

ESPECIFICIDAD DE LA REACCION DE HEMAGLUTINACION EN LA ARTRITIS REUMATOIDEA ¹

POR

HERNANDO ROCHA POSADA *

JAIME SARAVIA GÓMEZ **

MIGUEL GUZMÁN URREGO ***

El diagnóstico de la Artritis Reumatoidea (A. R.) se ha hecho clásicamente en la mayoría de los casos por el examen físico, el estudio radiológico y biopsia articular. Mediante los dos primeros y ante la dificultad de efectuar la tercera, el diagnóstico se hace muchas veces difícil en las formas incipientes y/o atípicas de la enfermedad, así como en una serie de enfermedades entre las cuales figuran en primer término las "Colagenosis", la gota, la ocrónosis, la fiebre reumática, la espondilitis anquilopoyética, el síndrome de Reiter, etc.

Aunque la mayoría de las reacciones serológicas concede un cierto margen de error, ellas han sido objeto de afanosas y constantes investigaciones

con el propósito de perfeccionar los métodos y obtener mayor especificidad. La A. R. no ha sido una excepción.

INTRODUCCION

Ya en 1922 Meyer ²⁰ encontró que el suero de pacientes cirróticos aglutinaba fuertemente los eritrocitos de carnero y cobayo previamente sensibilizados con sus antisueros específicos y que lo mismo ocurría en un paciente con bronquitis crónica cuyo suero aglutinaba las células rojas humanas y de carnero. En 1940 Waaler (citado 39) observó por primera vez que los eritrocitos de carnero podían ser aglutinados por los sueros de los pacientes con artritis reumatoidea. Tal observación partió del hecho de que en las reacciones de rutina, tipo Wassermann, en algunas ocasiones se presentaba aglutinación del control del sistema hemolítico con el suero en estudio. Estudiando a fondo este fenómeno, determinó que tales sueros siempre procedían de pacientes con A. R. y que estos eritrocitos sólo eran aglutinados cuando estaban sensibilizados con una dosis subaglutinante de un suero anti-carnero obtenido en conejos.

¹ Trabajo realizado en la Sección de Microbiología del Departamento de Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional, bajo la dirección del doctor Ramiro Martínez Silva, profesor de Microbiología de la Escuela de Salud Pública y Profesor Encargado de Microbiología de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional.

* Instructor de Med. Int. Fac. de Med., Univ. Nal.

** Instructor Auxiliar del Depto. de Anat. Patol., Fac. de Med., Univ. Nal.

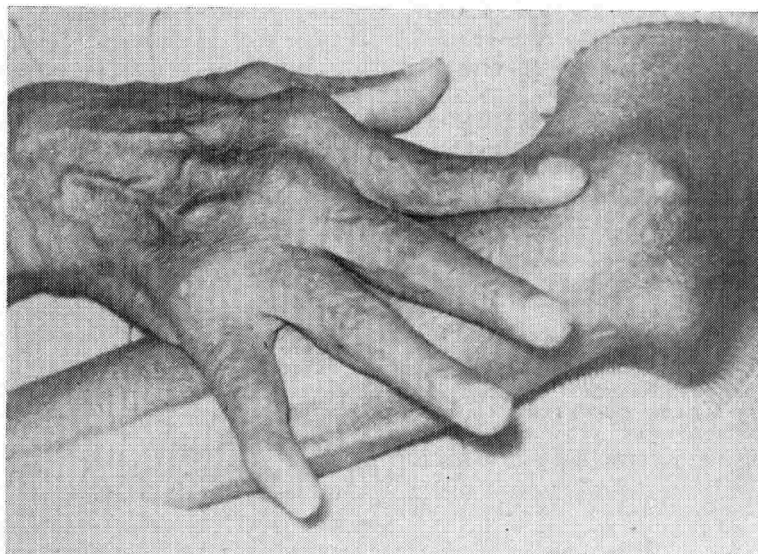
*** Instructor de Med. Preventiva. Fac. de Med., Univ. Nal.

El mismo Waaler (citado 39) atribuyó este fenómeno a la presencia de algún factor aglutinante presente en el suero de estos pacientes al cual denominó "Agglutinating Activating Factor" y que no era el mismo factor responsable de la aglutinación de los estreptococos hemolíticos. En 1948 Rose y col.²⁶ independientemente y sin tener conocimiento de las observaciones de Waaler, comunicaron que el suero de los pacientes con A. R. activa, aglutinaba los eritrocitos de carneros sensibilizados (E. C. S.), indicando desde entonces que tal reacción era patognomónica de la A. R. activa, aunque podía ser positiva en la enfermedad de Still y en procesos de A. R. inactiva. Miller, Lynch y Lansbury²¹ no compartieron el criterio de patognomónico para la A. R. y diferenciaron de ella a la Espondiloartritis Anquilopoyética, ya que en esta enfermedad la reacción de hemaglutinación era siempre negativa.

Como esta reacción se mostró positiva en la mayoría de los pacientes

con A. R., se vislumbró la posibilidad de que podría ser aplicada ventajosamente para el diagnóstico de esta enfermedad. Wager³⁷ teniendo en cuenta los trabajos adelantados por Waaler y la técnica estandarizada por Rose y col. propuso que tal reacción llevara el nombre de "Reacción de Rose-Waaler" con el que se le conoce universalmente.

A partir de este momento y con base en estos estudios, numerosos investigadores se ocuparon de esta reacción introduciéndole modificaciones con el objeto de hacerla más específica. Ball² en 1950 efectuó absorción de las aglutininas naturales. Wager³⁷ en 1950 y Foz y col.⁹ en 1951 fueron los primeros en efectuar la reacción con eritrocitos humanos en reemplazo de los de carnero. Heller y colaboradores¹³ en 1954 sensibilizaron los eritrocitos de carnero con Fracción II de Gamma Globulina humana. Ziff²⁷⁻⁴⁰ en 1956 ideó la reacción que lleva su nombre, la cual consiste en una inhibición de la hemaglutinación. Sin-





ger y Plotz³¹ reemplazaron los eritrocitos de carnero por partículas de poliestireno y las sensibilizaron con Gamma Globulina humana; esta es la reacción conocida con el nombre de "Fijación del látex en tubo". Bunin³ en 1958 sustituyó los eritrocitos de carnero por partículas estandarizadas de bentonita y las sensibilizó con Gamma Globulina humana. La más reciente prueba es una modificación a la "Fijación del látex", realizada en placa y estandarizada por Hiland Laboratories, llamada "RA-Test".

MATERIALES Y METODOS

A diferencia de la reacción clásica de Rose-Waaler que se efectúa con eritrocitos de carnero, se ha utilizado la técnica de Foz empleando eritrocitos humanos⁹, suero anti-eritrocitos humanos obtenido en conejo y suero del enfermo.

A) *Suero anti-humano. Obtención.* Se inyectaron conejos con una suspen-

sión al 50% de eritrocitos humanos grupo O Rh negativo, previamente lavados por tres veces consecutivas en solución salina fisiológica. La inmunización se llevó a cabo durante un mes a intervalos de cuatro días, iniciando por vía subcutánea con 0.5 c. c. y continuando por vía intravenosa con dosis progresivas hasta alcanzar 5 c. c. en la última inyección. Cinco días después se tomó una muestra del suero para conocer el nivel de anticuerpos, y si éste era satisfactorio, se sangraba el conejo a muerte; si no se administraba una dosis adicional.

Titulación.—Una vez inactivado el suero se hicieron diluciones dobles progresivas en solución salina fisiológica en volúmenes de 0.5 c. c., iniciándolas al 1/20 y 1/30. A estas dos series se agregaron 0.5 c. c. de una suspensión de eritrocitos al 0.5%. La mezcla se llevó al baño de María a 37° C durante dos horas, y posteriormente se llevó a la nevera, donde se dejó hasta el día siguiente. Antes de realizar la

lectura se puso de nuevo en el baño de María a 37° C. Para su lectura se consideró como una unidad aglutinante a la mayor dilución del suero que producía una aglutinación apreciable a simple vista.

Conservación del antisuero.—Se le agrega un volumen igual de glicerina y se mantiene a 4° C.

B) *Eritrocitos humanos.*—Se utilizaron eritrocitos humanos grupo O Rh negativo con el objeto de disminuir los factores aglutinantes que pudieron existir en los sueros de los pacientes a quienes se les practicase la reacción. Se mantuvieron en solución de Alsever a 4° C. Para la reacción se lavaron en solución salina fisiológica en la cual se hizo finalmente una suspensión al 1%.

C) *Suero del enfermo.*—Los sueros de pacientes con A. R. se obtuvieron del Hospital de San Juan de Dios de Bogotá, del Hospital de la Samaritana y de consulta particular. Los sueros de pacientes con afecciones distintas de la A. R. fueron obtenidos en su totalidad en el Hospital de San Juan de Dios de Bogotá y los de los sujetos sanos se recolectaron entre estudiantes de la Facultad de Medicina, personal asistencial del Hospital de San Juan de Dios y personal del Frenocomio de Sibaté.

La sangre fue obtenida por punción venosa en tubos estériles, colocada en la estufa a 37° C para obtener una mejor retracción del coágulo. Se centrifugó y el suero obtenido fue guardado en tubos estériles en el congelador; estos sueros fueron inactivados en el baño de María a 56° C durante media hora antes de efectuar la reacción. Es aconsejable utilizar sueros frescos para evitar la precipitación de las crioglobulinas³⁴.

Sensibilización de los eritrocitos humanos.—Para ello se utilizó 1/20 de

unidad aglutinante del suero anti O, lo que se consiguió diluyéndolo en solución salina fisiológica hasta contener 1/10 del título aglutinante y agregándolo al mismo volumen de la suspensión de eritrocitos al 1%, dejando "madurar" unos veinte minutos.

Técnica de la reacción.—En una serie de tubos de hemólisis, nueve para la reacción y uno para el control, se colocan a 0.5 c. c. de solución salina fisiológica. Al primer tubo de la serie se le agrega 0.5 c. c. del suero del paciente y a partir de él se hacen diluciones dobles progresivas. Al tubo control se le agregan 0.5 c. c. del suero problema, se agita y se desechan 0.5 c. c. de esta mezcla. Luego se agregan a cada uno de los tubos de la serie 0.5 c. c. de la suspensión al 0.5% de eritrocitos sensibilizados. Al tubo control se le agregan 0.5 c. c. de una suspensión al 0.5% de eritrocitos humanos lavados no sensibilizados. Se agita convenientemente y se lleva a la estufa o baño María a 37° C por dos horas. Posteriormente se pasa a la nevera durante 24 horas. Al día siguiente se verifica la lectura previo paso por la estufa durante 30 minutos (para eliminar las frío-aglutininas). La lectura se efectuó agitando suavemente los tubos: es positiva aquella reacción en la cual los eritrocitos forman grumos más o menos compactos dispersos en el medio líquido claro; la intensidad de la positividad se valora hasta xxxx. Es negativa cuando los eritrocitos se dispersan formando una suspensión homogénea en el medio líquido.

RESULTADOS

Se efectuó reacción de hemaglutinación con 585 muestras de sueros correspondientes a: pacientes con artritis reumatoidea, pacientes con enfermedad articular diferentes a A. R., pacien-

tes con entidades médico-quirúrgicas varias y en sujetos sanos.

De acuerdo con Svartz³⁴ y Foz y col.⁹, hemos considerado título límite inferior de positividad 1:16. Leal y Alés¹⁹ consideran como título inferior de positividad 1:64. En nuestro estudio el menor título (1:16) ocurrió en seis pacientes (20%) y el máximo (1:32.768) en una paciente (3.33%) con A. R. severa, nódulos subcutáneos y sin tratamiento previo. (Figuras números 1-2). Este elevadísimo título raras veces hallado está de acuerdo con la opinión de Pike²⁵: "los casos de A. R. severa mostrarán siempre títulos muy altos". Es interesante anotar que con el macerado de un nódulo subcutáneo de esta paciente se efectuó reacción de hemaglutinación, dando positividad de 1:256 para una suspensión al 1:10 (tabla I). En nuestro estudio sobre 33 pacientes afectados de artritis reumatoidea (tabla I) la reacción de hemaglutinación fue positiva en el 90.91%; sobre 64 pacientes con enfermedad articular diferente de A. R. (tabla II) 6.25%; sobre 294 (tabla III) con afecciones varias 0.68% y sobre 194 sujetos sanos (tabla IV) 0%. Se practicó proteinograma por electroforesis en 8 de 33 pacientes afectados de A. R., encontrándose una relación directa entre el ascenso de las gamma-globulinas y el título de hemaglutinación.

DISCUSION

Fundamento inmunológico de la reacción.—La base inmunológica, tanto de la reacción de Rose-Waaler como la de fijación del látex, bentonita y Ra-test, es simplemente la unión entre un factor presente en el suero o factor reumatoide (F. R.) y la Gamma Globulina humana o una de sus fracciones¹⁷. Las diferentes reacciones se han ideado teniendo como base este hecho. En la de Rose-Waaler los eri-

trocitos de carnero adhieren a su superficie, en el momento de sensibilizarse, los anticuerpos dirigidos contra ellos que son Gamma Globulina de conejo (citado 39). El "F. R." presente en el suero se comporta como una anti-Gamma Globulina el cual uniéndose a ésta produce aglutinación. Según Heller¹³ no sería necesario sensibilizar los eritrocitos con suero homólogo; basta sensibilizarlos con la fracción II (F II) de Gamma Globulina humana; ello confiere una mayor especificidad a la reacción. El fenómeno de aglutinación puede ser demostrado también con eritrocitos humanos²³, ³⁷, ³⁸, o de cualquier otra especie animal, siempre y cuando sean sensibilizados. En la prueba de fijación del látex los eritrocitos son reemplazados por partículas de poliestireno sensibilizadas con F. II de Gamma Globulina humana³¹, ³². En la prueba de floculación de la bentonita, partículas de ésta reemplazan a los eritrocitos y se sensibilizan con Gamma Globulina humana³. En 1956 Ziff²⁷ y colaboradores demostraron que el suero normal contiene una sustancia capaz de inhibir la aglutinación causada por el "F. R." sobre los E. C. S. Una sustancia igual fue encontrada por Gray en la mayoría de todos los tejidos humanos. Parece que en la A. R. existe una disminución de tal sustancia. Con base en esta observación, Ziff ideó una prueba de inhibición de la hemaglutinación usando Euglobulina humana, la cual uniéndose al "F. R." hace que éste no actúe sobre los eritrocitos sensibilizados no presentándose por lo tanto la hemaglutinación.

Factor reumatoideo.—Waaler (citado 39) fue el primero en demostrar que la sustancia que producía la aglutinación de los eritrocitos era un elemento anormal en el plasma, que sólo aparecía en procesos del tipo de la A. R., se localizaba en la fracción

globulina y no tenía relación alguna con los grupos sanguíneos del paciente. A tal substancia la denominó "Agglutinating Activating Factor". Desde entonces todos los estudios sobre el tema han tendido a tratar de conocerla mejor. Experimentalmente³³ se ha podido producir una substancia similar al denominado "F. R." inyectando conejos con un *Diplococcus* aislado del exudado articular de un paciente afectado de A. R. y comprobando su aparición mediante las reacciones de hemaglutinación. Otros autores²² inocularon conejos con *Salmonella Pollorum* o cepas de *Estreptococo* logrando producir un factor con actividad aglutinante contra los E. C. S. y cuyas propiedades eran similares a las del factor que se encontraba en el suero del paciente con A. R.

El "F. R." es una macroglobulina de peso molecular de 190.000, aproximadamente, diferente de los anticuerpos heterófilos², que carece de capacidad antigénica²⁴, que pierde su actividad a 100° C y que es estable a un pH entre 4 y 11²⁹. Según Svartz³⁴ no se conoce la naturaleza del factor hemaglutinante; probablemente sea el resultado de una alteración del metabolismo tisular, constituyendo un fenómeno secundario en A. R.; por lo tanto tal factor no es primario o etiológico de la enfermedad. Por fraccionamiento en el frío y ultracentrifugación este autor diferenció dos tipos de crío-aglutininas que pertenecen al grupo de las Gamma Globulinas: uno cuya constante de sedimentación es de 6-7 U. Svedberg, que no provoca la hemaglutinación de los eritrocitos de carnero, que no se precipita con el frío y corresponde al factor sérico del L. E. S. El otro se precipita con el frío, tiene una constante de sedimentación entre 19-20 U. Svedberg, posee fuerte poder aglutinante y contiene una cantidad aproximada de 50% de globulinas y macroglobulinas: éste sería el "F. R."

Muy recientemente el mismo Svartz³⁵ utilizando un procedimiento de fraccionamiento del suero total con una solución de sulfato de amonio ha podido precipitar, mediante centrifugación, el "F. R." en estado de pureza, obteniendo con él una aglutinación altamente específica para la A. R. En cambio las substancias que inhiben la hemaglutinación no son precipitables. Robinson y Stulberg²⁸ obtuvieron concentrado y purificado el "F. R." mediante fraccionamiento salino y por diálisis frente a soluciones de bajo poder iónico. Epstein y Ragan también lograron poner de manifiesto el "F. R." utilizando una reacción de precipitación⁸. Con base en los anteriores estudios se ha podido determinar en pacientes con A. R. y alto título de aglutinación⁴ que la cantidad de compuesto proteico de constante de sedimentación de 22 U. Svedberg que corresponde al "F. R." varía entre 50 y 1.160 mgrs. por 100 c. c. de suero. Se ha sugerido la hipótesis de que tal compuesto proteico podría ser retenido o precipitado en ciertos órganos produciendo manifestaciones tales como nódulos subcutáneos, poliarteritis y posiblemente esplenomegalia. Los estudios electroforéticos practicados con suero total o Globulina de pacientes con A. R. localizan el "F. R." en las Globulinas Beta 1; después de la purificación se localiza en la Beta 2. Por el método de Grabar y Williams el "F. R." puede ser identificado como la "Beta 2-M-Globulina"¹⁰. Para Ragan²⁹ el "F. R." se halla contenido en la Fracción III de Heller del suero y es predominantemente una Beta Globulina aunque contiene alguna cantidad de Alfa y Gamma Globulina y huellas de albúmina. Mediante electroforesis se halla cerca de la Gamma Globulina. Por último, Dressner^{6, 7}, afirma que el "F. R." no es específico de la A. R. sino que puede encontrarse en el suero de pacientes con variadas enfermedades sistémicas.

La prueba de hemaglutinación realizada con eritrocitos humanos siguiendo el esquema de la vieja reacción de Rose-Waaler, es una prueba de fácil realización y gran especificidad y utilidad en clínica^{17, 12}. Kellgren¹⁸ la halla positiva en pacientes sin sintomatología clínica pero con evidencia radiológica de A. R. Para algunos autores como Svartz tiene valor pronóstico, descendiendo el título con la mejoría clínica. Jeffrey¹⁶ y Ragan²⁹ por el contrario, afirman que las reacciones no sufren modificación alguna con la mejoría clínica ni con el tratamiento con esteroides.

En nuestra estadística sobre 33 pacientes afectados de A. R. (tabla número I), la reacción de hemaglutinación fue positiva en 30 (90.91%). Ball² (con eritrocitos de carnero) refiere una positividad del 91.5%; Winbland³⁸ (con eritrocitos de carnero previa absorción) 48.7%; Wager³⁷ (con eritrocitos humanos) 61%; Greenbury¹² (con eritrocitos de carnero) 82.3%; Dressner⁷ (con eritrocitos de carnero) 62%; Svartz³⁴ (con eritrocitos de carnero sensibilizados y en presencia del "F. R." aislado y puro) 95%; Leal y Alés¹⁹ (con eritrocitos de carnero) 87%; Ragan²⁹ (con eritrocitos de carnero) 90%, y Foz y col. (con eritrocitos humanos) 83%.

Sobre 64 pacientes con enfermedad articular diferente de A. R. (tabla número II), la reacción de hemaglutinación fue negativa en 93.75% (2 casos de gota y 2 de fiebre reumática fueron positivos) 6.25%. Títulos entre 1:4 y 1:8 fueron hallados en 4 de 27 gotosos, 1 de 3 fibrositis y 1 de 4 L. E. S. Winbland³⁸ refiere una positividad en la fiebre reumática del 4% y en el L. E. S. del 20%; Ragan²⁹ 10% para fiebre reumática y 25-60% para L. E. S.; Wager³⁷ 3% para fiebre reumática; Dressner⁷ 47% para L. E. S. y 0% para gota.

Sobre 294 pacientes con afecciones varias (tabla número III) la hemaglutinación fue negativa en el 99.32%. Ball² sobre 134 pacientes no artríticos no halló ninguna positiva. Wager³⁷ encuentra un 2% de positividad y Bartfeld⁵ un 5%. Títulos de 1:4 los hallamos en 18 pacientes (Colicistitis aguda, cáncer cutáneo y del cervix. TBC pulmonar, paquipleuritis, pleuresia, linfosarcoma, leucosis, etc.), y de 1:8 en 2 pacientes (2 casos de cirrosis septal)²⁰.

Sobre un total de 194 sujetos sanos (tabla IV) 18 dieron un título 1:4 (9.27%) y 11 un título de 1:8 (5.67%). Estos títulos los consideramos como reacción negativa, explicando tal fenómeno por el hecho de que en el suero de personas normales y de algunos animales existe un factor varias veces descrito como "Conglutinina"¹⁴ que es el responsable de esta hemaglutinación de bajo título. Fundándose en este principio algunos investigadores reemplazaron la solución salina fisiológica por suero humano normal como disolvente, con el objeto de potencializar la hemaglutinación en la A. R.¹⁴. Bartfeld⁵ y Wager³⁷ hallan positiva la reacción en el 1% de sujetos sanos. Dressner⁷ sobre 146 sujetos normales no halla ninguna reacción positiva.

