

Rose Ragan látex IVD

Para la detección del Factor Reumatoideo por la reacción de Rose Ragan, en suero diluido.

INTRODUCCIÓN

El suero de los pacientes que padecen artritis Reumatoidea, posee los llamados factores reumatoideos (FR). Macroglobulinas que podrían ser consideradas anticuerpos, teniendo en cuenta su composición química y su relación con las gammaglobulinas del tipo 19 S.

Los factores reumatoideos tienen la propiedad de reaccionar aglutinando o precipitando con la gammaglobulina humana y la de algunos animales (2), (8), (15).

La presencia de estos factores en artríticos varía, según los investigadores de un 70 a un 90% (11), (17), (19). Si bien pueden ser hallados también en otros procesos, como sífilis (14), tuberculosis (21), lepra (5), enfermedades hepáticas (1), endocarditis bacteriana (23) y bronquitis crónica (3), la frecuencia es, sin duda, significativamente menor.

Es importante señalar que, según algunos investigadores, el FR está presente en alrededor de 3,5% de personas sanas (17), habiéndolo hallado en dadores de sangre en porcentajes que varían del 4 a 7,6% (22), (4). Su frecuencia es mayor en personas sanas de más de 65 años (8), (12).

Por otra parte está ausente en un porcentaje importante de enfermos artríticos, aunque en estos casos puede ser hallado en el líquido sinovial.

Las reacciones más corrientes para la detección del factor reumatoideo en el laboratorio son el test de fijación del látex, que emplea gammaglobulina humana, y la reacción de Rose Ragan, que usa gammaglobulina de conejo.

Milgrom y colaboradores (13) demostraron la existencia de tres factores distintos que constituyen, en conjunto, lo que se llama F.R.: uno de ellos reacciona solo frente a la gammaglobulina humana, el segundo lo hace frente a la gammaglobulina humana y a la de conejo, mientras que el tercero reacciona solamente frente a la gammaglobulina de conejo.

Esto explicaría el comportamiento de los sueros de pacientes artríticos que pueden reaccionar positivamente con el test de látex o viceversa, o bien resultar positivos en ambos casos.

En otros términos, el empleo de la gammaglobulina de conejo y la humana en reacciones simultáneas, aumenta el porcentaje de positividad en la detección de la artritis reumatoidea.

USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Para la detección del Factor Reumatoideo por la reacción de Rose Ragan.

FUNDAMENTO

Cuando en 1922 Meyer describe la influencia del suero en enfermos de artritis reumatoidea sobre la aglutinación de los eritrocitos de carnero por el amboceptor, sentó las bases de la serología de la A.R.; pero la misma quedó sin aplicación práctica hasta 1940 en que Waaler estudió a fondo este problema. Es en 1948 que Rose, Ragan y colaboradores (17) perfeccionaron la reacción (por esto llamase también reacción de Waaler-Rose) y obtuvieron alentadores resultados (80% de positivos enfermos de A.R. y 3,5% de falsos positivos en controles sanos).

En 1952 Winblad estableció que el suero de enfermos de A.R. presentaba afinidad por la gammaglobulina. Propuso un test a partir de eritrocitos tratados con tanino y absorbidos con gammaglobulina humana. En 1956, Singer y Plotz (18), reemplazaron los hematíes por partículas de látex, constituyendo este el llamado test de fijación del látex, procedimiento que se efectúa en tubos y que resulta el de mayor sensibilidad que existe para la detención del F.R. (no debe confundirse con el test de látex en placa). Le sigue la modificación de Rhelms en 1957 (16) que propone trabajar con gotas, con un considerable ahorro de tiempo y reactivo. Singer, en 1958 (19), adapta la realización de la prueba a placas.

