



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

“COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA CONVENCIONAL DE WAALER-ROSE UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO Y LA TÉCNICA MODIFICADA UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS “O” HUMANOS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE”

“COMPARISON OF THE CONVENTIONAL WAALER-ROSE USING SHEEP RED BLOOD CELLS AND THE MODIFIED TECHNIQUE USING HUMAN “O” RED BLOOD CELLS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS”

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA  
EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

AUTORES:

LILIA ESTHER BEJARANO ALVAREZ

ROXANA SALOME TAPIA ORTIZ

MARGARITA LUCILA TORRES MOTTA

ASESOR:

DR. JOSE LUIS AGUILAR OLANO

LIMA - PERÚ

1997



## **JURADO**

Presidente: Dr. Cesar Salinas Cerquin  
Vocal: Dr. Jaime Cok Garcia  
Secretario: Dr. Luis Estremadoyro Stagnaro

Fecha de Sustentación: Junio 1997

Calificación: Aprobado

## **ASESOR**

Dr. Jose Luis Aguilar Olano

Jefe de Laboratorio de Inmunología. Departamento de Ciencias Celulares y  
Moleculares. Facultad de Ciencias. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Jefe de Servicio de Inmuno-Reumatología. Departamento de Medicina. Hospital

Peruana Cayetano Heredia

ORCID: 0000-0002-8876-7016

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Luis Aguilar Olano.

Nuestro agradecimiento por las orientaciones brindadas en la elaboración del presente trabajo.

A nuestros familiares quienes nos brindaron colaboración y cariño inculcándonos el amor al trabajo y al progreso.

Al Dr. Milton Villegas Meza.

Jefe del Servicio de  
Inmunoserología H.C.P.N.P.

Y a todo el personal que labora en el Servicio. Nuestro especial reconocimiento por habernos brindado las facilidades y cooperación para llevar a cabo el presente trabajo.

Al Dr. Jesús Díaz Franco

Por su gran calidad humana y profesional sin cuya ayuda no hubiese sido posible la realización de éste trabajo.

Al Servicio de Reumatología  
H.C.P.N.P. y personal que labora  
por su cooperación brindada.

A la Dra. Olga Palacios.

Por su gran colaboración en  
el presente trabajo

## **DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS**

Los autores declaran no tener conflictos de interés

## RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

COMPARACION DE LA TECNICA CONVENCIONAL DE WAALER-ROSE UTILIZANDO GLOBULOS ROJOS DE CARNERO Y LA TECNICA MODIFICADA UTILIZANDO GLOBULOS ROJOS "O" HUMANOS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>10%</b>	<b>10%</b>	<b>2%</b>	<b>1%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>myslide.es</b> Fuente de Internet	<b>3%</b>
<b>2</b>	<b>ri-ng.uaq.mx</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>3</b>	<b>worldwidescience.org</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>pesquisa.bvsalud.org</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>pt.scribd.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>6</b>	<b>revistabiomedica.org</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>7</b>	<b>dge1.insp.mx</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>8</b>	<b>id.scribd.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>



## SUMARIO

	Pág.
I. INTRODUCCION .....	1
II. MATERIAL Y METODOS .....	6
III.1. MATERIALES Y EQUIPOS .....	7
III.2. METODOS PARA LA INOCULACION AL CONEJO Y LA OBTENCION DEL TITULO DE LA HENOLISI- NA UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO.....	8
III.3. METODOS PARA LA INOCULACIÓN AL CONEJO Y LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LA HEMOLISI- NA USANDO GLÓBULOS ROJOS HUMANOS GRUPO “O” .....	10
III.4. PRUEBA DE WAALER-ROSE, METODO CON ERI- TROCITOS DE CARNERO .....	11
III.5. PRUEBA DE WAALER-ROSE, METODO CON ERI- TROCITOS HUMANOS GRUPO “O” .....	13
III. RESULTADOS .....	15
IV. DISCUSION .....	20
V. CONCLUSION Y RECOMENDACIONES .....	21
VI. BIBLIOGRAFIA .....	23

## RESUMEN

La artritis reumatoide es una enfermedad crónica que requiere de un diagnóstico eficaz para que el médico pueda diferenciarla de otras patologías. En ese sentido la prueba de Waaler-Rose brinda una gran especificidad para detectar el FACTOR REUMATOIDE, autoanticuerpo presente en el suero de personas afectadas por la artritis reumatoide seropositiva.

La técnica convencional de esta prueba utiliza glóbulos rojos de carnero sensibilizados con inmunoglobulinas de conejo, que en presencia del factor reumatoide se aglutinarán.

En el presente trabajo se plantea la utilización de glóbulos rojos humanos O “+” en lugar de los de carnero para mejorar la especificidad de la prueba asimismo abaratar costos y simplificar su obtención.

Se tomaron muestras de 50 pacientes con diagnóstico de ARTRITIS REUMATOIDE y prueba de Waaler-Rose positiva (método convencional) atendidos en forma ambulatoria en el consultorio de reumatología del H.C.P.N.P durante los meses de agosto hasta octubre de 1,996.

Además, se tomaron 50 muestras de personas aparentemente sanas, como control.

Se obtuvo como resultado en la prueba de Waaler-Rose convencional una sensibilidad de 96% y especificidad de 100% contra una sensibilidad y especificidad de 100% usando la técnica de Waaler-Rose modificada.

Cabe señalar que ambas técnicas se estandarizaron, de tal manera que la única diferencia entre ambas era el tipo de glóbulos rojos utilizados.

Se recomienda a los distintos laboratorios la estandarización de ésta técnica alternativa, ya que se representa una mejora en la sensibilidad sin pérdida de la especificidad y además mayor accesibilidad por tratarse de glóbulos rojos humanos.

**Palabras Claves:** Comparación, convencional, Waaler-Rose, modificado, artritis.

## ABSTRACT

Rheumatoid arthritis is a chronic disease that requires an effective diagnosis so that the doctor can differentiate it from other pathologies. In this sense, the Waaler-Rose test provides great specificity to detect RHEUMATOID FACTOR, an autoantibody present in the serum of people affected by seropositive rheumatoid arthritis.

The conventional technique of this test uses sheep red blood cells sensitized with rabbit immunoglobulins, which will agglutinate in the presence of rheumatoid factor.

In the present work, the use of human O “+” red blood cells instead of sheep is proposed to improve the specificity of the test in addition to reducing costs and simplifying its obtaining.

Samples were taken from 50 patients with a diagnosis of RHEUMATOID ARTHRITIS and a positive Waaler-Rose test (conventional method) treated on an outpatient basis in the rheumatology clinic of the H.C.P.N.P during the months of August to October 1996.

In addition, 50 samples from apparently healthy individuals were taken as controls.

The result was a sensitivity of 96% and a specificity of 100% in the conventional Waaler-Rose test compared to a sensitivity and specificity of 100% using the modified Waaler-Rose technique.

It should be noted that both techniques were standardized, so the only difference between them was the type of red blood cells used.

It is recommended that different laboratories standardize this alternative technique, since it represents an improvement in sensitivity without loss of specificity and also greater accessibility when dealing with human red blood cells.

**Keywords:** Comparison, conventional, Waaler-Rose, modified, arthritis.

## II. INTRODUCCION

El presente trabajo se realizó en el Servicio de Inmunoserología en el Departamento de Laboratorio del H.C.P.N.P. y se utilizó los sueros de 100 pacientes de los cuales 50 tenían diagnóstico confirmado de AR con Waaler-Rose (+) y 50 de personas saludables sin antecedentes patológicos.

Tiene como objetivo demostrar que la técnica alternativa de Waaler-Rose para el diagnóstico de Artritis Reumatoide usando glóbulos rojos humanos O+ es igual o mejor que la técnica convencional (la cual utiliza glóbulos rojos de carnero), tanto en sensibilidad como especificidad.

El motivo por el cual se realizó el trabajo es porque existen inconvenientes al utilizar glóbulos rojos de carnero, como es la misma obtención, procedimiento más largo, ya que se requiere la absorción de los sueros problema de anticuerpos heterófilos que pueden dar falsa aglutinación, inclusive si estos glóbulos no han sido sensibilizados, y contar con sangre de carnero fresca que no es de fácil obtención.

La utilización de glóbulos rojos humanos O+ tiene mayores beneficios como por ejemplo mayor accesibilidad en su obtención, no requiere contar con un bioterio o recurrir a uno para obtener glóbulos rojos de carnero, acortamiento del tiempo de duración de la prueba ya que no sería necesario hacer la absorción de los sueros y menores costos. Todas éstas ventajas se lograrían sin deterioro de la sensibilidad y especificidad de la prueba (1) (2) (3)

La prueba de Waaler-Rose se basa en el principio de que los glóbulos rojos de carnero son sensibilizados con inmunoglobulinas de conejo al cual se le inyecta previamente sangre de carnero por un tiempo determinado, los glóbulos rojos son recubiertos con cantidades subaglutinantes de anticuerpos IgG de conejo (hemolisina) y el factor reumatoide aglutina a estos eritrocitos sensibilizados.