Conjuntamente efectuamos proteinograma por electroforesis en algunos de los pacientes afectados de A. R. (tabla número V). El cambio más constante anotado por numerosos investigadores se refiere a la Gamma Globulina que es una macro-globulina^{7, 39, 36} y a la cual pertenecen las crío-globulinas, en donde posiblemente va incorporado el "F. R."¹. El aumento de estas macroglobulinas se encuentra, aparte de la A. R., en los estados agudos y de convalecencia de ciertas hepatopatías⁷, sarcoidosis, infestación parasitaria¹⁷, cirrosis (7-citado 39) y enfermedades neoplásicas.

REACCION DE HEMAGLUTINACION EN ARTRITIS REUMATOIDEA

T A B L A I

Número de casos	S e x o		Hemaglutinación		Título	Porcentaje en relación a este título sobre 30 pacientes con hemaglutinación positiva
	Femenino	Masculino	Positiva	Negativa		
6	6	—	6	—	1/16	20.00%
1	—	1	1	—	1/20	3.33%
8	7	1	8	—	1/32	26.66%
1	1	—	1	—	1/40	3.33%
2	2	—	2	—	1/64	6.66%
1	1	—	1	—	1/80	3.33%
3	2	1	3	—	1/128	10.00%
3	3	—	3	—	1/256	10.00%
3	3	—	3	—	1/512	10.00%
1	—	1	1	—	1/1,024	3.33%
1	1	—	—	3	1/32,768	3.33% *
8	3	—	—	—	—	—
33	29	4	30	3	—	—
	87.87%	12.13%	90.91%	9.09%	—	—

* En esta paciente se efectuó "test de hemaglutinación" con el triturado de un nódulo subcutáneo, siendo el título para la suspensión al 1/10 de 1/256.

REACCION DE HEMAGLUTINACION EN PACIENTES CON COMPONENTE ARTICULAR DIFERENTE DE ARTRITIS REUMATOIDEA

T A B L A I I

Enfermedad	Número de casos	Edad		Sexo		Hemaglutinación		O b s e r v a c i o n e s
		Máxima	Mínima	Femenino	Masculino	Positiva	Negativa	
Gota	27	50	14	13	14	2 *	25	* Títulos 1/32 y 1/8
Fiebre reumática . .	15	43	16	12	3	7.42% 2 *	92.58% 13	* Títulos 1/16 y 1/128
						13.33%	86.67%	
Corea menor	3	17	12	3	—	—	3	
Fibrositis	3	47	28	1	2	—	3	
L. E. S.	4	42	18	4	—	—	4	
Dermatomiositis . .	2	31	14	1	1	—	2	
Artritis séptica . . .	3	16	15	3	—	—	3	
Artropatías varias .	7	60	35	3	4	—	6	Artrít. Vert. Hipert. Artrosis Espondiloartro. Espondilolist. Espondilosis lumbar.
Total	64	—	—	40	24	4	60	
				62.50%	37.50%	6.25%	93.75%	

Ropes³⁰ reporta en la A. R. aumentos en la Alfa-1, Alfa-2 Gamma Globulina y Fibrinógeno, y descenso de las albúminas.

En nuestro estudio (tabla número V) las cifras electroforéticas no mostraron cambios constantes en las Globulinas Alfa 1 y 2 y sí en la Gamma Globulina y en las albúminas. Como hecho significativo observamos que el descenso de las albúminas y el ascenso de la Gamma Globulina se va acentuando a medida que el título de hemaglutinación se eleva. Otros autores¹¹ no hallan ninguna relación directa entre el aumento de los títulos de hemaglutinación y la concentración sérica de Gamma Globulina.

Comparando la reacción de hemaglutinación con otros tipos de reacciones serológicas utilizadas para el diagnóstico de la A. R. puede decirse:

a) Que la fijación del látex y floculación de la bentonita son sencillas y de gran sensibilidad a expensas de un aumento de reacciones positivas en enfermedades no reumáticas¹⁷. El látex, según Schubart³², Dressner⁷ y Hammack¹⁵ da bajo porcentaje de positividad en la A. R., y elevado en entidades con macro-globulinemia tales como enfermedades del tejido conectivo ("F. R." causante), enfermedades hepáticas (Gamma Globulina anormal responsable), virosis (Gamma Globulina Anticuerpo), sífilis seropositiva (Reaginas responsables) y en las macroglobulinemias primarias (Beta y Gamma Globulinas anormales responsables). El látex es positivo en 66.7% con suero inactivo y en 52% con suero inactivado en pacientes afectados de A. R.³². Dressner⁷ lo encuentra positivo en el 5% de los sujetos normales, en 8.3% de la gota, en el 25% de las enfermedades hepáticas, en el 50% de la Espondiloartritis Anquilopoyética y en el 87% del L. E. S. La reacción de floculación de la bentonita tiene pocos adeptos a pesar de

ser sencilla; su positividad en A. R. es del 85%, pero también tiene un elevado porcentaje de positividad en enfermedades no reumáticas.

b) La reacción de la inhibición de Ziff posee una alta sensibilidad pero su técnica es compleja y requiere de Euglobulina humana purificada, difícil de conseguir y de un costo elevado. Este autor encuentra un 90% de positividad en la A. R. (citado 29). Según Dressner⁷ su positividad en la A. R. es del 96%, del 4-8% para enfermedades no reumáticas (cardiovasculares, dermatológicas, gastro-intestinales, pulmonares, renales, hematológicas, neurológicas, neoplásicas y tuberculosis) y del 71% para las enfermedades hepáticas (71% para cirrosis biliar y 68% para cirrosis septal).

CONCLUSIONES

1ª Sobre 33 pacientes con Artritis Reumatoidea, la hemaglutinación fue positiva en el 90.91%.

2ª Sobre 64 pacientes con enfermedad articular distinta de la Artritis Reumatoidea, la hemaglutinación fue negativa en el 93.75%. Títulos en 1:4 y 1:8 los hallamos en el 9.99%.

3ª Sobre 294 pacientes con diferentes entidades médico-quirúrgicas, la hemaglutinación fue negativa en el 99.32%. Títulos de 1:4 los hallamos en el 0.14%.

4ª Sobre 194 sueros de sujetos normales, la reacción fue negativa en el 100%. Títulos de 1:4 los hallamos en el 9.27% y de 1:8 en 5.67%.

5ª El porcentaje de positividad que hallamos en los pacientes con Artritis Reumatoidea, con el método descrito, fue de 90.91%, más elevado que en el reportado por Wager en 1950, también con eritrocitos humanos grupo O Rh negativo.

REACCION DE HEMAGLUTINACION EN SUJETOS NO REUMATICOS

T A B L A I I I

Enfermedad	Número de casos	Sexo		Edad		Hemaglutinación		O b s e r v a c i o n e s
		Femenino	Masculino	Máxima	Mínima	Positiva	Negativa	
Cardiopatías	30	13	17	70	18	—	30	Hipertensivas. Cardioangioescleróticas. Reumáticas.
Nefropatías agudas .	6	6	—	38	20	—	6	Pielonefritis. Glomerulonefritis.
Nefropatías crónicas.	11	5	6	50	17	—	11	Glomerulonefritis. Pielonefritis. Hipernefrosis.
Neumopatías agudas.	8	3	5	51	30	—	8	Neumonía. Neumomitis. Absceso pulmonar. Empiema.
Neumopatías crónicas	19	15	4	65	10	—	19	Escleroenfis. Paquipleuritis. Asma bronquial. Bronquiectasia. Pleuresía.
Tuberculosis	40	18	22	75	14	1 *	39	Pulmonar. Renal. Meningea. Intestinal. Osea.
Úlcera péptica . . .	15	5	10	51	18	1 **	14	
Afecciones hepáticas y biliares	19	11	8	48	14	6.66%	93.44%	
Neoplasias malignas .	21	8	13	77	21	—	21	Absceso amebiano. Hepatitis viral. Colecistitis. Hepatitis tóxica. Enfermedad de Wilson. Cirrosis.
Enfermedades del sistema nervioso . .	16	9	7	68	12	—	16	Cáncer de estómago, esófago, colon, tiroides, seno, piel. Hepatoma. Tumor cerebral. Epilepsia. Esclerosis lat. amiotrófica. Esclerosis en placas. Guillain-Barré.
Leishmaniosis cutánea	10	5	5	50	13	—	10	
Otras afecciones dermatológicas	12	5	7	50	14	—	12	Psoriasis no artropática. Cromomicosis. Esporotricosis. Ectima. Tiña. Erisipela.
Osteomielitis	17	2	15	60	12	—	17	
Tirotoxicosis	8	8	—	70	32	—	8	
Diabetes Mellit. . . .	10	7	3	82	34	—	10	
Afecciones hematológicas	14	6	8	47	18	—	14	Leucem. linf. aguda y crónica. Leucem. miel. crónica. Linfosarcoma. Fiebre. Hemoglobin. Paludismo. Hipersplenismo.
Anemia carencial . .	29	9	20	70	12	—	29	
Otras afecciones . .	9	4	5	65	15	—	9	Anexitis aguda y crónica. E. de Addison. Peritonitis. Sarcoidosis. Tiroiditis. Endocard. Bacter. Subaguda.
Total	294	139	155	—	—	2	292	
		47.27%	52.73%			0.68%	99.32%	

* Título 1/64. Pacientes sin antecedentes ni lesión articular aparente.
 ** Título 1/128. Pacientes sin antecedentes ni lesión articular aparente.

REACCION DE HEMAGLUTINACION EN SUJETOS NORMALES

T A B L A I V

Número de casos	Edad	Sexo		Hemaglutinación		Observaciones
		Femenino	Masculino	Positiva	Negativa	
194	Entre 3ª y 6ª década	30	164	—	194	Estudiantes universitarios. — Personal asistencial del Hospital de San Juan de Dios. — Personal del Frenocomio de Sibate.

CORRELACION ENTRE TITULOS DE HEMAGLUTINACION Y VALORES ELECTROFORETICOS EN LA ARTRITIS REUMATOIDEA

T A B L A V

Número de casos	Título de hemaglutinación	Albúminas	Proteinograma por Electroforesis			
			Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gamma
1	1/16	39.78%	7.52%	10.75%	25.80%	16.12%
2	1/64	38.59%	7.01%	10.52%	22.28%	21.05%
3	1/128	41.00%	3.00%	7.60%	26.90%	21.50%
4	1/256	40.28%	8.96%	6.90%	21.30%	22.32%
5	1/256	38.70%	2.00%	6.10%	26.50%	26.50%
6	1/512	38.00%	7.60%	13.40%	13.40%	26.90%
7	1/1.024	27.90%	0.99%	16.90%	25.80%	27.90%
8	1/32.768	29.50%	6.70%	15.70%	21.30%	31.30%

6^º En pacientes con Artritis Reumatoidea el menor título hallado por nosotros fue de 1:16 en el 20% de los casos y el máximo de 1:32.768 en el 3.33% (un paciente).

7^º El macerado de los nódulos subcutáneos de los pacientes con Artritis Reumatoidea, contiene el "F. R.". Hemaglutinación practicada con este material fue marcadamente positiva.

8^º El suero a investigar debe ser utilizado recientemente obtenido. Reacciones fuertemente positivas descendieron su título o se negativizaron después de permanecer por varios días

el suero en el congelador. Creemos que tal fenómeno se deba a una degradación de los anticuerpos ("F. R.") influídos por mecanismos de fermentación, contaminación o precipitación.

9^º Los cambios electroforéticos fueron constantes en los valores de las albúminas y Gamma Globulinas e inconstantes en las Globulinas Alfa-1 y Alfa-2.

10^º Hemos hallado una relación directa entre el título de hemaglutinación y el descenso y ascenso de las albúminas y Gamma Globulinas, respectivamente.

RESUMEN

Se practicaron reacciones de hemaglutinación sobre 585 sueros humanos, los cuales incluyeron enfermos con Artritis Reumatoidea, enfermos con padecimiento articular diferente de A. R., enfermos con variadas afecciones médico-quirúrgicas y sujetos normales. Se utilizaron eritrocitos humanos grupo O Rh negativo sensibilizados con suero homólogo. Los resultados obtenidos muestran una elevada especificidad de la reacción en casos de A. R., la cual unida a su técnica sencilla la hace de suma utilidad en la práctica clínica.

SUMMARY

Hemagglutination reaction tests were made on 585 human serum obtained from patients with rheumatoid arthritis, patients with non-rheumatoid arthritis joint diseases; patients with various medico-surgical diseases and normal subjects. Human erythrocytes, Group O, Rh negative were sensitized with homologous serum. The results obtained gave a high specificity in the reaction of the cases with rheumatoid arthritis. Since the technique required for this test is simple, it is a very useful diagnostic aid in clinical practice.

BIBLIOGRAFIA

- 1 ABRAMS, A.; COHEN P., & MEYER, O. O.: The Physical Properties of a Cryoglobulin Obtained from Lymph Nodes and Serum of a Case of Lymphosarcoma. *J. Biol. Chem.*, 181: 237-245, 1949.
- 2 BALL, J.: Serum Factor in Rheumatoid Arthritis Agglutinating Sensitized Sheep Red Cells. *Lancet*, 259: 520-524, Nov., 11, 1950.
- 3 BLOCH, K. J., & BUNIM, J. J. Simple Rapid Diagnostic Test for Rheumatoid Arthritis-Bentonite Flocculation Test. *J. A. M. A.*, 169: 307-314, Jan. 24, 1959.
- 4 BARTON, E. M.: Proteínas Séricas Anormales en el Diagnóstico de Artritis Reumatoide y Lupus Eritematoso Generalizado. *Clín. Méd., Norte Amer.*, 610-613, marzo, 1959.
- 5 BARTFELD, H.: Incidence and Significance of Seropositive Tests for Rheumatoid Factor in Non-Rheumatoid Diseases. *Ann. Int. M.*, 52: 1059-1066, 1960.