La simplificación que se operó en los test que emplean gammaglobulina humana, se vio reflejada en la paralela para los correspon-

dientes a gammaglobulina de conejo. Griebel y colaboradores (7) y Janeff (10) en 1966 y 1970, respectivamente, presentan estadísticas al respecto. El último de los nombrados, usando el nuevo método en portaobjeto con látex gammaglobulina de conejo, llega a la conclusión de que sus resultados están entre los de alta sensibilidad y baja especificidad, como lo es el test de látex y la alta especificidad y la baja sensibilidad de la de Waaler-Rose.

ELEMENTOS DEL SISTEMA

Provisto

- Antígeno látex gammaglobulina de conejo:** Suspensión de partículas de látex de 0,25 micras de diámetro recubiertas con gammaglobulina de conejo, llevada a estado de agregación.
- Buffer de glicina:** Ácido aminoacético 240 mmol/l, hidróxido de sodio 90 mmol/l, cloruro de sodio 154 mmol/l, pH: 8,5-9.
- Control Positivo:** Control estabilizado correspondiente a positividad 2 cruces (++)
- Control Negativo:** Solución control libre de aglutininas.

MATERIAL REQUERIDO

No provisto

- Placa de vidrio.
- Reloj o Timer.
- Varilla.
- Fuente de Luz.
- Material volumétrico adecuado.
- Tubos de vidrio.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los reactivos provistos son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en el envase, conservados entre 2-10°C. No congelar.

MUESTRA

Se empleará suero, que deberá ser inactivado durante 10 minutos a 60°C. Mediante este procedimiento se elimina la globulina termolábil 11S (8), que se combina con la gammaglobulina en estado de agregación, produciendo inhibición de la reacción. Con la inactivación se evita el fenómeno de prozona, que provoca falsos resultados negativos en sueros artríticos, cuando se trabaja con bajas diluciones de los mismos (2), (6), (20). Si la determinación no se realiza en el día la muestra puede mantenerse durante una semana conservada entre 2-10°C.

PROCEDIMIENTO

Técnica Cualitativa

Llevar los reactivos a temperatura ambiente. Agitar el reactivo látex-Globulina antes de usar. Realizar una dilución 1/8 de la muestra inactivada (ver Muestra) colocando, en un tubo, 50 µl de muestra y 0,35 ml de buffer de glicina.

En una placa de vidrio colocar:

Muestra 1/8	1 gota (50 µl)
Reactivo látex-Globulina	1 gota (50 µl)
Mezclar con palillo o varilla de vidrio hasta obtener una suspensión uniforme, extenderla en un diámetro de 20 mm. Balancear suavemente la placa durante 2 minutos . Observar la presencia o ausencia de aglutinación macroscópica. La lectura se favorece colocando una fuente de luz debajo de la placa.	

Técnica Cuantitativa

- Los sueros positivos pueden titularse. Para ello, en 5 tubos de vidrio:
- Colocar 0,2 ml de buffer de glicina en cada tubo.
- Tomar 0,2 ml de la dilución 1/8 y transferirlo al tubo Nº 1. Mezclar y transferir 0,2 ml al tubo Nº 2 y así sucesivamente hasta el último tubo. Las diluciones obtenidas serán: 1/16 – 1/32 – 1/64 – 1/128 – 1/256.
- Ensayar cada dilución como se indica en la técnica cualitativa.



EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Si no se produjo aglutinación con el suero inactivado se informará:

Rose Ragan látex: Suero no reactivo.

En caso contrario la mayor dilución que produce aglutinación nos indica el título de positividad. Por ejemplo: Suero reactivo 1/32.

Rose Ragan látex: Suero reactivo dilución...

Se consideran como reacción negativa, a los resultados reactivos hasta la dilución 1/8, la aglutinación en dilución 1/16 se considera dudosa y reacción francamente positiva cuando se obtiene aglutinación desde la dilución 1/32 en adelante.

CONTROL DE CALIDAD

Dado que el control de calidad estadístico en serología no es fácilmente practicable, lo que se propone es un control de reactividad de la suspensión de látex, para lo cual se suministra un suero positivo diluido como control, que puede analizarse simultáneamente con cada conjunto de reacciones que se practiquen.