En 1940 Waaler, fue el primero en observar que el suero de pacientes con A.R. contienen un factor que aglutinaba los eritrocitos de ovejas sensibilizadas con suero antieritrocito de oveja en conejos, llamado Amboceptor.

En 1948 Rose y Colb, señalaron la importancia de ésta prueba de hemoaglutinación en el diagnóstico de artritis reumatoide, desde entonces se ha empleado la reacción con el término de “Prueba de Waaler-Rose”.

En 1949 Pike y Colb. Denominaron por primera vez que la sustancia presente en el suero de los pacientes con artritis reumatoide con el nombre de “Factor reumatoide”.

En 1949 Heller y Colb. describió una modificación absorbiendo los anticuerpos heterófilos, con glóbulos rojos de carneros no sensibilizados, eliminando una serie de diluciones del suero del paciente, actualmente se aplica esta modificación en la prueba de Waaler-Rose.

En 1956 Waaler y Vangman realizan estudios utilizando eritrocitos humanos RH positivos.

En 1964 Milgram realiza otra contribución, logra estabilizar los glóbulos rojos de carnero tratado con formalina antes de la sensibilización, éste reactivo puede realizarse en la prueba de láminas o tubos (1) (2) (4).

En la actualidad se refiere a un grupo de anticuerpos que se acciona con gammaglobulina de diferentes orígenes.

Actualmente se conoce que la actividad del factor reumatoide presenta la IgG, IgM, IgA, IgE, siendo la IgM la que se detecta con la prueba del látex (4) (5).

Se conocen factores reumatoides que reaccionan con gammaglobulina humana, de conejo o con ambos.

La presencia de factores reumatoides constituye una ayuda significativa para el diagnóstico de la artritis reumatoide, el método más utilizado es el de aglutinación debido a su simplicidad y mayor sensibilidad.

La diversidad de métodos ha conducido a resultados ampliamente variables, lo que han originado preocupación en la Comisión de Expertos de Standarización Biológica de la OMS.

El factor reumatoide es un autoanticuerpo presente en el suero de la mayoría de los sujetos afectos de artritis reumatoide este factor es un anticuerpo dirigido contra determinantes antigénicos en el fragmento Fc de las moléculas de IgG, producidas por la activación policlonal del linfocito B y esta dirigido contra IgG nativas y modificadas en su estructura y la detección de este factor es realizable por pruebas de aglutinación de látex y sobretodo por las reacciones tipo Waaler-Rose; éste es una prueba en la cual los eritrocitos de carnero son recubiertos con



cantidades subaglutinantes de anticuerpos IgG de conejo (hemolisina), dirigidos contra los eritrocitos de carnero. El factor reumatoide aglutina a los eritrocitos de carnero sensibilizados por IgG de conejo (hemolisina) debido a una reacción cruzada de la IgG de conejo con la IgG humana (que hace el papel de antígeno en la prueba) (1)(4)(5)(6).

En la prueba de Látex, el factor reumatoide se define clásicamente con un anticuerpo IgM anti-Fc de la IgG humana, sin embargo, se utilizan partículas de bentonita ó látex en lugar de eritrocitos de carnero o humanos tipo “O” cubiertos con anticuerpos anti IgG humanos que deberán ser aglutinados por el factor reumatoide (4)(5)(7)

El factor reumatoide se cuantifica mediante diluciones seriadas en los sueros.

La hemolisina es un anticuerpo (lisina) causante de la destrucción globular (hemolisis) en presencia del complemento.

La artritis reumatoide es una enfermedad destructiva que afecta básicamente a las articulaciones de las extremidades sobretodo a la de los dedos. La artritis reumatoide se caracteriza por la obstrucción del cartílago articular y la inflamación de la membrana sinovial con un cuadro morfológico que sugiere una respuesta inmunitaria local. Es una enfermedad recurrente, crónica inflamatoria. Los sistemas Constitucionales incluyen: malestar, fiebre y pérdida de peso. La enfermedad comienza de manera característica en las pequeñas articulaciones de las manos y progresa en forma centripeta y simétrica. Las deformaciones son comunes, las manifestaciones extraarticulares incluyen vasculitis, atrofia de la piel y de las masas

musculares, nódulos subcutáneos, linfadenopatía, esplenomegalia y leucopenia.

(4)(5)(8)

El anticuerpo heterófilo es el anticuerpo IgM, aglutina los eritrocitos de carnero y puede ser absorbido por pre-incubación con eritrocito de ternera, pero no con riñón de cobayo.

La sensibilización es el proceso mediante el cual el anticuerpo se une al antígeno en la superficie del hematíe.

### III. MATERIALES Y METODOS

Se escogieron 50 pacientes a los cuales se les extrajo muestra sanguínea en ayunas con diagnóstico de artritis reumatoide de larga data, con pruebas serológicas como látex y Waaler-Rose (+), en el Servicio de Reumatología del HCPNP, durante el periodo agosto-octubre de 1996

Además, se escogieron 50 personas supuestamente sanas que acuden al Hospital Central a realizar donación sanguínea, a los cuales se les somete a una evaluación para descartar cualquier patología que pueda interferir en el resultado, las muestras de dichos pacientes nos servirán como controles.

Las muestras fueron centrifugadas inmediatamente y se trabajó con el suero.

Se escogieron dos conejos de 2500 gr. cada uno aproximadamente, de pelaje blanco en aparente buen estado de salud. A uno de ellos se le inoculó sangre de carnero fresca y al otro sangre humana O "++" fresca, de la siguiente manera:

En ambos casos las primeras 5 dosis fueron por vía intradérmica a nivel del lomo en días alternos y a la misma hora con dosis crecientes de la sangre (de 0,5 a 2,5ml.). Luego se les inoculó cada 72 horas, hasta conseguir completar cinco dosis, una dosis constante de 1,0ml. Por vía endovenosa de glóbulos rojos preparados al 20% en solución salina 0.85% con sulfato de magnesio al 0.001%

La vena escogida fue en la cara interna de la oreja del conejo dilatada previamente con xilol.

Al término de las inoculaciones se extrajo una muestra de sangre de ambos conejos de la vena auricular y se probó el título de anticuerpos, el cual debería ser como mínimo de 1/300. Al cumplirse este requisito se procedió a extraer un aproximado de 30-50 ml. de sangre por vía intracardiaca, cuidando que el animal no muera durante el procedimiento.

Luego de ello se separa el suero y se procede a encontrar el título de los anticuerpos anti-eritrocitos presentes en él (hemolisina).

Una vez calculado se lleva a un título de 1/100 para guardarlo finalmente con glicerina a volúmenes iguales por varios meses.

### III.1 MATERIALES Y EQUIPOS

#### MATERIALES

1. 2 conejos de 2.5 kg. De pelaje blanco en buen estado de nutrición.
2. Jeringas y agujas descartables.
3. Tuis estériles.
4. Gradillas
5. Pipetas de 1 ml., 5 ml., 10 ml.
6. Pipetas Pasteur
7. Algodón
8. Punteras
9. Parafilm
10. Tubos de ensayo de 12 x 75, 13 x 100, 15 x 150
11. Beackers
12. Probetas

13. Esparadrapo
14. Sangre humana del Grupo "O" extraídas con ACD o Citrato de Sodio al 10%
15. Sangre de carnero extraídas con ACD ó Citrato de Sodio al 10%
16. Suero fisiológico

#### EQUIPOS

1. Estufa 37°C y 56°C
2. Baño María
3. Refrigeradora
4. Centrífuga

#### III.2. MÉTODO PARA LA INOCULACION AL CONEJO Y LA OBTENCION DEL TITULO DE LA HEMOLISINA UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO

Se inyecta hematíes de carnero a un conejo hasta conseguir un título alto de anticuerpos.

Extraer 100ml de sangre de la yugular del carnero extraída en bolsa colectora con ACD o Citrato de Sodio 10%. Se inyecta al conejo con sangre total de carnero por vía intracutánea seguida de glóbulos rojos al 20% en solución salina 0.85% con sulfato de magnesio al 0.01% por vía endovenosa; se obtienen títulos más altos de suero hemolítico, se usan las dosificaciones representadas en la siguiente tabla.

ESQUEMA DE INOCULACION AL CONEJO  
UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO

DIA	DOSIS	VIA	MATERIAL INOCULADO
1	0.5	I.D.	Sangre total de carnero
3	1.0	I.D.	Sangre total de carnero
5	1.5	I.D.	Sangre total de carnero
7	2.0	I.D.	Sangre total de carnero
9	2.5	I.D.	Sangre total de carnero
12	1.0	E.V.	Glóbulos rojos de carnero al
15	1.0	E.V.	20% en solución Salina 0.85%
18	1.0	E.V.	con sulfato de Magnesio al 0.01%
21	1.0	E.V.	
23	1.0	E.V.	
25			Sangría de prueba

Extraer sangre del conejo por punción cardiaca y separar el suero.

Hacer diluciones del suero y ponerlas en contacto de hematíes de carnero lavados.

Observar la máxima dilución que produce aglutinación de los hematíes de carnero.

Tomar la máxima dilución y diluir la mitad.

Suspensión de glóbulo rojos de carnero al 2%: mezclar 2ml. de la papilla de glóbulos rojos con 98ml. de suero fisiológico al 0.85%

Glóbulos rojos de carnero sensibilizados con Ig de conejo: se realiza por mezcla de volúmenes iguales de la suspensión de glóbulos rojos de carnero al 2% con inmunosuero de conejo (Hemolisina).

## ESQUEMA PARA LA OBTENCION DEL TÍTULO DE LA HEMOSILINA

TUBO N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. Suero Fisiológico 0.85%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
2. Hemolisina	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →	0.1 →
3. G.R. de Carnero 2%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
4. Incubar 1 hora a 37°C, mezclar cada 10min. Leer anotando la dilución final del suero que dará clara aglutinación										
5. Título	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024

### III.3 METODO PARA LA INOCULACION DEL CONEJO Y LA OBTENCION DEL TITULO DE LA HEMOLISINA UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS HUMANOS

Eritrocitos humanos del Grupo “O”. Se extrae asépticamente por punción venosa, sangre humana del Grupo “O” (Rh- de preferencia), que se recoge mezclando 10 volúmenes de sangre humana con un volumen de citrato sódico al 10%.

La sangre extraída puede ser utilizado durante tres días a condición de estar conservada a 4°C.

Se inyecta al conejo con sangre total de glóbulos rojos humanos las dosificaciones representadas en el siguiente esquema:

## ESQUEMA DE INOCULACION AL CONEJO UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS HUMANOS GRUPO “O”

DIA	DOSIS	VIA	MATERIAL INOCULADO
<b>1</b>	0.5	I.D	Sangre total humana grupo “O”
<b>3</b>	1.0	I.D	Sangre total humana grupo “O”
<b>5</b>	1.5	I.D	Sangre total humana grupo “O”
<b>7</b>	2.0	I.D	Sangre total humana grupo “O”
<b>9</b>	2.5	I.D	Sangre total humana grupo “O”
<b>12</b>	1.0	E.V.	Glóbulos Rojos “O” al 20% en
<b>15</b>	1.0	E.V.	solución salina 0.85% con sulfato
<b>18</b>	1.0	E.V.	de magnesio al 0.01%
<b>21</b>	1.0	E.V.	
<b>23</b>	1.0	E.V.	
<b>25</b>			Sangría de Prueba

Después se procede a sangrar al conejo por punción cardiaca, la sangre recogida es coagulada a 37°C, se recoge el suero después de retracción del coágulo, se centrifuga y se divide en pequeñas (alícuotas) partes de 0.5 ml. que pueden conservarse a 20°C hasta su utilización.

**Hematíes sensibilizados.**- Se mezcla volúmenes iguales de suspensión al 2% de hematíes humanos lavados (3 veces con suero fisiológico) y del inmunosuero del conejo diluidos en suero fisiológico. La mezcla se incuba a 37° durante 1 hora, agitando cada 10min. (ver esquema de obtención de título de la hemolisina).

### III.4. PRUEBA DE WAALE-ROSE, METODO CON ERITROCITOS DE CARNERO

#### PROCEDIMIENTO:

1. Inactivar los sueros a 56° por 30 minutos, para eliminar las proteínas del complemento.



2. Absorber los sueros con hematíes de carnero, lo cual se usa 1ml. de suero activado con 0.2ml. de papilla de hematíes de carnero. Se guarda por 2 horas a temperaturas de 2-8°C, se centrifuga y se usa el sobrenadante.
3. Se realiza las diluciones de acuerdo con el esquema siguiente:

ESQUEMA DE LA PRUEBA DE WAALE – ROSE  
UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO

TUBO N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Tubo testigo
1. Suero fisiológico 0.85%	1.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2. Suero del paciente	0.25									
3. Traspasar de tubo en tubo. Inicialmente botar 0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	--
4. Glóbulos rojos de carnero al 2% sensibilizados con hemolisina	→	→	→	→	→	→	→	→	→	
5. Título	1/7	1/14	1/28	1/56	1/112	1/224	1/448	1/896	1/1792	control

4. Poner en baño María a 37°C por dos horas.
5. Refrigerar por 24 horas.
6. Realizar la lectura de la aglutinación en el fondo de los tubos, mediante una agitación suave y contra la luz.

