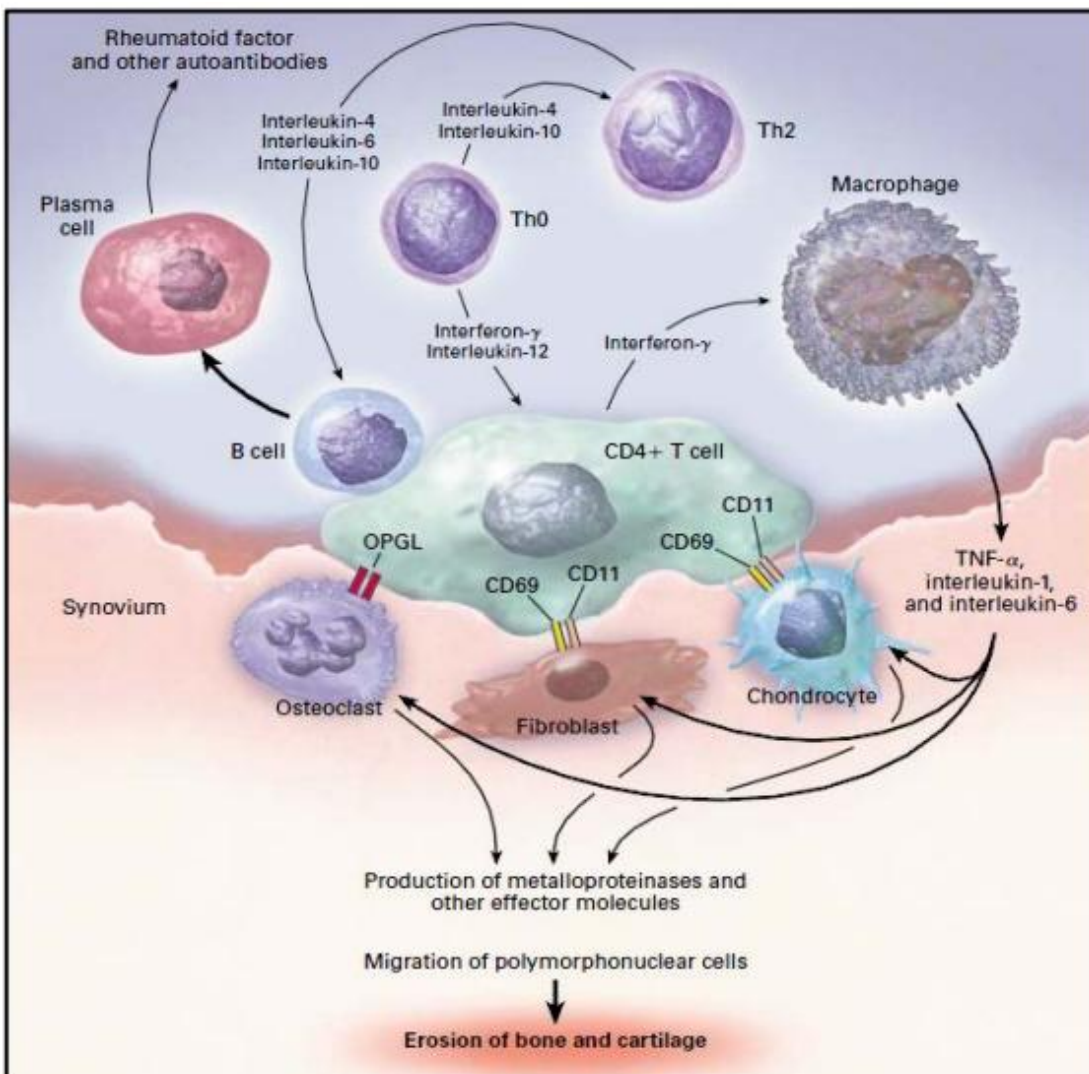


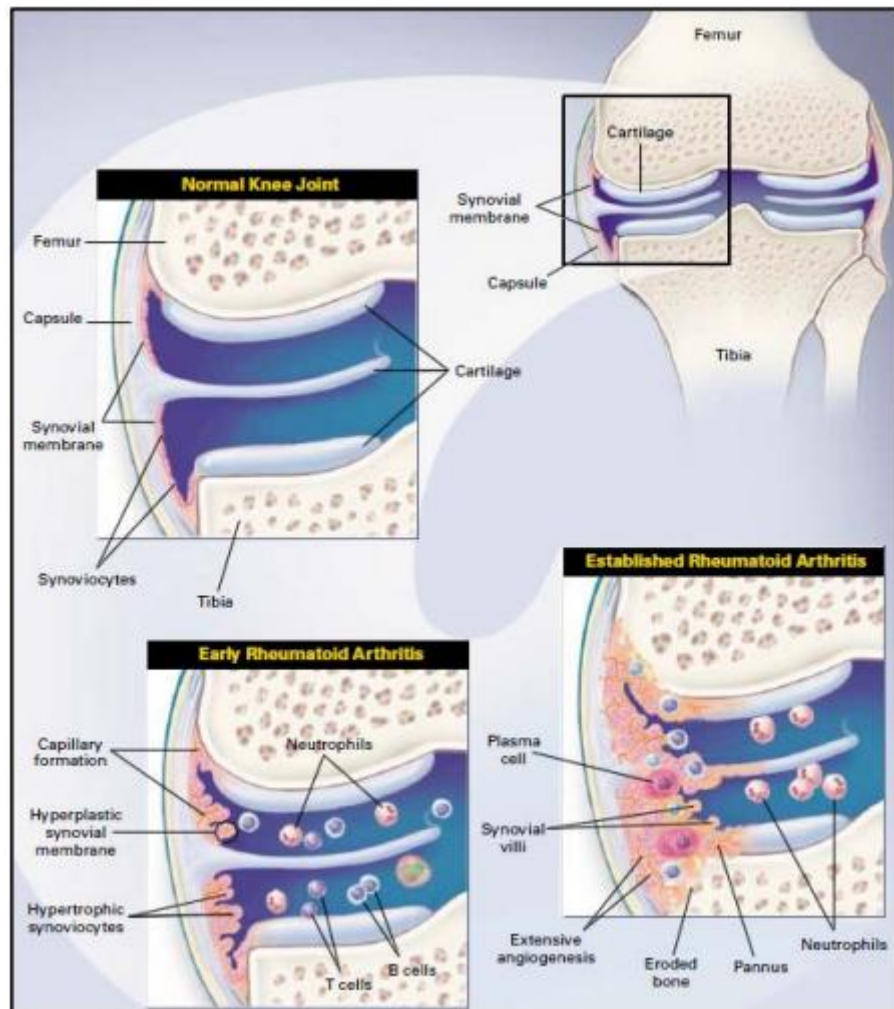
# ANEXOS

(ANEXO 1) VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DE CITOQUINAS IMPLICADAS EN LA AR. SE MUESTRAN LOS PRINCIPALES TIPOS DE CÉLULAS Y VÍAS DE



SEÑALIZACIÓN QUE ESTÁN IMPLICADAS EN LA DESTRUCCIÓN ARTICULAR MEDIDA POR TNF-A Y IL-1 EN AR. IMAGEN TOMADA DE CHOY Y COLS.

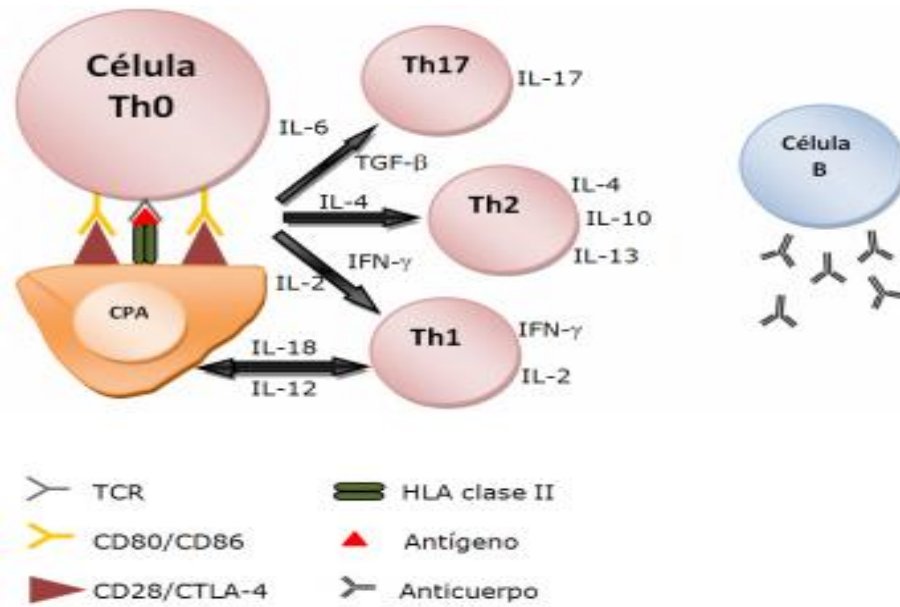
(ANEXO 2) PATOGÉNESIS DE LA AR. SE MUESTRAN LOS CAMBIOS QUE TIENEN LUGAR EN UNA ARTICULACIÓN DE UN PACIENTE CON AR. IMAGEN TOMADA DE CHOY Y COLS.



## (ANEXO 3) CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN

La población diana corresponde a pacientes que presentan al menos una articulación con sinovitis, que no puede ser explicada por otra enfermedad.	
Criterios para la clasificación de la AR (basado en un algoritmo de puntuación que se obtiene de la suma de las categorías A-D; una puntuación $\geq 6/10$ es necesaria para confirmar la AR).	
<b>A. Articulaciones afectadas</b>	
1 articulación grande	0
2-10 articulaciones grandes <sup>1</sup>	1
1-3 articulaciones pequeñas <sup>2</sup> (con o sin afectación de articulaciones grandes)	2
4-10 articulaciones pequeñas (con o sin afectación de articulaciones grandes)	3
>10 articulaciones (al menos 1 articulación pequeña <sup>3</sup> )	5
<b>B. Serología</b> (es necesario al menos 1 resultado para esta clasificación)	
Factor reumatoide negativo y ACPA negativo	0
Factor reumatoide positivo o ACPA positivo	2
Factor reumatoide positivo fuerte o ACPA positivo fuerte <sup>4</sup>	3
<b>C. Reactantes de fase aguda</b> (es necesario al menos 1 resultado para esta clasificación)	
Proteína C reactiva normal y velocidad de sedimentación globular normal	0
Proteína C reactiva anormal y velocidad de sedimentación globular anormal <sup>5</sup>	1
<b>D. Duración de los síntomas</b>	
< 6 semanas	0
$\geq 6$ semanas	1
Los pacientes con una puntuación $< 6/10$ , que no han podido confirmar su AR, deben de ser reevaluados en el tiempo, ya que podrían cumplir los criterios en el futuro.	

## (ANEXO 4) MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE (activación de los LB y LT en AR)



(ANEXO 5) CLÍNICA “SAN ROQUE”



(ANEXO 6) PROSPECTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR REUMATOIDE.





# Artritest

*directo*

Prueba en placa para el diagnóstico de artritis reumatoidea

## SIGNIFICACION CLINICA

La artritis reumatoidea es un síndrome crónico de etiología desconocida, caracterizado por una inflamación inespecífica y generalmente simétrica de las articulaciones, que a veces evoluciona hacia la destrucción de las estructuras articulares y periarticulares.

En la articulación enferma se observa un engrosamiento de la membrana sinovial con formación de pliegues y proliferación de linfocitos. Estas células, que forman folículos linfoides, son las responsables de la síntesis de factores reumatoideos (FR) y otras inmunoglobulinas.

Los FR son generalmente de tipo IgM anti-IgG, es decir que reaccionan con las fracciones Fc de las IgG. También se han encontrado FR de tipo IgG, aunque en mucho menor proporción de casos.

Los FR de tipo IgM están presentes en el 85-90% de los adultos con artritis reumatoidea aunque no es específico de la enfermedad puesto que también se han encontrado en individuos sanos (en un 3 a 5% de los casos).

Por tal motivo, cuando se sospecha la existencia de una enfermedad distinta de la artritis reumatoidea, frente a una reacción de aglutinación positiva es aconsejable realizar la precipitación de las globulinas con sulfato de amonio. De tal forma, se asegura la precipitación completa de los FR y se mantiene en solución cualquier aglutinina responsable de una falsa reacción positiva, como así también algún posible inhibidor.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

El factor reumatoideo de tipo IgM se detecta en presencia de gamma-inmunoglobulina o fracción II de Cohn (que en este caso es el antígeno) adsorbida sobre un soporte inerte de látex-poliestireno. Este antígeno se une a los FR (anti-IgG) produciendo una aglutinación de las partículas de látex-poliestireno, visible macroscópicamente.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** suspensión de partículas de látex poliestireno de 0,20 micrones de diámetro, que tienen adsorbidas moléculas termoagregadas de gamma-inmunoglobulina o fracción II de Cohn.

**Control Positivo:** dilución de suero humano positivo. Equivale a 2(+).

**Control Negativo:** dilución de suero humano negativo.

## REACTIVO NO PROVISTO

- Reactivo Precipitante (para el ensayo de la fracción globulinica): sulfato de amonio 211,5 g/l en ClNa 5,15 g/l.
- Solución fisiológica.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** agitar bien antes de usar, vaciando previamente la pipeta del gotero.

**Controles (Positivo y Negativo):** listos para usar.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Los controles han sido ensayados para HIV, HCV y HBV encontrándose inactivos. No obstante, deben ser empleados como si se tratara de material infeccioso.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La autoaglutinación del Reactivo A es indicio de deterioro del mismo, en tal caso desechar.

## MUESTRA

Suero

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual. No deben usarse muestras inactivadas por calor.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis y ciertas proteínas (distintas del factor reumatoideo) pueden ser causa de resultados erróneos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento puede conservarse en el refrigerador (2-10°C) durante no más de una semana contada desde su recolección.

## MATERIAL REQUERIDO

### 1- Provisto

- placas de plástico o vidrio fondo negro.

### 2- No provisto

- Paillo o varilla de vidrio.
- Cronómetro.
- Material volumétrico adecuado.
- Fuente de luz.

## PROCEDIMIENTO

Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente antes de usar.

### I- TÉCNICA CUALITATIVA

En uno de los sectores delimitados de la placa adjunta al equipo, colocar:

Muestra	1 gota (50 ul)
Reactivo A	1 gota (50 ul)

Mezclar con palillo o varilla de vidrio hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie delimitada de la placa. Inmediatamente, disparar un cronómetro, balancear suavemente la placa y observar macroscópicamente el resultado dentro de los dos minutos bajo un haz luminoso.

### II- TÉCNICA SEMICUANTITATIVA

Los sueros positivos pueden titularse efectuando diluciones seriadas, en 6 tubos de Kahn.

1) Colocar 0,4 ml de solución fisiológica al primer tubo y 0,2 ml de solución fisiológica a los 5 restantes.

2) Agregar 0,1 ml (100 ul) de suero al tubo N° 1 y mezclar. Transferir 0,2 ml de esta dilución al tubo N° 2 y mezclar, continuando de esta forma las diluciones hasta el último tubo.

Las diluciones así obtenidas equivalen a 1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160.

3) Ensayar cada dilución según la Técnica Cualitativa.

### III- ENSAYO DE LA FRACCIÓN GLOBULÍNICA

En un tubo de centrifuga colocar:

Muestra (suero sin diluir)	1 ml
Gota a gota y agitando suavemente, agregar:	
Reactivo Precipitante	3,3 ml

Mezclar por inversión, dejar al menos 30 minutos (preferiblemente en heladera) y centrifugar. Volcar el sobrenadante, dejando el tubo invertido sobre papel de filtro hasta escumamiento completo y luego agregar:

Solución fisiológica	1 ml
----------------------	------

Disolver el precipitado. Esta solución de globulina tiene el volumen original del suero y para su ensayo debe procesarse al igual que la Muestra según la Técnica Cualitativa.

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

### Técnica cualitativa

**Negativo:** suspensión homogénea.

**Positivo:** aglutinación que aparece dentro de los dos minutos. Se califica de 1 a 4 (+), siendo:

4+: aglutinación franca

3+: moderada aglutinación

2+: ligera aglutinación

1+: aglutinación débil

### Técnica semicuantitativa (titulación)

**Título:** Inversa de la máxima dilución a la que se produce aglutinación visible macroscópicamente.

La concentración aproximada de factor reumatoideo en la muestra puede ser calculada por la fórmula siguiente:

$$FR \text{ (UI/ml)} = \text{Título} \times \text{Sensibilidad de la reacción (1 UI/ml)}$$

Ejemplo: la muestra presenta un título de 1:40. Su concentración en FR es de  $40 \times 1 = 40$  UI/ml.

### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar simultáneamente el Control Negativo y el Control Positivo provistos, empleando una gota del Control correspondiente en lugar de la Muestra.

### VALORES DE REFERENCIA

No están claramente establecidos. Se consideran patológicos valores superiores a 20-30 UI/ml.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

### PERFORMANCE

**a) Sensibilidad analítica:** calibrado frente al Standard del CDC, se encuentra una sensibilidad de 1 UI/ml.

En un estudio realizado sobre 176 muestras provenientes de una población hospitalaria se compararon los resultados con un método turbidimétrico cuantitativo, obteniéndose una sensibilidad del 100%.

En otro estudio realizado sobre una población de 33 muestras de pacientes con historia clínica de artritis reumatoidea, se obtuvieron 29 muestras reactivas. Se concluye que el 88% de los pacientes con artritis reumatoidea son FR positivos.

**b) Especificidad:** en un estudio realizado sobre 75 muestras provenientes de 50 hombres y 26 mujeres con edades entre 18 y 47 años, sin síntomas aparentes de enfermedad reumática, se encontraron 72 muestras no reactivas. Por lo tanto, se concluye que el 4% de esta población sana es FR positiva, siendo la especificidad del 96%.

### PRESENTACION

Equipo para 50 determinaciones (Cód. 1103152).

### BIBLIOGRAFIA

- Singer, J.M. and Plotz, C.M. - Am. J. Clin. Path. 28/611 (1957).
- Singer, J. M. et al. - Am. J. Clin. Path. 72/4:597 (1979).
- Brooks, G. W. and Cobb, S. - Arthritis and Rheumatism 6/3:198 (1963).
- Plotz, C.M. and Singer, J.M. - Annual Meeting of the American Rheumatism Association, Chicago (1956).
- Oreskes, I.; Singer, J.M. and Plotz, C.M. - J. Immunology 90:107 (1963).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

# (ANEXO 7) PROSPECTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA C REACTIVA.



## PCR-látex *directo*

Prueba de aglutinación en placa para la determinación de Proteína C Reactiva

### SIGNIFICACION CLINICA

La Proteína C Reactiva (PCR) es una proteína termolábil que no atraviesa la barrera placentaria y cuya movilidad electroforética se encuentra entre las zonas de las  $\alpha$  y  $\beta$  globulinas. Su nombre se debe a la capacidad para precipitar los polisacáridos C de los pneumococos.

Es una de las llamadas proteínas de fase aguda y se incrementa en suero, en una gran variedad de enfermedades inflamatorias o como respuesta a necrosis tisular.

Su determinación es importante debido a que aumenta rápidamente al comienzo de la enfermedad, 14 a 26 horas luego de la inflamación o injuria tisular y desaparece en la etapa de recuperación, apareciendo sólo durante la fase activa del proceso inflamatorio.

La PCR se encuentra comúnmente aumentada en: artritis reumatoidea activa, infecciones virales, tuberculosis, fiebre reumática activa, infarto agudo de miocardio, etc. También se la puede hallar luego de una operación quirúrgica y en gran porcentaje luego de transfusiones sanguíneas. La determinación de PCR no sólo indica la intensidad de la enfermedad sino también la respuesta del paciente a un tratamiento dado.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La PCR se detecta en suero por reacción con un anticuerpo específico adsorbido sobre un soporte inerte de látex. La PCR se une a los anticuerpos adsorbidos produciendo la aglutinación de las partículas de látex.

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** suspensión de partículas de látex-poliestireno sensibilizadas con anticuerpos anti-PCR.

**Control Negativo:** dilución de suero negativo.

**Control Positivo:** dilución de suero positivo.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** agitar bien y luego cambiar la tapa ciega por la tapa gotero suministrada adicionalmente.