LIMITACIONES Y CUIDADOS

- Contaminación con detergentes: La presencia de detergentes puede alterar el proceso de aglutinación, por lo que habrá que tener la precaución de asegurarse que la placa esté exenta de estos productos.
- Inadecuada conservación: Si la suspensión de látex gammaglobulina de conejo se mantiene fuera de la heladera durante periodos prolongados, se produce una marcada disminución de la reactividad.
- El congelamiento de la suspensión de látex produce alteraciones irreversibles en el mismo, con lo que se inutiliza definitivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Atwater E. Et al (1963): "The latex-fixation in patient with liver disease", Ann. Int. Med. 58: 419.
- Bernard G. et al (1962): "The reaction of rheumatoid factor and complement with gamma globulin coated latex". Immunology 88: 750.
- Bonomo L. Et al (1966): "Anti gamma globulin and antinuclear factors in chronic bronchitis". Am J. of clin. Path. 45: 313.
- Caplan H. (1971): "Latex-fixation test to screen blood donors". N. Engl. J.H. Med 285.295
- Cathcart C. Et al (1961): "The relationship of the latex fixation test to the clinical and serologic manifestation of leprosy. Am.J.Med. 31:758
- Chuy-Tsai Cheg et al (1971): "Interference by Ciq in slide latex test for rheumatoid factor". Ann. Int. Med. 75: 683.
- Griebel H. et al (1969): "The serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. The latex - rabbit gamma globulin fixation test" J. Chron. Dis.21:667.

- Helmer R. Et al (1971): "Globulins resembling rheumatoid factor in serum of the aged". Am. J. of Med. 35: 175.
- Huskisson et al (1971): "Synovial fluid Waaler Rose and latex test". Ann. Rheum. Dis. 30:67.
- Janeff J. (1970): "A new slide test for rheumatoid arthritis: comparison with Waaler-Rose and latex slide tests". Arth and Rheum. 13:193.
- Klein F. Et al (1966): "Characterization of two different agglutinators in the latex fixation test occurring in normal human sera". Immunology 10:87.
- Larsen R. (1972): Family studies in systemic lupus erythematosus" J. Chron. Dis. 25: 191.
- Milgrom F. Et al (1965): "Multiplicity of rheumatoid factor" arth. and Reum. 8.203.
- Peltier et al (1959): "The presence of rheumatoid factor in sera from patients with syphilis." arth.an Rheum. 2.1.
- Pike R. et al (1963): "Species specificity of globulins in reactions with rheumatoid arthritis serum". J. Immunol. 9:740.
- Rheins M. Et al (1957): "A modification of the latex fixation test for the study of rheumatoid arthritis". J. Lab. And Clin. Med. 50: 113.
- Rose H.; Ragan C. et al (1948): Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 68:1.
- Singer J. and Plotz C. (1956): "Latex fixation test: Application to serologic diagnosis of rheumatoid arthritis". Am. J. Med. 21:888.
- Singer J. (1958): "Slide latex fixation test: a simple screening method for the diagnosis of rheumatoid arthritis". J.A.M.A. 168: 180.
- Singer J. (1961): "The latex fixation test in rheumatic diseases". Am.J. of Med. 31:766.
- Singer J. et al (1962): "The presence of antigammaglobulin factors in sera of patients with active pulmonary tuberculosis". Ann Int. Med. 56:545.
- Waller M. et al (1961): "Evaluation of rheumatoid factor test". Arth. and Rheum. 4:579.
- Williams et al (1962): "Rheumatoid factor, complement and conglutinin aberrations in patients with sub acute bacterial endocarditis". J. Clin. Invest. 41:666.

PRESENTACIÓN

Envase x 40 determinaciones. COD B02135

Producto elaborado por Laboratorios W. Brizuela S.A.
 Falucho 59 (X5002HMA) - Córdoba, Argentina.
info@brizuela-lab.com.ar
 Producto autorizado por ANMAT N° 6505.
 Director Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela.