.: Different Rheumatoid Factors in the Serum of a patient with Rheumatoid Arthritis, J. Lab. Clin. Med., 57: 16-31, 1961.
5. Hollander And Collaborators: Text Book of Arthritis, W. B. Saunders Company, Philadelphia-London, 6th. Ed., 234-236, 1960.
6. Howell, David, S, M.D., Malcom, Janet, M., Ph. D. and Pike, Robert, M. D.: The Agglutinating FII Factors in the Serum of patients with No Rheumatic Arthritis, Am. J. Med., 29: 662-671, 1961.

7. Jacobson, Abraham, S., M. D., Kammeres, W. H., M. D., Wolf, J., M. D., Epstein, W. V., M. D. and Heller, G., Ph. D.: Hemmagglutination Test for Rheumatoid Arthritis, III Clinical Evaluation of the Sheep Erythrocyte Agglutination (S.E.A.) Test and the Gamma Globulin (FLL) Test, *Am. J. Med.* 20:490-499, 1956.
8. Mellors, Robert, C., M. D. Ph. D., Nowoslawski, M. D. and Korngold, Leonhard, Ph. D.: Rheumatoid Arthritis and the Cellular Origin of Rheumatoid Factors, *Am. J. Path.*, 39:533-546, 1961.
9. Munan, L.: Orientación Estadística en Medicina Experimental. Ed. Facultad de Medicina de la U.N.M. de S. M. 1961.
10. Ragan, Charles, M. D.: Reacciones Serológicas en la Artritis Reumatoidea, *Progresos en Reumatología*, J. Talbott, M. D. y L. M. Lockie, M. D., 23-28, 1960. Ed. Bernades.
11. Rheins, M. S., Ph. D., McCoy, F. W., M. D., Burrell, R. G., M., Sc., and Buehler, E. V., M. Sc.: A modification of the Latex Fixation Test for the study of Rheumatoid Arthritis, *J. Lab. and Clin. Med.* 50:113-118, 1957.
12. Ropes, M. W., Chairman, G. A., Gobb, S., Jacox, R. A., and Jessar R. A.: Report of a study conducted by a Committee of the American Rheumatism Association, *J. Chr. Dis.* 5:630-635, 1956.
13. Rothermich, Norman, O. M. D. and Phillips, Vol, K., M. D.: The Serologic Diagnosis in Rheumatoid Arthritis, *J. A. M. A.*, 164:1999-2004, 1957.
14. Singer, J. M., and Plotz, C. M.: The Latex Fixation Test I-Aplicacion in the Serological Diagnosis of Rheumatoid Arthritis, *Am. J. Med.* 21: 888-892, 1956.
15. Singer, J. M. and Plotz, C. M.: The Latex Fixation Test. II-Results in Rheumatoid Arthritis, *Am. J. Med.*, 21:893-896, 1956.
16. Steinbroker, O, Traeger, C. H. and Batterman, R. C.: Radiologic Clasi-fication for the Rheumatoid Arthritis, *J. A. M. A.*, 140:659, 1949.
17. Svartz, Nana: Pruebas Serológicas para el Diagnóstico Diferencial de las Enfermedades Reumáticas, *Triángulo (Revista Sandoz de Ciencias)*, 4:23-29, 1959.
18. Svartz, Nana: Studies of the Rheumatoid Factor. Preliminary report, *Acta, Med. Scandinávica*, Vol 170, Fasc. 2,1961.
19. Svartz, Nana.: The Rheumatoid Factor and his Significance, *J. A. M. A.*, 177:50-54, 1961.
20. Vaughan, John, H., M. D.: The study of the Rheumatoid Factor, *Arthritis Test Book*, Hollander and Col., W. B. Saunders Company, Philadelphia-London, 6th. Ed., 80-83, 1960.
21. Vaughan, Hohn, H.: The Rheumatoid Factor in Rheumatoid Arthritis, *Inflamation and Diseases of Conective Tissue. A Hahnemann Symposium.* Ed. Lewis C. Mills and John H. Moyer, 143-146, 1961. Ed. Saunders Company, Philadelphia-London.
22. Vaughan, Hohn, M. D.: Hipersensibilidad en las Enfermedades Reumáticas, *Clin. Med. Nort.*, 1133-1153, 1961.
23. Ziff, Morris, Ph. D., M. D.: The Agglutination Reaction in Rheumatoid Arthritis, *J. Chr. Dis.*, 5: 644-664, 1957.