- 6 DRESNER, E., TROMBLY, P., & O'BRIEN, G. F.: The Latex-Fixation in Non-Rheumatoid Diseases. *Clin. Res.*, 7: 49, 1959.
- 7 DRESNER, E., & TROMBLY, P.: The Latex-Fixation Reaction in Non-Rheumatic Diseases. *New Engl. J. Med.*, 261: 981-988, Nov. 12, 1959.
- 8 EPSTEIN, W.; JOHNSON, A., & RAGAN, C.: Observations on a Precipitin Reaction between Serum of Patients with Rheumatoid Arthritis and a Preparation (Cohn Fraction II) of Human Gamma Globulin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 91: 235-237, 1956.
- 9 FOZ, A.; BATALLA, E., & BARCELÓ, P.: "The agglutination of sensitized erythrocytes by the serum of Rheumatoid Arthritis patients". *Rev. Española de Reumat. y enf. osteoart.* Barcelona, 1951.
- 10 FRANCO, J. C.; EYQUEM, A.; PODLIACHOUK, L., & JACQUELINE, F.: Étude Immuno-Electrophoretique du Facteur Reumatöide. *Ann. Inst. Pasteur. Paris*, 98: 96-106, 1960.
- 11 FRANK, A., & SCHIMANSKI, J.: Vergleichende Untersuchungen über die Agglutination-reaktion sensibilisierter Hammelbluthor, perchen und die anti-streptolysin Reacktion. *Zschr. Rheumaforsch.*, 14: 1955.
- 12 GREENBURY, C. L.: A Comparison of the Rose-Waaler Latex-Fixation, Ra-Test and Bentonite Flocculation Test. *J. Clin. Path. Lond.*, 13: 325-330, 1960.
- 13 HELLER, G.; JACOBSON, A. S.; KOLODNY, M. H. & KAMMERER, W. H.: The Hemagglutination Test for Rheumatoid Arthritis. *J. Immunol.*, 72: 66-78, 1954.
- 14 HELLER, G.; JACOBSON, A. S.; KOLODNY, M. H., & SCHUMAN, R. L.: The Hemagglutination Test for Rheumatoid Arthritis. *J. Immunol.*, 69: 27-40, 1952.
- 15 HAMMACK, W. J., & HOLLEY, H. L.: Fifth Intern Scientific Sessions of Amer. Rheum. Ass., Dec. 6, 1959.
- 16 JEFFREY, M. R.: An Appraisal of the Latex Test for Rheumatoid Arthritis. *J. Laborat. Clin. M.*, 54: 525-534, 1959.
- 17 KUNKEL, H. G.: The Rheumatoid Factors. *Arch. Int. M.*, 104: 832-836, 1959.
- 18 KELLGREN, J. H., & LAWRENCE, J. S.: Rheumatoid Arthritis in a Population Sample. *Ann. Rheumat. Dis. Lond.*, 15: 1-11, 1956.
- 19 PUIG LEAL, J.; ALÉS REINLEIN, J. M., & FERNÁNDEZ DEL VALLADO, P.: Utilidad en el Diagnóstico de la Artritis Reumatoide de la Reacción de Aglutinación para los Hematíes Sensibilizados de Carnero. *Rev. Clin. Españ.*, 53: 28-30, 1954.
- 20 MEYER, K.: Ueber Hamagglutininvermehrung und hamagglutination fordende wirkung bei menschlichen Seren. *Zschr. Immunforsch.*, 34: 229, 1922.
- 21 MILLER, J. E.; LYNCH, E. R., & LANSBURY, J.: Failure of Sensitized Sheep Cell Agglutination to Clarify the Diagnosis of Rheumatic Disease. *J. Laborat. Clin. M.* 34: 1216-1221, 1949.
- 22 MATSUBARA, H.; MAYEDA, A.; TANABE S. & SHICHIKAWA, K.: Étude Immunologique de la Polyarthrite Chronique Evolutive sur la Production Expérimentale du Facteur Activateur d'Agglutination. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 97: 218-226, 1959.
- 23 PIKE, R. M.; SULKIN, S. E., & BURDETTE, R. I.: Serological Reactions in Rheumatoid Arthritis. *Texas, Rev. Biol. Med.*, 12: 138-144, 1954.
- 24 PODLIACHOUK, L.; FRANCO, J. C.; EYQUEM, A., & JACQUELINE, F.: Antigénicité des Facteurs Sérologiques de la Polyarthrite Chronique Évolutive. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 98: 90-95, 1960.
- 25 PIKE, R. M.; SULKIN, S. E.; COGGESHALL, H. C., & BURDETTE, R. I.: Serological Reactions in Rheumatoid Arthritis. *J. Laborat. Clin. M.*, 41: 880-886, 1953.
- 26 ROSE, H. M.; RAGAN, C.; PEARCE, E., & LIPMAN, M. O.: Differential Agglutination of Normal and Sensitized Sheep Erythrocytes by serum of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 68: 1, 1948.
- 27 Rheumatoid Factor and Inhibitor. Editorial. *Lancet*, 2: 1074-1075, Dec. 12, 1959.
- 28 ROBINSON, A. R.; STULBERG, C. S. & KUYPER, A. C.: Identification of the Substance Active in Sheep Cell Agglutination Test for Rheumatoid Arthritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85: 4-7, 1954.
- 29 RAGAN, C.: Serologic Reaction in Rheumatoid Arthritis. In *Progress in Arthritis*, 1958, p. 22-27.
- 30 ROPES, M. W.; PERLMANN, G. E.; KAUFMAN, D., & BAUER, W.: The Electrophoretic Distribution of Proteins in

- Plasma in Rheumatoid Arthritis. *J. Clin. Invest.*, 33: 311-318, 1954.
- 31 SINGER, J. M., & PLOTZ, C. M.: Latex-Fixation Test in Application to Serologic Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *Am. J. Med.*, 21: 888, 1956.
- 32 SCHUBART, A. F.; COHEN, A. S., & CALKINS, E.: Latex-Fixative Test in Rheumatoid Arthritis. *New Engl. J. Med.*, 261: 363-368, Aug. 20, 1959.
- 33 SVARTZ, N., & SCHLOSSMANN, K.: Experimental Investigations Into the Hemagglutination Test in Rheumatoid Arthritis. *Acta Med. Scand.*, 140: 152-155, 1951.
- 34 SVARTZ, N., & SCHLOSSMANN, K.: A Serum Cold Precipitable Hemagglutinating Factor in Rheumatoid Arthritis. *Acta Med. Scand.*, 149: 83-89, 1954.
- 35 SVARTZ, N., & SCHLOSSMANN, K.: On the Elimination of Heterophile Agglutinins and Inhibitors in Serum Simultaneously with the Precipitation of the Rheumatoid Factor. *Acta Med. Scand.*, 164: 529-531, 1959.
- 36 SCULL, C. W.; BACH, T. F., & PEMBERTON, R.: The Serum Proteins in Arthritis. *Ann. Int. Med.*, 12: 1463-1472, 1939.
- 37 WAGER, O.: On the Factor Producing Agglutination of Sensitized Red Cell and its Relation to the Agglutination of Hemolytic Streptococci in Rheumatoid Arthritis Serum. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, 28 (Supl. 8): 1950.
- 38 WINBLAND, S.: Studies on Agglutination of Sensitized Sheep Cells in Rheumatic Diseases. *Acta Med. Scand.*, 142: (Pt. I): 451-457; (Pt. II): 458-467, 1952.
- 39 WALENSTRON, J., & WINBLAND, S.: Some Observations on the Relationship of Certain Serological Reactions in Various Diseases with Hypergammaglobulinemia. *Acta Rheumat. Scand.*, 4: 3 1958.
- 40 ZIFF, M.: Agglutination Reaction as Diagnostic Aid in Rheumatoid Arthritis. *Bull. Rheumat.*, 7: (Supl. S-13): 1956.