LECTURA:

La dilución más fuerte en que queda una aglutinación visible permite establecer el título del factor reumatoideo.

#### VALORES NORMALES:

Se considera la reacción como positiva cuando el título aglutinante del suero es superior a la dilución de 1/28.

#### CONTROL DE CALIDAD

Se debe considerar el tubo testigo que contiene suero fisiológico 0.85% y hematíes de carnero sensibilizados, el cual no debe presentar aglutinación alguna, comprobándose de esta manera la ausencia de aglutinación espontánea de los hematíes y el carácter correcto de su sensibilización.

#### II.5 PRUEBA DE WAALER-ROSE. METODO CON ERITROCITOS HUMANOS GRUPO "O"

##### PROCEDIMIENTO:

1. Se toma el suero problema y se procede, del mismo modo, que en el método anterior. No obstante, la inactivación por calentamiento a 56°C no es necesario.
2. Se realizan las diluciones de acuerdo con el esquema anterior.
3. Poner en Baño María a 37°C por dos horas.
4. Refrigerar durante 24 horas.
5. Realizar la lectura de la aglutinación al fondo de los tubos.

##### LECTURA:

La dilución más fuerte que da una aglutinación visible permite establecer el título de factor reumatoideo.

VALORES NORMALES:

Se considera la reacción como positiva cuando el título aglutinante del suero es superior a la dilución 1/28.

CONTROL DE CALIDAD:

Se deben tomar en cuenta las consideraciones propuestas en el método anterior.

## IV. RESULTADOS

Para determinar la sensibilidad (s), especificidad (e), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) se utilizó una tabla de doble entrada.

Sensibilidad (S): Probabilidad de obtener un resultado positivo en personas con la condición presente.

$$S = a/a+c$$

Especificidad (E): Probabilidad de obtener un resultado negativo en personas sin la condición presente.

$$E = d/b+d$$

Valor predictivo positivo: Probabilidad de tener la condición presente si es positivo.

$$VPP = a/a+b$$

Valor predictivo negativo: Probabilidad de no tener la condición presente si es negativo.

$$VPN = d/c+d$$

**TABLA I**  
**SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y VALOR PREDICTIVO**

PRUEBA CONVENCIONAL  
 DE WALLER-ROSE USANDO  
 GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO

		+	-		
PRUEBA MODIFICADA DE WALLER-ROSE USANDO GLÓBULOS ROJOS "O"+	+	a	b	a+b	
	-	c	d	c+d	
		a+c	b+d		

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALOR PREDICTIVO POSITIVO Y  
 VALOR PREDICTIVO NEGATIVO EN LA PRUEBA CONVENCIONAL  
 DE WALLER-ROSE UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO

		PACIENTES CON A.R. W.R. (+)	PACIENTES NORMALES
		+	-
TEST DE W.R.	+	48	-
	-	2	50
TOTAL		50	50

SENSIBILIDAD: 96%  
 ESPECIFICIDAD: 100%  
 VALOR PREDICTIVO POSITIVO: 100%  
 VALOR PREDICTIVO NEGATIVO: 96%

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALOR PREDICTIVO POSITIVO Y  
 VALOR PREDICTIVO NEGATIVO EN LA PRUEBA MODIFICADA DE  
 WAALER-ROSE UTILIZANDO GLÓBULOS ROJOS HUMANO "O"+

		PACIENTES CON A.R. W.R. (+)	PACIENTES NORMALES
		+	-
TEST DE W.R.	+	50	-
	-	-	50
TOTAL		50	50

SENSIBILIDAD: 100%  
 ESPECIFICIDAD: 100%  
 VALOR PREDICTIVO POSITIVO: 100%  
 VALOR PREDICTIVO NEGATIVO: 100%

**TABLA Nro. 1**  
**PRUEBAS DE WAALER-ROSE REALIZADOS USANDO LA**  
**TÉCNICA CONVENCIONAL CON GLÓBULOS ROJOS**  
**DE CARNERO : HCPNP – 1997**