**Controles Positivo y Negativo:** listos para usar.

### PRECAUCIONES

Los Reactivos Provistos son para uso diagnóstico "in vitro". Los Controles han sido examinados para antígeno de superficie del virus de hepatitis B, virus de la hepatitis C y anticuerpos contra HIV 1/2, encontrándose no reactivos. No obstante,

deben ser empleados como si se tratara de material infeccioso. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La autoaglutinación del Reactivo A es indicio de deterioro del mismo. En tal caso desechar.

### MUESTRA

Suero

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** los sueros marcadamente lipémicos o contaminados pueden dar resultados falsamente positivos.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento puede conservarse hasta 24 horas en refrigerador (2-10°C) y hasta 4 semanas congelado a -20°C.

### MATERIAL REQUERIDO

#### 1- Provisto

- placas de plástico o vidrio fondo negro

#### 2- No Provisto

- material volumétrico adecuado para efectuar mediciones y diluciones de las muestras
- palillos mezcladores descartables
- cronómetro
- lámpara o fuente de luz

### PROCEDIMIENTO

Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente antes de usar. Agitar el Reactivo A antes de usar, vaciando previamente la pipeta del gotero.

#### 1- TECNICA CUALITATIVA

Muestra	1 gota (50 ul)
Reactivo A	1 gota (50 ul)



Mezclar con un palillo descartable hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie del círculo. Inmediatamente disparar un cronómetro, balancear suavemente la placa y observar macroscópicamente el resultado bajo un haz luminoso dentro de los 2 minutos.

## II- TITULACION

Los sueros positivos pueden titularse efectuando diluciones seriadas en 8 tubos de Kahn.

- Colocar 0,5 ml de solución fisiológica en cada uno de los tubos.
- Agregar 0,5 ml de suero al tubo Nº 1 y mezclar. Transferir 0,5 ml de esta dilución al tubo Nº 2 y mezclar, continuando así las diluciones hasta el último tubo. Las diluciones así obtenidas equivalen a 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, etc.
- Ensayar cada dilución según la TECNICA I.

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

**Negativo:** suspensión homogénea.

**Positivo:** aglutinación que aparece dentro de los 2 minutos. Se califica de 1 a 4 +.

**Título:** inversa de la máxima dilución a la que se produce aglutinación visible macroscópicamente.

La concentración aproximada de PCR en la muestra puede ser calculada por la fórmula siguiente:

$$\text{PCR (mg/l)} = \text{Título} \times \text{Sensibilidad de la reacción (6 mg/l)}$$

Ejemplo: la muestra presenta un título de 1:2. Su concentración de PCR es de  $2 \times 6 = 12$  mg/l.

## METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar simultáneamente el Control Negativo y el Control Positivo provistos, empleando una gota del Control correspondiente en lugar de la muestra y una gota del Reactivo A según la técnica cualitativa.

## VALORES DE REFERENCIA

Hasta 6 mg/l.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Tiempos de reacción mayores de dos minutos pueden producir reacciones falsamente positivas por efectos de secado de los reactivos.

## PERFORMANCE

**Sensibilidad:** PCR-Látex *directo* detecta 6 mg/l de proteína C reactiva.

## PRESENTACION

Equipo para 50 determinaciones (Cód. 1683152).

## BIBLIOGRAFIA

- Singer, J.M.; Plotz, C.M.; Parker, E. and Elster, S.K. - Am. J. Clin. Path. 28:611 (1957).
- Nilson, L.A. - Acta Pathol. Microbiol. Scand. 73:129 (1968).
- Scherfarth, F.; Pérez-Miranda, M.; Goetz, H. - Blut. 20:296 (1970).

## SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado en la Comunidad Europea

Uso diagnóstico "in vitro"

Contenido suficiente para <n> ensayos

Fecha de caducidad

Límite de temperatura (conservar a)

No congelar

Riesgo biológico

Volumen después de la reconstitución

Contenido

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Cáustico

Irritante

Consultar instrucciones de uso

Calibrador

Control

Control Positivo

Control Negativo

Número de catálogo

(ANEXO 8) TABLA PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS DE LA INVESTIGACIÓN.

Fecha	N° de muestra	Sexo	Edad	Proteína C reactiva (PCR)	Factor Reumatoideo (FR)	Observaciones

(Anexo 9) DETERMINACIÓN DEL FACTOR REUMATOIDEO.