PACIENTES	PRUEBAS POSITIVAS		PRUEBAS NEGATIVAS		TOTAL	
	NRO.	%	NRO.	%	NRO.	%
<b>PACIENTE CON DIAGNOSTICO DE A.R.</b>	48	96	2	4	<b>50</b>	<b>100</b>
<b>PACIENTES NORMALES</b>	0	0	50	100	50	<b>100</b>

|

**TABLA Nro. 2**  
**PRUEBA DE WAALER-ROSE REALIZADAS USANDO LA TÉCNICA**  
**MODIFICADA CON GLÓBULOS ROJOS HUMANOS “O”+ : HCPNP –**  
**1997**

PACIENTES	PRUEBAS POSITIVAS		PRUEBAS NEGATIVAS		TOTAL	
	NRO.	%	NRO.	%	NRO.	%
<b>PACIENTE CON DIAGNOSTICO DE A.R.</b>	50	100	0	0	50	<b>100</b>
<b>PACIENTES NORMALES</b>	0	0	50	100	50	<b>100</b>

**TABLA Nro. 3**

**PRUEBAS DE WAALER-ROSE: DISTRIBUCION SEGÚN SEXO EN LOS  
PACIENTES SELECCIONADOS PARA LA REALIZACION DE LAS  
PRUEBAS: HCPNP – 1997**

SEXO	PACIENTE CON DX DE A.R.		PACIENTES NORMALES		TOTAL	
	NRO.	%	NRO.	%	NRO.	%
	MASCULINO	9	18	46	92	55
FEMENINO	41	82	4	8	45	45
<b>TOTAL</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

**TABLA Nro. 4**

**RESULTADOS DE LOS TITULOS OBTENIDOS AL PROCESAR LAS  
MUESTRAS DE LOS PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE ARTRITIS  
REUMATOIDEA: HCPNP – 1997**

TITULO OBTENIDO	METODO MODIFICADO CON G.R. "O" +		MET. CONVENCIONAL CON G.R. CARNERO		TOTAL	
	NRO	%	NRO	%	NRO	%
	<1/56	0	0	2	4	2
1/56	0	0	2	4	2	2
1/112	6	12	8	16	14	14
1/224	19	38	17	34	36	36
1/448	11	22	12	24	23	23
1/896	10	20	6	12	16	16
1/1792	4	8	3	6	7	7
<b>TOTAL</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>



## V. DISCUSION

La Artritis Reumatoide es una enfermedad que debe ser diagnosticada con precisión y rapidez para no comprometer la vida o salud integral del paciente, la ayuda eficaz del laboratorio es muy importante, así como el método modificado de Waaler-Rose que permite trabajar con rapidez y seguridad.

La diferencia encontrada entre los dos métodos utilizados no es significativamente estadística y por lo tanto se puede inferir que ambos métodos darán resultados parecidos, pudiéndose optar por realizar la técnica modificada de Waaler-Rose por ser de mayor accesibilidad y rapidez.

En el Servicio de Inmunoserología del H.C.P.N.P., se viene desarrollando la técnica modificada de Waaler-Rose desde el año 1986 con bastante éxito, pero hacía falta un estudio comparativo que nos permitiese conocer realmente cuál de las dos técnicas tenía mejor sensibilidad y/o especificidad para el diagnóstico de artritis reumatoide.

Sin embargo, la técnica presenta algunas dificultades como es principalmente la inoculación experimental del conejo y la extracción de hemolisina requieren de cierta destreza técnica y condiciones apropiadas, como por ejemplo un bioterio. Todo ello sumado a la necesidad en la precisión con las dosis y una sangría adecuada del conejo, hacen que ésta prueba tenga sus dificultades para ser implementada por cualquier laboratorio.

Pero creemos que mediante este trabajo hemos dejado sentadas pautas para que en un futuro próximo se implemente dicha técnica.

## VI. CONCLUSION Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES:

1. La prueba de Waaler-Rose modificada utilizando glóbulos rojos “O”+ humano, permite simplificar el procedimiento eliminando los inconvenientes derivados de la presencia en el suero de los anticuerpos heterófilos, ya que estos son incapaces de reaccionar con hematíes humanos.
2. La prueba de Waaler-Rose modificada es una alternativa a la técnica convencional.
3. El uso de esta prueba permite realizar éste análisis en centros hospitalarios como el nuestro que carece de bioterio.
4. Acortar el tiempo de duración de la prueba ya que no requiere la absorción de los anticuerpos heterófilos.
5. Mayor disponibilidad de los hematíes “O”+ que se consigue de los usuarios, no requiriendo de los glóbulos rojos de carnero.
6. Buena sensibilidad y especificidad de la prueba de Waaler-Rose utilizando glóbulos rojos humanos “O”+ comparándolo con la prueba patrón.

### RECOMENDACIONES:

1. Que exista una implementación de esta técnica a nivel de laboratorio de la red de salud para minimizar costos, agilizar resultados y brindar un mejor servicio al paciente.
2. Standarizar la técnica de obtención de hemolisina en conejos.

3. Contar con un control de calidad permanente mediante la mantención de una Seroteca que cuenta con sueros positivos y negativos para el factor reumatoideo.
4. Tener en cuenta las siguientes recomendaciones técnicas al momento de realizar la prueba.

El material debe estar libre de detergente que inhibe la aglutinación. Tubos de ensayo nuevos o completamente limpios.

No usar plasma ni sueros lipémicos.

Debe mantenerse los sueros a menos de 20°C, aunque puede conservarse de 4 a 6°C por período de 2 a 5 días.

La temperatura de sensibilización de glóbulos rojos debe ser exacta (37°C)

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Rose NR, Friedman H. Pruebas para la detección de factores reumatoideos. En: El Laboratorio en Inmunología Clínica. Sociedad Norteamericana de Microbiología. Panamericana. Buenos Aires 1990, 962-967.
2. Todd, Sanford, Davidshn. Auto anticuerpos. En: Diagnóstico y tratamiento clínico por el Laboratorio. Navascues IB, Gines PG, Navasa M. Salvat. España 1988, II 1135-1146.
3. Fudenberg HH, Stities DP, Wells JV. Enfermedades Reumáticas. En: Inmunología Clínica. Soto AR, Martínez Scc, El Manual Moderno, S.A. México 1985, 414, 472-506.
4. Wallach JMD, Musculoskeletal Diseases. En: Interpretation of Diagnostic Test. Little Brown and Company. EEUU 1988, 143, 320-327.
5. Randox Laboratories. Factor Reumatoideo. En: Manual de Inmunología y Endocrinología. Mam Representaciones. Perú 1995, s/n.
6. Lawlor GJ, Fisher TJ. Enfermedades Reumáticas. En: Manual de Alergia e Inmunología. Serie Manuales Espirales: Perú 1988, 300-334.
7. Carazas I, Ramos A, Benites J, Rodríguez F. Utilización de hematíes humanos "O" en la prueba de Waaler-Rose. Rev SFPP 1985; 2:131-134.
8. Brostoff J, Scadding G, Male D, Roitt I. Artritis Reumatoide y otras enfermedades articulares. En: Inmunología Clínica. Campbell M, Duffy C, Tasker M, Bishop S, Foley F. Mosby Doyma libros. España 1994, 5.1-5.15, 30.2-30.9

9. Thompson R. Laboratory Investigations of Immunological disorders. En: Clinical Immunology and allergy. WB Saunders. Philadelphia 1985, 200-230.
10. Josef H, Junior G, Silva N, Atta E. Conceptos prácticos en Investigación Clínica: Evaluación de una Prueba de diagnóstico. Rev Mex Reumatológica 1993; 8: 216-9.
11. Berthelot JM, Maugars Y, Audrain M, Yovinau P, Prost A. Specificity of antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis in rheumatoid factor positive sera. Br J Rheumatol 1995; 8:716-20.
12. Adebajo A, Calusto T, Hazleman B. Specificity of IgM Antiglobulins produced in rheumatoid arthritis and tropical infections. Clin Rheumatol. 1995; 14:37-40.
13. Wicks I, McColl G, Harrison L. New Perspectives on rheumatoid arthritis. Immunol Today 1994; 15: 553-6.
14. Basanta P, Ruiz A. Técnica de Waaler-Rose con eritrocitos formalizados para la determinación del factor reumatoide. Rev Cuba Invest Biomed 1990; 9: 131-137.
15. Martinez ME, Galicia J, Martínez CE. Detección del Factor reumatoideo por nefelometría en pacientes de un centro hospitalario en México. Acta Bioquim Clin Latinoamérica 1993; 27: 325-32.
16. Padrón R, Montada J, Echarri R, Batule M. Inmunoglobulinas séricas en la artritis reumatoidea. Rev Cuba Med 1989;28: 504-8.

17. Klein TE, Conaway DC. Artritis Reumatoide. En: Enfermedades reumatológicas e inmunología clínica. Myer AR, Harwal Publishing USA 1989; 110-136.
18. Vidal NL, Chávez CJ, Quevedo SH, Castañeda PL. Artritis Reumatoide. En: Bases y principios en Reumatología. Boehringer Ingelheim. Lima – Perú 1993, 45-60.